

Laboratorinė medicina.
2017, t. 19, Nr. 4(76), p. 244–249.

Dializuojamų ligonių kraujagyslių kalkėjimui reikšmingi biožymenys: literatūros apžvalga

Vaida Petrauskienė^{1,2}
Neda Kušleikaitė-Pere^{1,2}
Aurelija Ročytė³

Santrauka

Galutinės stadijos inkstų nepakankamumu sergantiems ligoniams, gydomiems pakaitine inkstų terapija, širdies ir kraujagyslių ligų ir bendro mirtingumo rizika yra daug didesnė, palyginti su bendra populiacija. Tradicinių rizikos veiksnių korekcija, sėkmingai sumažinusi mirtingumą ir sergamumą bendroje populiacijoje, hemodializuojamiems ligoniams nebuvo susijusi su geresnėmis baigtimis, todėl pastaruoju metu vis daugiau dėmesio kreipiamą į netradicinius, tik lėtine inkstų liga sergantiems asmenims būdingus rizikos veiksnius. Kalcio ir fosforo apykaitos sutrikimai ir su jais susijęs kraujagyslių kalkėjimas vertinami kaip vieni svarbiausių sergamumo ir mirtingumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų netradicinių rizikos veiksnių. Pakanka įrodymų, kad kraujagyslių kalkėjimas nėra pasyvus procesas. Vystantis ir progresuojant kraujagyslių kalkėjimui, svarbios jį aktyvinančios ir stabdančios medžiagos bei jų pusiausvyros sutrikimas. Normaliomis sąlygomis egzistuoja pusiausvyra tarp kalkėjimą aktyvinančių procesų ir jį stabdančių medžiagų. Vystantis inkstų funkcijos nepakankamumui, o ypač pradėjus gydymą dializėmis, ši pusiausvyra smarkiai sutrinkdama. Dializuojamiems ligoniams kraujagyslių kalkėjimas yra dažna ir prognozę bloginanti komplikacija, todėl biožymenų tyrimai, galintys atskleisti šio pažeidimo priežastis, yra ypač svarbūs. Literatūros apžvalgoje aptariami pagrindiniai šiuo metu tyrinėjami biožymenys, svarbūs dializuojamų ligonių kraujagyslių kalkėjimo vystymuisi.

Reikšminiai žodžiai: kraujagyslių kalkėjimas, hemodializės, biožymenys, kalcio ir fosforo apykaita.

ĮVADAS

Galutinės stadijos inkstų nepakankamumu sergantiems ligoniams, gydomiems pakaitine inkstų terapija, širdies ir kraujagyslių ligų ir bendro mirtingumo rizika yra daug didesnė, palyginti su bendra populiacija [1–3]. Tyrimai parodė, kad vien tradiciniais rizikos veiksniais – hipertenzija, dislipidemija ar cukriniu diabetu (CD), didesnės širdies ir kraujagyslių ligų rizikos paaiškinti negalima [4–7]. Tradicinių rizikos veiksnių korekcija, sėkmingai sumažinusi mirtingumą ir ser-

gamumą bendroje populiacijoje, hemodializuojamiems ligoniams nebuvo susijusi su geresnėmis baigtimis [8, 9], todėl pastaruoju metu vis daugiau dėmesio kreipiamą į netradicinius, tik lėtine inkstų liga sergantiems ligoniams būdingus rizikos veiksnius. Kalcio ir fosforo apykaitos sutrikimai ir su jais susijęs kraujagyslių kalkėjimas vertinami kaip vieni svarbiausių sergamumo ir mirtingumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų netradicinių rizikos veiksnių. Skiriami du pagrindiniai kraujagyslių kalkėjimo tipai: vidinio kraujagyslės sluoksnio – intimos ir vi-

¹Medicinos akademija,
Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Medical Academy, Lithuanian
University of Health Sciences
El. paštas: vaida.petrauskiene@gmail.com

²Lietuvos sveikatos mokslų universiteto
Kauno klinikų Nefrologijos klinika
Lithuanian University of Health
Sciences, Kaunas Clinics,
Nephrology Clinic

³Lietuvos sveikatos mokslų universiteto
Kauno klinikų Laboratorinės
medicinos klinika
Lithuanian University of Health
Sciences, Kaunas Clinics, Laboratory
Medicine Clinic

durinio – medijos (vadinamasis Monckebergo) kalkėjimas. Įrodyta, kad dializuojamiems ligoniams šios dvi formos dažnai yra kartu ir abi susijusios su didesniu bendru ir kardiovaskuliniu mirtingumu, nepriklausomai nuo kitų rizikos veiksnių [10, 11]. Intimos kalkėjimui svarbesni aterosklerozės vystymuisi reikšmingi rizikos veiksniai: amžius, dislipidemija, CD, o medijos kalkėjimas – specifinis pažeidimas lėtine inkstų liga sergantiems asmenims, priklausomas nuo tik jiems būdingų pakitimų, pavyzdžiui, kalcio ir fosforo apykaitos sutrikimų. Nuolat daugėja duomenų, leidžiančių teigti, kad kraujagyslių kalkėjimas nėra vien tik pasyvus procesas. Ne mažiau svarbu ir daugybė aktyvinančių ir stabdančių medžiagų, kurių pusiausvyros sutrikimas dializuojamiems ligoniams ir lemia didesnę kraujagyslių kalkėjimo vystymosi riziką.

Vienas svarbiausių kraujagyslių kalkėjimo veiksnių yra kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių osteoblastinė transformacija. Pasikeitusi ląstelė įgyja savybių, būdingų osteoblastams, ir gali išskirti matrikso vezikules su hidroksiapatito kristalais [12]. Normaliomis sąlygomis, esant kalkėjimą skatinančių ir stabdančių medžiagų pusiausvyrai, tokia transformacija nevyksta. Vystantis lėtinei inkstų ligai ir ypač pradėjus pakaitinę terapiją, vyksta daugybė pokyčių, lemiančių kalkėjimą slopinančių ir skatinančių medžiagų pusiausvyros sutrikimą, todėl šiems ligoniams kraujagyslių kalkėjimo rizika yra daug didesnė.

OSTEOBLASTINĖ DIFERENCIACIJA

Vystantis kraujagyslių kalkėjimui, kraujagyslėse vyksta panašūs procesai, kaip formuojantis kaului. Kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelės, vykstant osteogeninei diferenciacijai, virsta į osteoblastą panašias ląsteles [13–14]. Esant sutrikusiai inkstų funkcijai, pagrindinis veiksnys, nulemiantis šiuos pokyčius, yra hiperfosfatemija [15–16]. Tyrimais *in vitro* nustatyta, kad, esant didesnei užląstelinei fosforo koncentracijai, aktyviai veikiant Pit-1, nuo Na priklausomam fosfatų nešikliui, didėja ir fosforo koncentracija ląstelės viduje [16–17]. Padidėjęs fosforo kiekis ląstelėje skatina jos osteoblastinę transformaciją [13, 16, 18]. Pakitusios ląstelės išskiria kauliniam audiniui būdingus baltymus – osteopontiną [19], I tipo kolageno osteoprotegeriną, kaulų morfogeniną 2 ir osteokalciną [16, 20]. Iš šių ląstelių į užląstelinę matriksą iš-

siskiria ir mineralizacijai ypač svarbios matrikso vezikulės su hidroksiapatito kristalais [15, 16]. Kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelės matrikso vezikules išskiria nuolat, tačiau, esant normaliai homeostazei, kalkėjimą stabdančios medžiagos neleidžia joms skatinti mineralizacijos. Kai pusiausvyra tarp kalkėjimą aktyvinančių ir stabdančių medžiagų yra pažeista, matrikso vezikulės tampa aktyvios vykstant mineralizacijai [21]. Keletas tyrimų įrodė ir didesnio viduląstelinio fosforo kiekio svarbą vystantis kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių apoptozei, kuri irgi reikšminga kraujagyslių kalkėjimo patogenezėje [22–24].

Pastaruoju metu atsiranda gana prieštaringų naujų duomenų apie panašių į osteoblastus ląstelių atsiradimą kraujagyslių sienelėje. Cirkuliuojančių ląstelių teorija teigia, kad ląstelės, kilusios iš kaulų čiulpu, veikiant tam tikroms medžiagoms, išsiskiriančioms, pavyzdžiui, pažeidus endotelį, migruoja ir nusėda kraujagyslių sienelėje. Esant sutrikusiai kalkėjimą skatinančių ir stabdančių medžiagų pusiausvyrai, šios ląstelės tampa panašios į osteoblastus [25]. Yra tyrimų, teigiančių, kad į osteoblastus panašiomis ląstelėmis tampa daugiagališios (multipotentinės), kraujagyslių sienelėje esančios kamieninės ląstelės [26]. Vis dėlto duomenų, galinčių pavirtinti šias teorijas, kol kas nepakanka.

Nors hiperfosfatemija vertinama kaip vienas svarbiausių veiksnių, lemiančių osteoblastinę diferenciaciją, pastaruoju metu daugėja duomenų, kad ne mažiau svarbios ir kitos medžiagos, sudarančios palankią aplinką neigiamam hiperfosfatemijos poveikiui. Normaliomis sąlygomis kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelės išskiria endogeninius kalkėjimo inhibitorius: matrikso Gla baltymą, osteopontiną, osteoprotegeriną, pirofosfatą [27]. Hiperfosfatemija, hiperkalcemija, uždegimas, hormonų pusiausvyros sutrikimas, oksidacinis stresas gali slopinti šių medžiagų išsiskyrimą ir sudaryti palankias sąlygas kalkėjimui vystytis.

Dializuojamiems ligoniams specifiniai kalcio ir fosforo apykaitos sutrikimai ir dėl to išsivystęs kaulų pažeidimas taip pat turi svarbią reikšmę kraujagyslių kalkėjimui atsirasti ir progresuoti. 2004 m. London ir bendraautorai tyrė 58 dializuojamus ligonius, kraujagyslių kalkėjimą nustatydami rentgeno tyrimu, kartu vertindami ir kaulų histomorfometrinius duomenis. Buvo nustatyta, kad ryškesnis kraujagyslių kalkėjimas buvo susijęs su kaulų pokyčiais, atitinkančiais adi-

naminio kaulo savybes (lėta kaulo apykaita) [28]. Barreto ir bendraautorai nustatė atvirkštinį ryšį tarp kraujagyslių kalkėjimo ir kaulų trabekulių masės bei tankio, vertindami 101 dializuojamo ligonio duomenis [29]. Adragao ir bendraautoriams, tyrusiems kaulų histomorfometrijos parametrų ryšį su širdies kraujagyslių kalcifikacija, nepavyko nustatyti mažo kaulo aktyvumo reikšmės kraujagyslių kalkėjimui galbūt dėl nedidelio tiriamųjų skaičiaus (n=38) [30].

BIOŽYMENYS

Fibroblastų augimo faktorius 23 ir Klotho kofaktorius

FGF-23 (angl. *Fibroblast Growth Factor-23*) – maždaug 30 kDa baltymas, išskiriamas kaulinio audinio. FGF-23 veiklai būtinas Klotho kofaktorius. FGF-23 – tai fosfaturinis hormonas, kurio pagrindinė funkcija – palaikyti normalų fosforo kiekį kraujyje. Jis svarbus ir vitamino D apykaitai: slopina 1 hidroksilazės aktyvumą, todėl mažiau neaktyvaus kalcidiolio paverčiama aktyvia vitamino D forma 1,25 (OH)D [32]. Dėl to, mažėjant aktyvaus vitamino D, lėtėja kalcio ir fosforo rezorbcija žarnyne. FGF-23 slopina prieskydinių liaukų hormono (PTH) sekreciją ir prieskydinių liaukų ląstelių proliferaciją [33]. Tyrimais su gyvūnais įrodyta, kad didesnis FGF-23 kiekis neturi tiesioginio poveikio kraujagyslių kalkėjimo vystymuisi, tačiau yra ypač svarbus kontroliuojant fosforo kiekį kraujyje. Hiperfosfatemija yra vienas iš svarbiausių osteogeninę diferenciaciją skatinančių veiksnių, todėl fosforo kiekį kraujyje normalizuojantis tiesioginis FGF-23 poveikis yra reikšmingas kraujagyslių kalkėjimo patogenezėje [31, 34].

Ne mažiau svarbūs ir neklasikiniai, nuo Klotho nepriklausomi FGF-23 veikimo mechanizmai, ypač tiesioginis poveikis kardiomiocitams. FGF-23, veikdamas kardiomiocitus per FGF-23 receptorius, nepriklausomai nuo Klotho skatina kairiojo skilvelio hipertrofijos vystymąsi ir progresavimą [35].

Lėtine inkstų liga sergantiems žmonėms nustatomi didesni FGF-23 kiekiai kraujyje kaip fiziologinė reakcija į ligą vystantis didėjantį fosforo kiekį kraujyje. Vis dėlto įrodyti, kad šie pokyčiai svarbūs kraujagyslių kalkėjimui, kol kas nepavyksta. Siekdamį nustatyti ryšį tarp FGF-23, fosforo kiekio kraujyje ir kalkėjimo širdies

kraujagyslėse ir aortoje, Scallia ir bendraautorai ištyrė 1501 pacientą. Priešingai nei hiperfosfatemija, FGF-23 kiekis kraujyje nebuvo susijęs su kraujagyslių kalkėjimu [36]. Hemodializuojamų ligonių duomenis analizavę Lee ir bendraautorai nerado ryšio tarp kraujagyslių kalkėjimo ir FGF-23 [37]. Kaip minėta, FGF-23 veikti reikalingas Klotho kofermentas. Klotho – iš 1014 aminorūgščių sudarytas baltymas, esantis ląstelės paviršiuje. Jį sudaro gana ilga užląstelinė grandinė, transmembraninė dalis ir nedidelė viduląstelinė dalis. FGF-23 turi pakankamai nedidelį giminiskumą savo receptoriams, todėl Klotho yra reikalingas šiai sąveikai sustiprinti. Vystantis inkstų funkcijos sutrikimui, mažėjant glomerulų filtracijos greičiui, ryškėja Klotho trūkumas, didėja FGF-23 kiekis kraujyje, silpnėja jo fosfaturinis poveikis [38].

Fetuinas A

Fetuinas A (Fet A) – 59 kDa glikoproteinas, gaminamas kepenyse ir veikiantis kaip stiprus kalkėjimo inhibitorius. Tikslus mechanizmas nėra iki galo aiškus, tačiau manoma, kad patologinėje svarbus lėtinis uždegimas. Nustatyta, kad dializuojamų ligonių Fet A kiekiai kraujyje yra daug mažesni, palyginti su sveikais kontrolinės grupės tiriamaisiais [39]. Manoma, kad Fet A anksti prisijungia prie kalcio fosfatų kristalų ir slopina kristalo augimą bei mineralizaciją. Įprastai kalcio fosfatų kristalai yra fagocituojami retikuloendotelinės sistemos ląstelių. Dėl to makrofagai išskiria uždegimą skatinančius citokinus, vyksta apoptozė. Esant pakankamam kiekiui Fet A, formuojasi didelės kalciproteinų dalelės, palengvinančios šių kristalų šalinimą ir mažinančios neigiamą poveikį. Fet A prisijungia ir suskaido netirpų mineralų branduolį ir skatina susidaryti tirpias koloidines kalciproteinų daleles. Dėl to pristabdomas kristalų didėjimas, makrofagai išskiria mažiau citokinų, mažėja apoptozė [40].

Tyrimai įrodė, kad mažesni Fet A kiekiai kraujyje buvo susiję su kraujagyslių standumu, ryškesniu kalkėjimu, mirtingumu bei širdies ir kraujagyslių ligomis. Lee ir bendraautorų duomenimis, mažesni Fet A kiekiai kraujyje buvo susiję su dializuojamų ligonių širdies vožtuvų kalkėjimu [41]. Penkerius metus stebėję 277 ligonius, kuriems buvo atlikta transplantacija, Marechal ir bendraautorai nustatė, kad mažesni Fet A kiekiai buvo nepriklausomai susiję su aortos, bet ne su širdies kraujagyslių kalkėjimu, dides-

niu mirtingumu bei širdies ir kraujagyslių ligų rizika [42]. Vis dėlto tyrimų rezultatai nėra neabejotini. Jung ir bendraautorai, duomenis adaptavę amžiui, nustatė, kad mažesnio Fet A kiekio ir širdies kraujagyslių kalkėjimo atvirkštinė koreliacija tapo nereikšminga, tačiau įtaka mirtingumui ir širdies kraujagyslių ligoms išliko nepakitusi [43]. Manghat ir bendraautorai, tyrę pacientus prieš dializę, nenustatė ryšio tarp Fet A kiekio ir kraujagyslių standumo [44]. Nepaisant gana prieštaringų tyrimų rezultatų, manoma, kad mažesni Fet A kiekiai dializuojamiems ligoniams yra susiję su kraujagyslių kalkėjimu ir didesniu mirtingumu, nors mechanizmai turėtų būti tikslinami [45].

Matrikso Gla baltymas

Matrikso Gla baltymas (angl. *Matrix Gla Protein*, MGP) – chondrocytu, kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių, endotelio ląstelių, fibroblastų išskiriamas 14 kDa -karboksilintas baltymas. Pirmą kartą jo svarba kalkėjimo vystymuisi įrodyta naudojant gyvūnų modelius, kai pašalinus MGP (angl. *MGP knock-out*) pelėms išsivystė ryškus kraujagyslių kalkėjimas [46]. MGP sujungia kalcio kristalus, slopina jų didėjimą, apsaugo kraujagyslių lygiųjų raumenų ląsteles nuo osteoblastinės diferenciacijos [47]. MGP prisijungia ir inaktyvuoja mineralizaciją skatinantį faktorių – kaulų morfogeninį baltymą 2 (angl. *bone morphogenic protein 2*, BMP-2), kuris yra svarbus osteogeninei kraujagyslės lygiųjų raumenų ląstelių konversijai [48]. Kad MGP taptų aktyvia forma, turi įvykti dvi reakcijos: glutamato karboksilinimo ir serino fosforilinimo. Vitaminas K ypač svarbus karboksilinimo procese, todėl vitamino K trūkumas ir gydymas jo antagonistais gali turėti didelę reikšmę šiems procesams [22, 46, 49]. Fosforilinimo reikšmė kol kas nėra iki galo aiški, tačiau neabejojama karboksilinimo svarba aktyvumui užtikrinti. Bendras nekarboksilinto MGP kiekis, tyrimų duomenimis, atvirkščiai koreliavo su kraujagyslių kalkėjimu [50]. Nustatius bendrą nekarboksilinto MGP kiekį, lieka neaišku, kurią dalį sudaro fosforilinta ir nefosforilinta formos. Kadangi fosforilinimo reakcija gali būti svarbi MGP aktyvumui, atliekant tyrimus būtų tikslingiausia vertinti defosforilintą nekarboksilintą MGP. Didelė galimų tyrinėti MGP formų įvairovė ir standartizuotų tyrimų metodikų nebuvimas gali būti pagrindinės gana skirtingų tyrimų rezultatų priežastys. Schurgers ir bendraautorai nustatė,

kad plazmos nekarboksilintas defosforilintas MGP yra nepriklausomai susijęs su aortos kalkėjimu [51], o Schlieper ir bendraautorai koreliacijos su kraujagyslių kalkėjimu nerado [52].

Kaulų morfogeninis baltymas 2

Kaulų morfogeninis baltymas 2 – vienas iš TGF- augimo faktorių, reguliuojančių augimą, diferenciaciją ir audinių vystymąsi tiek embriogenezės metu, tiek suaugusio žmogaus organizme. Skatina osteoblastų diferenciaciją ir mineralizaciją [53]. BMP-2 slopinimas tiek *in vivo*, tiek *in vitro* buvo susijęs su kraujagyslių kalkėjimo apsauginiu poveikiu [54, 55]. Detalesnių duomenų apie pokyčius dializuojamiems ligoniams kol kas nėra.

Osteopontinas

Osteopontinas (OPN) – fosfoproteinas, randamas mineralų turinčiuose audiniuose. Jis aktyvina osteoklastų funkciją, slopina mineralizaciją, blokuodamas hidroksiapatito susidarymą. Randamas sukalkėjusiose kraujagyslėse. Kad galėtų veikti kaip kalkėjimo inhibitorius, OPN turi būti fosforilintas. Būtent fosforilinta OPN forma slopina mineralizaciją kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelėse [56]. Nefosforilinto OPN veikimas pasikeičia – jis veikia kaip uždegimui bei angiogenezei palankus faktorius, netgi skatinantis kraujagyslių mineralizaciją. Dauguma tyrimų, nagrinėjusių OPN kiekio pokyčius ir jų ryšį su kraujagyslių kalkėjimu, atlikti su inkstų ligomis nsergančiais pacientais. Buvo nustatyta, kad OPN yra gana geras diabetu sergančių ligonių širdies kraujagyslių kalkėjimo prediktorius [57], nustatytas teigiamas ryšys tarp OPN ir kraujagyslių standumo sergant išemine širdies liga [58]. Nitta ir bendraautorai vertino OPN raišką aterosklerozės pažeistose aortose hemodializuojamiems ligoniams ir OPN kiekį kraujyje. Nustatyta, kad hemodializuojamų ligonių OPN kiekis kraujyje buvo daug didesnis nei sveikų savanorių [59]. Yra nemažai tyrimų, įrodančių OPN ryšį su ateroskleroze, nutukimu, autoimuninėmis ligomis [60–62], tačiau aiškaus ryšio tarp dializuojamų ligonių kraujagyslių kalkėjimo vystymosi ir OPN kiekio pokyčių kol kas nenustatyta.

Pirofosfatai

Pirofosfatai (Ppi) – maža iš dviejų fosforo jonų sudaryta molekulė, veikianti kaip kalkėjimo inhibitorius, slopina

hidroksiapatitų kristalų susidarymą [63]. Nors mechanizmas nėra iki galo aiškus, Ppi trūkumas yra susijęs su kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių osteogenine diferenciacija [64]. Kartu su hiperfosfatemija mažesni Ppi kiekiai yra siejami su kalkėjimo vystymusi [65, 66]. Dializuojamiems ligoniams paprastai nustatomi mažesni Ppi kiekiai serume [67]. O'Neil ir bendraautorai įrodė neigiamą ryšį tarp Ppi ir kraujagyslių kalkėjimo lėtine inkstų liga sergantiems asmenims [68].

APIBENDRINIMAS

Didžiausią reikšmę osteogeninės kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių diferenciacijos vystymuisi turi viduląstelinės fosforo koncentracijos padidėjimas esant užląstelinei hiperfosfatemijai. Inkstų funkcijos sutrikimas yra viena pagrindinių minėtų pokyčių priežasčių. FGF-23, skatindamas fosfatų išsiskyrimą per inkstus, švelnina atsiradusią hiperfosfatemiją. Šiam poveikiui būtinas Klotho, kurio kiekis dializuojamiems ligoniams paprastai būna sumažėjęs. BMP-2, pirofosfatų trūkumas, oksidacinis stresas, uždegimo procesai, metaboliniai sutrikimai yra svarbūs kalkėjimo vystymuisi ir progresavimui, tačiau mechanizmams patikslinti reikia detalesnių tyrimų. Ne mažiau svarbi ir hiperkalcemijos įtaka. Didesni kalcio kiekiai skatina Pit-1 receptorių raišką, dėl to didėja viduląstelinė fosfatų koncentracija – vienas iš svarbiausių osteogeninę dife-

renciaciją skatinančių veiksnių. Didesni kalcio kiekiai sutrikdo ir pagrindinių kalkėjimo inhibitorių MGP ir fetuino A funkciją.

Kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių virtimą ląstelėmis, panašiomis į osteoblastus, skatina ir su kauliniu audiniu susiję baltymai: osteopontinas, osteokalcinas, BMP-2. Pastarasis, veikdamas osteoblastų diferenciaciją, yra aktyvus kalkėjimo induktorius. Normaliomis sąlygomis MGP ne tik inaktyvuoja BMP-2, bet ir slopina kristalų susidarymą ir augimą, apsaugo nuo osteoblastinės diferenciacijos kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių.

Osteopontino veikimas priklauso nuo fosforilavimo reakcijos. Fosforilinta osteopontino forma slopina mineralizaciją, blokuodama hidroksiapatitų susidarymą ir aktyvindama osteoklastus. O nefosforilinta forma veikia kaip uždegimą skatinantis citokinas. Fetuinas A yra stiprus kalkėjimo inhibitorius, nes sudaro kalciproteino daleles.

Paprastai kalkėjimą aktyvinantys procesai ir jį stabdančios medžiagos sudaro pusiausvyrą. Vystantis inkstų funkcijos nepakankamumui, o ypač pradėjus gydymą dializėmis, ši pusiausvyrą smarkiai sutrikdoma. Dializuojamiems ligoniams kraujagyslių kalkėjimas yra dažna ir prognozę bloginanti komplikacija, todėl biožymenų tyrimai, padedantys nustatyti šio pažeidimo priežastis, yra ypač svarbūs. ♦

Gauta: 2017 07 07
Priimta spaudai: 2017 12 28

Summary

BIOMARKERS IMPORTANT FOR VASCULAR CALCIFICATION IN HEMODIALYSIS PATIENTS: LITERATURE REVIEW

Vaida Petrauskienė, Neda Kušleikaitė-Pere, Aurelija Ročytė

Among end-stage renal disease patients, the risk of cardiovascular morbidity and total mortality is significantly higher than in healthy individuals. As interventions that have been successful in the general population, failed to improve outcomes of hemodialysis patients, more attention is paid to non-traditional, only for hemodialysis patients specific risk factors. Disturbances of calcium phosphate metabolism and related vascular calcification is one of them. Vascular calcification is not any longer considered a passive process, but rather as an actively regulated one. Calcification promoters and inhibitors, as well as disturbance of their balance, play the most important role in development and progression of vascular calcification. As renal function decreases, especially when the dialysis treatment is initiated a lot of changes in the balance between calcification promoters and inhibitors occur. Vascular calcification is a frequent complication associated with poor outcomes, therefore, evaluating disturbances in biomarkers balance is very important. In this literature review, we discuss biomarkers that are important for vascular calcification in hemodialysis patients.

Keywords: vascular calcification, biomarkers, hemodialysis, calcium-phosphate metabolism.

LITERATŪRA

- Collins AJ, Foley RN, Chavers B, Gilbertson D, Herzog C, Ishani A, et al. US Renal Data System 2013 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 2014; 63(1 Suppl): A7.
- Foley RN, Fan Q, Liu J, Gilbertson DT, Weinhandl ED, Chen SC, et al. Comparative mortality of hemodialysis patients at for-profit and not-for-profit dialysis facilities in the United States, 1998 to 2003: a retrospective analysis. *BMC Nephrol* 2008; 9: 6.
- Foley RN, Parfrey PS. Cardiovascular disease and mortality in ESRD. *J Nephrol* 1998; 11(5): 239–45.
- Foley RN. Clinical epidemiology of cardiac disease in dialysis patients: left ventricular hypertrophy, ischemic heart disease, and cardiac failure. *Semin Dial* 2003; 16(2): 111–7.
- Moe S, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69(11): 1945–53.
- Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(7): 1606–15.
- Moist L. Atorvastatin did not prevent cardiovascular events or death in patients with type 2 diabetes receiving hemodialysis. *ACP J Club* 2006; 144(1): 7.
- Wanner C, Krane V. Lessons learnt from the 4D trial. *Nephrol Ther* 2006; 2(1): 3–7.
- Wanner C, Krane V, Marz W, Olschewski M, Mann JF, Ruf G, et al. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2005; 353(3): 238–48.
- London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(9): 1731–40.
- Shanahan CM, Cary NR, Salisbury JR, Proudfoot D, Weissberg PL, Edmonds ME. Medial localization of mineralization-regulating proteins in association with Monckeberg's sclerosis: evidence for smooth muscle cell-mediated vascular calcification. *Circulation* 1999; 100(21): 2168–76.
- Kapustin AN, Shanahan CM. Calcium regulation of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles. *Trends Cardiovasc Med* 2012; 22(5): 133–7.
- Giachelli CM. Vascular calcification mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(12): 2959–64.
- Moe SM, Duan D, Doehle BP, O'Neill KD, Chen NX. Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels. *Kidney Int* 2003; 63(3): 1003–11.
- Giachelli CM. Vascular calcification: in vitro evidence for the role of inorganic

- phosphate. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(9 Suppl 4): S300–4.
16. Jono S, McKee MD, Murry CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000; 87(7): E10–7.
 17. Li X, Yang HY, Giachelli CM. Role of the sodium-dependent phosphate cotransporter, Pit-1, in vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2006; 98(7): 905–12.
 18. Steitz SA, Speer MY, Curinga G, Yang HY, Haynes P, Aebbersold R, et al. Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers. *Circ Res* 2001; 89(12): 1147–54.
 19. Giachelli CM, Bae N, Almeida M, Denhardt DT, Alpers CE, Schwartz SM. Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1993; 92(4): 1686–96.
 20. Levy RJ, Schoen FJ, Levy JT, Nelson AC, Howard SL, Oshry LJ. Biologic determinants of dystrophic calcification and osteocalcin deposition in glutaraldehyde-preserved porcine aortic valve leaflets implanted subcutaneously in rats. *Am J Pathol* 1983; 113(2): 143–55.
 21. Kapustin AN, Davies JD, Reynolds JL, McNair R, Jones GT, Sidibe A, et al. Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization. *Circ Res* 2011; 109(1): e1–12.
 22. Giachelli CM, Speer MY, Li X, Rajachar RM, Yang H. Regulation of vascular calcification: roles of phosphate and osteopontin. *Circ Res* 2005; 96(7): 717–22.
 23. Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, Jacob W, Bult H, Herman AG. Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1998; 97(23): 2307–15.
 24. Proudfoot D, Skepper JN, Hegyi L, Bennett MR, Shanahan CM, Weissberg PL. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res* 2000; 87(11): 1055–62.
 25. Pal SN, Golledge J. Osteo-progenitors in vascular calcification: a circulating cell theory. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18(7): 551–9.
 26. Tang Z, Wang A, Yuan F, Yan Z, Liu B, Chu JS, et al. Differentiation of multipotent vascular stem cells contributes to vascular diseases. *Nat Commun* 2012; 3: 875.
 27. Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res* 2011; 109(6): 697–711.
 28. London GM, Marty C, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, de Vernejoul MC. Arterial calcifications and bone histomorphometry in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(7): 1943–51.
 29. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe SA, et al. Coronary calcification in hemodialysis patients: the contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int* 2005; 67(4): 1576–82.
 30. Adragao T, Herberth J, Monier-Faugere MC, Branscum AJ, Ferreira A, Frazao JM, et al. Low bone volume – a risk factor for coronary calcifications in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(2): 450–5.
 31. Prie D, Torres PU, Friedlander G. A new axis of phosphate balance control: fibroblast growth factor 23-Klotho. *Nephrol Ther* 2009; 5(6): 513–9.
 32. Hu P, Xuan Q, Hu B, Lu L, Wang J, Qin YH. Fibroblast growth factor-23 helps explain the biphasic cardiovascular effects of vitamin D in chronic kidney disease. *Int J Biol Sci* 2012; 8(5): 663–71.
 33. Toussaint ND, Pedagogos E, Tan SJ, Badve SV, Hawley CM, Perkovic V, et al. Phosphate in early chronic kidney disease: associations with clinical outcomes and a target to reduce cardiovascular risk. *Nephrology (Carlton)* 2012; 17(5): 433–44.
 34. Stubbs JR, Liu S, Tang W, Zhou J, Wang Y, Yao X, et al. Role of hyperphosphatemia and 1,25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in fibroblastic growth factor 23 null mice. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(7): 2116–24.
 35. Faul C, Amaral AP, Oskoue B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011; 121(11): 4393–408.
 36. Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, Crouthamel MH, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int* 2013; 83(6): 1159–68.
 37. Lee CT, Chua S, Hsu CY, Tsai YC, Ng HY, Kuo CC, et al. Biomarkers associated with vascular and valvular calcification in chronic hemodialysis patients. *Dis Markers* 2013; 34(4): 229–35.
 38. Prie D, Torres PU, Friedlander G. Fibroblast growth factor 23-Klotho: a new axis of phosphate balance control. *Med Sci (Paris)* 2009; 25(5): 489–95.
 39. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Bohm R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003; 361(9360): 827–33.
 40. Moe SM, Reslerova M, Ketteler M, O'Neill K, Duan D, Koczman J, et al. Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). *Kidney Int* 2005; 67(6): 2295–304.
 41. El-Shehaby AM, Zakaria A, El-Khatib M, Mostafa N. Association of fetuin-A and cardiac calcification and inflammation levels in hemodialysis patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2010; 70(8): 575–82.
 42. Marechal C, Schlieper G, Nguyen P, Kruger T, Coche E, Robert A, et al. Serum fetuin-A levels are associated with vascular calcifications and predict cardiovascular events in renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(5): 974–85.
 43. Jung HH, Baek HJ, Kim SW. Fetuin-A, coronary artery calcification and outcome in maintenance hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2011; 75(5): 391–6.
 44. Manghat P, Souleimanova I, Cheung J, Wierzbicki AS, Harrington DJ, Shearer MJ, et al. Association of bone turnover markers and arterial stiffness in pre-dialysis chronic kidney disease (CKD). *Bone* 2011; 48(5): 1127–32.
 45. Tousoulis D, Siasos G, Maniatis K, Oikonomou E, Vlasis K, Papavassiliou AG, et al. Novel biomarkers assessing the calcium deposition in coronary artery disease. *Curr Med Chem* 2012; 19(6): 901–20.
 46. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997; 386(6620): 78–81.
 47. Roy ME, Nishimoto SK. Matrix Gla protein binding to hydroxyapatite is dependent on the ionic environment: calcium enhances binding affinity but phosphate and magnesium decrease affinity. *Bone* 2002; 31(2): 296–302.
 48. Sweatt A, Sane DC, Hutson SM, Wallin R. Matrix Gla protein (MGP) and bone morphogenetic protein-2 in aortic calcified lesions of aging rats. *J Thromb Haemost* 2003; 1(1): 178–85.
 49. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004; 165(5): 625–30.
 50. Cranenburg EC, Brandenburg VM, Vermeer C, Stenger M, Muhlenbruch G, Mahnken AH, et al. Uncarboxylated matrix Gla protein (ucMGP) is associated with coronary artery calcification in haemodialysis patients. *Thromb Haemost* 2009; 101(2): 359–66.
 51. Schurgers LJ, Barreto DV, Barreto FC, Liabeuf S, Renard C, Magdeleyns EJ, et al. The circulating inactive form of matrix gla protein is a surrogate marker for vascular calcification in chronic kidney disease: a preliminary report. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5(4): 568–75.
 52. Schlieper G, Westenfeld R, Kruger T, Cranenburg EC, Magdeleyns EJ, Brandenburg VM, et al. Circulating nonphosphorylated carboxylated ma-

- trix gla protein predicts survival in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22(2): 387–95.
53. Li X, Yang HY, Giachelli CM. BMP-2 promotes phosphate uptake, phenotypic modulation, and calcification of human vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2008; 199(2): 271–7.
 54. Abe E, Yamamoto M, Taguchi Y, Lecka-Czernik B, O'Brien CA, Economides AN, et al. Essential requirement of BMPs-2/4 for both osteoblast and osteoclast formation in murine bone marrow cultures from adult mice: antagonism by noggin. *J Bone Miner Res* 2000; 15(4): 663–73.
 55. Yao Y, Bennett BJ, Wang X, Rosenfeld ME, Giachelli C, Lusis AJ, et al. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification. *Circ Res* 2010; 107(4): 485–94.
 56. Wada T, McKee MD, Steitz S, Giachelli CM. Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: inhibition by osteopontin. *Circ Res* 1999; 84(2): 166–78.
 57. Berezin AE, Kremzer AA. Circulating osteopontin as a marker of early coronary vascular calcification in type two diabetes mellitus patients with known asymptomatic coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2013; 229(2): 475–81.
 58. Tousoulis D, Siasos G, Maniatis K, Oikonomou E, Kioufis S, Zaromitidou M, et al. Serum osteoprotegerin and osteopontin levels are associated with arterial stiffness and the presence and severity of coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2013; 167(5): 1924–8.
 59. Nitta K, Ishizuka T, Horita S, Hayashi T, Ajiro A, Uchida K, et al. Soluble osteopontin and vascular calcification in hemodialysis patients. *Nephron* 2001; 89(4): 455–8.
 60. Albu A, Fodor D, Bondor C, Craciun AM. Bone metabolism regulators and arterial stiffness in postmenopausal women. *Maturitas* 2013; 76(2): 146–50.
 61. Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(11): 2302–9.
 62. Kiefer FW, Zeyda M, Gollinger K, Pfau B, Neuhofer A, Weichhart T, et al. Neutralization of osteopontin inhibits obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Diabetes* 2010; 59(4): 935–46.
 63. Harmey D, Hessle L, Narisawa S, Johnson KA, Terkeltaub R, Millan JL. Concerted regulation of inorganic pyrophosphate and osteopontin by akp2, enpp1, and ank: an integrated model of the pathogenesis of mineralization disorders. *Am J Pathol* 2004; 164(4): 1199–209.
 64. Johnson K, Polewski M, van Etten D, Terkeltaub R. Chondrogenesis mediated by PPI depletion promotes spontaneous aortic calcification in NPP1^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(4): 686–91.
 65. Ketteler M, Floege J. Calcification and the usual suspect phosphate: still guilty but there are other guys behind the scenes. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(1): 33–5.
 66. Murshed M, Harmey D, Millan JL, McKee MD, Karsenty G. Unique coexpression in osteoblasts of broadly expressed genes accounts for the spatial restriction of ECM mineralization to bone. *Genes Dev* 2005; 19(9): 1093–104.
 67. Lomashvili KA, Khawandi W, O'Neill WC. Reduced plasma pyrophosphate levels in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(8): 2495–500.
 68. O'Neill WC, Sigrist MK, McIntyre CW. Plasma pyrophosphate and vascular calcification in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(1): 187–91.