

# Serumska ekspresija OPG/RANKL sustava u kroničnoj bubrežnoj bolesti i kod primatelja bubrežnog transplantata: odnos sa serumskom razinom IPTH-a i terapijom vitaminom D

Serum expression of OPG/RANKL system in chronic kidney disease and transplanted kidney recipients: relation to IPTH serum levels and vitamin D therapy

Antun Lončarić, Tanja Čelić\*

Zavod za anatomiju, Medicinski fakultet,  
Sveučilište u Rijeci, Hrvatska

**Sažetak. Cilj:** Ciljevi ove studije su istražiti ima li omjer serumskih vrijednosti RANKL/OPG bolje prognostičke vrijednosti uspoređen s razinom iPTH-a u serumu te ispitati ovise li razine OPG-a i RANKL-a u serumu o terapiji vitaminom D. **Ispitanici i metode:** Istraživanje je obuhvatilo 120 pacijenata iz Kliničkog bolničkog centra Rijeka, Hrvatska. Pacijenti su podijeljeni u dvije skupine; skupina pacijenata na hemodijalizi (HD) i skupina primatelja bubrežnog transplantata. Primatelji transplantata bubrega uključeni su u trenutku transplantacije te praćeni 12 mjeseci nakon transplantacije. **Rezultati:** Prema rezultatima ovog istraživanja, serumske razine RANKL/OPG u skupini pacijenata na hemodijalizi koji su imali iPTH > 33 pmol/l i iPTH < 11 pmol/l bile su značajno veće u odnosu na one koji su imali iPTH 11 – 33 pmol/l. Također, razine RANKL/OPG u skupini primatelja bubrežnog transplantata koji su imali iPTH > 33 pmol/l i iPTH < 11 pmol/l bile su značajno veće, u usporedbi s onima koji su imali iPTH 11 – 33 pmol/l. Pacijenti na hemodijalizi i primatelji bubrežnog transplantata na terapiji vitaminom D imali su značajno više razine OPG-a u serumu i značajno nižu razinu sRANKL-a, od ispitanika bez terapije vitaminom D. **Zaključak:** Rezultati ovog istraživanja ukazuju na povoljan učinak vitamina D u prevenciji gubitka koštane mase kod pacijenata na hemodijalizi i kod primatelja bubrežnog transplantata. Omjer serumske razine RANKL/OPG korelira s vrijednostima iPTH-a, ali ostaje nejasno zašto je omjer RANKL/OPG nizak u umjereno povišenim vrijednostima iPTH-a te su potrebna dodatna istraživanja kako bismo dobili odgovor na ovo pitanje.

**Ključne riječi:** hemodijaliza; kronična bubrežna insuficijencija; renalna osteodistrofija; transplantacija bubrega; vitamin D

**Abstract. Aim:** Aims of the present study are to investigate whether the serum RANKL/OPG ratio has better prognostic values when compared with serum iPTH levels; and to investigate whether serum OPG and RANKL levels depend on vitamin D therapy. **Patients and Methods:** This study enrolled 120 patients from Clinical Hospital Center of Rijeka, Croatia. Patients were divided into two groups; a group of patients on hemodialysis (HD) and a group of kidney allograft recipients. Kidney allograft recipients were enrolled at the moment of transplantation and followed up for 12 months post transplantation. **Results:** According to the results of this study, serum levels of RANKL/OPG ratio in hemodialysis group of patients who had iPTH>33 pmol/l and iPTH<11 pmol/l were significantly higher compared to those who had iPTH11-33 pmol/l. Also, serum levels of RANKL/OPG ratio in kidney allograft recipients who had iPTH>33 pmol/l and iPTH<11 pmol/l were significantly higher compared to those who had iPTH11-33 pmol/l. Patients on hemodialysis and transplanted kidney recipients on vitamin D therapy had significantly higher serum levels of OPG and significantly

**\*Dopisni autor:**

Doc. dr. sc. Tanja Čelić, dr. med.  
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka  
E-mail: tanja.celic@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

lower sRANKL levels. **Conclusion:** Results suggest the beneficial effect of vitamin D on bone mass loss prevention in patients on hemodialysis and in kidney transplant recipients. The RANKL/OPG serum level ratio correlates with iPTH values, but it remains unclear why the RANKL/OPG ratio is low in moderately elevated iPTH values and further research is needed in order to get the answer to this question.

**Key words:** Chronic Renal Insufficiency; Hemodialysis; Kidney Transplantation; Renal Osteodystrophy; Vitamin D

Osobe na hemodijalizi imaju značajno više razine AP-a, OPG-a, sRANKL-a i iPTH-a u odnosu na osobe s transplantiranim bubregom (Tx12) i na osobe bez bubrežne bolesti. Prema navedenom, osobe s kroničnom bubrežnom bolesti imaju poremećaj koštano-mineralnog metabolizma, koji se ispravlja nakon što transplantirani bubreg nadomjesti poremećenu funkciju bubrega koštano-mineralnog metabolizma.

#### UVOD

Bubreg je organ koji utječe na koštani metabolizam održavajući razine kalcija i fosfata u ravnoteži, kao i pretvorbom 25(OH) D3 u kalcitriol. Poremećaj bubrežne funkcije dovodi do teških promjena u strukturi i mineralizaciji kosti, poznatih kao renalna osteodistrofija (ROD)<sup>1,2</sup>. ROD se javlja rano tijekom kronične bubrežne bolesti, dovodeći do povećane učestalosti koštanih prijeloma, morbiditeta i mortaliteta<sup>3</sup>. Opisano je nekoliko histoloških formi ROD-a, od poremećaja s visokim stupnjem koštane pregradnje i sekundarnim hiperparatiroidizmom do adinamične bolesti kostiju s osteomalacijom i niskim stupnjem koštane pregradnje<sup>4,5</sup>. Prevalencija podtipova ROD-a ovisi o stupnju progresije bubrežne bolesti te se razlikuje u predijaznih, dijaliziranih i transplantiranih pacijenata.

Pored histomorfometrije, paratiroidni hormon (PTH) je jedan od glavnih pokazatelja koštane pregradnje<sup>6</sup>. PTH ostvaruje djelovanje vežući se za svoje receptore na ciljnim organima, prvenstveno na kostima i bubregu. Njegova uloga je održavati normalne razine serumskog kalcija, povećavajući sintezu kalcitriola, potičući diferencijaciju osteoklasta i koštanu resorpciju<sup>7</sup>. Prilikom bubrežnog zatajavanja PTH djeluje kao sustavni

toksin te je patogenetski čimbenik brojnih komplikacija. Visoke razine PTH-a povezane su s bolesti kostiju uz visok stupanj koštane pregradnje, dok su niske razine PTH-a povezane s adinamičnom bolesti kostiju i osteomalacijom. Ipak, brojne manifestacije ROD-a ne mogu biti objašnjene samo viškom ili manjkom PTH-a<sup>2,3,8</sup>.

Poremećaj koštanog metabolizma koji se razvija tijekom kronične bubrežne bolesti često se nastavlja i nakon transplantacije, prvenstveno zbog prisutnosti imunosupresivne terapije<sup>9</sup>. Sekundarni hiperparatiroidizam prije transplantacije očituje se i u početnom postransplantacijskom periodu i uzrokuje pojačanu koštanu pregradnju kod primatelja bubrežnog transplantata<sup>10</sup>. U većini slučajeva hiperparatiroidizam se popravljiva u periodu od 6 mjeseci do nekoliko godina nakon transplantacije, iako je primijećeno kako oko 25 % pacijenata ima trajno povišene vrijednosti PTH-a godinu dana nakon transplantacije<sup>11,12</sup>. Osteoporoza je naznačena kao ozbiljan klinički problem kod pacijenata s transplantiranim bubregom<sup>13</sup>. Kako bismo započeli s odgovarajućim terapijskim strategijama kod koštane bolesti, važno je razumjeti histološke poremećaje kostiju i njihov razvoj tijekom vremena.

Studije pokazuju kako bi kombinacija PTH-a s biokemijskim biljezima koji odražavaju osteoblastičnu i osteoklastičnu aktivnost povećala osjetljivost i specifičnost u dijagnostici i praćenju smanjene, normalne i pojačane koštane pregradnje. Protekle godine donijele su otkriće novih članova superobitelji receptora čimbenika tumorske nekroze (TNF receptora) – OPG/RANK/RANKL sustav kao regulatora pregradnje kostiju<sup>14,15</sup>. U koštano tkivu osteoprotegerin (OPG) proizvode osteoblasti koji djeluje kao „lažni” receptor te blokira povezivanje između receptora aktivatora nuklearnog čimbenika kB (RANK) i njegovog liganda (RANKL)<sup>16,17</sup>. Na ovaj način dolazi do smanjenja broja aktivnih osteoklasta te se povećava volumen i mineralna gustoća kostiju. RANKL je eksprimiran na osteoblastima kao transmembranski protein, ali se također može naći i u cirkulaciji u topljivom obliku<sup>15,18</sup>. Njegovo djelovanje stimulira diferencijaciju i aktivaciju osteoklasta. Osim u koštanoj sustavu, značajan je utjecaj OPG-a i RANKL-a u kontroli nad procesima u vaskularnom i imunološkom sustavu<sup>17</sup>.

Cilj ove studije je istražiti ovisi li omjer serumskih vrijednosti RANKL/OPG o serumskim PTH razinama kod pacijenata s kroničnom bubrežnom bolesti – stadij 5 (hemodijalizirani) i kod primatelja bubrežnog transplantata. Ovom je studijom također ispitano ovisi li serumske vrijednosti OPG-a i RANKL-a o terapiji s vitaminom D kod pacijenata s kroničnom bubrežnom bolesti – stadij 5 (hemodijalizirani) i kod primatelja bubrežnog transplantata.

## ISPITANICI I METODE

### Ispitanici i osnovni podaci

U ovo istraživanje uključeno je 120 pacijenata liječenih u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Rijeka. Istraživanje je provedeno u periodu od rujna 2011. godine do svibnja 2013. godine. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo KBC-a Rijeka. Svi su ispitanici bili upoznati s istraživanjem te je dobiven informirani pristanak od svih ispitanika. Ispitanici su prema stanju bubrežne funkcije podijeljeni u dvije skupine; skupinu pacijenata na hemodijalizi (HD) te skupinu primatelja bubrežnog transplantata (Tx). U skupinu pacijenata na HD-u uključeni su pacijenti koji su redovno hemodijalizirani tri puta

tjedno u ukupnom trajanju od 12 sati. Pacijenti su dijalizirani ili visokoprotocnim HD-om s polisulfonskim membranama, ili su podvrgnuti *on-line* hemodijafiltraciji s bikarbonatnim dijalizatom. Svi pacijenti na HD-u primali su popratnu terapiju, kao što je kalcijev karbonat i kalcitriol.

Primatelji bubrežnog transplantata su u istraživanje uključeni u trenutku transplantacije te su praćeni 12 mjeseci nakon transplantacije. Prije operativnog zahvata pacijenti iz skupine primatelja bubrežnog transplantata su hemodijalizirani, ali su isključeni iz skupine HD pacijenata. Razlozi za isključivanje ovih pacijenata iz HD skupine su razlika u trajanju HD-a, dob te vrijednosti PTH-a. Svi su pacijenti imali stabilnu funkciju presatka (vrijednost serumskog kreatinina –  $1,5 \pm 0,3$  mg/dl). Imunosupresivna terapija je uključivala prednizon, mikofenolat-mofetil i takrolimus. U istraživanje je uključena i kontrolna skupina koju čine zdravi ispitanici, a prema dobi i spolu odgovaraju ispitanicima uključenim u ovo istraživanje. Uključni kriterij za kontrolnu skupinu su odsutnost koštane i bubrežne bolesti te neuzimanje lijekova koji utječu na koštani metabolizam i na vrijednosti PTH-a (tablica 1).

Tablica 1. Osnovne karakteristike ispitanika i razine biljega koštane pregradnje\*

Karakteristike pacijenata	Kontrolna grupa, N = 40 (100 %)	Hemodijalizirana grupa, N = 90 (100 %)	Transplantirana grupa, N = 30 (100 %)
muškarci/žene	20 (50 %) / 20 (50 %)	45 (50 %) / 45 (50 %)	14 (46,67 %) / 16 (53,33 %)
dob (godine)	55 (32 – 70)	64 (38 – 89)	49 (28 – 67)
trajanje dijalize (mjeseci)	–	69 ± 57	94 ± 86,6
terapija vitaminom D	–	90 (100 %)	–
Ca x PO <sub>4</sub> (mmol/l)	5,48	4,38	4,82
ukupna AP (IU/ml)	58,29 (28,12 – 86,04)	97,94** (49,09 – 492,11)	49,54 (29,32 – 87,07)
OPG (pmol/l)	4,78 (1,71 – 9,09)	13,88** (4,33 – 26,68)	5,22 (2,87 – 14,26)
sRANKL (pmol/l)	0,41 (0,13 – 2,21)	2,83** (0,14 – 6,85)	0,35 (0,11 – 3,22)
iPTH (pmol/l)	5,2 (2,89 – 14,07)	33,85** (8,24 – 263,41)	11,96 (2,39 – 49,6)
<b>Uzrok bubrežnog zatajenja</b>			
kronični glomerulonefritis		42 (46,67 %)	15 (50,00 %)
kronični intersticijski nefritis		21 (23,33 %)	6 (20,00 %)
policistična bolest bubrega		10 (11,11 %)	6 (20,00 %)
dijabetička nefropatija		8 (8,88 %)	–
ostalo ili nepoznato		9 (10,00 %)	3 (10,00 %)

\*Broj ispitanika po skupinama prikazan je kao apsolutna (broj) i relativna (postotak) vrijednost. Dob ispitanika i vrijednosti serumskih biljega prikazani su kao medijan i raspon. Trajanje dijalize je prikazano kao aritmetička sredina +/- standardna devijacija. Vrijednost Ca x PO<sub>4</sub> predstavlja umnožak vrijednosti Ca i PO<sub>4</sub>.

\*\*Statistički značajno više vrijednosti u odnosu na kontrolnu i transplantiranu grupu ( $P < 0,05$ ).

Isključni kriteriji za pristupanje istraživanju su akutna infekcija, maligna bolest, peritonejska dijaliza, paraplegija, izloženost aluminiju, hipoalbuminemija, akutno bubrežno zatajenje, poremećaj jetrene funkcije, paratiroidektomija i prijašnja transplantacija bubrega (za pacijente u hemodijaliziranoj skupini). Ispitanici nisu primali kortikosteroide (osim transplantiranih), nesteroidne antireumatike, antikoagulate, estrogene ili androgene. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo i pismeni informirani pristanak dobiven je od svih sudionika.

Hemodijalizirani ispitanici i primatelji bubrežnog transplantata na terapiji vitaminom D imaju značajno više razine OPG-a, uz značajno niže razine sRANKL-a, u odnosu na ispitanike bez terapije vitaminom D. Ovi rezultati govore u prilog povoljnog učinka vitamina D na koštano-mineralni metabolizam i na očuvanje koštane mase u ispitanika na HD-u i primatelja bubrežnog transplantata.

#### Uzimanje venske krvi

Sudionicima istraživanja je uzeta venska krv ujutro, natašte. Ispitanicima u skupini primatelja bubrežnog transplantata krv je uzeta 12 mjeseci nakon transplantacije, i u daljnjem tekstu je ova skupina označena s Tx. Uzorci su centrifugirani kako bi se odvojila plazma od stanica i pohranjeni na  $-80^{\circ}\text{C}$ . Uzorci krvi nisu podvrgnuti opetovanim otapanju i smrzavanju.

#### Laboratorijska mjerenja

Mjerenje razine kreatinina, ukupnog kalcija, ioniziranog kalcija, fosfata i albumina učinjeno je u Kliničkom bolničkom centru Rijeka, koristeći automatski analizator (Olympus Apparatus, Rungis, France). iPTH je mjereno uz pomoć IMMULITE/IMMULITE 1000 Intact PTH (Siemens Medical Solution Diagnostics, Deerfield, USA). Serumski OPG i sRANKL izmjereni su komercijalno dostupnim kitovima Biomedica (Biomedica Gruppe, Wien, Austria).

#### Statistička analiza podataka

Kako bismo istražili omjer serumske vrijednosti RANKL/OPG u odnosu na visinu netaknutog para-

tireoidnog hormona (iPTH) podijelili smo serumske razine iPTH-a na normalni ( $< 11$  pmol/l), srednje povišen ( $11 - 33$  pmol/l) i visoki ( $> 33$  pmol/l) iPTH. Podaci o skupinama ispitanika su prikazani kao apsolutne (broj) i relativne (postotak) vrijednosti. Dobiveni rezultati izraženi su kao medijan i raspon, aritmetička sredina i standardna devijacija (SD) te umnožak vrijednosti. Normalnost raspodjele dobivenih rezultata testirana je Kolmogorov- Smirnovljevim testom. Statistička metoda obrade bila je ANOVA test za neparametrijske podatke. Razina od  $P < 0,05$  smatra se statistički značajnom. Postupci statističke raščlambe učinjeni su pomoću računalnog programa STATISTICA<sup>®</sup> 8 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD).

## REZULTATI

### Vrijednosti koštanih markera u ispitivanim skupinama

Osnovne karakteristike ispitanika i vrijednosti koštanih markera prikazani su u tablici 1. Skupina ispitanika na HD imala je statistički značajno povećane vrijednosti alkalne fosfataze (AP), OPG-a, topive forme RANKL-a (sRANKL) i iPTH-a u usporedbi s kontrolnom i Tx skupinom ( $P < 0,05$ ).

### Razine iPTH-a u ispitivanim skupinama

Podijelili smo ispitanike svake skupine prema izmjerenim vrijednostima iPTH-a na niži, srednji i viši tercil ( $< 11$ ,  $11 - 33$ ,  $> 33$  pmol/l). Kod skupine pacijenata na HD-u 15,56 % pacijenata je unutar nižeg, 40 % unutar srednjeg i 44,44 % unutar višeg tercila. U Tx skupini 20 % pacijenata je unutar nižeg, dok je ostalih 80 % unutar srednjeg tercila. Kod kontrolne skupine svi su ispitanici unutar nižeg tercila (tablica 2).

### RANKL/OPG omjer u odnosu na normalni, srednje povišen i visoki iPTH u hemodijaliziranim ispitanika, primatelja bubrežnog transplantata i zdravih kontrola

Slika 1 prikazuje serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG u ispitanika s kroničnom bubrežnom bolesti stadij 5 (hemodijalizirani), primatelja bubrežnog transplantata i zdravih kontrola u odnosu na serumske vrijednosti iPTH. Razina serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG statistički je značajno viša u ispitanika s iPTH  $> 33$  pmol/l u odno-

**Tablica 2.** Razine iPTH u ispitivanim skupinama\*

	iPTH < 11 pmol/l	iPTH 11 – 33 pmol/l	iPTH > 33 pmol/l
Kontrolna grupa, N = 40 (100 %)	40 (100 %)	–	–
Hemodijalizirana grupa, N = 90 (100 %)	14 (15,56 %)	36 (40,00 %)	40 (44,44 %)
Transplantirana grupa, N = 30 (100 %)	6 (20,00 %)	24 (80,00 %)	–

\*Broj ispitanika po skupinama prikazan je kao apsolutna (broj) i relativna (postotak) vrijednost.

su na ispitanike sa srednjim vrijednostima iPTH-a, 11 – 33 pmol/l ( $P < 0.05$ ). U ispitanika s normalnim vrijednostima iPTH-a (< 11 pmol/l) nema značajne razlike u vrijednosti RANKL/OPG u odnosu na srednje povišen i visok iPTH.

#### RANKL/OPG omjer u odnosu na normalni, srednje povišen i visok iPTH u hemodijaliziranih ispitanika i primatelja bubrežnog transplantata

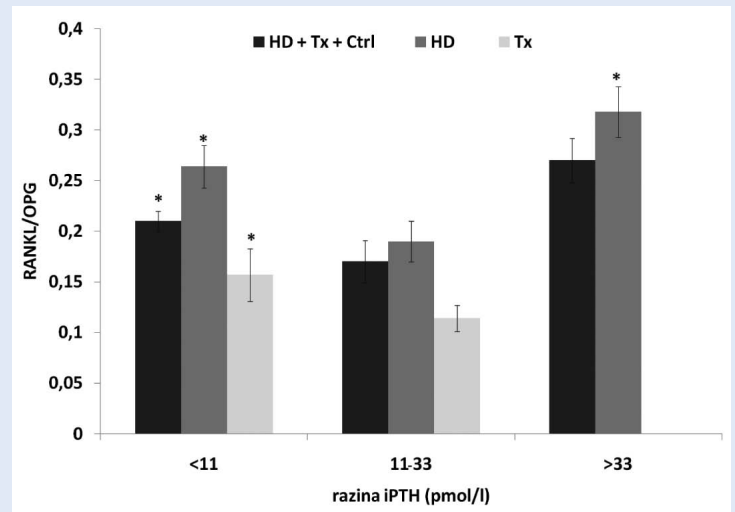
Serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG u ispitanika s kroničnom bubrežnom bolesti stadij 5 (hemodijalizirani) u odnosu na serumske vrijednosti iPTH-a. Razina serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG statistički je značajno viša u ispitanika s iPTH < 11 pmol/l te u ispitanika s iPTH > 33 pmol/l, u odnosu na ispitanike sa srednjim vrijednostima iPTH-a, 11 – 33 pmol/l ( $P < 0.05$ ). U ispitanika s normalnim vrijednostima iPTH < 11 pmol/l nije nađena značajna razlika u serumskoj vrijednosti RANKL/OPG u odnosu na srednje povišen i visok iPTH (slika 1).

Serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG u primatelja bubrežnog transplantata u odnosu na serumske vrijednosti iPTH-a. Razina serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG statistički je značajno viša u ispitanika s iPTH < 11 pmol/l u odnosu na ispitanike sa srednjim vrijednostima iPTH-a, 11 – 33 pmol/l ( $P < 0.05$ ) (slika 1).

#### Serumske razine OPG-a i RANKL-a u odnosu na terapiju vitaminom D u hemodijaliziranih ispitanika i primatelja bubrežnog transplantata

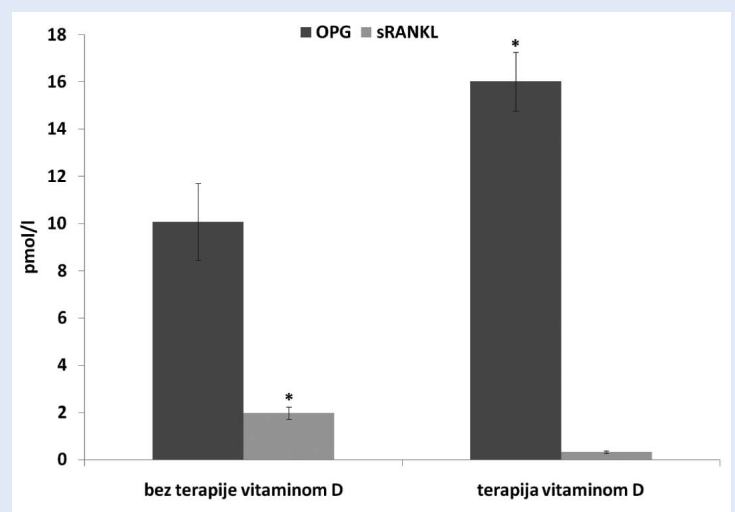
Slika 2 prikazuje razine osteoprotegerina i sRANKL-a u ispitanika s kroničnom bubrežnom bolesti stadij 5 (hemodijalizirani) i primatelja bubrežnog transplantata bez terapije vitaminom D u odnosu na terapiju vitaminom D. Razina serumske vrijednosti osteoprotegerina je statistički značajno povećana u ispitanika na terapiji vitaminom D, u odnosu na skupinu bez terapije ( $P < 0.05$ ). Razina

**Slika 1.** Serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG u hemodijaliziranih (HD) ispitanika, primatelja bubrežnog transplantata (Tx) i zdravih kontrola u odnosu na serumske vrijednosti iPTH-a\*\*.



\*\*Stupci predstavljaju aritmetičku sredinu  $\pm$  SD. \* $P < 0,05$  značajno više razine, u odnosu na skupinu s iPTH 11 – 33 pmol/l unutar skupine ispitanika. HD = hemodijaliza; Tx = transplantacija; Ctrl = kontrola.

**Slika 2.** Razine osteoprotegerina i RANKL-a u ispitanika s kroničnom bubrežnom bolesti stadij 5 (hemodijalizirani) i primatelja bubrežnog transplantata bez terapije vitaminom D, u odnosu na terapiju vitaminom D\*\*.



\*\*Stupci predstavljaju aritmetičku sredinu  $\pm$  SD. \* $P < 0,05$  značajno više razine, u odnosu na grupu bez terapije vitaminom D.

serumske vrijednosti sRANKL-a je statistički značajno povećana u ispitanika bez terapije vitaminom D, u odnosu na ispitanike na terapiji vitaminom D ( $P < 0.05$ ).

#### RASPRAVA

Pregledom literature uočen je mali broj studija koji istražuje utjecaj omjera serumske vrijednosti RANKL/OPG općenito, također, ne postoje studije koje istražuju utjecaj tog omjera kod pacijenata s kroničnom bubrežnom bolesti stadij 5 (hemodija-

Omjer razina serumskih vrijednosti RANKL/OPG mogao bi imati bolje prognostičke vrijednosti uspoređen s iPTH vrijednostima negoli zasebno mjerenje tih čimbenika. Ostaje nejasno zašto je omjer RANKL/OPG bio najniži u umjereno povišenim vrijednostima iPTH-a (11 – 33 pmol/l) kod hemodijaliziranih ispitanika i primatelja bubrežnog transplantata. Prema navedenom potrebno je provesti dodatna istraživanja, kako bismo dobili odgovor na ovo pitanje.

lizirani) i kod primatelja transplantiranog bubrega. Omjer RANKL/OPG smatra se serumskim biljekom koji dobro korelira sa stupnjem kalcifikacije koronarnih arterija, koštanim metabolizmom prilikom terapije kortikosteroidima, ili kao biljeg stanja cijeljenja koštanih prijeloma<sup>19-21</sup>. Naši rezultati pokazuju kako je serumski omjer RANKL/OPG značajno viši kod iPTH vrijednosti  $> 33$  pmol/l kad se analiziraju sve ispitivane grupe zajedno (HD, Tx i kontrolna skupina), što je i očekivan rezultat djelovanja iPTH-a. iPTH povisuje ekspresiju RANKL-a te snizuje ekspresiju OPG-a, dovodeći do kataboličkog/osteoklastičnog učinka na kost<sup>22,23</sup>.

Analiza pacijenata na HD-u u usporedbi sa serumskim iPTH vrijednostima pokazuje kako su serumske vrijednosti omjera RANKL/OPG bile značajno povišene kod onih s iPTH  $< 11$  pmol/l i kod onih s iPTH  $> 33$  pmol/l, u usporedbi s onima koji su imali vrijednosti iPTH-a u prosjeku 11 – 33 pmol/l. Očekuje se kako će pri višim iPTH vrijednostima vrijednost omjera RANKL/OPG rasti. Stoga ostaje nejasno zašto pacijenti s vrijednostima iPTH 11 – 33 pmol/l imaju niže vrijednosti omjera

RANKL/OPG. Nadalje, rezultati pokazuju kako je kod Tx grupe omjer serumskih razina RANKL/OPG značajno povišen kod onih s iPTH  $< 11$  pmol/l, u usporedbi s onima čiji je iPTH 11–33 pmol/l. Ova obrnuta povezanost između iPTH-a i omjera RANKL/OPG može biti objašnjena PTH-ovisnom aktivacijom anaboličkog puta, ili intermitentnim lučenjem iPTH-a, što dovodi do smanjenja koštane resorpcije, a očituje se smanjenjem vrijednosti omjera RANKL/OPG<sup>24</sup>. Također, poznato je i kako egzogeno uneseni PTH može imati i osteoblastični i osteoklastični učinak, ovisno o načinu i duljini trajanja primjene<sup>22,25</sup>. Dodatno, umjereno kronično povećanje razina PTH-a povećava i broj osteoblasta i stvaranje kosti. To se događa prvenstveno, putem stimulacije koštane resorpcije, kada dolazi do otpuštanja čimbenika rasta ugrađenih u koštani matriks, s posljedičnim poticanjem osteoblastogeneze<sup>26</sup>.

Analizom utjecaja terapije vitaminom D na serumske vrijednosti OPG-a u HD i Tx skupini otkriveno je kako pacijenti liječeni vitaminom D imaju značajno više razine OPG-a u usporedbi s neliječenima. Lipe *et al.* navode slične rezultate u svojoj studiji, a takvi rezultati su očekivani i u skladu s poznatim učincima vitamina D na koštani metabolizam<sup>27,28</sup>. Analizirali smo i utjecaj terapije vitaminom D na serumske vrijednosti sRANKL-a u HD i Tx skupini. Uočene su značajno više razine serumskog sRANKL-a kod pacijenata koji nisu primali terapiju vitaminom D negoli je to bio slučaj s onima na terapiji vitaminom D. Luo *et al.* istraživali su utjecaj vitamina D na RANKL signalni put. Prema njihovim rezultatima razina RANKL-a bila je značajno snižena u grupi liječenih vitaminom D u usporedbi s grupama bez terapije vitaminom D<sup>29</sup>. S obzirom na učinak vitamina D na koštani metabolizam, ali i antagonistički učinak OPG-a i sRANKL-a, bilo je očekivano da oni pacijenti koji nisu primali terapiju vitaminom D imaju značajno više vrijednosti sRANKL-a zbog većeg stupnja koštane resorpcije<sup>30-33</sup>.

#### ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata ovog istraživanja utvrđeno je nekoliko činjenica:

Pacijenti na HD-u i ispitanici iz Tx skupine na terapiji vitaminom D imaju značajno više vrijednosti

OPG-a, uz značajno snižene vrijednosti sRANKL-a, u usporedbi s onima bez terapije vitaminom D. Ovi rezultati podupiru hipotezu o pozitivnim učincima terapije vitaminom D na mineralno-koštani metabolizam te očuvanje koštane mase kod pacijenata na HD-u te primatelja bubrežnog transplantata.

Omjer izmjerenih serumskih vrijednosti RANKL/OPG mogao bi imati bolje prognostičke vrijednosti s iPTH-om negoli zasebno mjerenje tih čimbenika. Ipak, ostaje nejasno zašto je vrijednost omjera RANKL/OPG bila najniža kod pacijenata na HD-u i primateljima bubrežnog transplantata s umjereno visokim vrijednostima iPTH-a (11 – 33 pmol/l). Potrebna su, stoga, dodatna istraživanja kako bismo dobili odgovor na ovo pitanje.

**Izjava o sukobu interesa:** Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

## LITERATURA

- Covic A, Vervloet M, Massy ZA, Torres PU, Goldsmith D, Brandenburg V et al. Bone and Mineral Disorders in Chronic Kidney Disease: Implications for Cardiovascular Health and Ageing in the General Population. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2018;6:319-31.
- El-Kishawi AMW, El-Nahas AM. Renal Osteodystrophy: Review of the Disease and its Treatment. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2006;17:373-82.
- Slatopolsky E, Gonzalez E, Martin K. Pathogenesis and Treatment of Renal Osteodystrophy. *Blood Purif* 2003; 21:318-26.
- Joy MS, Karagiannis PC, Peyerl FW. Outcomes of Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Kidney Disease and the Direct Costs of Treatment. *J Manag Care Pharm* 2007;13:397-411.
- Lončarić A. Ekspresija OPG/RANKL sustava u kroničnoj bubrežnoj bolesti i kod primatelja transplantiranog bubrega. Rijeka: Medicinski fakultet, 2019. Diplomski rad.
- Kazama JJ, Wakasugi M. Parathyroid Hormone and Bone in Dialysis Patients. *Ther Apher Dial* 2018;22:229-35.
- Kumar R, Thompson JR. The Regulation of Parathyroid Hormone Secretion and Synthesis. *Am Soc Nephrol*. 2011;22:216-224.
- Hruska KA, Saab G, Mathew S, Lund R. Renal Osteodystrophy, Phosphate Homeostasis, and Vascular Calcification. *Semin Dial* 2007;20:309-15.
- Reid IR. Glucocorticoid osteoporosis--mechanisms and management. *Eur J Endocrinol* 1997;137:209-17.
- Bonarek H, Merville P, Bonarek M, Moreau K, Morel D, Aparicio M et al. Reduced parathyroid functional mass after successful kidney transplantation. *Kidney Int* 1999;56:642-9.
- Sprague SM, Belozeroff VB, Danese MD, Martin LP, Olgard K. Abnormal Bone and Mineral Metabolism in Kidney Transplant Patients – A Review. *Am J Nephrol* 2008; 28:246-53.
- Gršković A, Čelić T, Fučkar D, Markić D, Trošelj M, Bobinac D. Increased Bone Turnover Markers after Renal Transplantation. *Coll Antropol* 2010;34:145-8.
- Bouquegneau A, Salam S, Delanaye P, Eastell R, Khwaja A. Bone Disease after Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016;11:1282-96.
- Kiechl S, Werner P, Knoflach M, Furtner M, Willeit J, Schett G. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2006;4:801-11.
- Znorko B, Oksztulska-Kolanek E, Michałowska M, Kaminski T, Pawlak K. Does the OPG/RANKL System contribute to the bone-vascular axis in Chronic Kidney Disease? A Systematic Review. *Adv Med Sci* 2017;62:52-64.
- Trouvin A-P, Goëb V. Receptor Activator of Nuclear Factor-κB Ligand and Osteoprotegerin: Maintaining the Balance to prevent bone loss. *Clin Interv Aging* 2010;5: 345-54.
- Barragan AM, Barrera IG, Sanchez-Nino MD, Ucero AC, Gonzalez-Espinoza L, Ortiz A. Osteoprotegerin and kidney disease. *J Nephrol* 2014;27:607-17.
- Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2007;9:S1. [cited: June, 19th]. Available from: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar2165>.
- Mohammadpour HA, Shamsara J, Nazemi S, Ghadirzadeh S, Shahsavand S, Ramezani M. Evaluation of RANKL/OPG Serum Concentration Ratio as a New Biomarker for Coronary Artery Calcification: A Pilot Study. *Thrombosis* 2012;2012:306263. doi: 10.1155/2012/306263.
- Wasilewska A, Rybi-Szuminska A, Zoch-Zwierz W. Serum RANKL, osteoprotegerin (OPG), and RANKL/OPG ratio in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 2010;25:2067-75.
- Wang XF, Zhang YK, Yu ZS, Zhou JL. The role of the serum RANKL/OPG ratio in the healing of intertrochanteric fractures in elderly patients. *Mol Med Rep* 2013;7:1169-72.
- Huang JC, Sakata T, Pflieger LL, Bencsik M, Halloran BP, Bikle DD et al. PTH Differentially Regulates Expression of RANKL and OPG. *J Bone Miner Res* 2004;19:235-44.
- Khosla S. Minireview: The OPG/RANKL/RANK System. *Endocrinology* 2001;142:5050-5.
- Znorko B, Pawlak D, Oksztulska-Kolanek E, Domaniewska T, Pryczynicz A, Roszczenko A et al. RANKL/OPG system regulation by endogenous PTH and PTH1R/ATF4 axis in bone: Implications for bone accrual and strength in growing rats with mild uremia. *Cytokine* 2018;106:19-28.
- Doumouchtsis K, Perrea D, Doumouchtsis S, Tziamalīs M, Poulakou M, Vlachos I et al. Regulatory Effect of Parathyroid Hormone on sRANKL-Osteoprotegerin in Hemodialysis Patients With Renal Bone Disease. *Ther Apher Dial* 2009;13:49-55.
- Yavropoulou MP, Michopoulos A, Yovos JG. PTH and PTHR1 in osteocytes. New insights into old partners. *Hormones* 2017;16:150-60.
- Lipe B, Kambhampati S, Van Veldhuizen P, Yacoub A, Aljittawi O, Mikhael J. Correlation between markers of bone metabolism and vitamin D levels in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Blood Cancer J* [Internet] 2017;7:646. [cited: June, 29th]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5802504/pdf/41408\\_2017\\_Article\\_15.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5802504/pdf/41408_2017_Article_15.pdf).

28. Baldock PA, Thomas GP, Hodge JM, Baker UKS, Dressel U, O'Loughlin DP. Vitamin D Action and Regulation of Bone Remodeling: Suppression of Osteoclastogenesis by the Mature Osteoblast. *J Bone Miner Res* 2006;21:1618-26.
29. Luo J, Wen H, Guo H, Cai Q, Li S, Li X. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Inhibits the RANKL Pathway and Impacts on the Production of Pathway-Associated Cytokines in Early Rheumatoid Arthritis. *Biomed Res Int* [Internet] 2013;2013:101805. [cited: June, 30th]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/101805/>.
30. Bikle DD. Vitamin D and Bone. *Curr Osteoporos Rep* 2012;10:151-9.
31. Van Driel M, Van Leeuwen JPTM. Vitamin D endocrine system and osteoblasts. *Bonekey Rep* 2014;3:493.
32. Gil A, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab* 2018;72:87-95.
33. Anderson PH, Sawyer RK, Moore AJ, May BK, O'Loughlin PD, Morris HA. Vitamin D Depletion Induces RANKL-Mediated Osteoclastogenesis and Bone Loss in a Rodent Model. *J Bone Miner Res* 2008;23:1789-97.