

Rozprawa doktorska

**Wpływ zapalenia na funkcje endokrynne mięśni szkieletowych i kości u chorych hemodializowanych**

lek. Jerzy Królikowski

Promotor:

Prof. n. med. Michał Nowicki

Łódź 2019

## Streszczenie

**Wstęp:** Chorzy przewlekle hemodializowani stanowią grupę pacjentów ze zmniejszoną średnią masą mięśniową, małą aktywnością fizyczną i przewlekłym osłabieniem. Duża podatność na zakażenia związana z upośledzoną odpornością i przewlekłym narażeniem na zakażenie, głównie bakteryjne, w czasie zabiegów hemodializy skutkuje zwiększonym ryzykiem powstania zapalenia, które pociąga za sobą najczęściej konieczność hospitalizacji i ograniczenia codziennej aktywności fizycznej. W regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kości, a także regulacji masy mięśniowej biorą udział niedawno odkryte czynniki w tym cytokiny i miokiny. W ostatnich latach opisano liczne zależności pomiędzy tymi cytokinami, a zapaleniem. Cały czas trwają badania nad ich znaczeniem, jako biomarkerów lub leków w praktyce klinicznej.

**Cel:** Celem badania była ocena wpływu zapalenia i zabiegu hemodializy na stężenia w osoczu czynników regulujących metabolizm kości i gospodarkę mineralną takich jak białko Klotho, FGF-23 (cała cząsteczka – iFGF-23 i fragment C-końcowy – cFGF-23), FGF-21, sklerostyny, czynników regulujących masę mięśniową miostatyny i folistatyny u chorych przewlekle hemodializowanych.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 55 chorych hemodializowanych, którzy znaleźli się w grupie badanej (32 osoby) i referencyjnej (23 chorych). Grupę badaną stanowili chorzy, u których rozpoznano zapalenie na podstawie zwiększenia się stężenia białka C-reaktywnego w osoczu ponad 50 mg/l. Jako materiału do badań laboratoryjnych użyto krwi pobranej przed i po zakończeniu hemodializy w trakcie trwania zapalenia oraz przed hemodializą w okresie po ustąpieniu zapalenia, które zdefiniowano jako subiektywną poprawę stanu klinicznego chorego i jako obniżenie CRP do poniżej 6mg/l. Badanie miało charakter prospektywny, obserwacyjny, nieinterwencyjny i prowadzone było w jednym ośrodku. Badani zostali poinformowani o celach badania. Po wyrażeniu zgody na udział w badaniu pacjenci otrzymali do wypełnienia kwestionariusz subiektywnej oceny stopnia aktywności fizycznej w czasie ostatnich 7 dni (IPAQ – long form) w polskiej wersji językowej. Następnie nastąpił pomiar siły mięśniowej przy pomocy dynamometru w prawej i lewej dłoni oraz ocena składu ciała za pomocą bioimpedancji wieloczęstotliwościowej (BCM). W dalszym etapie badania pobrano krew w celu oznaczenia w osoczu stężenia białka Klotho, iFGF-23, cFGF-23, FGF-21, sklerostyny, miostatyny, folistatyny. **Wyniki:** W grupie badanej średnie stężenie CRP wyniosło  $105,9 \pm 73,9$  mg/l. Średni czas pomiędzy pobraniem krwi w trakcie zapalenia i ustąpieniem zapalenia wyniósł  $15 \pm 7,9$  dni. Po przeprowadzeniu hemodializy stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia cFGF-23. Mediana stężenia wzrosła z 1992,83 RU/ml; IQR=[1350; 4320 RU/ml] przed zabiegiem hemodializy do 2421,3 RU/ml IQR=[1351; 7348 RU/ml] po zabiegu  $p=0,001$ . Po przeprowadzeniu hemodializy zaobserwowano istotny statystycznie wzrost stężenia sklerostyny. Mediana stężenia wzrosła z 1346,2 pg/ml IQR=[1034; 2243 pg/ml] przed zabiegiem do 1583,8 pg/ml IQR=[1198; 2559 pg/ml] po zabiegu ( $p=0,002$ ). Zabieg hemodializy spowodował istotny statystycznie wzrost stężenia folistatyny. Mediana stężenia wzrosła z 2669 pg/ml IQR=[2129; 5702 pg/ml] przed zabiegiem do 4220,5 pg/ml IQR=[2583; 6727 pg/ml] ( $p=0,009$ ). Nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu hemodializy na stężenie białka Klotho, iFGF-23, FGF-21, miostatyny. Po ustąpieniu zapalenia w grupie badanej doszło do istotnego statystycznie spadku stężenia FGF-21 w porównaniu do pomiaru wyjściowego po stwierdzeniu zapalenia. Mediana stężenia FGF-21 w trakcie zapalenia wyniosła 3591,4 pg/ml IQR=[1174,3; 6537,3 pg/ml], a po ustąpieniu zapalenia obniżyła się do 2454 pg/ml IQR=[1281,1; 3448,4 pg/ml]  $p=0,006$  w grupie badanej chorych hemodializowanych. Nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian stężenia białka

Klotho, cFGF-23, iFGF-23, sklerostyny, miostatyny, folistatyny po ustąpieniu zapalenia w porównaniu do okresu trwania zapalenia.

**Wnioski:** Zabieg hemodializy może zmieniać wydzielanie niektórych czynników regulujących gospodarkę wapniowo-fosforanową, metabolizm kości, oraz siłę i czynność mięśni szkieletowych, ustąpienie zapalenia u chorych hemodializowanych powoduje spadek stężenia FGF-23.

## Abstract

**Introduction:** Most chronic hemodialysis patients show the decreased muscle mass, low physical activity and chronic weakness. High susceptibility to infection associated with an impaired immunity and chronic exposure to infections, mainly bacterial, during hemodialysis treatments result in an increased risk of inflammation, which usually limit a daily physical activity. The calcium-phosphate and bone metabolism, as well as muscle mass, are regulated by a range of recently discovered factors like FGF-23 and its cofactor Klotho protein, myostatin, follistatin and sclerostin. In recent years, many complex interactions between these cytokines and inflammation have been described.

**The aim of the study:** The aim of the study was to assess the influence of both inflammation and hemodialysis (HD) on plasma concentrations of the factors that regulate bone metabolism and mineral metabolism, such as Klotho protein, FGF-23 (whole molecule - iFGF-23 and C-terminal fragment - cFGF-23), FGF-21, sclerostin and the factors regulating muscle mass like myostatin and follistatin in chronic hemodialysis patients.

**Material and methods:** The study included 55 hemodialysis patients who were divided into the study group (32 patients) and the reference group (23 patients). The study group consisted of patients who were diagnosed with the inflammation defined as an increase in C-reactive protein concentration above 50 mg/L. Blood for the study was collected before and after hemodialysis during the inflammation, and before hemodialysis after the resolution of inflammation. The study was prospective, observational, non-interventional and was carried out in one center. The subjects were informed about the objectives of the study. After agreeing to participate the patients signed the informed consent and filled the questionnaire of subjective assessment of the level of physical activity during the last 7 days (IPAQ - long form in Polish). Next, the muscle strength was measured with a dynamometer in each hand and the body composition was assessed by multi-frequency bioimpedance (BCM). In the next stage of the study, blood was collected to measure the plasma concentration of Klotho protein, iFGF-23, cFGF-23, FGF-21, sclerostin, myostatin and follistatin.

**Results:** Mean CRP concentration in the study group was  $105.9 \pm 73.9$  mg/L. The mean period between blood sampling during inflammation and resolution of inflammation was  $15 \pm 7.9$  days. A statistically significant increase of plasma cFGF-23 concentration was observed after hemodialysis. Its median concentration increased from 1992.8 RU/ml

IQR=[1350; 4320 RU/ml] before hemodialysis to 2421.3 RU/ml IQR=[1351; 7348 RU/ml] after HD (p=0.001). A statistically significant increase of sclerostin concentration was observed after hemodialysis. The median concentration increased from 1346.2 pg/ml IQR=[1034; 2243 pg/ml] before HD to 1583.8 pg/ml IQR = [1198; 2559 pg/ml] after HD (p = 0.002). Hemodialysis resulted in a statistically significant increase in plasma follistatin. Its median concentration increased from 2669 pg/ml IQR = [2129; 5702 pg/ml] before HD to 4220.5 pg/ml IQR = [2583; 6727 pg/ml] (p = 0.009). No statistically significant effect of hemodialysis on plasma Klotho protein, iFGF-23, FGF-21, and myostatin was found. After the resolution of inflammation in the study group, there was a statistically significant decrease in FGF-21 concentration compared to the baseline. The median FGF-21 concentration during inflammation was 3591.4 pg/ml. IQR = [1174.3; 6,537.3 pg/ml], and after the resolution of inflammation decreased to 2454 pg/ml IQR = [1221.1; 3448.4 pg/ml] p = 0.006. There were no statistically significant changes in the concentration of Klotho protein, cFGF-23, iFGF-23, sclerostin, myostatin, follistatin after the resolution of inflammation vs. baseline.

**Conclusions:** Hemodialysis modulates the plasma concentration of the factors involved in the regulation of calcium-phosphate metabolism, bone turnover and muscle growth and strength. The resolution of inflammation in hemodialysis patients leads to a decrease of plasma FGF-21 concentration.