

Serumski fosfat kao čimbenik rizika kardiovaskularnoga pobola u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2

Katičić, Dajana

Doctoral thesis / Disertacija

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:854810>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Dajana Katičić

**Serumski fosfat kao čimbenik rizika
kardiovaskularnoga pobola u
bolesnika sa šećernom bolešću tip 2**

DISERTACIJA



Zagreb, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Dajana Katičić

**Serumski fosfat kao čimbenik rizika
kardiovaskularnoga pobola u
bolesnika sa šećernom bolešću tip 2**

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

Disertacija je izrađena u Klinici za unutarnje bolesti i Klinici za bolesti srca i krvnih žila Kliničkog bolničkog centra „Sestre milosrdnice“ u Zagrebu.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Draško Pavlović

Zahvaljujem mentoru, prof.dr.sc. Drašku Pavloviću na pomoći, potpori i vodstvu prilikom izrade disertacije.

Obitelji i suprugu, na motivaciji, odricanju i stalnoj potpori.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Fiziologija fosfata	1
1.2. Biološka funkcija fosfata	2
1.3. Homeostaza koncentracije fosfata	3
1.3.1. Apsorpcija fosfora u crijevima	6
1.3.2. Regulacija fosfata bubrezima	9
1.3.2.1. PTH	10
1.3.2.2. Vitamin D	11
1.3.2.3. FGF 23	12
1.4. Povezanost fosfata i šećerne bolesti tip 2	14
1.4. Povezanost fosfata i kardiovaskularnih komplikacija	15
2. HIPOTEZA.....	18
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	19
4. ISPITANICI I METODE.....	20
5. REZULTATI.....	24
5.1. Karakteristike ispitanika.....	24
5.2. Serumski fosfat.....	27
5.3. Indeks Ca x P	40
5.4. Kardiovaskularni događaji	43
5.5. Prediktivna svojstva serumskog fosfata	47
6. RASPRAVA.....	57
6.1. Povezanost serumske koncentracije fosfata i anemije	59
6.2. Povezanost serumske koncentracije fosfata i ženskog spola.....	60
6.3. Povezanost serumske koncentracije fosfata i ITM.....	61

6.4. Povezanost serumske koncentracije fosfata i krvnog tlaka.....	65
6.5. Povezanost serumske koncentracije fosfata i kardiovaskularnih događaja.....	66
7. ZAKLJUČAK.....	70
8. SAŽETAK	72
9. SUMMARY	74
10. POPIS LITERATURE	76
11. ŽIVOTOPIS	90

POPIS OZNAKA I KRATICA

ApoE - apolipoprotein E

ATP - adenzin trifosfat

ATP-aza - adenzin trifosfataza

ANP - atrijski natriuretski peptid

AUC – engl. *area under curve*

Ca - kalcij

cAMP - ciklički adenzin monofosfat

cGMP - ciklički gvanozin monofosfat

CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

CKD-EPI formula - jednađba za procjenu glomerularne filtracije (*engl. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration formula*)

CRP - C reaktivni protein

DKT - dijastolički krvni tlak

DNK - deoksiribonukleinska kiselina

EGF - epidermalni čimbenik rasta (*engl. epidermal growth factor*)

ERK ½ - protein kinaza 1 i 2 regulirana izvanstaničnim signalom (*engl. extracellular signal-regulated protein kinase 1 and 2*)

FGF 23 - čimbenik rasta fibroblasta 23 (*engl. fibroblast growth factor 23*)

GFR - procjena glomerularne filtracije (*engl. glomerular filtration rate*)

GUP - glukoza u plazmi

HbA_{1c} - glikozilirani hemoglobin A

HDL - lipoprotein velike gustoće (*engl. high density lipoprotein*)

IGF-1 - čimbenik rasta sličan inzulinu-1 (*engl. insulin-like growth factor-1*)

IL – interleukin

INZ - inzulin

IP3 - inozitol trifosfat

ITM - indeks tjelesne mase

KBB - kronična bubrežna bolest

KBB-MKP - kronična bubrežna bolest-mineralno koštani poremećaj

KOPB - kronična opstruktivna plućna bolest

KV – kardiovaskularni

KVB – kardiovaskularna bolest

LDL - lipoprotein male gustoće (engl. *low density lipoprotein*)

MDRD formula - jednadžba za procjenu glomerularne filtracije (engl. *Modification of Diet in Renal Disease study*)

mRNK - mitohondrijska ribonukleinska kiselina

NaPi –IIb - natrij-fosfor IIb kotransporter

NHANES - Nacionalno istraživanje o zdravstvenom i prehrambenom statusu (engl. *National Health and Nutrition Examination Survey*)

OR - engl. *odds ratio*

P - fosfat

PKA - protein kinaza A

PKC - protein kinaza C

PO₄³⁻ - fosfatni ion

PTH - paratireoidni hormon

PTHR1 - parathormon receptor 1

ROC - engl. *receiver operating characteristic curve*

RNK - ribonukleinska kiselina

SAD - Sjedinjene Američke Države

SKT - sistolički krvni tlak

TBL - tablete

TGF-β - čimbenik rasta fibroblasta beta (engl. *transforming growth factor beta*)

VDR - vitamin D receptor

1. UVOD

Anorganski fosfat igra važnu uloga u brojnim fiziološkim funkcijama organizma kao što su rast i razvoj kostiju, građa i funkcija fosfolipidne membrane, stanična signalizacija, agregacija trombocita, stvaranje i prijenos energije u mitohondrijima, regulacija acido-baznog statusa i mnogim drugim bazičnim procesima. Snižena koncentracija fosfata uzrokuje poremećaje u mišićnokoštanom sustavu ukazujući na njegovu važnu ulogu u metabolizmu i mineralizaciji skeleta. Povećana koncentracija fosfata može potaknuti heterotopnu mineralizaciju te se povezuje s povećanim mortalitetom, pogotovo u kroničnoj bubrežnoj bolesti (KBB).

1.1. Fiziologija fosfata

Tijelo odrasle osobe sadrži oko 700 g fosfata od čega 85% čini sadržaj u kostima (u obliku hidroksiapatita). Preostalih 14% je intracelularno i samo 1% je ekstracelularno. Samo 0.15% ukupno fosfata u tijelu je u slobodnom cirkulirajućem obliku i taj postotak se mjeri kao serumski fosfat. Fosfat je u ljudskom tijelu prisutan u anorganskom i organskom obliku. Serum sadrži uglavnom anorganski oblik fosfata koji postoji ponajprije u obliku strukturnog iona fosfata (PO_4^{3-}) (dihidrogen i monohidrogen fosfat), a mjeri se u koncentraciji u prosjeku 0,97-1,29 mmol/L kod starije djece i odraslih. Također je jedan od sastojaka hidroksiapatita (mineralna osnova skeleta kralježnjaka). Meka tkiva i izvanstanične tekućine sadrže organski oblik fosfata u kompleksu s ugljikohidratima, lipidima i proteinima. Anorganski fosfat odnosno njegov oblik strukturni ion fosfata, najčešća je mjerena frakcija. Organska komponenta u fosfolipidima se rutinski ne mjeri, a sadrži otprilike dvije trećine ukupnog serumskog fosfata (1). Izrazi fosfor i fosfat često se izmjenjuju, ali glavna je

razlika da je fosfor element a fosfat je anion odnosno derivat fosfora koji nastaje spajanjem atoma fosfora (P) iz prehrambenih proizvoda i kisika (O).

1.2. Biološka funkcija fosfata

Fosfat je glavni mineralni sastojak kostiju i jedan od najzastupljenijih minerala u tijelu. Otprilike 85% fosfata u tijelu nalazi se u kostima i zubima, u obliku hidroksiapatita, a zajedno fosfat i kalcij čine oko 80 do 90% sastava kostiju. Hidroksiapatit čini mineralizirani matriks u koštanom tkivu i doprinosi njegovim jedinstvenim biomehaničkim svojstvima. Homeostaza fosfata je usko povezana s homeostazom kalcija zbog djelovanja hormona koji reguliraju kalcij, poput paratireoidnog hormona (PTH) i 1,25-dihidroksi-vitamina D (1,25 (OH) 2D), na razini kosti, crijeva i bubrega. Preostalih 15% fosfata prisutnog u tijelu sastavni je dio različitih funkcija u rasponu od prijenosa genetskih informacija do iskorištavanja energije. Fosfat je strukturna komponenta DNK i RNK te je na taj način uključen u pohranu i prijenos genetskog materijala. Isto tako je bitna komponenta fosfolipida (npr. fosfatidilkolina) koji tvore sve dvoslojne membrane u tijelu. Fosfolipidi su bitni za optimalno zdravlje mozga i utječu na komunikacijske procese i funkcije receptora. Mnogi su šećeri, proteini i enzimi u tijelu fosforilirani, a taj postupak često određuje aktivnost i njihovu funkciju. Fosfat je sastavni dio adenzin trifosfata (ATP), ključnog izvora energije u tijelu. Ostale fosforilirane molekule (npr. kreatin-fosfat u mišićima) služe kao brzi izvor fosfata za proizvodnju ATP-a i transdukciju energije u substratnom metabolizmu. Mnogi procesi unutarstanične signalizacije ovise o spojevima koji sadrže fosfat, kao što su ciklički adenzin monofosfat (cAMP), ciklički gvanozin monofosfat (cGMP) i inozitol polifosfati (npr. inozitol trifosfat (IP3)). Fosfat kao 2,3-bisfosfoglicerat (koji se još naziva i 2,3-difosfoglicerat) igra važnu ulogu u disocijaciji kisika iz hemoglobina. Stanični fosfat je glavni unutarstanični pufer i stoga je ključan za regulaciju pH u ljudskom tijelu (2).

Prema navedenom, fosfat je jedan od najbogatijih sastojaka svih tkiva i poremećaji u njegovoj homeostazi mogu utjecati na gotovo svaki organski sustav.

1.3. Homeostaza koncentracije fosfata

Koncentracija fosfata je čvrsto regulirana u uskom rasponu u zdravih osoba, a neto ravnoteža fosfata ovisi o prehranbenom unosu fosfora (pretežito proteina), gastrointestinalnoj apsorpciji (većinom u jejunumu), protoku između izvanstaničnog i unutarstaničnog odjeljka (kosti) te bubrežnoj funkciji. Apsorpcija fosfora iz hrane ovisi o paracelularnom putu (Na-neovisan put, vođen povišenim intrainestinalnim sadržajem fosfora) i aktivnom Na-ovisnom kotransporteru. Navedeni proces apsorpcije je pod utjecajem prehrane, a potiče ga 1,25 dihidroksivitamin D3 (kalcitriol) (3). Nakon apsorpcije fosfat ulazi u ekstracelularni prostor i pod utjecajem PTH ulazi i izlazi iz koštanog sustava. Bubrezi gotovo u cijelosti upravljaju izlučivanjem fosfata koji se u glomerulima filtrira u slobodnom obliku i reapsorbira većinom u proksimalnim tubulima putem Na-fosfat kotransportera. Unos fosfora prehranom, PTH i faktor rasta fibroblasta 23 (FGF-23) utječu na prag reapsorpcije u proksimalnom tubulu. Pri niskoj razini serumskog fosfata dolazi do povećanja sinteze Na-fosfat kotransportera s posljedičnim povećanjem reapsorpcije u proksimalnom tubulu i posljedičnim povećanjem serumske koncentracije fosfata (4). Kontraregulatori su PTH i FGF-23 koji povećavaju fosfaturiju smanjenjem broja Na-fosfat kotransportera s posljedičnim padom serumske koncentracije fosfata (Tablica 1).

Glavnu ulogu u regulaciji povišene serumske koncentracije fosfata ima FGF-23 čija koncentracija raste s porastom koncentracije fosfata. FGF-23 smanjuje apsorpciju crijevnog fosfora (indirektno inhibicijom kalcitriola), povećava direktno fosfaturiju i smanjuje resorpciju kostiju (indirektno smanjanjem proizvodnje PTH). Učinak PTH je dvosmjernan. Povećava izravno resorpciju kostiju i crijevnu apsorpciju fosfora (stimulacijom kalcitriola) s

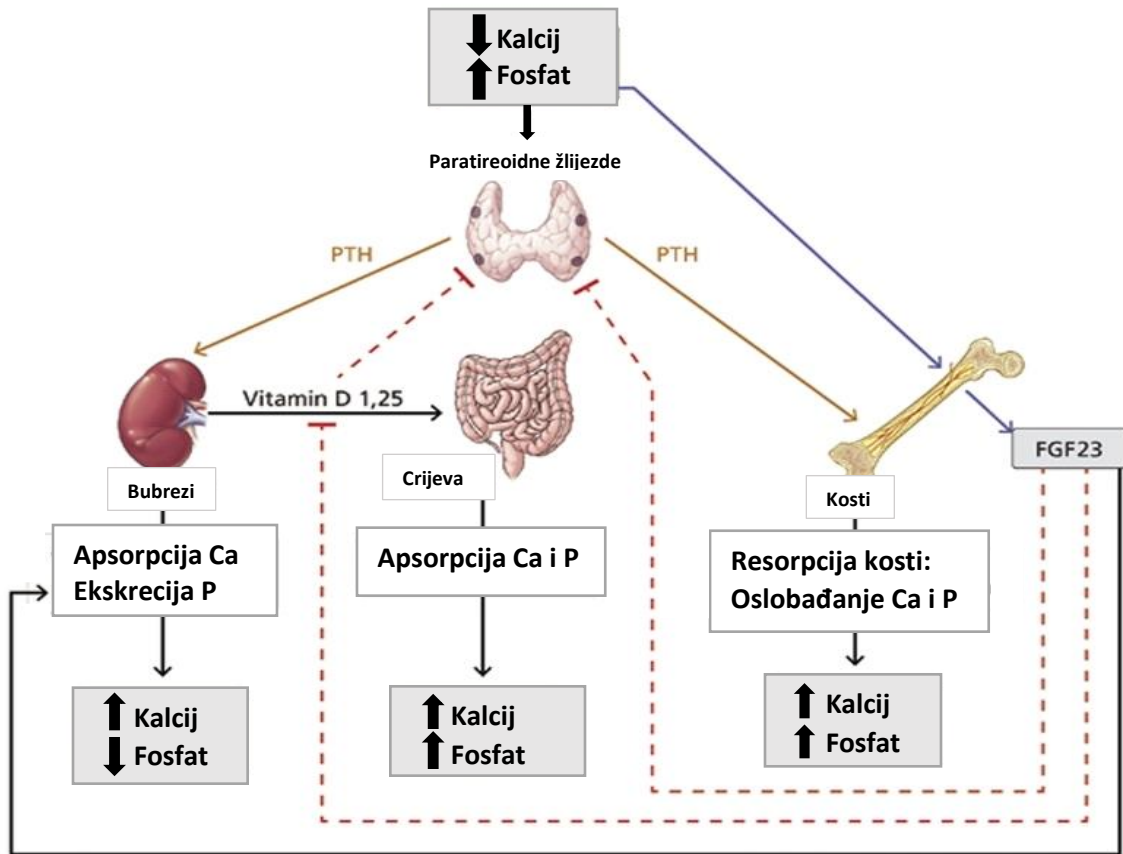
posljedičnim povećanjem serumske koncentracije fosfata te povećava i fosfaturiju (5). Paratiroidni hormon stimulira FGF-23 i kalcitriol, dok FGF-23 inhibira PTH i kalcitriol a kalcitriol također inhibira PTH (Slika 1). Koncentracija ta dva kontraregulatora raste već u ranim stadijima kronične bubrežne bolesti, FGF-23 ranije od PTH, puno prije mjerljivog porasta serumske koncentracije fosfata. S napredovanjem kronične bolesti bubrega, odnosno padom glomerularne filtracije raste serumska koncentracija fosfata s ponovnim odgovorom navedenih regulatora i posljedičnom normalizacijom serumske koncentracije fosfata. Navedeni mehanizmi postaju nedostadni s daljnim padom glomerularne filtracije ispod 25 do 40 ml/min/1.73m² (6).

Tablica 1.

Čimbenici koji utječu na koncentraciju fosfata u serumu

Povećavaju serumsku koncentraciju fosfata	Smanjuju serumsku koncentraciju fosfata
Bubrežno zatajenje (smanjuje izlučivanje)	FGF-23 (povećava izlučivanje bubrezima, smanjuje crijevnu apsorpciju, smanjuje koncentraciju PTH)
Vitamin D (povećava apsorpciju crijeva)	Prehrana s manjim sadržajem fosfora
Pojačano opterećenje fosforom (iz prehrane, lijekovi, liza stanica)	Vezači fosfora
PTH povećava oslobađanje fosfata iz kostiju, dok povećava izlučivanje bubrezima, pa je minimalna promjena u serumskoj koncentraciji fosfata.	

Modificirano prema Sekar A, Kaur T, Nally JV, Rincon-Choles H, Jolly S, Nakhoul GN. Phosphorus binders: The new and the old, and how to choose. Cleve Clin J Med. 2018 Aug;85(8):629-638. doi: 10.3949/ccjm.85a.17054.



Slika 1. Hormonska regulacija kalcija i fosfata. Ravnoteža kalcija i fosfata u serumu održava se tijesnom interakcijom paratireoidnog hormona (PTH), vitamina D i faktora rasta fibroblasta 23 (FGF23).

Modificirano prema Sekar A, Kaur T, Nally JV, Rincon-Choles H, Jolly S, Nakhoul GN. Phosphorus binders: The new and the old, and how to choose. Cleve Clin J Med. 2018 Aug;85(8):629-638. doi: 10.3949/ccjm.85a.17054.

1.3.1. Apsorpcija fosfora u crijevima

Prosječna zapadnjačka prehrana osigurava 20 mg fosfora po kilogramu tjelesne težine dnevno. Od toga se apsorbira oko 13 mg/kg, a ostatak se izlučuje stolicom (Tablica 2.) (7). Fosfor se u određenim količinama nalazi u gotovo svim namirnicama, a osobito u mesu, peradi, jajima, ribi, orasima, mliječnim proizvodima, žitaricama punog zrna i bezalkoholnim napicima. Nemasno meso sadrži 180 mg, a jetra 370 mg/100 g, leguminoze, žitarice i orašasti plodovi sadrže od 100 do 400 mg P/100 g. Povrće primjerice krumpir i špinat, te voće primjerice jabuke sadrže manje od 100 mg P/100 g. U mekinjama i orašastim plodovima većina fosfora je u obliku fitinske kiseline. Fosfora ima puno u siru (500 mg/100 g) i u jajima (220 mg/100 g) (8). Procjenjuje se da uobičajenom prehranom Europljani unose između 1000-1600 mg/d fosfora, s gornjom granicom 2600 mg/d (9).

Rezultati istraživanja apsorpcije fosfora u crijevima na eksperimentalnim animalnim modelima su neujednačeni što je posljedica utjecaja prehranbenog statusa, učinka anestezije na motilitet crijeva, razlike u vrstama modela i potencijalnih učinaka proučavanja čitavih organizama za razliku od proučavanja izoliranih segmenata crijeva. Tanko crijevo je glavno mjesto apsorpcije fosfora. U zdravih odraslih osoba apsorpcija fosfora je linearna funkcija unosa fosfora prehranom. Intestinalna apsorpcija fosfora odvija se pomoću dva puta: 1. stanično posredovani mehanizam aktivnog transporta ovisan o natriju, 2. transport neovisan o natriju. Mehanizmi za ovo potonje odvijaju se dijelom paracelularnim putem (10). Postoji kontroverza o tome koliki se udio crijevne apsorpcije fosfora odvija mehanizmom ovisnom o natriju, a koliki je udio neovisan o natriju. Ranije su studije sugerirale da se oko 50% crijevnog transporta fosfora odvija pomoću mehanizama ovisnih o natriju, te da se većina ove aktivnosti odnosi na natrij ovisni transporter NaPi-IIb koji se također nalazi u plućima, debelom crijevu, testisima/epididimisu, jetri te u mliječnim i žlijezdama slinovnicama, a najviše u mliječnim žlijezdama (11). NaPi-IIb je elektrogen, održava 3:1 stehiometriju Na:Pi, preferira dvovalentnu vrstu fosfora i ima visok afinitet za vezanje fosfora (12-16). Ovisno o vrstama i segmentu

crijeva, NaPi-IIb transporteri mogu se regulirati 1,25 dihidroksivitaminom D (povećava aktivnost), FGF-23 (smanjuje aktivnost), prehranom smanjenog sadržaja fosfora (povećava aktivnost) i akutnim opterećenjem fosforom (povećava aktivnost) (17). Energija za navedeni elektrokemijski proces se osigurava natrijevim gradijentom, koji održava natrij-kalij ATP-aza. Proces izlaska fosfora iz enterocita preko bazolateralne membrane i u cirkulaciju je slabo poznat proces. Identificirani su i tip III kotransporter natrij-fosfora PiT1 i PiT2 koji su varijabilno izraženi u crijevima (17). Navedeni kotransporter možda imaju veću ulogu u adaptivnom odgovoru na crijevni transport fosfora nego što je ranije bilo poznato. Proces je dodatno pod značajnim utjecajem alkalnog pH kao inhibitora crijevnog transporta fosfora. Kako većina prehrane u razvijenim zemljama sadrži obilje fosfora, količina apsorbirang fosfora gotovo uvijek premašuje potrebu. Čimbenici koji mogu negativno utjecati na neregulirani, natrijem neovisni proces su stvaranje soli kalcij-fosfata, soli aluminijske ili magnezijeve fosfate u crijevima i starost, što može smanjiti apsorpciju fosfora za čak 50%.

Tablica 2.

Dnevni unos i izlučivanje fosfata
Unos: 1200–1,500 mg/dan (uglavnom iz proteina)
Apsorpcija: 800–900 mg (potpomognuto vitaminom D)
Raspodjela: Kostí (u obliku hidroksiapatita) 85%
Meko tkivo 14%
Izvanstanična tekućina 1%
Izlučivanje: Mokraća 650–700 mg (frakcijsko izlučivanje 15% –20%)
Stolica 150–200 mg

Modificirano prema Sekar A, Kaur T, Nally JV, Rincon-Choles H, Jolly S, Nakhoul GN. Phosphorus binders: The new and the old, and how to choose. Cleve Clin J Med. 2018 Aug;85(8):629-638. doi: 10.3949/ccjm.85a.17054.

1.3.2. Regulacija fosfata bubrežima

Bubreg reagira brzo na promjene koncentracije fosfata u serumu ili na prehrambeni unos fosfora. Ravnoteža između brzine glomerularne filtracije i tubularne reapsorpcije određuje neto bubrežno reguliranje fosfata (18). Koncentracija fosfata u glomerularnom ultrafiltratu je približno 90% od one u plazmi, jer nije sveukupni plazmatski fosfat ultrafiltrabilan (19). Budući da se produkt koncentracije fosfata u serumu i brzine glomerularne filtracije približava filtriranom opterećenju fosfata, promjena GFR može utjecati na homeostazu fosfata ako nije kompenzirana razmjernim promjenama u tubularnoj reapsorpciji. Glavno mjesto reapsorpcije fosfata je proksimalni tubul, gdje se odvija 60% do 70% reapsorpcije. Duž proksimalnog tubula, transport je heterogen, s najvećom aktivnošću u S1 segmentu. Podaci podupiru postojanje resorpcijskog mehanizma fosfata i u distalnom tubulu. Trenutno ne postoji jasan dokaz za tubularnu sekreciju fosfata u ljudi (20).

Ulazak fosfata u tubularne stanice preko luminalne stanične membrane odvija se pomoću aktivnog transportnog sustava koji ovisi o natriju (analogno ko-transportu ovisnom o natriju u crijevima). Brzina transporta fosfata ovisi o količini transportera i veličini Na^+ gradijenta koji se održava preko luminalne membrane. Taj gradijent ovisi o Na^+/K ATPazi ili natrijevoj pumpi na bazolateralnoj membrani. Korak koji ograničava brzinu u transcelularnom transportu vjerovatno je Na^+ ovisan ulaz fosfata kroz luminalnu membranu. Ulazak fosfata u bubrežne epitelne stanice odvija se primarno putem tip II kotransporterata $\text{Na}-\text{Pi}$, a nedavno je otkriven i tip III transporter u bubrežima (21). Tip NaPi-II transporterata regulira glavni transport fosfata u bubrežima, a njihov poremećaj može rezultirati značajnim poremećajima i razvojem bolesti, što ukazuje na njihovu fiziološku važnost (22,23). Kao i kod crijevnog transporta fosfora, i kod bubrežnog transporta fiziološke razlike između obitelji transporterata fosfata omogućuju funkcionalnu raznolikost.

Od transporterata klase II, NaPi-IIa i NaPi-IIc transporteri imaju glavnu ulogu u proksimalnom bubrežnom tubulu. Nekoliko hormona i metaboličkih poremećaja mogu utjecati na reapsorpciju fosfata u bubrežima. Tu se ubrajaju FGF-23, PTH,

kalcitonin, atrijski natrijuretski peptid (ANP), acidoza, estrogen, glukokortikoidi, hiperkalcemija i opterećenje fosfatima inhibiraju reapsorpciju fosfata (24). Suprotno tome, IGF-1, hormon rasta, inzulin, hormon štitnjače, EGF, alkalozna, hipokalcemija i manjak fosfata potiču reapsorpciju fosfata u bubrezima. Središnja uloga FGF-23 u tom procesu otkrivena je istraživanjem kliničkih poremećaja hipofosfatemije posljedično gubitku bubrezima. Vjerojatno su dva najvažnija faktora u regulaciji reapsorpcije u bubrezima FGF-23 i PTH. Zajednički cilj regulacije ovih čimbenika je proksimalna tubularna stanica bubrega. Učinci 1,25 (OH) 2D su manje jasno definirani i takvi učinci in vivo mogu biti posredovani sa PTH ili FGF23. Pokazalo se da u proksimalnom tubulu i distalnom tubulu, PTH smanjuje reapsorpciju fosfata bilo procesom ovisnim o cAMP, ili u nekim slučajevima signalnim mehanizmom neovisnim o cAMP. Iako se pokazalo da kalcitonin inhibira reapsorpciju fosfata u proksimalnom tubulu mehanizmom neovisnim o cAMP, fiziološka važnost je vjerojatno ograničena.

1.3.2.1. PTH

Ispitivanja klasičnih učinaka PTH na transport fosfata u proksimalnim tubulima pokazuju da signalni putevi posredovani cAMP-protein kinazom A (PKA) i protein kinazom C (PKC) mogu modulirati ovaj proces. Inhibicija reapsorpcije fosfata posredovana PTH djeluje putem PKC sustava u niskim koncentracijama hormona i putem PKA u višim koncentracijama. PKA signalizacijski put ima važniju ulogu u regulaciji fosfata u bubrezima. PTH, nakon interakcije sa svojim receptorom, PTHR1, djeluje na brzu i ireverzibilnu endocitozu NaPi-IIa transportera u lizosomima s naknadnom proteolitičkom razgradnjom (25). Za razliku od NaPi-IIa, NaPi-IIc kotransporteri se ne razgrađuju u lizosomima i njihovo uklanjanje iz apikalne membrane možda nije u potpunosti nepovratno (26,27). Iako je za oporavak aktivnosti NaPi-IIa kotransportera nakon inhibicije PTH potrebna sinteza proteina, to možda nije nužno za NaPi-IIc kotransportere. Količina NaPi-IIa-specifične mRNK ne mijenja se paratiroidektomijom, a minimalno se smanjuje primjenom PTH. Ovi podaci ukazuju na PTH kao akutnog regulatora bubrežnog

Na-Pi kotransporta i da je regulacija određena promjenama u broju NaPi-II proteina u bubrežnoj luminalnoj membrani (28). Neki aspekti homeostaze fosfata na bubrežnoj razini ne mogu se objasniti djelovanjem PTH-a. Na primjer, čak i u stanju paratireodektomije, još uvijek postoji regulacija bubrežnog transporta fosfata prehranbenim sadržajem fosfora, što implicira ulogu drugih posrednika u ovom procesu.

1.3.2.2. Vitamin D

Vitamin D se pojavljuje u dva oblika: vitamin D₂ (ergokalciferol) i vitamin D₃ (kolekalciferol). Vitamin D₂ koji se nalazi u biljkama i kvascu, proizvod je djelovanja ultraljubičastih zraka na ergosterol dok se vitamin D₃ nalazi u masnoj ribi i ulju dobivenom iz bakalarove jetre te maslacu. Vrlo su male količine u mesu, kravljem i ljudskom mlijeku. Vitamin D iz hrane apsorbira se u tankom crijevu ovisno o apsorpciji lipida i hilomikronima prelazi u limfu i u krv te u jetru. Općenito se apsorbira 50% vitamina D unešenog hranom.

U čovjeka se u koži iz 7-dehidrokolesterola djelovanjem ultraljubičastih B zraka iz sunčeva svjetla stvara previtamin D₃, a nakon toga vitamin D₃. U tkiva dopijeva uz pomoć prijenosničke bjelančevine na koju je vezan u krvi. Pretjerano izlaganje sunčevoj svjetlosti ne može dovesti do hipervitaminoze D i toksičnosti jer ultraljubičaste zrake pretvaraju višak vitamina D₃ u biološki inertan izomer (29). Metabolizam vitamina D₂ i D₃ u organizmu je jednak. U jetri se D vitamin djelovanjem enzima 25-hidroksilaze citokroma P 450 pretvara u 25-hidroksivitamin D (25(OH)D, kalcidiol) koji nije biološki aktivan (30). U bubregu se događa najvažniji korak gdje iz 25(OH)D djelovanjem PTH na 1-alfa-hidroksilazu nastaje 1,25 - dihidroksivitamin D (1,25(OH)₂D, kalcitriol), čiji učinak u jezgri i građa odgovaraju onima steroidnih hormona (29). Učinci vitamina D se postižu interakcijom kalcitriola i vitamin D receptora (VDR) (31). Receptor za vitamin D je prisutan u većini tkiva, uključujući stanice endotela, glatke mišićne stanice krvnih žila i stanice miokarda (32, 33). Cirkulirajući kalcitriol prolazi kroz staničnu

membranu, ulazi u citoplazmu te se u jezgri veže za VDR. Direktno i indirektno kalcitriol regulira preko 200 gena, uključujući gene važne za proizvodnju renina u bubregu, proizvodnju inzulina u gušterači, oslobađanje citokina iz limfocita, rast i proliferaciju glatkih mišićnih stanica vaskulature i stanica miokarda (29). S relativnom niskom biološkom aktivnošću, kalcidiol je oblik koji ima najveću koncentraciju u cirkulaciji i uzima se za određivanje ukupnih zaliha vitamina D (26).

Klasična uloga vitamina D je povećanje apsorpcije kalcija u crijevima (34). Kalcitriol povećava crijevnu apsorpciju fosfora transcelularnim putem dijelom pojačavanjem ekspresije kotransportera natrij-fosfata tipa 2b (16). Iako se učinak vitamina D očituje aktivacijom gena koji kodiraju tip 2a i 2c natrij-fosfat kotransportere, (35) pokazalo se da kalcitriol smanjuje ekspresiju bubrežnog natrij-fosfat kotransportera u određenom eksperimentalnom stanju (36). Smanjen unos fosfora pojačava ekspresiju tip 2a natrij-fosfat kotransportera u bubrezima i u divljem tipu miševa i u miševa bez receptora za vitamina D (37). Stoga, nije utvrđeno ima li 1,25 (OH) 2D fiziološki bitnu ulogu u regulaciji reapsorpcije bubrežnog fosfata. Kalcitriol djeluje na povećanje serumske koncentracije fosfata uglavnom povećanjem apsorpcije crijevnog fosfora, a fosfati suzbijaju proizvodnju kalcitriola (38-41). Stoga postoji jedan negativan sustav povratne sprege između fosfata i kalcitriola. 1,25 (OH) 2D također suzbija sintezu PTH i pospješuje proizvodnju FGF23 (42,43).

1.3.2.3. FGF 23

FGF-23 je identificiran kao važan fiziološki regulator bubrežne ekskrecije fosfata (44). Ovaj član obitelji faktora rasta fibroblasta (FGF) proizvode osteociti i osteoblasti, čime služi kao mehanizam pomoću kojeg se skeletni minerali mogu prenijeti na bubreg i utjecati na ekonomiju fosfata u cijelom organizmu. Nakon unosa hrane bogate fosforom, koncentracija FGF-23 u cirkulaciji raste, a slično, s prehranom niskog udjela fosfora, koncentracija FGF-23 opada (45). FGF-23 aktivira FGF receptore na bazolateralnoj membrani bubrežnih tubula, što rezultira

uklanjanjem NaPi kotransportera tipa II s apikalne površine tubularne stanice. Međutim, za razliku od PTH-a, učinak FGF23 je posredovan aktiviranjem ERK 1/2, a ne signalizacijom PKA koji je važan za učinke PTH. FGF23 komunicira sa svojim receptorom preko mehanizma koji je karakterističan za endokrine FGF. FGF23 prepoznaje FGF receptor samo u prisutnosti ko-receptora, alfa-klotho (46). Aktivacija ovog kompleksa rezultira nizvodnom fosforilacijom i naknadno smanjenom ekspresijom NaPi-IIa i NaPi-IIc kotransportera i CYP27B1 (1-hidroksilaza), s porastom ekspresije CYP24A1 (24-hidroksilaza). Ovaj mehanizam signalizacije je karakterističan za endokrine FGF, FGF19 i FGF21 (47). Fiziološka važnost ovog sustava je prikazana na miševima koji prekomjerno ekspimiraju FGF23 i imaju povećan klirens fosfata i hipofosfatemiju (48). Suprotno, FGF23 nula miševi imaju smanjeno izlučivanje fosfata bubrezima i hiperfosfatemiju (49). U miševa kod kojih je primjenjeno FGF23 neutralizirajuće antitijelo, imaju povećanu koncentraciju serumskog fosfata (50). Unatoč tome, i dalje postoje nedostaci u razumijevanju ovog puta. Čini se da je alfa-klotho obilnije izražen u distalnim tubulima u usporedbi s proksimalnim tubulima, a mehanizam kojim taj signalizacijski put utječe na transportere u proksimalnom tubulu nije jasan. Novija istraživanja ukazuju da sam klotho povećava ekspresiju FGF23, a čini se i da može smanjiti tubularnu reapsorpciju fosfata, neovisno o FGF23 (51). Ovi nalazi podudaraju se s jedinstvenim slučajem hipofosfatemije povezane s mutacijom u klotho regiji što rezultira prekomjernom ekspresijom proteina i obiljem klotho koji cirkulira (52). Nedavni dokazi ukazuju i da se u određenim tkivima (srcu) FGF signalizacija može odvijati i u nedostatku alfa-klotho-a, iako fiziološki značaj tog mehanizma nije poznat (53).

1.4. Povezanost fosfata i šećerne bolesti tip 2

U ranoj fazi šećerne bolesti dolazi do paradoksalne metaboličke neravnoteže anorganskog fosfata koja može uzrokovati smanjenje koncentracije visokoenergetskog fosfata s posljedičnom hipoksijom tkiva. Te se promjene događaju u stanicama i tkivima u kojima ulazak glukoze u stanice nije pod utjecajem inzulina (endotelne stanice), osobito kod slabo reguliranih bolesnika sa šećernom bolesti kod kojih su dugoročne vaskularne komplikacije vjerojatnije. Funkcija bubrega u regulaciji koncentracije fosfata je u šećernoj bolesti promijenjena jer povišena koncentracija glukoze u krvi depolarizira luminalnu stranu stanične membrane s posljedičnom manjom reapsorpcijom fosfata, nedostatkom unutarstaničnog fosfata i hiperfosfaturijom. Gertner i suradnici su proučavali metabolizam minerala kod sedam maloljetnih bolesnika sa šećernom bolesti prije i nakon postizanja gotovo normalne razine glukoze 7 do 14 dana liječenjem prijenosnim inzulinskim potkožnim infuzijskim sistemom. Otkrili su kako se glukoza u plazmi smanjila s prosječno 12,3 mmol/L na 5,3 mmol/L, koncentracija serumskog fosfata porasla je s 1,32 na 1,62 mmol/L ($P < 0,001$) zbog porasta razine praga za reapsorpciju bubrežnog fosfata od 25%. Nisu primijećene promjene u koncentraciji PTH i u 1,25-hidroksi vitamina D (54).

Ditzel i suradnici proučavali su bubrežno izlučivanje fosfata kod 26-ero konvencionalno liječene djece sa šećernom bolešću i 28-ero zdrave djece i otkrili su da je bubrežno izlučivanje fosfata tri puta veće u prvoj skupini unatoč značajno nižoj serumskoj koncentraciji fosfata natašte. Maksimalni kapacitet reapsorpcije fosfata u bubrežnim tubulima po litri filtrata bio je značajno niži u bolesnika sa šećernom bolešću. Pojačano izlučivanje fosfata bubrezima bilo je u pozitivnoj korelaciji i s izlučivanjem glukoze u urinu i koncentracijom glukoze u krvi ($P < 0,01$). Ovaj nalaz nije bio povezan s koncentracijom PTH (55).

Raskin i Pak proučavali su 21 bolesnika s šećernom bolešću kod kojih je kontrola glikemije bila u rasponu od "suboptimalno" do "optimalno" i otkrili su da kako se prosječna razina glukoze u plazmi smanjila sa 17,1 mmol/L na 5,2 mmol/L tijekom 4 do 10 dana, razina fosfata u serumu porasla je s 1,12 na 1,26 mmol/L (P

<0,001) (56). Isti značajan porast fosfata zabilježen je kod 28 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 koji su u trenutku prijema imali slabo kontroliranu bolest i nakon nekoliko dana hospitalizacije i liječenja znatno su poboljšali metabolički status. Razina fosfata u serumu značajno se povećala s 1,12 mmol/L na 1,21 mmol/L ($P < 0,01$), a izlučivanje kalcija i fosfata mokraćom se smanjilo (57). U još jednom istraživanju na ispitanicima sa šećernom bolešću tip 2 koncentracija fosfata u serumu bila je značajno niža od one u kontrolnoj skupini ($P < 0,05$). Nije bilo značajne razlike u serumskoj koncentraciji kalcija i magnezija između dviju skupina. U skupini ispitanika sa šećernom bolešću tipa 2 nije utvrđena značajna povezanost između koncentracije glukoze u krvi i koncentracije fosfata, kalcija ili magnezija u serumu. U kontrolnoj skupini, koncentracija glukoze u krvi i fosfata u serumu bile su u pozitivnoj korelaciji, ali nije bilo značajne povezanosti koncentracije glukoze u krvi i koncentracije kalcija ili magnezija u serumu. Prema rezultatima tog istraživanja, koncentracija serumskog fosfata u skupini sa šećernom bolešću tip 2 bila je smanjena, što ukazuje da ti ispitanici imaju poremećaj u metabolizmu fosfata koji je najvjerojatnije vezan uz poremećen metabolizam glukoze (58).

1.5. Povezanost fosfata i kardiovaskularnih komplikacija

Poremećaj koncentracije fosfata očituje se uglavnom kroničnim kliničkim komplikacijama. Mnoga istraživanja povezuju koncentraciju fosfata s kardiovaskularnim bolestima i smrtnošću. Ta povezanost je prvi put uočena u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću na hemodijalizi. Povišena koncentracija serumskog fosfata se povezuje s povećanim rizikom kalcifikacije krvnih žila i u istraživanjima na životinjskim modelima i kod bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću. Istraživanja na životinjskim modelima uremije ukazuju na uzročnu ulogu fosfora iz prehrambenih proizvoda u kalcifikaciji krvnih žila kao i u smanjenju kalcifikacije sloja intime i medije krvnih žila nakon terapije vezačima fosfora (59,60). Jedno od mogućih objašnjenja je da kristali kalcij-fosfata potiču

proinflamatorni aterogeni sekretom iz makrofaga u in vitro uvjetima (61), a ti kristali potiču proces apoptoze u stanicama glatkih mišića krvnih žila (62).

Kalcifikacija sloja intime stijenke krvnih žila možda igra aktivnu ulogu u progresiji plaka i njegove nestabilnosti, ali sama povišena koncentracija serumskog fosfata koja je bila predložena kao odraz povećanog intracelularnog kalcija ne objašnjava sveukupni toksični učinak (62). Istraživanja ukazuju da povećan unos fosfora hranom ubrzava proces aterogeneze u ApoE knockout miševa, neovisno o kalcifikaciji (63). Endotelne stanice kultivirane u uvjetima koncentracije serumskog fosfata kao kod kroničnog bubrežnog zatajenja pokazuju povećan oksidativni stres i apoptozu (64). Neposredan učinak fosfata na oksidativnu fosforilaciju i staničnu proizvodnju energije također vjerovatno doprinosi oksidativnom stresu i oštećenju endotelnih stanica (65,66). U zdravih pojedinaca dodatak fosfora koji povećava koncentraciju serumskog fosfata prema gornjoj granici normalnih vrijednosti povezuje se s prolaznim smanjenjem endotelno ovisne dilatacije brahijalne arterije (67). Postprandijalni porast koncentracije serumskog fosfata tako bi mogao izazvati kumulativne ozljede stanica endotela i time objasniti negativne učinke fosfata na krvne žile. Nekoliko radova ukazuje da poremećaj mineralnog metabolizma doprinosi razvoju kardiovaskularnih bolesti i povećava smrtnost u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću (68,69). U pojedinim istraživanjima ta je povezanost opisana i u zdravih osoba s očuvanom bubrežnom funkcijom (70,71). Suprotno navedenom, nekoliko istraživanja na velikom broju bolesnika povezanost koncentracije serumskog fosfata i razvoja kardiovaskularnih bolesti smatra nepouzdanom (72-74). Ta neslaganja u rezultatima istraživanja možda objašnjava činjenica da povećana koncentracija serumskog fosfata modificira rizik za razvoj pojedinih kardiovaskularnih komplikacija ovisno o podložnosti pojedinog bolesnika za razvoj srčanog zatajenja (75), iznenadne srčane smrti (76) ili akutnog koronarnog sindroma (77). Tako u bolesnika nakon preboljelog srčanog udara postoji neovisna povezanost između koncentracije serumskog fosfata i sveukupnog mortaliteta i srčanog zatajenja. Rizik za mortalitet je povećan čak i pri vrijednostima serumskog fosfata u granicama normale i izraženiji je u prisutnosti kronične bubrežne bolesti

(78). Čak i donja normalna granica koncentracije serumskog fosfata povezuje se s povećanom incidencijom inzulinske rezistencije, metaboličkog sindroma (79) i kardiovaskularnog rizika (80,81). Koncentracija serumskog fosfata, ali ne i koncentracija serumskog kalcija ili umnoška kalcija-fosfata povezuje se s kardiovaskularnim mortalitetom u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2, stoga je koncentracija serumskog fosfata vjerovatno pouzdaniji čimbenik za procjenu kardiovaskularnog mortaliteta u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 (82).

2. HIPOTEZA

Serumska koncentracija fosfata je nezavisni čimbenik kardiovaskularnoga pobola u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. OPĆI CILJ

Utvrđiti povezanost koncentracije serumskog fosfata i rizika za razvoj kardiovaskularnih komplikacija u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 i kroničnom bubrežnom bolesti stadija < 3B.

3.2. SPECIFIČNI CILJEVI

- Utvrđiti je li serumski fosfat čimbenik rizika za kardiovaskularni pobol u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 i KBB stadija < 3B.
- Utvrđiti postoji li povezanost koncentracije serumskog fosfata s klasičnim čimbenicima rizika za kardiovaskularna oboljenja (dob, spol, arterijska hipertenzija, hiperlipidemija, pušenje, ITM-elementi Framingham Risk Score).

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

U istraživanje je uključeno ukupno 280 bolesnika koji su bili hospitalizirani na Klinici za unutarnje bolesti, na Zavodu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma „Mladen Sekso“, Dnevna bolnica dijabetes i Klinici za bolesti srca i krvnih žila KBC Sestre milosrdnice. Istraživanje je prethodno dobilo suglasnost etičkog povjerenstva Klinike za unutarnje bolesti KBC Sestre milosrdnice, kao i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te usmenu dozvolu voditelja navedenih Zavoda. Svim sudionicima je, na njima razumljiv način, objašnjena svrha istraživanja nakon čega su dali pismeni pristanak za sudjelovanje u istraživanju.

4.1.1. POPULACIJA ISPITANIKA

Proučavala se skupina od 140 bolesnika muškog i ženskog spola u dobi od 18 godina i stariji sa šećernom bolešću tip 2 s najmanjim trajanjem bolesti 5 godina, na terapiji peroralnim hipoglikemicima i/ili inzulinom koji su hospitalizirani zbog kardiovaskularnog događaja na Klinici za bolesti srca i krvnih žila, KBC „Sestre milosrdnice“. Kontrolnu skupinu čini 140 bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 s najmanjim trajanjem bolesti 5 godina na terapiji peroralnim hipoglikemicima i/ili inzulinom bez kardiovaskularnog događaja.

4.1.2. ISKLJUČNI KRITERIJI

Isključeni su bolesnici s eGFR <45 mL/min/1.73 m², bolesnici s transplantiranim bubregom, bolesnici s primarnim poremećajem metabolizma fosfora (neliječeni primarni hiperparatireoidizam, rabdomioliza), bolesnici koji su na terapiji vezačima fosfora i aktivnim oblikom vitamina D, bolesnici s umjetnom srčanom valvulom, bolesnici koji boluju od KOPB-a i intersticijskih plućnih bolesti, bolesnici s aktivnom malignom bolesti, bolesnici s aktivnom infekcijom, bolesnici s cirozom jetre.

4.2. Metodologija i plan istraživanja

Nakon što je bolesnicima u obje skupine uzeta anamneza i učinjen fizikalni pregled, učinjen je i set laboratorijskih pretraga natašte, što je obuhvaćalo kompletnu crvenu krvnu sliku, serumske vrijednosti kalcija, fosfata, ureje, kreatinina, urata, albumina, C-reaktivnog proteina, vrijednosti ukupnog kolesterola, HDL kolesterol, LDL kolesterol, triglicerida, i glikozilirang hemoglobina te analiza jednokratnog uzorka urina (fizikalno-kemijski pregled, sediment urina). Vrijednosti kalcija su korigirane kod ispitanika s hipoalbuminemijom.

Uzeta je anamneza i fizikalni status ispitanjoj i kontrolnoj skupini.

Glomerularna filtracija je procjenjena MDRD jednadžbom (Modification of Diet in Renal Disease) i CKD-EPI jednadžbom. Normalne vrijednosti fosfata u biokemijskom laboratoriju KBC Sestre milosrdnice u rasponu 0.79-1.42 mmol/L. Šećerna bolest je definirana kao glukoza u plazmi (GUP) natašte $\geq 7,0$ mmol/L, GUP slučajna (\gg random \ll) $\geq 12,2$ mmol/L u dva odvojena mjerenja, ili korištenje hipoglikemika (tablete i/ili inzulin).

Arterijska hipertenzija je definirana kao krvni tlak $\geq 140/90$ mmHg ili uzimanje antihipertenzivne terapije. Kardiovaskularni događaj je definiran kao fatalni ili

nefatalni srčani udar, angina pectoris (stabilna ili nestabilna), srčane aritmije, ishemijska kardiomiopatija, srčano zatajenje, periferna vaskularna bolest.

Između koncentracija serumskog fosfata (s) $P \geq 1,3$ mmol/L, (s) $P 0,9-1,2$ mmol/L, (s) $P \leq 0,8$ mmol/L promatran je rizik za kardiovaskularni pobol.

Također je proučavano postoji li povezanost koncentracije serumskog fosfata s klasičnim čimbenicima rizika za kardiovaskularna oboljenja (dob, spol, arterijska hipertenzija, hiperlipidemija, pušenje, ITM - elementi Framingham Risk Score).

Svi biokemijski i hematološki parametri koji su rađeni tijekom hospitalizacije određivani su u Kliničkom zavodu za kemiju. U analizama su korištene standardne preporučene biokemijske metode, automatizirane ili poluautomatizirane, a provedene prema uputi proizvođača, uz primjenu pravila dobre laboratorijske prakse.

4.3. Statističke metode

Normalnost distribucije numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Normalno distribuirane numeričke varijable prikazane su kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija, a ne-normalno distribuirane numeričke varijable prikazane su kao medijan i interkvartilni raspon (IKR). Kategorijske varijable izražene su kao omjer i postotak.

Normalno distribuirane numeričke varijable uspoređene su između grupa koristeći t test za nezavisne uzorke (2 grupe) ili jednosmjernu analizu varijance (ANOVA; 3 grupe). Ne-normalno distribuirane varijable uspoređene su između grupa koristeći Mann Whitney U test (2 grupe) ili Kruskal-Wallis ANOVA (3 grupe). Kategorijske varijable uspoređene su između grupa koristeći χ^2 test. Trend porasta ili pada testiran je s Jonckheere-Terpstra testom za trend za numeričke varijable i χ^2 testom za trend za kategorijske varijable. Diskriminatorska

svojstva za razlučivanje bolesnika s i bez kardiovaskularnog događaja analizirana su pomoću analize ROC krivulje.

Za multivarijatnu analizu povezanosti serumskog fosfata s prisutnošću KV događaja korištena je logistička regresija. U većini modela istovremeno su testirane pojedine varijable, a u konačnom modelu proveden je odabir varijabli pomoću backwards metode (uz kriterij za uključivanje $P < 0.05$ i isključivanje $P > 0.1$).

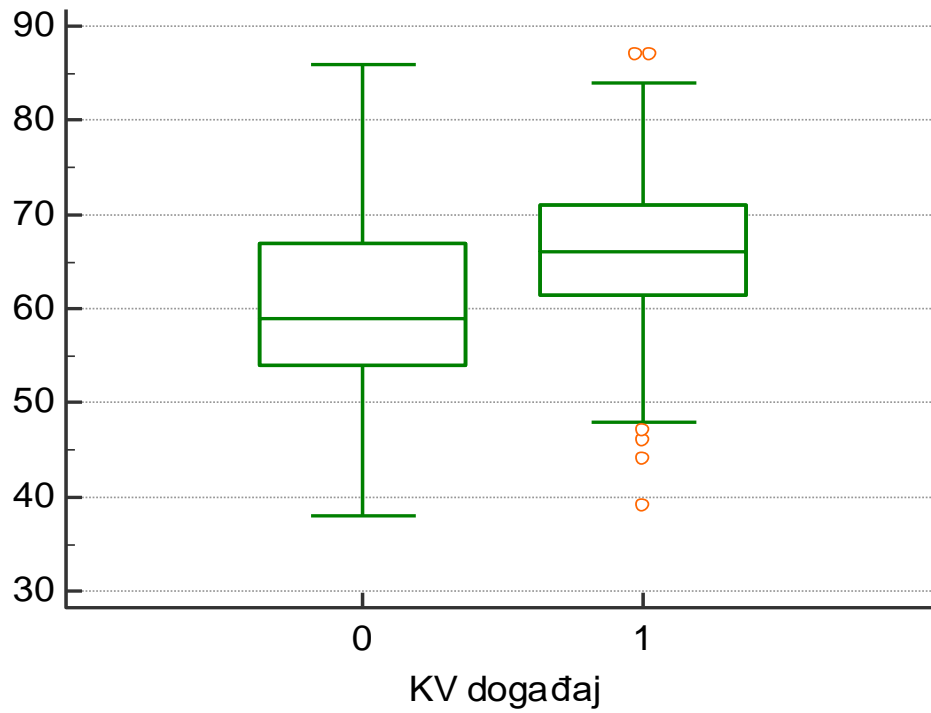
P vrijednosti < 0.05 smatrane su statistički značajne. Za višestruke usporedbe (za 3 grupe) korištena je Bonferronijeva korekcija. Sve analize rađene su u statističkom programu MedCalc, verzija 19.1. (MedCalc Software bv, Ostend, Belgium).

5. REZULTATI

5.1. Karakteristike ispitanika

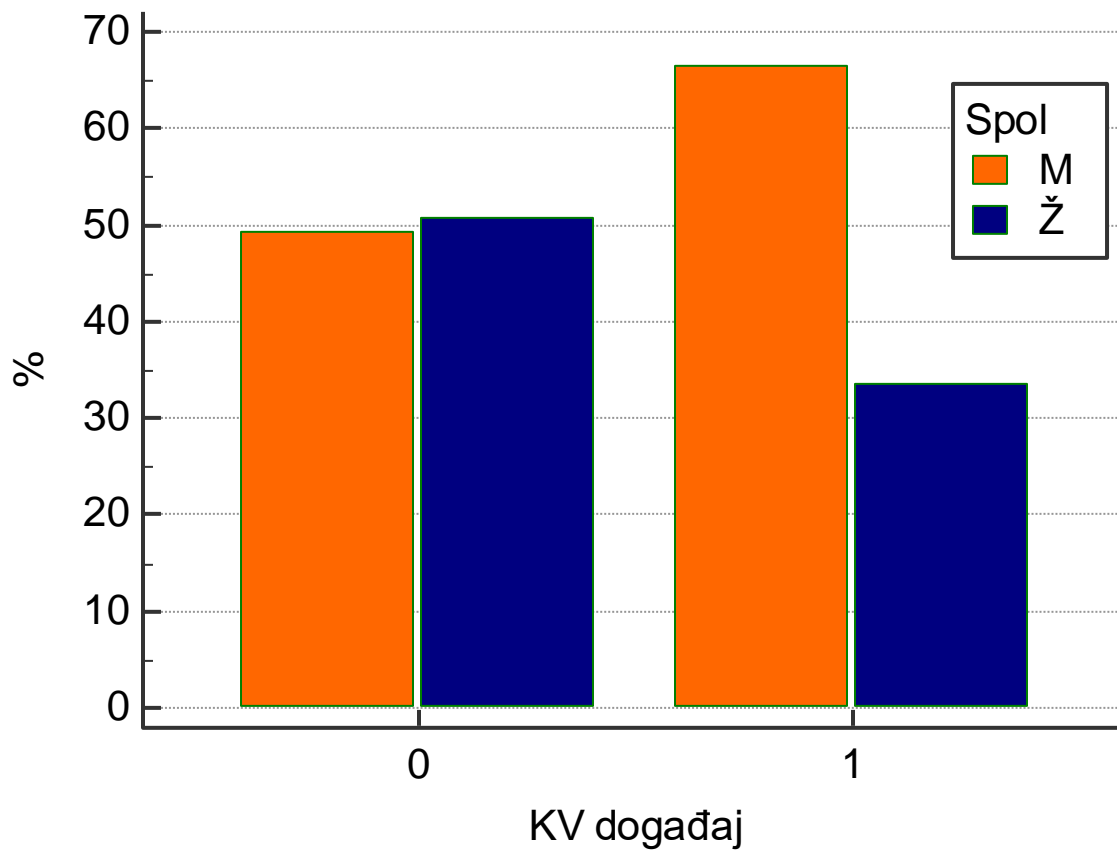
Analizirano je ukupno 280 ispitanika, 140 ispitanika s kardiovaskularnim događajem i 140 ispitanika bez kardiovaskularnog događaja. Prosječna dob bila je 63.3 ± 9.6 godine (60.3 ± 9.6 godine u grupi bez i 66.3 ± 8.7 godine u grupi s kardiovaskularnim događajem; $P < 0.001$, Slika 1). Bilo je 162/280 (57.9%) muškaraca (49.3% u grupi bez i 66.4% u grupi s kardiovaskularnim događajem; $P = 0.004$, Slika 2). Ukupno 5.7% (16/280) ispitanika imalo je serumsku koncentraciju fosfata iznad referentnih vrijednosti ($P > 1.4$ mmol/L), od kojih je 10 bilo u grupi s kardiovaskularnim događajem, a šest u grupi bez kardiovaskularnog događaja. Samo 1.1% (3/280) ispitanika imalo je hipofosfatemiju odnosno serumsku koncentraciju fosfata nižu od 0.79 mmol/L, tri ispitanika u grupi s kardiovaskularnim događajem, a jedan ispitanik u grupi bez kardiovaskularnog događaja.

Slika 1: Dob ispitanika stratificirana prema prisustvu kardiovaskularnog događaja.



0 – grupa bez kardiovaskularnog događaja
1 – grupa s kardiovaskularnim događajem

Slika 2: Udio ispitanika muškog i ženskog spola stratificiran prema prisustvu kardiovaskularnog događaja.

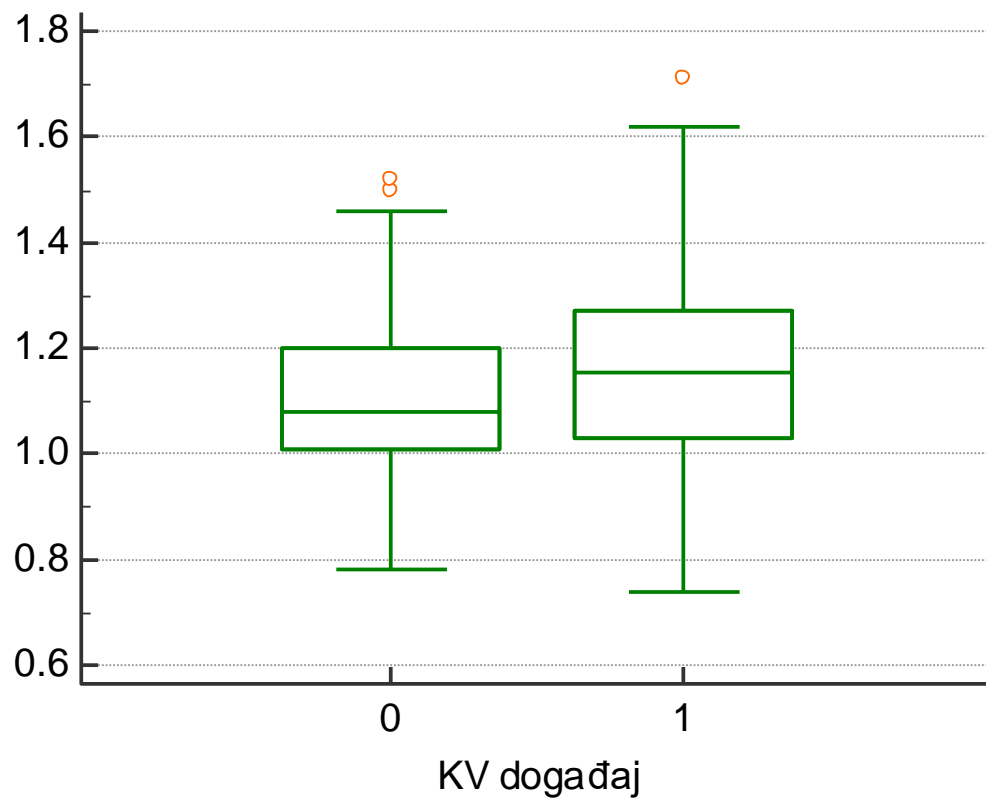


0 – grupa bez kardiovaskularnog događaja
1 – grupa s kardiovaskularnim događajem

5.2. Serumski fosfat

Prosječna vrijednost serumskog fosfata bila je 1.1 ± 0.2 mmol/L i statistički se značajno razlikovala između ispitanika s (1.2 ± 0.2 mmol/L) i bez kardiovaskularnog događaja (1.1 ± 0.2 mmol/L); $P=0.005$; Slika 3.

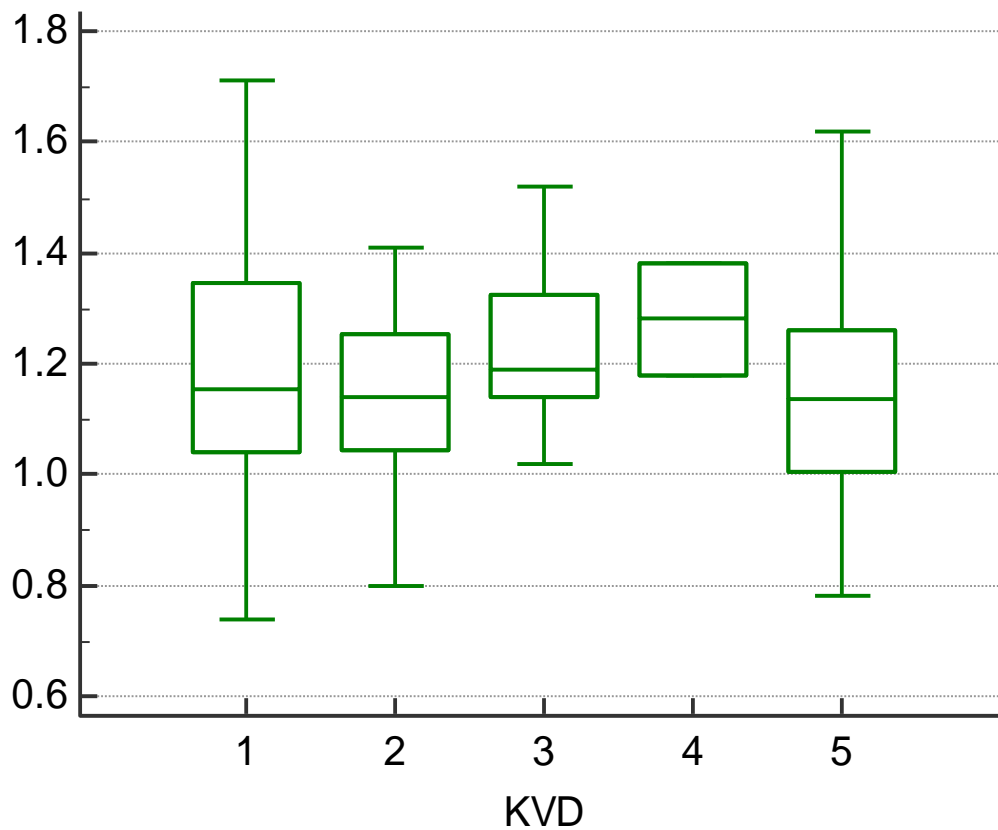
Slika 3: Razina serumskog fosfata u ispitanika s i bez kardiovaskularnog događaja.



0 – grupa bez kardiovaskularnog događaja
1 – grupa s kardiovaslukarnim događajem

Analizirajući koncentraciju fosfata u ispitanika po kategorijama kardiovaskularnog događaja, nije bilo statistički značajne razlike u razini serumskog fosfata između pojedinih kategorija kardiovaskularnih događaja; $P=0.606$; Slika XY1.

Slika XY1: Razina serumskog fosfata u ispitanika s različitim kardiovaskularnim događajima.

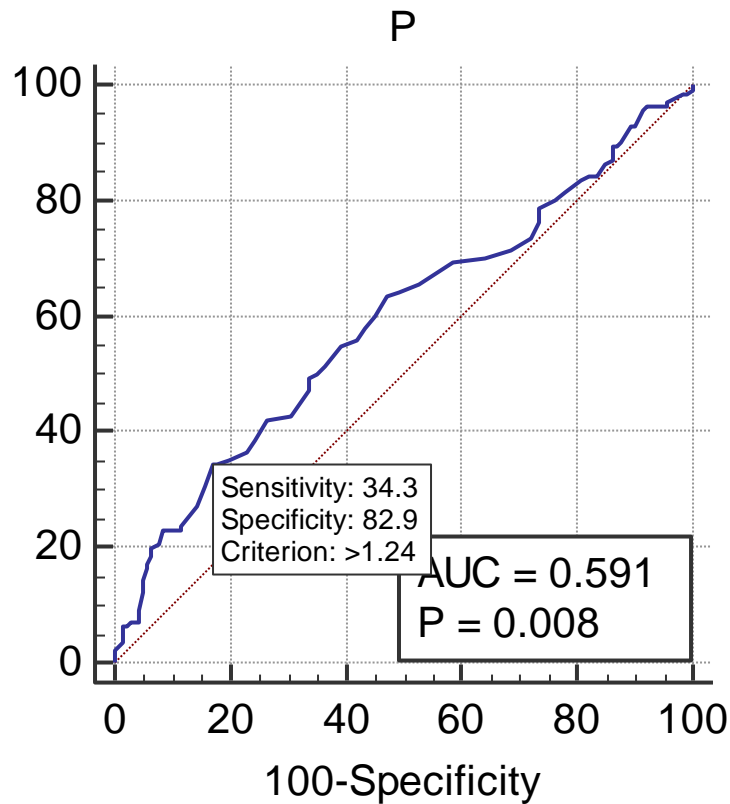


1. Akutni koronarni sindrom
2. Periferna arterijska insuficijencija
3. Kardijalna dekompenzacija
4. Brza forma fibrilacije atrija
5. Stabilna angina pectoris

Serumski fosfat pokazivao je statistički značajna, ali relativno slaba diskriminatorsna svojstva za razlučivanje ispitanika s i bez KV događaja (AUC 0.591; 95% C.I. 0.531 - 0.649; P=0.008), Slika 4.

Optimalna granična vrijednost za diskriminaciju ispitanika s KV događajem bila je >1.24 mmol/L uz osjetljivost 24.3% i specifičnost 82.9%.

Slika 4: Slika analize ROC krivulje za utvrđivanje optimalne granične vrijednosti serumskog fosfata za diskriminaciju ispitanika s i bez kardiovaskularnog događaja.



Analizirajući koncentracije serumskog fosfata po kategorijama, kategorija 1 (s) $P \leq 0,8$ mmol/L, kategorija 2 (s) $P 0,9-1,2$ mmol/L, kategorija 3 (s) $P \geq 1,3$ mmol/L, sedam ispitanika je imalo (s) $P \leq 0-8$ mmol/L, 226 ispitanika je imalo (s) $P 0.9 - 1.2$ mmol/L, a 47 ispitanika je imalo (s) $P \geq 1.3$ mmol/L. U kategoriji 1, tri ispitanika su bila u grupi s kardiovaskularnim događajem, a četiri ispitanika u grupi bez kardiovaskularnog događaja. U kategoriji 2, kardiovaskularni događaj je imalo 105 ispitanika, dok su preostali (121) bili bez kardiovaskularnog događaja. U kategoriji 3, od 47 ispitanika njih 32 je bilo u grupi s kardiovaskularnim događajem dok je preostalih 15 ispitanika bilo u grupi bez kardiovaskularnog događaja. Viša razina serumskog fosfata, (s) $P \geq 1.3$ mmol/L bila je statistički značajno povezana sa ženskim spolom ($P=0.007$, Slika 5), nižim hemoglobinom ($P=0.007$, Slika 6), nižom eGFR prema jednadžbi MDRD ($P=0.042$, Slika 7) i jednadžbi CKD-EPI ($P=0.030$), nižim albuminom ($P=0.028$, Slika 8) i višim indeksom Ca x P ($P<0.001$, Slika 9). Odnos karakteristika ispitanika i koncentracije serumskog fosfata po kategorijama prikazan je u Tablici 1.

Tablica 1: Razina serumskog fosfata po kategorijama i karakteristike ispitanika

	P ≤0.8 mmol/L	P 0.9-1.2 mmol/L	P ≥1.3 mmol/L	P trend	P razlika
Broj	7/280 (2.5%) (4/7 bez KVD; 3/7 s KVD)	226/280 (80.7%) (121/226 bez KVD; 105/226 s KVD)	47/280 (16.8%) (15/47 bez KVD; 32/47 s KVD)	-	-
Dob (godine)	64 ±11.4	62.7 ±9.7	65.7 ±9	0.115	0.145
Muški spol		135/226 (59.7%)	20/47 (42.6%)		0.007 *
Ženski spol	7/7 (100%) 0/7 (0%)	91/226 (40.3%)	27/47 (57.4%)	0.003 *	(1 vs 3)
SKT (mmHg)	140 IKR (137 - 152)	140 IKR (130 - 150)	132 IKR (130 - 145)	0.144	0.281
DKT (mmHg)	82 IKR (80 - 91)	80 IKR (77 - 90)	80 IKR (75.5 - 90)	0.512	0.714
Puls	78 IKR (64.5 - 79.5)	75 IKR (67 - 84)	73 IKR (65.5 - 82.5)	0.660	0.705

	P ≤0.8 mmol/L	P 0.9-1.2 mmol/L	P ≥1.3 mmol/L	P trend	P razlika
Pušač		109/226 (48.2%)	19/47 (40.4%)		0.538
Ne-pušač	4/7 (57.1%) 3/7 (42.9%)	117/226 (51.8%)	28/47 (59.6%)	0.266	
ITM (kg/m ²)	28.7 IKR (25.5 - 33.1)	29.6 IKR (26 - 32.8)	29.4 IKR (26.8 - 32.65)	0.813	0.970
Terapija		13/226 (5.8%)	2/47 (4.3%)	-	0.560
INZ					
TBL		170/226 (75.2%)	39/47 (82.9%)		
TBL+INZ	1/7 (14.3%) 4/7 (57.1%) 2/7 (28.6%)	43/226 (19%)	6/47 (12.8%)		
Hemoglobin(g/L)	151.3 ±15.6	142.1 ±13.4	136.6 ±14.5	0.003 *	0.007 * (1 vs 3; 2 vs 3)
HbA1C (%)	7.8 IKR (6.8 - 8.3)	7.2 IKR (6.2 - 8.3)	7.2 IKR (6.6 - 8.8)	0.716	0.695

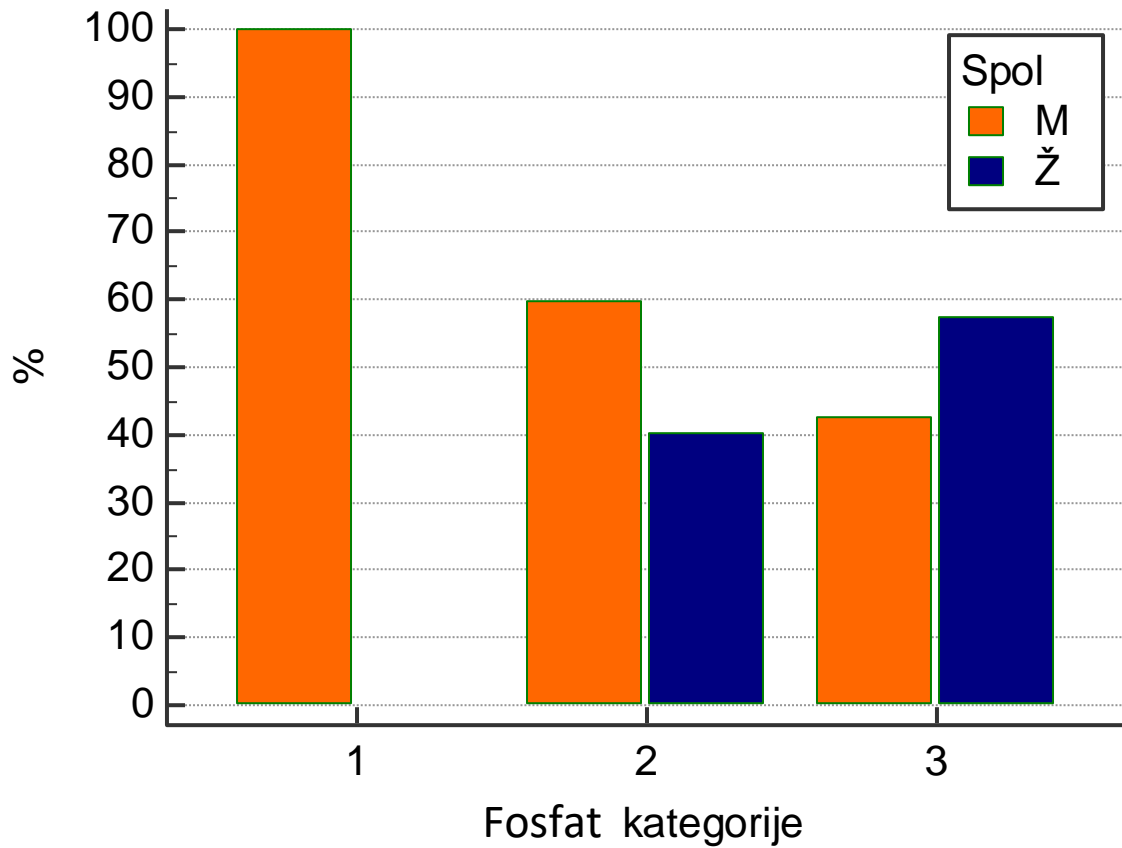
	P ≤0.8 mmol/L	P 0.9-1.2 mmol/L	P ≥1.3 mmol/L	P trend	P razlika
MDRD eGFR(ml/min)	85 IKR (73.5 - 96)	80 IKR (70 - 91)	74 IKR (61 - 84.5)	0.012 *	0.042 * (2 vs 3)
CKD EPI eGFR(ml/min)	84 IKR (72.5 - 90)	80 IKR (68.3 - 90)	72 IKR (61.5 - 85)	0.009 *	0.030 * (2 vs 3)
Urati (mmol/L)	290 IKR (266 - 338)	337 IKR (267.3 - 392.5)	343 IKR (280 - 438.5)	0.058	0.133
Kolesterol(mmol/L)	5 IKR (4.7 - 5.3)	4.8 IKR (4 - 5.8)	4.6 IKR (3.7 - 5.75)	0.271	0.552
HDL kolesterol	0.9 IKR (0.9 - 1.2)	1.1 IKR (0.9 - 1.3)	1.1 IKR (0.9 - 1.25)	0.961	0.472
LDL kolesterol	2.9 IKR (2.8 - 3.3)	3 IKR (2.2 - 3.7)	2.6 IKR (1.7 - 3.7)	0.222	0.456
Trigliceridi(mmol/L)	2.4 IKR (1.8 - 2.8)	1.7 IKR (1.2 - 2.2)	1.8 IKR (1.2 - 2.25)	0.849	0.255
Kalcij (mmol/L)	2.5 IKR (2.4 - 2.5)	2.4 IKR (2.4 - 2.5)	2.4 IKR (2.39 - 2.525)	0.402	0.635

	P ≤0.8 mmol/L	P 0.9-1.2 mmol/L	P ≥1.3 mmol/L	P trend	P razlika
Ca x P (mmol ² /L ²)	1.9 ±0.1	2.6 ±0.3	3.3 ±0.5	<0.001 *	<0.001 * (1 vs 2; 1 vs 3; 2 vs 3)
CRP (mg/L)	2.1 IKR (1.5 - 2.7)	1.8 IKR (1.1 - 3.3)	1.8 IKR (1.1 - 3)	0.813	0.951
Albumin (g/L)	44.5 IKR (43.2 - 46.1)	43.7 IKR (41 - 45.9)	42.4 IKR (38.5 - 45)	0.007 *	0.028 * (2 vs 3)

*statistički značajno na razini P<0.05 (za višestruke usporedbe korištena je

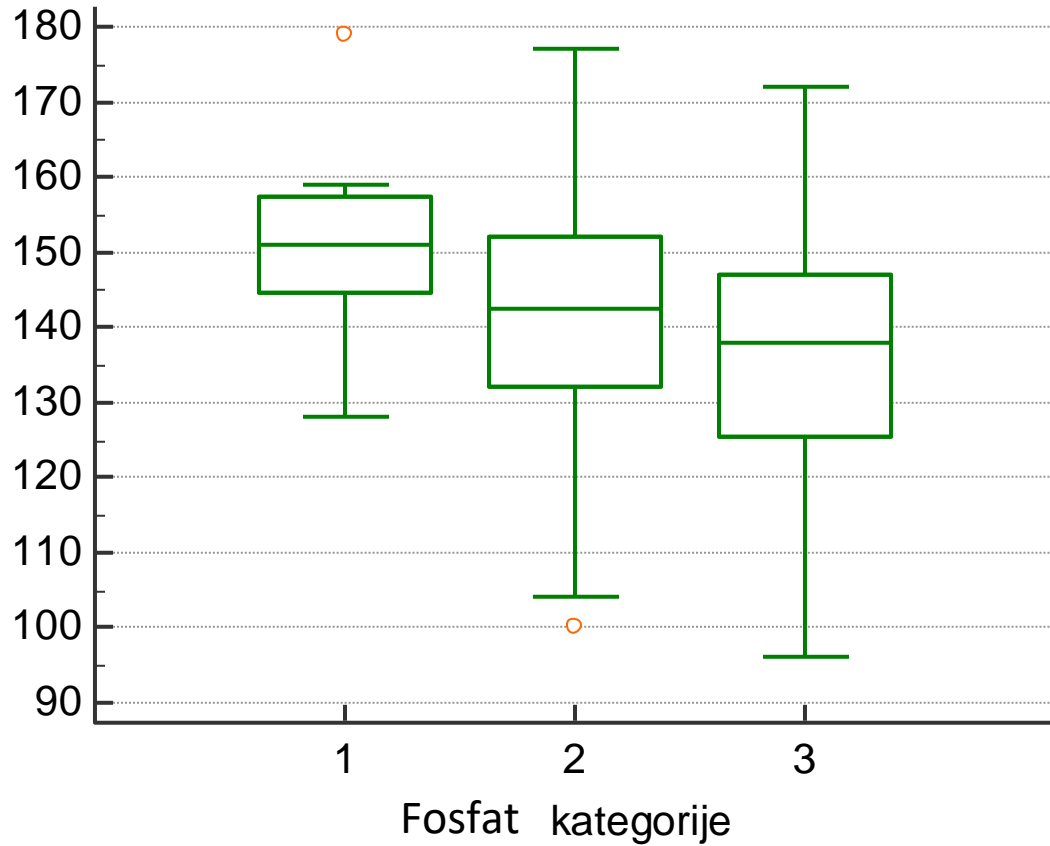
Bonferronijeva korekcija)

Slika 5: Udio ispitanika s muškim i ženskim spolom stratificiran prema kategorijama vrijednosti serumskog fosfata.



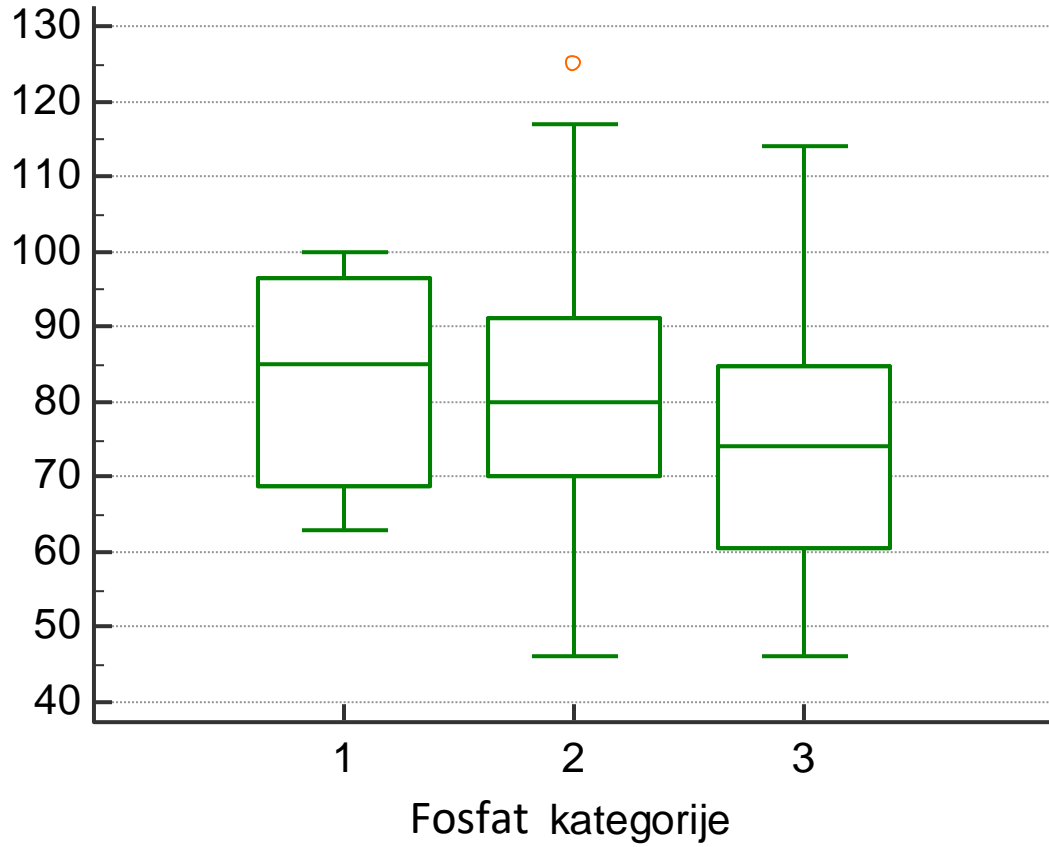
1 – (s) $P \leq 0.8$ mmol/L; 2 – (s) $P 0.9 - 1.2$ mmol/L; 3 – (s) $P \geq 1.3$ mmol/L

Slika 6: Razina hemoglobina stratificirana prema kategorijama vrijednosti serumskog fosfata.



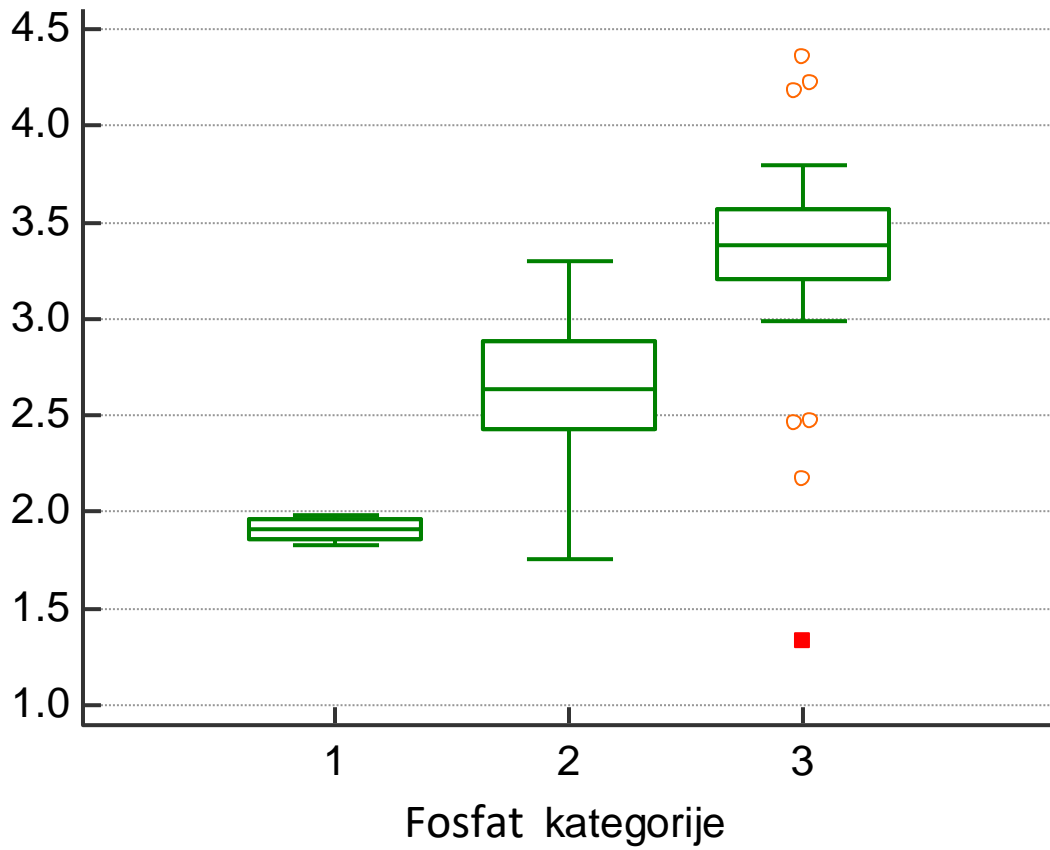
1 – (s) $P \leq 0.8$ mmol/L; 2 – (s) $P 0.9 - 1.2$ mmol/L; 3 – (s) $P \geq 1.3$ mmol/L

Slika 7: MDRD eGFR stratificiran prema kategorijama vrijednosti serumskog fosfata.



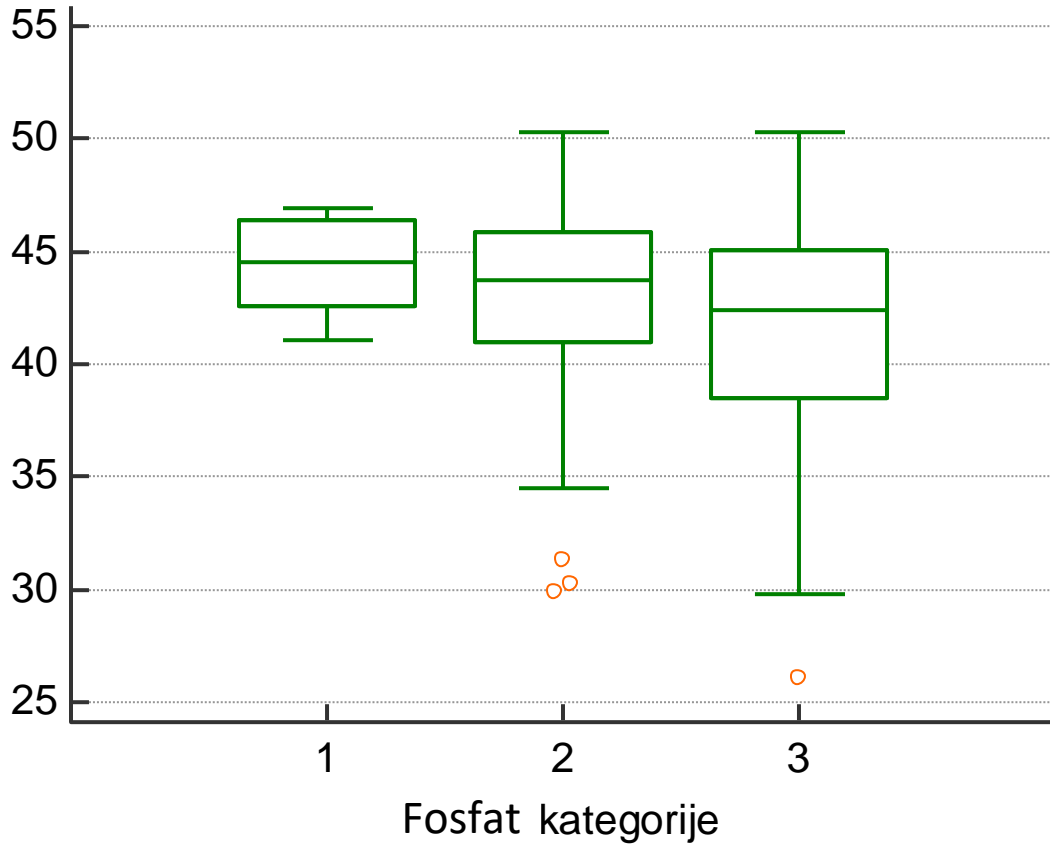
1 – (s) P ≤ 0.8 mmol/L; 2 – (s) P 0.9 – 1.2 mmol/L; 3 – (s) P ≥ 1.3 mmol/L

Slika 8: Ca x P indeks stratificiran prema kategorijama vrijednosti serumskog fosfata.



1 – (s) P ≤ 0.8 mmol/L; 2 – (s) P 0.9 – 1.2 mmol/L; 3 – (s) P ≥ 1.3 mmol/L

Slika 9: Vrijednost albumina stratificirana prema kategorijama vrijednosti serumskog fosfata.

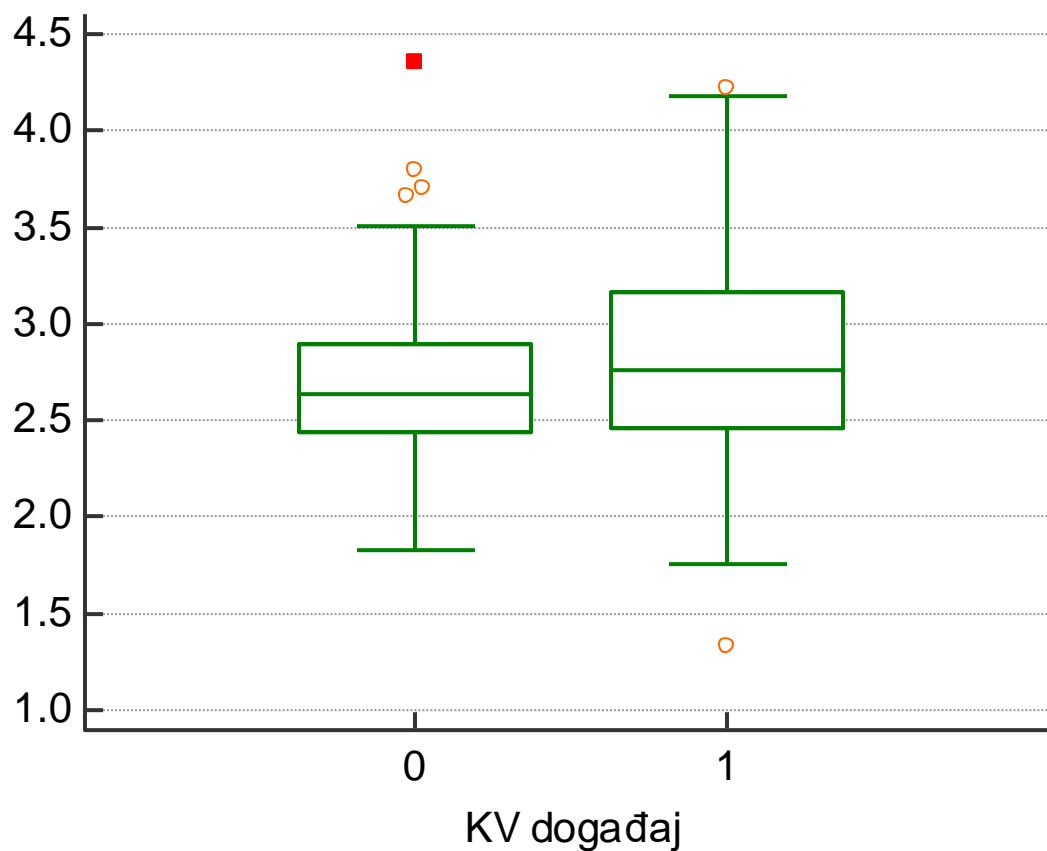


1 – (s) $P \leq 0.8$ mmol/L; 2 – (s) $P 0.9 - 1.2$ mmol/L; 3 – (s) $P \geq 1.3$ mmol/L

5.3. Indeks Ca x P

Prosječna vrijednost Ca x P indeksa bila je 2.7 ± 0.5 i statistički se značajno razlikovala između ispitanika s (2.8 ± 0.5) i bez kardiovaskularnog događaja (2.7 ± 0.4); $P=0.029$; Slika 10.

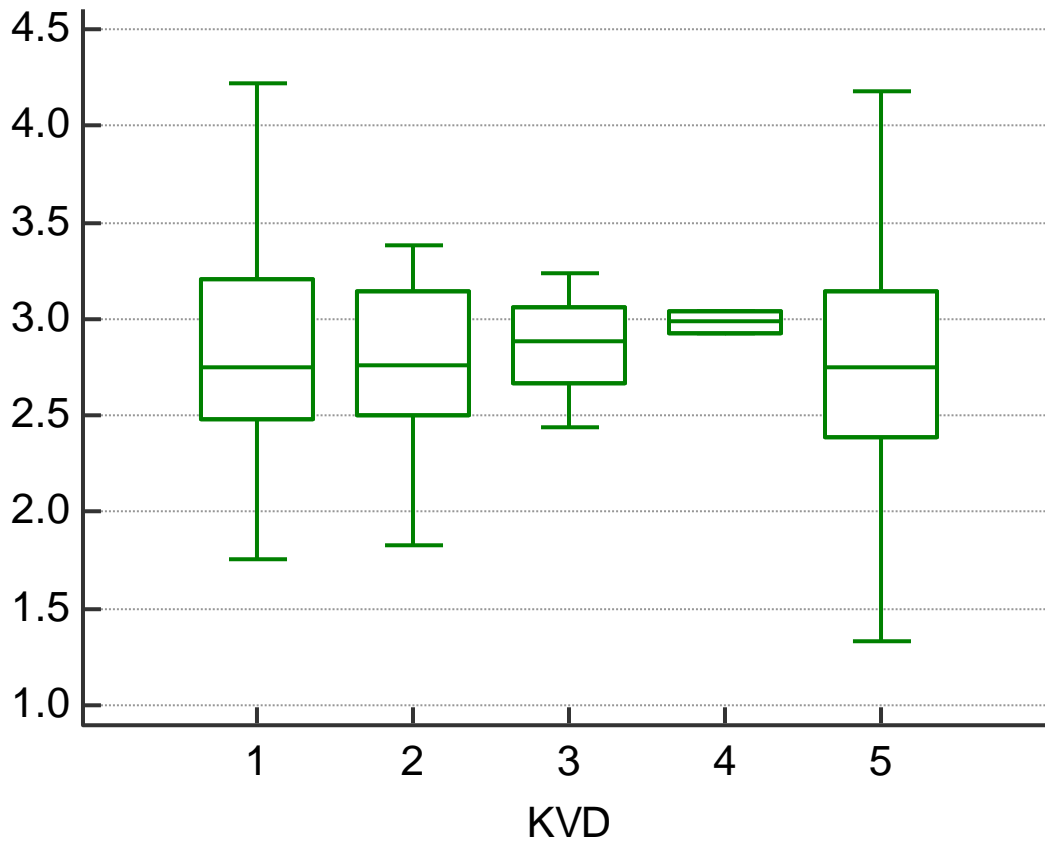
Slika 10: Ca x P indeks u ispitanika s i bez kardiovaskularnog događaja.



0 – grupa bez kardiovaskularnog događaja
1 – grupa s kardiovaskularnim događajem

Nije bilo statistički značajne razlike u Ca x P indeksu između pojedinih kategorija kardiovaskularnih događaja; P=0.961; Slika XY2.

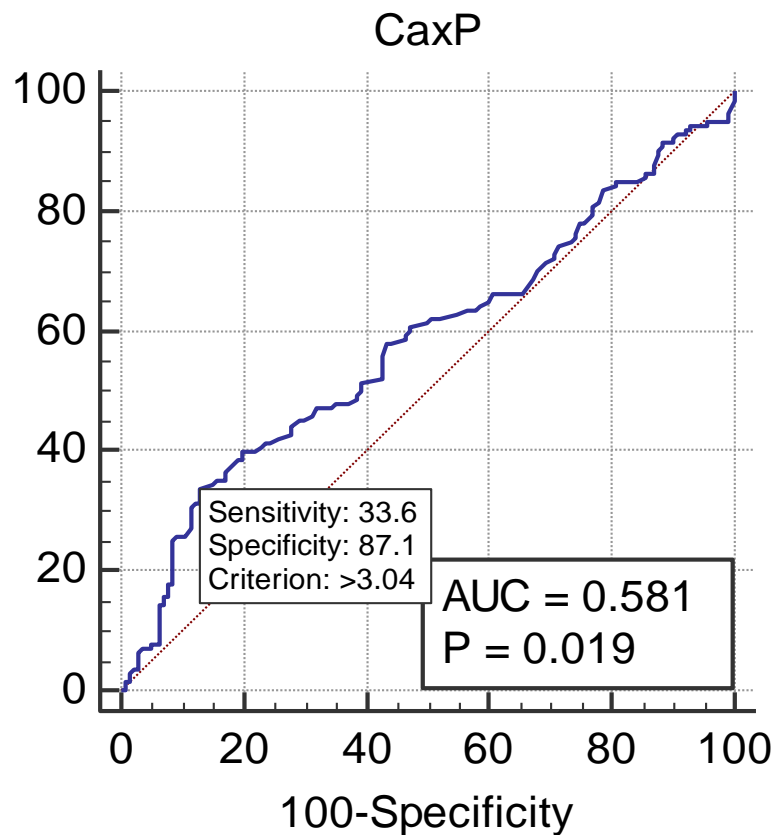
Slika XY2: Ca x P indeks u ispitanika s različitim kardiovaskularnim događajima.



1. Akutni koronarni sindrom
2. Periferna arterijska insuficijencija
3. Kardijalna dekompenzacija
4. Brza forma fibrilacije atrija
5. Stabilna angina pectoris

Slično kao i serumski fosfat, indeks Ca x P pokazivao je statistički značajna, ali relativno slaba diskriminatorsna svojstva za razlučivanje ispitanika s i bez KV događaja (AUC 0.581; 95% C.I. 0.520 - 0.639; P=0.019), Slika 11. Optimalna granična vrijednost za diskriminaciju ispitanika s KV događajem bila je >3.04 uz osjetljivost 33.6% i specifičnost 87.1%.

Slika 11: Slika analize ROC krivulje za utvrđivanje optimalne granične vrijednosti serumskog fosfata za diskriminaciju ispitanika s i bez kardiovaskularnog događaja.



5.4. Kardiovaskularni događaji

Bilo je ukupno 140 ispitanika s kardiovaskularnim događajem i to kardiovaskularni događaj 1 (akutni koronarni sindrom) kod 56/140 (40%), kardiovaskularni događaj 2 (periferna arterijska bolest) kod 21/140 (15%), kardiovaskularni događaj 3 (kardijalna dekompenzacija) kod 5/140 (3.6%), kardiovaskularni događaj 4 (brza forma fibrilacije atrija) kod 2/140 (1.4%) i kardiovaskularni događaj 5 (stabilna angina pectoris) kod 56/140 (40%) ispitanika.

S prisustvom kardiovaskularnog događaja statistički su značajno univarijatno bili povezani starija dob ($P < 0.001$), muški spol ($P = 0.004$), niži sistolički tlak ($P = 0.006$), niži dijastolički tlak ($P < 0.001$), niži puls ($P = 0.002$), niži ITM ($P = 0.009$), profil antidijabetičke terapije ($P = 0.024$), niži hemoglobin ($P = 0.005$), niža vrijednost HbA1C ($P = 0.005$), niža eGFR procijenjen pomoću MDRD ($P = 0.001$) i CKD-EPI ($P < 0.001$), viša koncentracija urata ($P < 0.001$), niža koncentracija ukupnog kolesterola ($P < 0.001$), niža koncentracija LDL kolesterola ($P < 0.001$), viša koncentracija fosfata ($P = 0.005$), viši Ca x P indeks ($P = 0.029$), niža koncentracija CRP-a ($P = 0.006$) i niža koncentracija albumina ($P < 0.001$).

Tablica 2: Karakteristike ispitanika u odnosu na kardiovaskularne događaje

	Ukupno	Bez KV događaja	KV događaj	P vrijednost
Broj	280	140	140	-
Dob (godine)	63.3 ±9.6	60.3 ±9.6	66.3 ±8.7	<0.001 *
Muški spol	162/280	69/140	93/140	
Ženski spol	(57.9%)	(49.3%)	(66.4%)	
	118/280	71/140	47/140	0.004 *
	(42.1%)	(50.7%)	(33.6%)	
SKT(mmHg)	140 IKR (130 - 150)	140 IKR (130 - 154)	135 IKR (125 - 145)	0.006 *
DKT (mmHg)	80 IKR (77 - 90)	84.5 IKR (80 - 90)	80 IKR (73 - 90)	<0.001 *
Puls	75 IKR (67 - 84)	78 IKR (69 - 85.3)	71 IKR (65 - 80)	0.002 *
Pušač	132/280	69/140		
	(47.1%)	(49.3%)		
Ne-pušač	148/280	71/140	63/140 (45%)	0.473
	(52.9%)	(50.7%)	77/140 (55%)	
ITM (kg/m ²)	29.4 IKR (26 - 32.9)	30 IKR (27 - 33.7)	29.1 IKR (25.7 - 31.3)	0.009 *

	Ukupno	Bez KV događaja	KV događaj	P vrijednost
Terapija	16/280			0.024 *
INZ	(5.7%)	6/140 (4.3%)	10/140 (7.1%)	
TBL	213/280 (76.1%)	100/140 (71.4%)	113/140 (80.7%)	
TBL+INZ	51/280 (18.2%)	34/140 (24.3%)	17/140 (12.1%)	
Hemoglobin(g/L)	141.4 ±13.8	143.7 ±14.1	139.1 ±13.2	0.005 *
HbA1C (%)	7.2 IKR (6.3 - 8.4)	7.5 IKR (6.3 - 9)	7.1 IKR (6.3 - 7.8)	0.005 *
MDRD eGFR (ml/min)	79 IKR (67 - 89)	83 IKR (72 - 93)	77.5 IKR (64.8 - 85)	0.001 *
CKD EPI eGFR (ml/min)	80 IKR (67 - 90)	85 IKR (72.5 - 93)	76 IKR (64 - 84.3)	<0.001 *
Urati (mmol/L)	337 IKR (269.5 - 394)	311.5 IKR (257 - 364.3)	358.5 IKR (305.8 - 430.5)	<0.001 *
Kolesterol (mmol/L)	4.8 IKR (4 - 5.8)	5.1 IKR (4.4 - 6.1)	4.3 IKR (3.6 - 5.2)	<0.001 *
HDL kolesterol (mmol/L)	1.1 IKR (0.9 - 1.3)	1.1 IKR (0.9 - 1.3)	1 IKR (0.9 - 1.2)	0.187

	Ukupno	Bez KV događaja	KV događaj	P vrijednost
LDL kolesterol (mmol/L)	2.9 IKR (2.1 - 3.7)	3.2 IKR (2.5 - 3.9)	2.5 IKR (1.8 - 3.4)	<0.001 *
Trigliceridi (mmol/L)	1.7 IKR (1.2 - 2.3)	1.8 IKR (1.3 - 2.3)	1.5 IKR (1.1 - 2.2)	0.081
Kalcij (mmol/L)	2.4 IKR (2.4 - 2.5)	2.4 IKR (2.4 - 2.5)	2.4 IKR (2.4 - 2.5)	0.781
Fosfat(mmol/L)	1.1 ±0.2	1.1 ±0.2	1.2 ±0.2	0.005 *
CaxP(mmol ² /L ²)	2.7±0.5	2.7 ±0.4	2.8 ±0.5	0.029 *
CRP (mg/L)	1.8 IKR (1.1 - 3.2)	2.1 IKR (1.3 - 3.6)	1.6 IKR (1 - 2.8)	0.006 *
Albumin (g/L)	43.6 IKR (40.7 - 45.7)	45.2 IKR (43.1 - 46.7)	41.1 IKR (38.8 - 43.9)	<0.001 *

*statistički značajno na razini P<0.05

5.5. Prediktivna svojstva serumskog fosfata

Analizirali smo seriju multivarijantnih modela logističke regresije u kojima smo testirali povezanost serumskog fosfata s prisutnošću KV događaja.

U prvom univarijantnom modelu logističke regresije vrijednost serumskog fosfata kao kontinuirana varijabla statistički je značajno bila povezana s prisutnošću kardiovaskularnog događaja, s porastom vrijednosti serumskog fosfata za svakih 1 mmol/L povisuje se rizik KV događaja 7.2 puta, Tablica 3.

Tablica 3: Univarijantni model logističke regresije.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0057 *	7.1849	1.7728 - 29.1190

Nagelkerke R^2 0.037; ukupni P = 0.0048

*statistički značajno na razini $P < 0.05$

U drugom modelu logističke regresije prilagođenom za dob i spol vrijednost serumskog fosfata bila je statistički značajno povezana s kardiovaskularnim događajem (OR=17.3) nezavisno od dobi i spola, Tablica 4.

Tablica 4: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfata za KV događaj prilagođenog za dob i spol.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0005 *	17.3171	3.4626 - 86.6069
Dob	<0.0001 *	1.0792	1.0472 - 1.1123
Muški spol	0.0001 *	3.0805	1.7616 - 5.3871

Nagelkerke R² 0.2244; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

U usporedbi s Ca x P indeksom, serumski fosfat pokazivao je preklapajuća prediktivna svojstva te niti jedan od dva parametra nije međusobno bio statistički značajan u predikciji KV događaja (P=0.42, OR 0.59 vs P=0.065, OR 26.02), Tablica 5. U modelu dodatno prilagođenom za dob i spol, serumski fosfat (P=0.037, OR 49.26) pokazivao je bolja prediktivna svojstva od Ca x P (P=0.53, OR 0.65), Tablica 6.

Tablica 5: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfata za KV događaj prilagođeno za indeks Ca x P.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0647	26.0153	0.8194- 825.9339
Ca x P	0.4210	0.5853	0.1588 - 2.1578

Nagelkerke R² 0.04052; ukupni P = 0.0133

*statistički značajno na razini P<0.05

Tablica 6: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfata za KV događaj prilagođeno za indeks Ca x P, dob i spol.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0371 *	49.2556	1.2635-1920.1683
Dob	<0.0001 *	1.0789	1.0467 - 1.1120
Muški spol	0.0001 *	3.1110	1.7764 - 5.4482
Ca x P	0.5310	0.6479	0.1667 - 2.5186

Nagelkerke R² 0.2260; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

U sljedećem modelu dodatno prilagođenom za renalnu funkciju (MDRD eGFR), vrijednost serumskog fosfat (OR=15.8) bila je nezavisno povezana s prisutnošću KV događaja u odnosu na dob, spol i eGFR, Tablica 7.

Tablica 7: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfat za KV događaj prilagođenog za dob, spol i MDRD eGFR.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0009 *	15.7615	3.0853 - 80.5181
Dob	<0.0001 *	1.0695	1.0366 - 1.1035
Muški spol	<0.0001 *	3.8647	2.1166 - 7.0569
MDRD eGFR	0.0159 *	0.9781	0.9607 - 0.9959

Nagelkerke R² 0.2478; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

U modelu prilagođenom za dob, spol i druge faktore statistički značajno povezane sa serumskom razinom fosfata (dob, spol, hemoglobin, albumin), serumski fosfat je i dalje zadržao statistički značajna nezavisna prediktivna svojstva (OR=13.4), Tablica 8.

Tablica 8: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfat za KV događaj prilagođenog za dob, spol, MDRD eGFR, hemoglobin i albumin.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0082 *	13.3500	1.9541 - 91.2014
Dob	0.0313 *	1.0428	1.0038 - 1.0833
Muški spol	<0.0001 *	7.3419	3.3607 - 16.0395
MDRD eGFR	0.0054 *	0.9692	0.9481 - 0.9908
Hemoglobin	0.3075	0.9862	0.9603 - 1.0129
Albumin	<0.0001 *	0.6442	0.5687 - 0.7297

Nagelkerke R² 0.5247; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

U modelu prilagođenom za standardne kardiovaskularne faktore rizika (dob, spol, ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, indeks tjelesne mase, pušenje i sistolički tlak) serumski fosfat zadržao je statistički značajna prediktivna svojstva ($P=0.0016$, OR 16.6), nezavisno od dobi, spola, ukupnog kolesterola i sistoličkog tlaka (Tablica 9.1). Dodatnim uključivanjem Ca x P indeksa u model niti serumski fosfat niti Ca x P indeks nisu ostali statistički značajni prediktori kardiovaskularnog događaja (Tablica 9.2), vjerojatno zbog visokog stupnja korelacije.

Tablica 9.1: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfata za KV događaj prilagođenog za dob, spol, ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, indeks tjelesne mase, pušenje i sistolički tlak.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0016 *	16.5697	2.9108-94.3235
Dob	<0.0001 *	1.0862	1.0490 - 1.1248
Muški spol	0.0024 *	2.6893	1.4195 - 5.0949
Ukupni kolesterol	0.0409 *	0.5103	0.2677 - 0.9726
LDL kolesterol	0.5535	1.2387	0.6101 - 2.5150
HDL kolesterol	0.8689	1.0888	0.3964 - 2.9908
ITM	0.5902	0.9824	0.9211 - 1.0479
Pušenje	0.7711	1.0942	0.5966 - 2.0067
SKT	0.0084 *	0.9772	0.9606 - 0.9941

Nagelkerke R² 0.5247; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

Tablica 9.2: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfata za KV događaj prilagođenog za Ca x P indeks, dob, spol, ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, indeks tjelesne mase, pušenje i sistolički tlak.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.1082	28.1465	0.4799-1650.9794
Ca x P	0.777	0.8041	0.1778 - 3.6363
Dob	<0.0001 *	1.0859	1.0486 - 1.1245
Muški spol	0.0024 *	2.6875	1.4186 - 5.0915
Ukupni kolesterol	0.0431 *	0.514	0.2697 - 0.9796
LDL kolesterol	0.5645	1.2313	0.6068 - 2.4984
HDL kolesterol	0.8864	1.0765	0.3916 - 2.9595
ITM	0.5695	0.9813	0.9197 - 1.0472
Pušenje	0.7547	1.1018	0.5998 - 2.0237
SKT	0.0088 *	0.9774	0.9608 - 0.9942

Nagelkerke R² 0.3372; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

U konačnom modelu logističke regresije u kojem su u odabir varijabli backwards metodom uzete sve istraživane varijable, serumski fosfat bio je statistički značajno povezan s KV događajem (OR=14.4) nezavisno od spola, ITM, modaliteta antidijabetičke terapije, HbA1c, MDRD eGFR, ukupnog kolesterola, kalcija i albumina, Tablica 11.

Tablica 11: Prikaz modela logističke regresije koji je analizirao prediktivna svojstva serumskog fosfat za KV događaj prilagođenog za spol, ITM, modalitet antidijabetičke terapije, HbA1c, MDRD eGFR, urate, ukupni kolesterola, kalcij i albumin.

Varijabla	P vrijednost	OR	95% C.I. za OR
Fosfat	0.0236 *	14.3673	1.4285 - 144.4995
Muški spol	<0.0001 *	8.7834	3.3415 - 23.0876
ITM	0.0186 *	0.9047	0.8322 - 0.9834
Terapija TBL+INZ	0.0253 *	0.3113	0.1119 - 0.8657
HbA1c	0.0004 *	0.6057	0.4585 - 0.8002
MDRD eGFR	0.0057 *	0.9634	0.9383 - 0.9892
Urati	0.0544	1.0050	0.9999 - 1.0101
Ukupni kolesterol	0.0390 *	0.7149	0.5198 - 0.9832
Kalcij	0.0001 *	4133.2681	61.4354 - 278079.1631
Albumin	<0.0001 *	0.5141	0.4298 - 0.6149

Nagelkerke R² 0.6710; ukupni P < 0.0001

*statistički značajno na razini P<0.05

6. RASPRAVA

U ovom opažajnom presječnom istraživanju proučavana je povezanost serumske koncentracije fosfata i kardiovaskularnog događaja u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 te povezanost koncentracije serumskog fosfata s klasičnim čimbenicima rizika za kardiovaskularna oboljenja (dob, spol, arterijska hipertenzija, hiperlipidemija, pušenje, ITM). Istraživanje je obuhvatilo ukupno 280 ispitanika sa šećernom bolešću tip 2, 140 bez kardiovaskularnog oboljenja i 140 s kardiovaskularnim oboljenjem. Prema rezultatima istraživanja, postoji statistički značajna razlika prosječne vrijednosti serumskog fosfata između ispitanika s i bez kardiovaskularnog događaja ($P=0.005$). Većina ispitanika je imala fosfat unutar referentnih laboratorijskih vrijednosti, a 5.7% (16/280) ispitanika je imalo hiperfosfatemiju odnosno serumsku koncentraciju fosfata >1.42 mmol/L. Od njih 10 bilo je u grupi s kardiovaskularnim događajem, a šest je bilo u grupi bez kardiovaskularnog događaja. Serumski fosfat kao kontinuirana varijabla pokazao je statistički značajna, ali relativno slaba diskriminatorna svojstva za razlučivanje bolesnika s i bez KV događaja (AUC 0.591; 95% C.I. 0.531 - 0.649; $P=0.008$). ROC analiza ukazuje da je optimalna granična vrijednost za diskriminaciju bolesnika s KV događajem >1.24 mmol/L uz osjetljivost 24.3% i specifičnost 82.9%. Nismo našli statistički značajnu razliku između serumske koncentracije fosfata i pojedinih kategorija kardiovaskularnog događaja što je vjerojatno rezultat nedovoljnog broja ispitanika po pojedinim kategorijama i činjenice da istraživanje nije imalo taj cilj.

Gledajući serumsku koncentraciju fosfata kao kategorijsku varijablu, u kategoriji 3 ($P \geq 1.3$ mmol/L) 68% ispitanika je bilo u grupi s KVD, a 32% ispitanika u toj kategoriji bez KVD. U kategoriji 2 ($P 0.9-1.2$ mmol/L) 46.5% ispitanika bilo u grupi s KVD, a preostalih 53.5% ispitanika bez KVD, s napomenom da je sveukupno 80.7% (226/280) ispitanika bilo u kategoriji 2 .

Još uvijek nije jasno je li hiperfosfatemija krivac ili je samo epifenomen metaboličkih komplikacija jer je u složenom procesu kalcifikacije kardiovaskularnog sustava do sada identificirano više molekula (83). Međutim, jedno je jasno, vaskularna kalcifikacija nije samo jednostavno odlaganje kalcija i fosfata već je aktivan proces koji uključuje mnoge regulatore metabolizma minerala (83). Rezultati nekoliko ranijih studija pokazali su značajnu razliku u poremećaju mineralno koštanog metabolizma kod pacijenata sa šećernom bolešću u usporedbi s pacijentima bez šećerne bolesti. Primjerice, kod pacijenata sa šećernom bolešću promjene vezane uz mineralni metabolizam javljaju se već u ranijoj fazi. U stadiju 1–2 KBB bolesnika sa šećernom bolešću koji imaju dijabetičku nefropatiju, izmjerene su povišene vrijednosti serumskog fosfata i FGF-23 te snižene vrijednosti kalcija i vitamin D (84-86). Xiang i suradnici uspoređivali su pacijente s IgA nefropatijom i dijabetičkom nefropatijom te se pokazalo da je prevalencija hiperfosfatemije bila veća kod pacijenata s dijabetičkom nefropatijom u usporedbi s bolesnicima s IgA nefropatijom u svim stadijima KBB. Koncentracija serumskog fosfata bila je nezavisan čimbenik rizika za progresiju KBB-a u pacijenata s dijabetičkom nefropatijom, ali nije bila nezavisan čimbenik rizika u pacijenata s IgA nefropatijom, što ukazuje da serumska koncentracija fosfata ima veću prediktivnu vrijednost u pacijenata s dijabetička nefropatija nego u pacijenata s IgA nefropatijom (87). Ranija istraživanja su potvrdila da pacijenti s dijabetičkom nefropatijom imaju manju fosfaturiju s većom serumskom koncentracijom fosfata nego pacijenti bez dijabetičke nefropatije, s popratnim povećanjem koncentracije FGF-23 i nižom koncentracijom vitamina D (88-90). Bellasi i sur. su pokazali veće prediktivne vrijednosti fosfata za progresiju bolesti u pacijenata s dijabetičkom nefropatijom u odnosu na pacijente s ne-dijabetičkom nefropatijom (91).

6.1. Povezanost serumske koncentracije fosfata i anemije

U ovom istraživanju, viša koncentracija serumskog fosfata statistički je značajno povezana s nižim vrijednostima hemoglobina ($P=0.007$), gledajući koncentraciju fosfata kao kategorijsku varijablu. Postavlja se pitanje utjecaja spola na dobivenu povezanost, s obzirom da je prema dobivenim rezultatima i ženski spol statistički značajno povezan s višom koncentracijom serumskog fosfata ($P=0.007$). Prosječna dob ispitanika je 63.3 ± 9.6 te je upitan utjecaj ženskog spola na niže vrijednosti hemoglobina s obzirom na dobnu skupinu i vjerojatnost menopauze.

U ovom istraživanju nisu bili uključeni ispitanici s višim stupnjem bubrežnog zatajenja koji bi mogao pridonjeti anemiji te je taj čimbenik rizika zanemariv, ali također treba uzeti u obzir da je dio ispitanika skupine s kardiovaskularnim događajem bio hospitaliziran zbog akutnog zbivanja gdje u sklopu akutne faze bolesti može doći do razvoja pada hemoglobina, a samo istraživanje nije dizajnirano s isključenjem i ostalih uzroka anemije.

Prema do sada poznatim podacima iz ranijih istraživanja postoji povezanost hiperfosfatemije i anemije kod pacijenata s terminalnim stadijem KBB i pacijenata s transplantiranim bubregom (92). Različite komponente poremećaja mineralokoštanog metabolizma u KBB mogu rezultirati izravnim supresivnim učinkom na eritropoezu, uključujući nisku koncentraciju vitamina D, kalcija i povećanu koncentraciju PTH, što rezultira anemijom. Nije u potpunosti jasno je li veza između hiperfosfatemije i anemije posredovana i drugim aspektima KBB-MKP. Ispitivanje odnosa visoko normalne razine fosfata kod pacijenata s transplantiranim bubregom otkrilo je značajnu povezanost više koncentracije serumskog fosfata s nižim hemoglobinom, neovisno o drugim čimbenicima povezanim s KBB-MKP i ostalim poznatim uzročnicima anemije (92). Dodatno preostaje teorija o drugim uremijskim toksinima kao što su poliamini koji inhibiraju eritropoezu (93). Povećana koncentracija poliamina kao rezultat koncentracije fosfata mogla bi biti poveznica viših koncentracija fosfata i anemije. Navedene studije sugeriraju važnu vezu između hiperfosfatemije i anemije u specifičnoj

populaciji pacijenata. Koristeći tri ciklusa iz Nacionalne ankete o zdravlju i prehrani (NHANES) (2005–2010), učinjena je prva studija koja je procijenila čimbenike rizika za hiperfosfatemiju i hipofosfatemiju u velikoj populaciji odraslih u SAD-u bez kronične bubrežne bolesti. Ograničili su istraživanje na pojedince s eGFR \geq 60 ml/minuti s rezultatima koji ukazuju na neke poznate čimbenike povezane s hiperfosfatemijom, uključujući povezanost s povećanom koncentracijom kalcija i ženskim spolom te smanjenim rizikom s povećanjem dobi, dodatni čimbenik povezan s hiperfosfatemijom je bila anemija odnosno snižena razina hemoglobina (94).

Tran i suradnici su otkrili povezanost koncentracije serumskog fosfata i blage i umjerene anemije unutar populacije ispitanika bez KBB i s ranijim stadijem KBB, koja je ostala značajna i nakon prilagodbe za demografske karakteristike, bubrežnu funkciju, koncentraciju serumskog albumina i status željeza (95).

U prisutnosti visoke koncentracije fosfata u serumu, može se razviti vaskularna kalcifikacija, koja može zahvatiti i bubrežne arterije, što uostalom može rezultirati nedostatkom eritropoetina i anemijom (96,97). Hiperfosfatemija u KBB također može uzrokovati smanjenje sinteze vitamina D, s posljedičnom hipokalcemijom i povišenom koncentracijom PTH (98). Povišeni PTH izravno inhibira eritropoezu, inducira hemolizu i uzrokuje fibrozu koštane srži u KBB (99-103). Mehanizam odgovoran za povećanu serumsku koncentraciju fosfata povezanu s anemijom u općoj populaciji nije poznat. Studije hiperfosfatemije gotovo su isključivo proučavale ispitanike s kroničnom bubrežnom bolešću. S obzirom da postoji povezanost hiperfosfatemije, kardiovaskularnih bolesti i povećane smrtnosti (104), nužno je bolje razumjeti čimbenike rizika i u općoj populaciji, bez KBB.

6.2. Povezanost serumске koncentracije fosfata i ženskog spola

Prema rezultatima ovog istraživanja, viša razina serumskog fosfata bila je statistički značajno povezana sa ženskim spolom ($P=0.007$) kada je serumska

koncentracija fosfata gledana kao kategorijska varijabla. Skupina ispitanika s kardiovaskularnim događajem imala je statistički značajno veći broj ispitanika muškog spola ($P=0.004$).

U poznate čimbenike rizika za hiperfosfatemiju ubraja se i ženski spol, iako su razlozi za tu povezanost nejasni (105). Jedno istraživanje sugerira da estrogen može djelovati izravno na suzbijanje apsorpcije fosfata ovisne o natriju u bubrežnim proksimalnim tubulima inducirajući fosfaturiju i smanjenje serumskog fosfata te bi prema tom istraživanju žene koje su u menopauzi i s manjkom estrogena bile izložene povećanom riziku od hiperfosfatemije (106). U stanjima ubrzane pregradnje/koštane resorpcije kao što je menopauza, fosfat se oslobađa iz kosti u cirkulaciju zajedno s kalcijem. Suprotno tome, primjena estrogena kod žena u menopauzi dovodi do smanjenja koštane pregradnje (107), s posljedičnim suzbijanjem izlaska kalcija i fosfata u cirkulaciju što na kraju smanjuje serumsku koncentraciju fosfata. Poznato je da estrogen smanjuje koštanu pregradnju kod žena u postmenopauzi izravnim učinkom na osteoblaste, za koje je dokazano da imaju estrogenske receptore (108), te pomoću nekoliko vrsta citokina ili faktora rasta (109,110). Međutim, malo se zna o učincima estrogena na bubrežnu reapsorpciju fosfata u žena. I prema rezultatima NHANES studije, žene su imale veću vjerojatnost za povećanu koncentraciju serumskog fosfata (94).

6.3. Povezanost serumske koncentracije fosfata i ITM

U ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna povezanost ITM i koncentracije serumskog fosfata promatrane kao kategorijska varijabla. Skupina ispitanika bez kardiovaskularnog događaja imala je statistički značajno veći ITM od skupine ispitanika s kardiovaskularnim događajem, ali je i jedna i druga skupina ispitanika imala povećan ITM (medijan 30 vs 29.1, $P=0.009$). Kada smo gledali fosfat kao kategorijsku varijablu ($P \leq 0.8$ mmol/L, $P 0.9-1.2$ mmol/L, $P \geq 1.3$ mmol/L), tada je također ITM u sve tri kategorije bio povećan (medijan 28.7 vs 29.6 vs 29.4). I eksperimentalna i klinička ispitivanja ukazala su da fosfat ima utjecaj na

metabolizam ugljikohidrata, odnosno hipofosfatemija smanjuje transport glukoze s razvojem hiperglikemije i hiperinzulinemije (111-113). Intracelularna glikoliza se odvija pomoću fosforilacije, a posljedično smanjenju intracelularnog fosfata smanjena je i glikoliza (114).

Velik broj pretilih osoba ima značajke metaboličkog sindroma odnosno hiperinzulinemiju, hipertrigliceridemiju, hipertenziju i nizak HDL (115-118). Prekomjerna konzumacija ugljikohidrati može uzrokovati smanjenje koncentracije serumskog fosfata što može biti povezano s visokim rizikom za razvoj šećerne bolesti tip 2. Istraživanja su već prije nekoliko godina uočila obrnutu povezanost serumske koncentracije fosfata i ITM, krvnog tlaka i plazmatske koncentracije glukoze (119-122). Håglin je proučavala koncentraciju fosfata kod osoba s prekomjernom tjelesnom težinom, s i bez šećerne bolesti tip 2 te je otkrila da je serumska koncentracija fosfata u multivarijantnom modelu bila negativno povezana s ITM nakon prilagođavanja za dob i spol. Serumska koncentracija fosfata također je bila negativno povezana sa SKT i DKT nakon prilagođavanja za dob, spol i ITM. Kod ispitanika sa šećernom bolešću tip 2, te su razlike bile još izraženije (123).

Hipofosfatemija a ne hiperfosfatemija je prema nekim istraživanjima važan čimbenik u razvoju poremećaja metabolizma kod osoba s prekomjerenom tjelesnom težinom. Moglo bi se provokativno pretilost smatrati kao stanje nedostatka fosfata, iako se hipofosfatemije prije očekuje u stanju pothranjenosti zbog neuravnoteženog unosa proteina (glavni izvor fosfora) i ugljikohidrata (124). Prekomjerna konzumacija, neuravnotežena prehrana i poremećeni metabolizam u pretilosti, svi su povezani s nekim rizikom hipofosfatemije, što bi zauzvrat moglo imati posljedičnu hiperglikemiju, hipertenziju i dislipidemiju koji su predstavljeni u literaturi kao metabolički sindrom ili sindrom otpornosti na inzulin. Niska koncentracija serumskog fosfata je u tim istraživanjima možda posljedica neuravnotežene prehrane, transcelularnog pomaka fosfata, i/ili pojačanog gubitka fosfata bubrezima. S obzirom da se glukoza i fosfat u proksimalnim bubrežnim tubulima natječu za ulazak u stanicu iz intraluminalnog prostora, te da je značajna glukozurija svakako u početnom stadiju šećerne bolesti a i kasnije ukoliko je slabija

regulacija, navedeni mehanizam bi mogao igrati značajnu ulogu u poremećaju regulacije koncentracije fosfata. Kada se razvije kronična bubrežna bolest s progresivnim tijekom, što podrazumijeva gubitak većeg broja nefrona posljedično se smanjuje i fosfaturija uzrokovana glukozurijom te se prati porast fosfatemije.

Kod pacijenata s kroničnom bolešću bubrega, ograničenje fosfora u prehrani prvi je korak u kontroli koncentracije serumskog fosfata. Smanjenje unosa fosfora može narušiti prehrambeni status s obzirom da uključuje smanjenje unosa proteina što može biti jednako nepovoljno kao i povišena serumska koncentracija fosfata u smislu ishoda. Fosfor se iz biljne hrane ne apsorbira dobro jer je u obliku fitata kojeg ljudi ne mogu hidrolizirati s obzirom da nemaju enzim fitazu. Stoga bi vegetarijanska prehrana mogla biti poželjnija i korisna u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću. Mala studija na ljudima pokazala je da je vegetarijanska prehrana rezultirala nižom koncentracijom fosfata u serumu i FGF23, ali istraživanje je bilo ograničeno malim brojem ispitanika (125). Prehrambeni unos fosfora i serumska koncentracija fosfata imaju važnu ulogu ne samo u pacijenata s kroničnom bolesti bubrega već i u općoj populaciji. Nedavno istraživanje o aditivima na bazi fosfora je utvrdilo njihovo štetno djelovanje na zdravlje u osoba s normalnom funkcijom bubrega (126).

Visoko normalna koncentracija serumskog fosfata povezana je i s kalcifikacijom koronarnih arterija kod mladih, zdravih muškaraca (127) te se pokazala kao i prediktor za neželjene kardiovaskularne događaje u Framingham studiji (69). Povišena smrtnost povezana s visoko normalnom koncentracijom serumskog fosfata je nađena i kod ispitanika s kardiovaskularnim bolestima koji su imali normalnu funkciju bubrega (128). Fosfor se prirodno pojavljuje u obliku organskih estera u hrani kao što je meso, krumpir, kruh, a potrošnja tih namirnica se ne može ograničiti bez povećanog rizika za smanjeni unos proteina. Prirodno se fosfor u hrani nalazi organski vezan od čega se u crijevima apsorbira 40 – 60% (126). Veći zdravstveni rizik koji se može izbjeći nosi povećana uporaba fosfora kao aditiva u hrani odnosno kao konzervans, a taj "slobodni" (organski nevezani) fosfor se vrlo učinkovito apsorbira u crijevima. Tipična hrana s velikim sadržajem

dodanog fosfora je prerađeno meso, šunka, kobasice, konzervirana riba, peciva, koka kola i ostala bezalkoholna pića. Nadalje, treba biti oprezan kod korištenja dodataka prehrani koji se prodaju kao „zdrava hrana“, a sadrže puno fosfora. Budući da toliko mnogo hrane sadrži fosfor, same promjene u prehrani često nisu dovoljne za kontrolu razine serumskog fosfata u pacijenata s razvijenom kroničnom bolesti bubrega, a većina pacijenata zahtijeva dodatne strategije, npr. vezače fosfora. Iako ova sredstva smanjuju koncentraciju serumskog fosfata i pomažu u smanjenju simptoma, važnoj mjeri poboljšanja kvalitete života, neizvjesno je poboljšavaju li kliničke ishode (129). Do danas, niti jedan pojedini vezač fosfora nema prednosti za preživljavanje u odnosu na placebo (129), a može činiti do 50% dnevnog opterećenja tabletama i time pridonijeti smanjenoj suradljivosti (130). Savjetovanje o prehrani je još teže jer sadržaj fosfora u hrani, posebno dodani fosfor nije označen na pakiranju. Hrana koja sadrži aditive (prerađena hrana), a posebno brza hrana, je izuzetno bogata sadržajem fosfora. Takvu hranu konzumira većinom siromašna populacija. U SAD-u je ustanovljeno da je hiperfosfatemija dvostruko češća među osobama s niskim primanjima nego u osoba visokog dohotka (131). S obzirom na poznatu povezanost fosfora iz hrane s kalcifikacijom organa u bolesnika s bubrežnim zatajenjem, kao i na sve veću spoznaju da fosfor može imati štetan učinak na zdravlje čak i kod osoba s normalnom bubrežnom funkcijom, potrebna su istraživanja utjecaja prehrane u populaciji ispitanika sa šećernom bolešću s obzirom na potreban specifičan režim prehrane tih pacijenata.

Postavlja se i pitanje potrebnih intervencija u zdravstvenoj politici koja su prije nekoliko godina bila karakteristična za sol u prehrani, iako se takvi koraci još ne mogu potkrijepiti rezultatima prospektivnih studija niti u općoj populaciji niti u ispitanika sa šećernom bolešću.

6.4. Povezanost serumske koncentracije fosfata i krvnog tlaka

Dobro poznata epidemiološka veza prekomjerne tjelesne težine i povišenog krvnog tlaka objašnjava se pomoću nekoliko mehanizama (132). Prema jednoj studiji, multivarijantna analiza je ukazala na obrnutu povezanost koncentracije serumskog fosfat i vrijednosti sistoličkog krvnog tlaka nakon prilagođavanja za dob, spol i ITM (123).

Ovo istraživanje je također ukazalo na obrnutu povezanost serumske koncentracije fosfat (kao kategorijska varijabla) i vrijednosti sistoličkog tlaka, ali nije bilo statistički značajno ($P=0.281$). Skupina ispitanika s višom koncentracijom serumskog fosfata je imala niži krvni tlak kako sistolički tako i dijastolički. Postavlja se pitanje mehanizma koji uzrokuje obrnutu povezanost, odnosno mehanizam utjecaja serumske koncentracije fosfata na krvni tlak. Kako se koncentracija serumskog fosfata smanjuje, obično raste koncentracija serumskog kalcija, a snižena koncentracija serumskog fosfata može objasniti povezanost promijenjene koncentracije serumskog kalcija i visine krvnog tlaka uočenu u drugim istraživanjima (133). Poveznica vrijednosti krvnog tlaka i koncentracije serumskog kalcija mogla bi biti prvenstveno koncentracija serumskog fosfata. Uočena je povezanost hiperkalcemije i povišenoga krvnog tlaka kod pacijenata s hiperparatireoidizmom. Paratiroidni hormon se ubraja u čimbenike koji uzrokuju fosfaturiju i hipofosfatemiju što nalazimo kod hiperparatireoidizma (134). Već je prije nekoliko desetljeća opisana niska koncentracija serumskog fosfata kod ispitanika muškog spola koji imaju povišen krvni tlak kako kod umjereno pretilih tako i kod onih s urednom tjelesnom težinom (135). Serumska koncentracija fosfata je moguća poveznica u objašnjenju povišenoga krvnog tlaka kod osoba s prekomjernom tjelesnom težinom i osoba uredne tjelesne težine prema nekoliko istraživanja. Svakako u objašnjenju mehanizma obrnute povezanosti serumske koncentracije fosfata i vrijednosti krvnog tlaka treba uzeti činjenicu da mnogi lijekovi na recept sadrže značajne količine fosfora, a to se često ne prepoznaje i nije istraživano u velikoj mjeri. Sherman i suradnici pregledali su 200 najčešće

propisanih lijekova kod dijaliznih bolesnika i ustanovili da su kod samo 23 (11,5%) lijeka bili navedeni sastojci koji sadrže fosfor, ali stvarna količina fosfora nije bila navedena. Sadržaj fosfora kretao se u rasponu od 1,4 mg (klonidin 0,2 mg, Blue Point Laboratories, Dublin, Irska) do 111,5 mg (paroksetin 40 mg, GlaxoSmith Kline, Philadelphia). Prema navedenom istraživanju, sadržaj fosfora nije bio konzistentan i varirao je ovisno o dozi lijeka, obliku pripravka (tablete ili sirup), originalnoj ili generičkoj formulaciji i proizvođaču. Originalni lizinopril imao je 21,4 mg fosfora po dozi od 10 mg, dok je generički proizvod imao 32,6 mg. Također primjerice, različiti generički oblici amlodipina 10 mg varirali su u sadržaju fosfora od 8,6 mg do 27,8 mg te do 40,1 mg. Samo da vežu sadržaj fosfora u ove 2 tablete (lizinopril, amlodipin), pacijenti bi mogli zatrebati najmanje 3 dodatne doze vezača fosfora (136). Svakao bi bilo preporučljivo, pri propisivanju lijekova uzeti u obzir sadržaj fosfora u lijekovima, ali poteškoća je da oznake lijekova ne sadržavaju udio fosfora.

6.5. Povezanost serumske koncentracije fosfata i kardiovaskularnih događaja

Prema rezultatima ovog istraživanja, s prisustvom kardiovaskularnoga događaja statistički su značajno univarijatno bili povezani starija dob ($P < 0.001$), muški spol ($P = 0.004$), niži sistolički tlak ($P = 0.006$), niži dijastolički tlak ($P < 0.001$), niži puls ($P = 0.002$), niži ITM ($P = 0.009$), profil antidijabetičke terapije ($P = 0.024$), niži hemoglobin ($P = 0.005$), niži HbA1C ($P = 0.005$), niža eGFR procijenjena pomoću MDRD ($P = 0.001$) i CKD-EPI jednadžbi ($P < 0.001$), viši urati ($P < 0.001$), niži ukupni kolesterol ($P < 0.001$), niži LDL kolesterol ($P < 0.001$), viši fosfat ($P = 0.005$), viši Ca x P indeks ($P = 0.029$), niži CRP ($P = 0.006$) i niži albumini ($P < 0.001$). Niži sistolički (medijan 135 vs 140) i dijastolički tlak (medijan 80 vs 84.5) kao i niži puls (medijan 71 vs 78) u grupi s kardiovaskularnim događajem najvjerojatnije objašnjava činjenica da su ti ispitanici bili hospitalizirani na Klinici za kardiologiju

s posljedičnom dostatnom antihipertenzivnom terapijom. Viši HbA1c i ITM u grupi bez kardiovaskularnoga događaja može biti rezultat selekcije ispitanika koji se kontroliraju putem dijabetološke dnevne bolnice upravo radi neregulirane šećerne bolesti tip 2 i povećane tjelesne težine. Skupina ispitanika bez kardiovaskularnog događaja imala je statistički značajno veći ITM od skupine ispitanika s kardiovaskularnim događajem, ali je i jedna i druga skupina ispitanika imala povećan ITM (medijan 30 vs 29.1). Slično tumačenje se odnosi i na nižu vrijednost ukupnog kolesterola i LDL kolesterola. U grupi s kardiovaskularnim događajem dobiven je niži hemoglobin (139 ± 13.2 vs 143.7 ± 14.1) i niža eGFR (medijan 76 vs 85) što može biti rezultat kardiološkog događaja koji je zahtijevao hospitalizaciju u smislu akutnog medicinskog zbrivanja ili su dva navedena parametra uzrokovala pogoršanje kardijalnog statusa. Viša serumska koncentracija fosfata može ukazivati i na oslabljenu bubrežnu funkciju koja pak objašnjava povezanost više serumske koncentracije fosfata i kardiovaskularnog događaja, a ne sama koncentracija fosfata (137). Stoga smo serijom multivarijantnih modela logističke regresije testirali povezanost serumskog fosfata s prisutnošću KV događaja.

U univarijantnom modelu logističke regresije vrijednost serumskog fosfata kao kontinuirana varijabla statistički je značajno bila povezana s prisutnošću kardiovaskularnog događaja ($P=0.0057$), s porastom vrijednosti serumskog fosfata za svakih 1 mmol/L povisuje se rizik KV događaja 7.2 puta. U usporedbi s s Ca x P indeksom, serumski fosfat pokazivao je preklapajuća prediktivna svojstva te niti jedan od dva parametra nije međusobno bio statistički značajan u predikciji KV događaja, ali nakon što smo dodatno prilagodili za dob i spol, serumski fosfat pokazivao je bolja prediktivna svojstva od Ca x P ($P=0.0371$, OR 49.3 vs $P=0.5310$, OR 0.65). U modelu prilagođenom za standardne kardiovaskularne faktore rizika (dob, spol, ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, indeks tjelesne mase, pušenje i sistolički tlak) serumski fosfat zadržao je statistički značajna prediktivna svojstva, nezavisno od dobi, spola, ukupnog kolesterola i sistoličkog tlaka ($P=0.0016$, OR 16.6). U konačnom modelu logističke regresije u kojem smo u odabir varijabli uzeli sve istraživane varijable, serumski fosfat bio je statistički značajno povezan s KV događajem ($P=0.0236$, OR 14.4) nezavisno od

spola, ITM, modaliteta antidiijabetičke terapije, HbA1c, MDRD eGFR, ukupnog kolesterola, kalcija i albumina.

Prema istraživanju Chonchol i suradnika, u skupini bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 s normalnom ili gotovo normalnom funkcijom bubrega, viša koncentracija serumskog fosfata i kalcij-fosfat umnoška bila je povezana s kardiovaskularnom smrtnošću neovisno o drugim važnim čimbenicima, dok je u vremenski ovisnim modelima samo koncentracija serumskog fosfata bila neovisno povezano s ishodom (82). Iako podaci pojedinih kliničkih ispitivanja faktora rizika za kardiovaskularne bolesti sugeriraju da pacijenti sa šećernom bolešću imaju veće apsolutno smanjenje rizika za nepovoljan kardiovaskularni ishod pri liječenju arterijske hipertenzije (138) i dislipidemije (139,140) od onih koji nemaju šećernu bolest, u nastanku akutnog koronarnog sindroma, osobe sa šećernom bolešću imaju lošiji ishod u odnosu na bolesnike koji nemaju šećernu bolest (141-143). U populaciji ispitanika sa šećernom bolešću, arterijska kalcifikacija može nastati bilo kao sastavni dio ateroma (intimna kalcifikacija) ili u nedostatku aterosklerotskog plaka (medijalna kalcifikacija) (144). Kalcifikacija medije povezana je s težinom i trajanjem šećerne bolesti, a rezultati istraživanja ukazuju da može biti povezana s povećanim rizikom od kardiovaskularnih komplikacija (145,146). S obzirom da je već nekoliko dosadašnjih istraživanja (147-149) pokazalo da su hiperfosfatemija i hiperkalcemija povezane s kalcifikacijom krvnih žila i nepovoljnim kardiovaskularnim ishodima u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću s umjerenim do teškim smanjenjem bubrežne funkcije, čini se razumnim da pobol i smrtnost od kardiovaskularnih oboljenja u pacijenata sa šećernom bolešću tipa 2 također može biti povezana sa serumskom koncentracijom fosfata.

U ovom istraživanju nismo mogli istražiti utjecaj prehrane na koncentraciju serumskog fosfata, a koji je moguće prisutan i kod ispitanika s urednom do blago sniženom funkcijom bubrega koji su bili uključeni u ovo istraživanje. Postavlja se pitanje utjecaja prehrabenh navika na povezanost serumske koncentracije fosfata i KVD, obzirom da su bili uključeni ispitanici sa šećernom bolešću za koje je pretpostavka da imaju prehrabene navike koje se ne odnose na opću populaciju.

Također, u ovom istraživanju je gledana samo jedna vrijednost serumskog fosfata, a koncentracija serumskog fosfata je promjenjiva i pod ujecajem mnogih čimbenika te se postavlja pitanje koliko se možemo pouzdati u rezultate temeljem te jedne vrijednosti. Prema rezultatima istraživanja Chonchol i suradnika, više od polovice (60%) varijabilnosti koncentracije serumskog fosfata bilo je zbog varijabilnosti unutar pojedinog subjekta u istraživanju (82). Stoga, umjesto da se oslanjamo na jednu vrijednost, kliničko značenje uporabe opetovanih laboratorijskih mjerenja u predviđanju kardiovaskularne smrtnosti u bilo kojoj populaciji je vjerojatno veće. Buduće studije koje procjenjuju povezanost koncentracije serumskog fosfata s kardiovaskularnim ishodima trebale bi koristiti modele koji ovise o vremenu, koristeći ponavljane laboratorijske vrijednosti da bi potvrdili ove nalaze.

Dodatno u ovom istraživanju, koncentracija 25-hidroksivitamina D, 1,25-dihidroksivitamina D ili PTH nije mjerena u naših ispitanika. Ova mjerenja bi omogućila razumijevanje mehanizama pomoću kojih bi koncentracija fosfata u serumu mogla biti odgovorna za povećani kardiovaskularni rizik. Stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bi se prepoznali novi faktori rizika za kardiovaskularna oboljenja u osoba sa šećernom bolešću.

7. ZAKLJUČAK

1. Serumski fosfat statistički je značajno viši, ali unutar gornjih normalnih vrijednosti, u bolesnika s KV događajem te pokazuje statistički značajna, ali relativno skromna diskriminatorna svojstva za razlučivanje bolesnika s i bez KV događaja.
2. Za svaki mmol/L porasta serumskog fosfata vjerojatnost KV događaja povisuje se 7.4 puta, prema univarijantnoj analizi.
3. Serumski fosfat pokazuje nezavisna statistički značajna prediktivna svojstva za KV događaj, te značajno pridonosi predikciji KV događaja nezavisno od drugih etabliranih čimbenika KV rizika.
4. Naši rezultati ukazuju kako je vjerojatnost KV događaja oko 15 puta veća sa svakim mmol/L porasta serumskog fosfata kad se u obzir uzmu spol, ITM, modalitet antidijabetičke terapije, HbA1c, MDRD eGFR, urati, ukupni kolesterol, kalcij i albumin, prema multivarijantnoj analizi.
5. S obzirom na navedeno postavlja se pitanje terapijske intervencije radi snižavanja razine serumskog fosfata u ovoj populaciji, a koje treba istražiti u budućim studijama.
6. Dodatne studije su potrebne s obzirom da je prema dostupnoj literaturi za pacijente sa šećernom bolešću i hipofosfatemija faktor rizika za razvoj mirovaskularnih komplikacija.
7. Uzimajući u obzir brzu dostupnost i nisku cijenu određivanja serumske koncentracije fosfata, dobiveni rezultati mogu biti od važnosti u svakodnevnom kliničkom radu.
8. Prema navedenom, postoji potreba za informiranjem liječnika drugih specijalnosti kao i javnosti o temeljito potencijalnim rizicima za kardiovaskularnu i bubrežnu funkciju koji proizlaze iz prehrane bogate fosforom.

9. Pacijentima sa šećernom bolešći tip 2, pokraj edukacije o dijabetičkoj prehrani treba dodatno pružiti informacije i o prehrani bogatoj fosforom i potencijalnim rizicima takve prehrane.
10. Količina dodanog fosfora, niska, srednja ili visoka, trebala bi biti navedena na pakiranju kao što se trenutno radi u Finskoj i Ujedinjenom Kraljevstvu za označavanja sadržaja soli (zeleni, žuti ili crveni znak na pakiranju).

8. SAŽETAK

Uvod: Anorganski fosfat igra važnu uloga u brojnim fiziološkim funkcijama organizma kao što su razvoj kostiju, građa i funkcija fosfolipidne membrane, stanična signalizacija, agregacija trombocita, stvaranje i prijenos energije u mitohondrijima. Koncentracija fosfata je čvrsto regulirana u uskom rasponu u zdravih osoba. Poremećaj koncentracija fosfata očituje se uglavnom kroničnim kliničkim komplikacijama. Mnoga istraživanja povezuju koncentraciju fosfata s kardiovaskularnim bolestima i mortalitetom. Ta povezanost je prvi put uočena u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću na hemodijalizi. U ovom istraživanju je proučavan utjecaj serumske koncentracije fosfata u bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 na kardiovaskularni pobol.

Metodologija: Proučavana je skupina od 140 ispitanika muškog i ženskog spola, stariji od 18 godina sa šećernom bolešću tip 2 na terapiji peroralnim hipoglikemicima i/ili inzulinom koji su bili hospitalizirani zbog kardiovaskularnog događaja na Klinici za unutarnje bolesti KBC „Sestre milosrdnice“. Kontrolna skupina je bila sastavljena od 140 ispitanika sa šećernom bolešću tip 2 na terapiji peroralnim hipoglikemicima i/ili inzulinom bez kardiovaskularnog događaja. Ispitanoj skupini bolesnika kao i kontrolnoj skupini bolesnika određivana je koncentracija serumskog fosfata natašte jednokratno kao i razina ukupnog kolesterola, HDL i LDL kolesterola, triglicerida, HbA1c, hemoglobina, (s) kreatinina, albumina, C-reaktivnog protein, (s) Ca, CaxP, analiza jednokratnog uzorka urina (fizikalno-kemijski pregled, sediment urina). Uzeti su opći anamnestički podaci i fizikalni status ispitanoj i kontrolnoj skupini te se promatralo postojanje povezanosti koncentracije serumskog fosfata s klasičnim čimbenicima rizika za kardiovaskularna oboljenja (dob, spol, arterijska hipertenzija, hiperlipidemija, pušenje, ITM - elementi Framingham Risk Score). Promatrano je postojanje povezanosti koncentracije serumskog fosfata i rizika za kardiovaskularni morbiditet između tri kategorije koncentracije serumskog fosfata (s) $P \geq 1,3$ mmol/L, (s) $P 0,9-1,2$ mmol/L, (s) $P \leq 0,8$ mmol/L.

Rezultati: Serumski fosfat statistički je značajno viši u bolesnika s KV događajem te pokazuje statistički značajna, ali relativno skromna diskriminatorna svojstva za razlučivanje bolesnika s i bez KV događaja.

Zaključak: Serumski fosfat statistički je značajno viši u bolesnika s KV događajem te pokazuje statistički značajna, ali relativno skromna diskriminatorna svojstva za razlučivanje bolesnika s i bez KV događaja. Za svaki mmol/L porasta serumskog fosfata vjerojatnost KV događaja povisuje se 7.4 puta. Serumski fosfat pokazuje statistički značajna prediktivna svojstva za KV događaj, te značajno pridonosi predikciji KV događaja nezavisno od drugih etabliranih parametara KV rizika. Naši rezultati ukazuju kako je vjerojatnost KV događaja oko 15 puta veća sa svakim mmol/L porasta serumskog fosfata kada se u obzir uzmu spol, ITM, modalitet antidijabetičke terapije, HbA1c, MDRD EGFR, urati, ukupni kolesterol, kalcij i albumin. S obzirom na navedeno postavlja se pitanje terapijske intervencije radi kontrole koncentracije serumskog fosfata u ovoj populaciji, a koje treba istražiti u budućim studijama.

Ključne riječi: fosfat, hiperfosfatemija, kardiovaskularni morbiditet, šećerna bolest tip 2

9. SUMMARY

Serum phosphorus as a risk factor for cardiovascular morbidity in patients with type 2 diabetes mellitus.

Dajana Katičić, 2021.

Introduction: Inorganic phosphorus plays an important role in numerous physiological functions. Many studies have linked phosphorus concentration to cardiovascular disease and mortality. In this study, we investigate the effect of serum phosphorus levels in patients with type 2 diabetes mellitus on cardiovascular morbidity.

Methodology: A group of 280 subjects, male and female, aged over 18 years with type 2 diabetes mellitus with and without cardiovascular event was studied. In both groups we checked fasting serum phosphorus concentration, serum lipid status, HbA1c, hemoglobin, (s) creatinine, albumin, C-reactive protein, (s) Ca, CaxP, single urine sample, as well as medical history and physical examination and the association between serum phosphorus concentration and the risk of cardiovascular morbidity.

Results: Serum phosphorus is statistically significantly higher in patients with CV events and exhibits statistically significant but relatively modest discriminatory properties for the resolution of patients with and without CV events. For each mmol/L increase in serum phosphorus, the probability of a CV event is increased 7.4-fold.

Conclusion: Serum phosphorus is statistically significantly higher in patients with CV events. It is a question of therapeutic intervention to lower serum

phosphorus levels in this population, which should be investigated in future studies.

Keywords: phosphorus, hyperphosphatemia, cardiovascular morbidity, type 2 diabetes mellitus

10. POPIS LITERATURE

1. Yanagawa N, Nakhoul F, Kurokawa K, Lee DBN. Physiology of phosphorus metabolism. In: Narins RG, ed. Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism. 5th ed. New York: McGraw Hill, 1994; 307-371.
2. O'Brien KO, Kerstetter JE, Insogna KL. Phosphorus. Modern Nutrition in Health and Disease. 2014;150-158.
3. Lederer E. Regulation of serum phosphate. J Physiol 2014; 592(18):3985–3995. doi:10.1113/jphysiol.2014.273979.
4. Lederer E. Renal phosphate transporters. Curr Opin Nephrol Hypertens 2014; 23(5):502–506. doi:10.1097/MNH.000000000000053.
5. Nissenson RA, Juppner H. Parathyroid hormone. In: Rosen CJ, ed. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 8th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell; 2013:208–214.
6. Slatopolsky E, Robson AM, Elkan I, Bricker NS. Control of phosphate excretion in uremic man. J Clin Invest 1968; 47(8):1865–1874. doi:10.1172/JCI10587.
7. Tenenhouse HS. Regulation of phosphorus homeostasis by the type iia Na/phosphate cotransporter. Annu Rev Nutr 2005; 25:197–214. doi:10.1146/annurev.nutr.25.050304.092642
8. Coultate T.P. Food, the chemistry of its components, 2002; str. 378
9. Znanstveno mišljenje o utjecaju kakvoće vode za ljudsku potrošnju na nutritivnu vrijednost dojenačkih mliječnih pripravaka (HAH, Usvojeno 30. lipnja 2016.)
10. Cross HS, Debiec H, Peterlik M. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption. Miner Electrolyte Metab. 1990;16:115–124.
11. Marks J, Debnam ES, Unwin RJ. The role of the gastrointestinal tract in phosphate homeostasis in health and chronic kidney disease. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2013;22:481–487.
12. Debiec H, Lorenc R. Identification of Na⁺,Pi-binding protein in kidney and intestinal brush-border membranes. Biochem J. 1988;225:185–191.

13. Katai K, Miyamoto K, Kishida S, i sur. Regulation of intestinal Na⁺-dependent phosphate co-transporters by a low phosphate diet and 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Biochem J.* 1999;3:705–712.
14. Hilfiker H, Hattenhauer O, Traebert M, i sur. Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:14564–14569.
15. Bai L, Collins JF, Ghishan FK. Cloning and characterization of a type III Na⁺-dependent phosphate cotransporter from mouse intestine. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2000;279:C1135–C1143.
16. Xu H, Bai L, Collins JF, Ghishan FK. Age-dependent regulation of rat intestinal type IIb sodium-phosphate cotransporter by 1,25-(OH)₂ vitamin D₃. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;282:C487–C493.
17. Marks J, Debnam ES, Unwin RJ. Phosphate homeostasis and the renal-gastrointestinal axis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;299:F285–F296.
18. Mizgala CL, Quamme GA. Renal handling of phosphate. *Physiol Rev.* 1985;65:431–466.
19. Harris CA, Sutton RA, Dirks JH. Effects of hypercalcemia on tubular calcium and phosphate ultrafilterability and tubular reabsorption in the rat. *Am J Physiol.* 1977;233:F201–F206.
20. Knox FG, Haramati A. Renal regulation of phosphate excretion. In: Seldin DW, Giebisch G, eds. *The Kidney: Physiology and Pathophysiology.* New York: Raven Press; 1981; 1381.
21. Villa-Bellosta R, Ravera S, Sorribas V, i sur. The Na⁺-Pi cotransporter PiT-2 (SLC20A2) is expressed in the apical membrane of rat renal proximal tubules and regulated by dietary Pi. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;296(4):F691–F699.
22. Murer H, Forster I, Hernando N, i sur. Post-transcriptional regulation of the proximal tubule Na⁺-phosphate transporter type II in response to PTH and dietary phosphate. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1999;277:F676–F684.
23. Murer H, Forster I, Hilfiker H, i sur. Cellular/molecular control of renal Na⁺/Pi cotransport. *Kidney Int.* 1988;65:S2–S10.

24. Biber J, Hernando N, Forster I. Phosphate transporters and their function. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:535–550.
25. Lötscher M, Scarpetta Y, Levi M, i sur. Rapid downregulation of rat renal Na/P(i) cotransporter in response to parathyroid hormone involves microtubule rearrangement. *J Clin Invest.* 1999;104(4):483–494.
26. Wagner CA, Hernando N, Forster IC, i sur. The SLC34 family of sodium-dependent phosphate transporters. *Pflügers Arch.* 2014;466:139–153.
27. Segawa H, Yamanaka S, Ito M, i sur. Internalization of renal type IIc Na-Pi cotransporter in response to a high-phosphate diet. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;288:F587–F596.
28. Foster IC, Hernando N, Biber J, Murer H. Proximal tubular handling of phosphate: a molecular perspective. *Kidney Int.* 2006;70:1548–1559.
29. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:266-81.
30. Wikvall K., Cytochrome P450 enzymes in the bioactivation of vitamin D to its hormone form. *Int J Mol Med* 2001; 7:201-9.
31. Li YC, Qiao G, Uskokovic M, i sur. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004;89-90:387-92.
32. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:39-48.
33. Zehnder D, Bland R Chana RS, i sur. Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) by human endothelial cells is regulated by inflammatory cytokines: a novel autocrine determination of vascular cell adhesion. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:621-9.
34. Khazai N, Judd SE, Tangpricha V. Calcium and vitamin D: skeletal and extraskeletal health. *Curr Rheumatol. Rep.* 2008;10:110-7.
35. Kido S, Kaneko I, Tatsumi S, i sur. Vitamin D and type II sodium-dependent phosphate cotransporters. *Contrib Nephrol* 2013;180:86–97.
36. Friedlaender MM, Wald H, Dranitzki-Elhalel M, i sur. Vitamin D reduces renal NaPi-2 in PTH-infused rats: complexity of vitamin D action on renal P(i) handling. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;281:F428–F433.

37. Capuano P, Radanovic T, Wagner CA, i sur. Intestinal and renal adaptation to a low-Pi diet of type II NaPi cotransporters in vitamin D receptor- and 1alphaOHase-deficient mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005;288:C429–C434.
38. Baxter LA, DeLuca HF. Stimulation of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase by phosphate depletion. *J Biol Chem* 1976;251:3158–3161.
39. Hughes MR, Brumbaugh PF, Hussler MR, i sur. Regulation of serum 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 by calcium and phosphate in the rat. *Science* 1975;190:578–580.
40. Tanaka Y, Deluca HF. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys* 1973;154:566–574.
41. Yoshida T, Yoshida N, Monkawa T, i sur. Dietary phosphorus deprivation induces 25-hydroxyvitamin D(3) 1alpha-hydroxylase gene expression. *Endocrinology* 2001;142:1720–1726.
42. Collins MT, Lindsay JR, Jain A, i sur. Fibroblast growth factor-23 is regulated by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D. *J Bone Miner Res* 2005;20:1944–1950. [PubMed] [Google Scholar]
43. Saito H, Maeda A, Ohtomo S, i sur. Circulating FGF-23 is regulated by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and phosphorus in vivo. *J Biol Chem* 2005;280:2543–2549.
44. Farrow EG, White KE. Recent advances in renal phosphate handling. *Nat Rev Nephrol.* 2010;6(4):207–217.
45. Antonucci DM, Yamashita T, Portale AA. Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:3144–3149.
46. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, i sur. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature.* 2006;444:770–774.
47. Belov AA, Mohammadi M. Molecular mechanisms of fibroblast growth factor signaling in physiology and pathology. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5:6.

48. Shimada T, Mizutani S, Muto T, i sur. Cloning and characterization of FGF-23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:6500–6505.
49. Razzaque MS, Sitara D, Taguchi T, i sur. Premature aging-like phenotype in fibroblast growth factor 23 null mice is a vitamin D-mediated process. *FASEB J*. 2006;6:720–722.
50. Aono Y, Shimada T, Yamazaki Y, i sur. The neutralization of FGF-23 ameliorates hypophosphatemia and rickets in Hyp mice. *J Bone Min Res*. 2003;18:S16.
51. Hu MC, Shi M, Zhang J, i sur. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J*. 2010;24:3438–3450.
52. Brownstein CA, Adler F, Nelson-Williams C, i sur. A translocation causing increased α -Klotho level results in hypophosphatemic rickets and hyperparathyroidism. *PNAS USA*. 2008;105:3455–3460.
53. Grabner A, Amaral AP, Schramm K, i sur. Activation of cardiac fibroblast growth factor receptor 4 causes left ventricular hypertrophy. *Cell Metab*. 2015;22:1020–32.
54. Gertner JM, Tamborlane WV, Horst RL, i sur. Mineral metabolism in diabetes mellitus. Changes accompanying treatment with portable subcutaneous insulin infusion. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;50:862–866.
55. Ditzel J, Brøchner-Mortensen J, Kawahara R. Dysfunction of tubular phosphate reabsorption related to glomerular filtration and blood glucose control in diabetic children. *Diabetologia*. 1982;23:406–410.
56. Raskin P, Pak CYC. The effect of chronic insulin therapy on phosphate metabolism in diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1981;21:50–53.
57. Nagasaka S, Murakami T, Uchikawa T, i sur. Effect of glycemic control on calcium and phosphorous handling and parathyroid level in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Endocr J*. 1995;42:377–383.

58. Fang L, Li X. Level of serum phosphorus and adult type 2 diabetes mellitus. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2016 May;41:502-6. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2016.05.009.
59. Phan O, Ivanovski O, Nguyen-Khoa T, i sur. Sevelamer prevents uremia-enhanced atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2005;112:2875–82.
60. Phan O, Ivanovski O, Nikolov IG, i sur. Effect of oral calcium carbonate on aortic calcification in apolipoprotein E-deficient (apoE^{-/-}) mice with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:82–90.
61. Nadra I, Mason JC, Philippidis P, i sur. Proinflammatory activation of macrophages by basic calcium phosphate crystals via protein kinase C and MAP kinase pathways: a vicious cycle of inflammation and arterial calcification?. *Circ Res*, 2005;96:1248–56.
62. Ewence AE, Bootman M, Roderick HL, i sur. Calcium phosphate crystals induce cell death in human vascular smooth muscle cells: a potential mechanism in atherosclerotic plaque destabilization. *Circ Res*. 2008;103:28–34.
63. Ellam T, Wilkie M, Chamberlain J, i sur. Dietary phosphate modulates atherogenesis and insulin resistance in apolipoprotein E knockout mice--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1988-90.
64. Di Marco GS, Hausberg M, Hillebrand U, i sur. Increased inorganic phosphate induces human endothelial cell apoptosis in vitro. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;294:1381–7.
65. Bose S, French S, Evans FJ, i sur. Metabolic network control of oxidative phosphorylation: multiple roles of inorganic phosphate. *J Biol Chem* 2003; 278:39155–65.
66. Kuro-o M. A potential link between phosphate and aging—lessons from Klothodeficient mice. *Mech Ageing Dev* 2010;131:270–5.
67. Shuto E, Taketani Y, Tanaka R, i sur. Dietary phosphorus acutely impairs endothelial function. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20:1504–12.

68. Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, i sur. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008;359:584-92.
69. Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, i sur. Association of elevated serum PO(4), Ca x PO(4) product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2131-8.
70. Dhingra R, Sullivan LM, Fox CS, i sur. Relations of serum phosphorus and calcium levels to the incidence of cardiovascular disease in the community. *Arch Intern Med* 2007;167:879-85.
71. Foley RN. Phosphate levels and cardiovascular disease in the general population. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1136-9
72. Foley RN, AJ Collins, A Ishani, i sur. Calcium-phosphate levels and cardiovascular disease in community-dwelling adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Heart Journal* 2008;156:556-563; doi.org/10.1016/j.ahj.2008.05.016
73. Slinin Y, Blackwell T, Ishani A, i sur. Serum calcium, phosphorus and cardiovascular events in post-menopausal women. *Int. J. Cardiol.* 2011;149:335-340; doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.02.013
74. Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, i sur. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2011;305:1119-27.
75. Dhingra R, Gona P, Benjamin EJ, i sur. Relations of serum phosphorus levels to echocardiographic left ventricular mass and incidence of heart failure in the community 2010;12:812-818;doi.org/10.1093/eurjhf/hfq106
76. Ritz E, Wanner C. Lipid Abnormalities and Cardiovascular Risk in Renal Disease. *JASN* 2008;19:1065-1070;doi: https://doi.org/10.1681/ASN.2007101128
77. Huang ES, Meigs JB, Singer DE. The effect of interventions to prevent cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Med.* 2001;111:633-42. DOI: 10.1016/s0002-9343(01)00978-0

78. Aronson D, Kapeliovich M, Hammerman H, et al. The relation between serum phosphorus levels and clinical outcomes after acute myocardial infarction. *PLoS One* 2013 8:e58348.
79. Park W, Kim BS, Lee JE, et al. Serum phosphate levels and the risk of cardiovascular disease and metabolic syndrome: a double-edged sword. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 83:119–25.
80. Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, et al. Relationship between serum phosphate and cardiovascular risk factors in a large cohort of adult outpatients. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;84:3–5.
81. Kestenbaum BR, Adeney KL, de Boer IH, et al. Incidence and progression of coronary calcification in chronic kidney disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Kidney Int* 2009;76:991–8.
82. Chonchol M, Dale R, Schrier RW, et al. Serum phosphorus and cardiovascular mortality in type 2 diabetes. *Am J Med* 2009;122:380–6.
83. Lullo LD, Barbera V, Bellasi A, et al. Vascular and valvular calcifications in chronic kidney disease: an update. *EMJ Nephrol* 2016; 4:84–91.
84. Wahl P, Xie H, Scialla J, et al. Earlier onset and greater severity of disordered mineral metabolism in diabetic patients with chronic kidney disease. *Diabetes Care*. 2012;35:994–1001.
85. Tanaka H, Hamano T, Fujii N, et al. The impact of diabetes mellitus on vitamin D metabolism in predialysis patients. *Bone*. 2009;45:949–955.
86. Mehrotra R. Disordered mineral metabolism and vascular calcification in nondialyzed chronic kidney disease patients. *J Ren Nutr*. 2006;16:100–118.
87. Xiang H, Zhang H, Zhou M, et al. Phosphorus is an independent risk factor for the progression of diabetic nephropathy. *Adv Clin Exp Med*. 2018 Sep;27:1239-1245. doi: 10.17219/acem/70094.
88. Haynes R, Staplin N, Emberson J, et al. Evaluating the contribution of the cause of kidney disease to prognosis in CKD: Results from the study of heart and renal protection (SHARP). *Am J Kidney Dis*. 2014;64:40–48.

89. Ekart R, Ferjuc A, Furman B, i sur. Chronic kidney disease progression to end stage renal disease: A single center experience of the role of the underlying kidney disease. *Ther Apher Dial.* 2013;17:363–367
90. Chen H, Li X, Yue R, i sur. The effects of diabetes mellitus and diabetic nephropathy on bone and mineral metabolism in T2DM patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;100:272–276.
91. Bellasi A, Mandreoli M, Baldrati L, i sur. Chronic kidney disease progression and outcome according to serum phosphorus in mild-to-moderate kidney dysfunction. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:883–891.
92. Kovesdy CP, Mucsi I, Czira ME, i sur. Association of serum phosphorus level with anemia in kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2011;91:875–882. doi: 10.1097/TP.0b013e3182111edf.
93. Yoshida K, Yoneda T, Kimura S. I sur. Polyamines as an inhibitor on erythropoiesis of hemodialysis patients by in vitro bioassay using the fetal mouse liver assay. *Ther Apher Dial.* 2006;10:267. doi: 10.1111/j.1744-9987.2006.00370.x.
94. Wojcicki JM. Hyperphosphatemia is associated with anemia in adults without chronic kidney disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2005-2010. *BMC Nephrol.* 2013 Aug 21;14:178. doi: 10.1186/1471-2369-14-178.
95. Lac Tran, Michael Batech, Connie M. Rhee, i sur. Serum phosphorus and association with anemia among a large diverse population with and without chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2016 Apr; 31:636–645. doi: 10.1093/ndt/gfv297.
96. Kuroo M. New developments in CKD-MBD. Why is phosphate overload harmful? *Clin Calcium* 2014; 24: 1785–1792.
97. Meytes D, Bogin E, Ma A, i sur. Effect of parathyroid hormone on erythropoiesis. *J Clin Invest* 1981; 67: 1263–1269.
98. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 1257–1272.

99. Bogin E, Massry SG, Levi J i sur. Effect of parathyroid hormone on osmotic fragility of human erythrocytes. *J Clin Invest* 1982; 69: 1017–1025.
100. Kalantar-Zadeh K, Lee GH, Miller JE i sur. Predictors of hyporesponsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: 823–834.
101. Meytes D, Bogin E, Ma A i sur. Effect of parathyroid hormone on erythropoiesis. *J Clin Invest* 1981; 67: 1263–1269.
102. Rao DS, Shih M-S, Mohini R. Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *N Engl J Med* 1993; 328: 171–175.
103. Zingraff J, Drüeke T, Marie P i sur. Anemia and secondary hyperparathyroidism. *Arch Int Med* 1978; 138: 1650–1652.
104. Haglin L, Lindblad A, Bygren LO. Hypophosphataemia in the metabolic syndrome. Gender differences in body weight and blood glucose. *Eur J Clin. 2001;55:493–498. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601209.*
105. Bellasi A, Mandreoli M, Baldrati L, i sur. Chronic kidney disease progression and outcome according to serum phosphorus in mild to moderate kidney dysfunction. *Clin J Am Soc Nephrol. 2011;6:883–891. doi: 10.2215/CJN.07810910.*
106. Uemura H, Irahara M, Yoneda N, i sur. Close correlation between estrogen treatment and renal phosphate reabsorption capacity. *J Clin Endocrinol Metabol. 2000;85:1215–1219. doi: 10.1210/jc.85.3.1215.*
107. Riggs BL, Jowsey J, Kelly PJ, i sur. Effect of sex hormones on bone in primary osteoporosis. *J Clin Invest. 1969;48:1065–1072.*
108. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, i sur. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science* 1988;241:84–86.
109. Pacifici R, Rifas L, McCracken R, i sur. Ovarian steroid treatment blocks a postmenopausal increase in blood monocyte interleukin 1 release. *Proc Natl Acad Sci* 1989;86:2398–2402.

110. Pacifici R, Brown C, Puscheck E, i sur. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:5134–5138.
111. DeFronzo R. A., Lang R. Hypophosphatemia and glucose intolerance: Evidence for tissue insensitivity to insulin. *N Engl J Med* 1980; 303: 1259–1263.
112. Harter H. R., Santiago J. V., Rutherford W. E., i sur. The relative roles of calcium, phosphorus and parathyroid hormone in glucose- and tolbutamide mediated insulin release. *J Clin Invest* 1976; 58: 359–367.
113. Davis J. L., Lewis S. B., Schultz T. A., i sur. Acute and chronic phosphate depletion as a modulator of glucose uptake in rat skeletal muscle. *Life Sci* 1979; 24: 629–632.
114. Bollaert P. E., Gimenez M., Robin-Lherbier B., i sur. Respective effects of malnutrition and phosphate depletion on endurance swimming and muscle metabolism in rats. *Acta Physiol Scand* 1992; 144: 1–7.
115. Reaven G. M. Role of insulin resistance in human disease. Banting lecture 1988. *Diabetes* 1988; 37: 1595–1607.
116. Barnard R. J., Wen S. J. Exercise and diet in the prevention and control of the metabolic syndrome. *Sports Med* 1994; 18: 218–228.
117. Bell D. S. H. Insulin resistance. An often unrecognized problem accompanying chronic medical disorders. *Postgrad Med* 1993; 93: 99–107.
118. Standl E. Hyperinsulinemia and atherosclerosis. *Clin Invest Med* 1995; 18: 261–266.
119. Lindgärde F., Trelle E. Serum inorganic phosphate in middle aged men. 1. Inverse relation to body weight. *Acta Med Scand* 1977; 202: 307–311.
120. Lind L., Lithell H., Hvarfner A., i sur. On the relationship between mineral metabolism, obesity and fat distribution. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 307–310.
121. Ljunghall S., Hedstrand H. Serum phosphate inversely related to blood pressure. *Br Med J* 1977; 1: 553–554.
122. Ljunghall S., Hedstrand H., Wide L. Effects of different serum phosphate concentrations on glucose and insulin metabolism. *Miner Electrolyte Metab* 1979; 2: 246.

123. Håglin, L. Hypophosphataemia: cause of the disturbed metabolism in the metabolic syndrome. *Medical Hypotheses*, 56(6), 657–663. doi:10.1054/mehy.2000.1272.
124. Håglin L. The nutrient density of present-day and traditional diets and their health aspects: the saami- and lumberjack families living in rural areas of Northern Sweden. *Int J Circumpolar Health* 1999; 58: 30–43.
125. Moe SM, Zidehsarai MP, Chambers MA, i sur. Vegetarian compared with meat dietary protein source and phosphorus homeostasis in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6:257–264. doi:10.2215/CJN.05040610
126. Sullivan C, i sur. Effect of food additives on hyperphosphatemia among patients with end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 301: 629–35
127. Foley RN, i sur. Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *JASN* 2009; 20: 397–404.
128. Tonelli M, i sur. Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation* 2005; 112: 2627–33.
129. Palmer SC, Gardner S, Tonelli M, i sur. Phosphate-binding agents in adults with CKD: a network meta-analysis of randomized trials. *Am J Kidney Dis* 2016; 68(5):691–702. doi:10.1053/j.ajkd.2016.05.015
130. Fissell RB, Karaboyas A, Bieber BA, i sur. Phosphate binder pill burden, patient-reported non-adherence, and mineral bone disorder markers: findings from the DOPPS. *Hemodial Int* 2016; 20:38–49. doi:10.1111/hdi.12315
131. Gutierrez OM, Isakova T, Enfield G, i sur. Impact of poverty on serum phosphate concentrations in third national health and nutrition examination survey. *J Ren Nutr.* 2011;21:140–148. doi: 10.1053/j.jrn.2010.03.001.
132. Landsberg L. Obesity-related hypertension and the insulin resistance syndrome. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1994; 106: 69–75.
133. Hvarfner A., Ljunghall S., Mörlin C., i sur. Bergström R. Indices of mineral metabolism in relation to blood pressure in a sample of a healthy population. *Acta Med Scand* 1986; 219: 461–468.

134. Ljunghall S., Palmér M., Åkerström G., i sur. Diabetes mellitus, glucose tolerance and insulin response to glucose in patients with primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy. *Eur J Clin Invest* 1983; 13: 373–377.
135. Ljunghall S., Hedstrand H. Serum phosphate inversely related to blood pressure. *Br Med J* 1977; 1: 553–554.
136. Sherman RA, Ravella S, Kapoor T. A dearth of data: the problem of phosphorus in prescription medications. *Kidney Int* 2015; 87(6):1097– 1099. doi:10.1038/ki.2015.67.
137. Chertow GM, Moe SM. Calcification or classification? *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16: 293–295.
139. Curb JD, Pressel SL, Cutler JA, i sur. Effect of diuretic-based antihypertensive treatment on cardiovascular disease risk in older diabetic patients with isolated systolic hypertension. *JAMA*. 1996;276:1886-1892.
140. Pyörälä K, Pedersen TR, Kjeldsen S, i sur. Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease: a subgroup analysis of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Diabetes Care*. 1997;20:614-620.
141. Goldberg RB, Mellies MJ, Sacks FM, i sur. Cardiovascular events and their reduction with pravastatin in diabetic and glucose-intolerant myocardial infarction survivors with average cholesterol levels: subgroup analyses in the Cholesterol And Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation*. 1998;98:2513-2519.
142. Franklin K, Goldberg RJ, Spencer F, i sur. Implications of diabetes in patients with acute coronary syndromes: the Global Registry of Acute Coronary Events. *Arch Intern Med*. 2004;164:1457-1463.
143. Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC, i sur. Impact of diabetes on long-term prognosis in patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the OASIS (Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry. *Circulation*. 2000;102: 1014-1019.

144. Mak KH, Moliterno DJ, Granger CB, i sur. Influence of diabetes mellitus on clinical outcome in the thrombolytic era of acute myocardial infarction: GUSTO-I Investigators: Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30:171-179.
145. Doherty TM, Fitzpatrick LA, Inoue D, i sur. Molecular, endocrine and genetic mechanisms of arterial calcification. *Endocr Rev.* 2004;25:629-672.
146. Young MJ, Adams JE, Anderson GF, i sur. Medial arterial calcification in the feet of diabetic patients and matched non-diabetic control subjects. *Diabetologia.* 1993;36:615-621.
147. Lehto S, Niskanen L, Suhonen M, i sur. Medial artery calcification. A neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulindependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16: 978-983.
148. Kestenbaum B, Sampson JN, Rudser KD, i sur. Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:520-528.
149. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, i sur. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:2208-2218.
150. Block GA, Raggi P, Bellasi A, i sur. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007;71:438-441.

11. ŽIVOTOPIS

Dajana Katičić je rođena 1984. godine u Bosni i Hercegovini. Osnovnu i srednju školu završila je u Zagrebu. Nakon mature u Općoj gimnaziji Sesvete, 2003. godine upisala je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem je diplomirala 2009. godine. Tijekom studija bila je aktivna u brojnim studentskim aktivnostima. Godine 2009. bila je na studentskoj razmjeni u Saveznoj Republici Njemačkoj u Sveučilišnoj bolnici Hamburg-Eppendorf. Nakon studija i obaveznog jednogodišnjeg pripravničkog staža, položila je državni ispit 2010. godine. Od 2010.g. do 2011.g. radila je kao liječnik na zamjeni u ordinacijama obiteljske medicine Doma zdravlja Zagreb – Ispostava Istok. Od 2012.g. radi u Kliničkom bolničkom centru „Sestre milosrdnice“, u Zavodu za nefrologiju i dijalizu. Godine 2012. upisala je postdiplomski studij „Biomedicina i zdravstvo“. Godine 2018.g. položila je specijalistički ispit iz nefrologije. Radi u Zavodu za nefrologiju i dijalizu KBC Sestre milosrdnice. Bila je polaznik Škole nefrologije u Budimpešti 2013.g., te Ljetne škole hipertenzije u Bukureštu 2017.g. kao aktivni sudionik i Nefrološke škole u Bostonu 2018.g. Sudjelovala je aktivno na nekoliko domaćih nefroloških kongresa. Članica je Hrvatske liječničke komore, Hrvatskog društva za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju, Hrvatskog društva za arterijsku hipertenziju, ERA-EDTA (Europsko udruženje za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju) te ESH (Europskog udruženja za hipertenziju).