

ASSOCIATION OF INTACT FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 AND ERYTHROPOIETIN HYPORESPONSIVENESS IN CKD PATIENTS

Miroslava Benkova-Petrova

Medical University Varna, Bulgaria, benkova_miroslava@yahoo.com

Svetla Staykova

Medical University Varna, Bulgaria, svetlastaykova@abv.bg

Abstract: Fibroblast growth factor 23 (FGF23) plays an important role in disorders of bone and mineral metabolism in patients with chronic kidney disease (CKD). In addition, FGF23 is thought to play a role in the pathogenesis of renal anemia. The aim of the study was to establish a relationship between FGF23 levels and erythropoietin resistance in patients in pre-dialysis and dialysis stages of CKD. Study included 80 patients (30 in pre-dialysis and 50 in dialysis of CKD). iFGF23 levels were examined in all patients and erythropoietin resistance index (ERI), age, sex, BMI, phosphate levels, vitamin B12, folic acid were calculated. The results were processed with SPSS v.20.0 for Windows using analysis of variance, variation, comparison and correlation. For significance level we assume $p < 0.05$. The levels of iFGF23 in the pre-dialysis group were significantly lower than the levels in the dialysis group, the difference being more than twice. High levels of iFGF23 correlate strongly with the duration of dialysis treatment. A moderate proportional relationship was found between iFGF23 and ERI. The highest levels of iFGF23 are associated with the highest risk of developing erythropoietin resistance in patients on maintenance hemodialysis.

Keywords: erythropoietin resistance, chronic kidney disease, anemia, FGF23, erythropoiesis-stimulating agents (ESA)

ВРЪЗКА МЕЖДУ ИНТАКТНИЯ ФИБРОБЛАСТЕН РАСТЕЖЕН ФАКТОР 23 И ЕРИТРОПОЕТИНОВАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХРОНИЧНО БЪБРЕЧНО ЗАБОЛЯВАНЕ

Мирослава Бенкова-Петрова

Медицински университет–Варна, България, benkova_miroslava@yahoo.com

Светла Стайкова

Медицински университет–Варна, България, svetlastaykova@abv.bg

Резюме: Фибробластният растежен фактор 23 (FGF23) играе важна роля в нарушенията на костно-минералната обмяна при пациентите с хронично бъбречно заболяване (ХБЗ). В допълнение се счита, че FGF-23 играе роля в генезата на реналната анемия. Цел на проследяването е установяване на връзка между нивата на FGF23 и еритропоетиновата резистентност при пациенти в преддиализен и диализен стадий на ХБЗ. Проследяването включва 80 пациенти (30 в преддиализен и 50 в диализен стадий на ХБЗ). При всички пациенти бяха изследвани нивата на iFGF23 и бе изчислен индекс на еритропоетинова резистентност (ERI), възраст, пол, BMI, нива на фосфат, витамин B12, фолиева киселина. Резултатите са обработени с SPSS v.20.0 for Windows, като са използвани дисперсионен, вариационен, сравнителен и корелационен анализи. За ниво на значимост приемаме $p < 0,05$. Нивата на iFGF23 в преддиализната група са сигнификантно по-ниски от нивата в диализната група, като разликата е повече от два пъти. Високите стойности на iFGF23 корелират силно с продължителността на диализното лечение. Установена е умерена правопрпорционална зависимост между iFGF23 и ERI. Най-високите нива на iFGF23 са свързани с най-висок риск за развитие на еритропоетинова резистентност при пациенти на поддържаща хемодиализа.

Ключови думи: еритропоетинова резистентност, хронично бъбречно заболяване, анемия, интактен FGF23, еритропоеза стимулиращи агенти (ECA).

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Терминът хронично бъбречно заболяване–костно-минерални нарушения (ХБЗ-КМН) включва нарушенията в костно-минералната обмяна и/или извънскелетната калцификация в следствие на патофизиологията на ХБЗ (15),(9). Бъбречната остео дистрофия се характеризира с хистологични промени в костите и изменена скорост на преобразуването ѝ, патологична минерализация и загуба на костната структура. При вторичния хиперпаратиреоидизъм е налице ранно повишено натрупване на фосфати, което е отговорно за повишена продукция на фибробластен растежен фактор 23 (FGF23) от остеоцитите, намалена продукция на

калцитриол и хипокалциемия. Допълнителни фактори, които увреждат костта са метаболитната ацидоза, хроничното възпаление, малнутрицията и др. (7).

Фибробластният растежен фактор (FGF23) се секретира главно от остеоцитите, като играе роля в активацията на витамин D и в регулацията на серумните фосфати и PTH. FGF-23 изисква Klotho като ко-рецептор за свързване с висок афинитет към рецепторите на фибробластния растежен фактор (FGFR) (13),(22).

При мишки е установено, че възпалението и функционалният железен дефицит стимулират производството на FGF23 (5). От друга страна еритропоетинът повишава нивата на FGF23 в костния мозък и плазмата при мишки и при хора с остро бъбречно увреждане или хронично бъбречно заболяване (10),(20). Съществуват доказателства, че FGF23 се асоциира с по-ниски хемоглобинови нива и риск от развитие на анемия при пациенти в преддиализен стадий на ХБЗ (14),(21),(16). В извършено проучване с гризачи експресията на FGF23 е директно индуцирана от еритропоетина след потискане от Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase (HIF) (8). HIF е сензор за хипоксия и железен дефицит в клетките, като се обсъжда неговата вероятна роля в асоциацията между FGF23 и анемията. Проучвания при мишки и хора установяват, че физиологичният отговор към железния дефицит може да регулира FGF23 чрез производството на еритропоетин и активирането на HIF (23). Установено е, че еритропоетин-FGF23 сигналният път има важна роля в костната минерализация и развитието на червените кръвни клетки (24).

Класическата патогенеза на анемичния синдром, свързан с ВтХПТ при пациенти с ХБЗ включва повишена секреция на PTH, който предизвиква костно-мозъчна фиброза (6). Това от своя страна увеличава нуждите от ЕСА за постигане на адекватни хемоглобинови нива. PTH се определя и като уремичен токсин, който потиска ендогенната продукция на еритропоетин, потиска еритроцитните прогенитори в костния мозък и намалява продължителността на живот на еритроцитите (11),(2). Високите нива на FGF23 обуславят хронично възпаление, което също допринася за развитието на анемия и еритропоетинова резистентност (18). В условия на уремия се понижава експресията в костните клетки на рецепторите за PTH, transforming growth factor- β (TGF- β) и insulin-like growth factor-1 (IGF-1) (3).

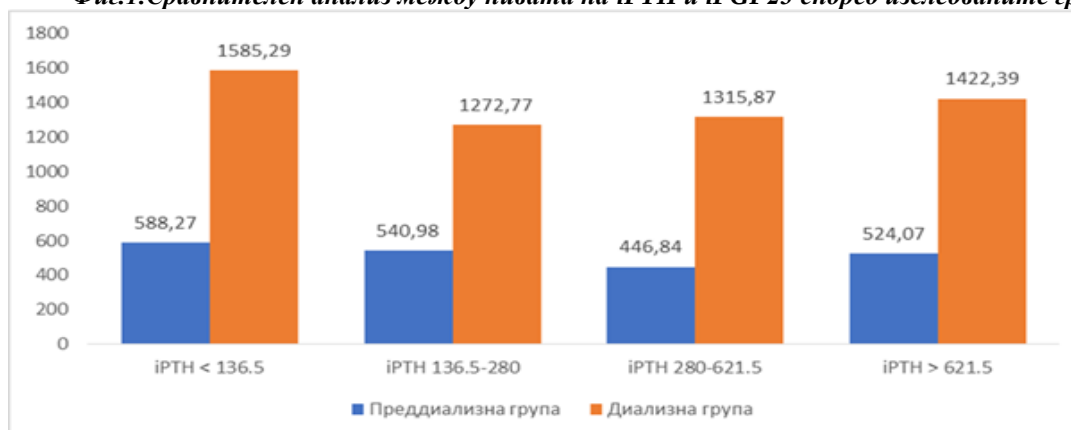
2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследвани са 80 пациенти на Клиниката по нефрология към УМБАЛ „Св. Марина“ Варна, разпределени в две групи: 30 пациенти с хронично бъбречно заболяване в преддиализен стадий (стадий 3-4) и 50 пациенти с ХБЗ 5-ти стадий, на диализно лечение. При всички пациенти бяха изследвани възраст, пол, BMI нива на iFGF23, фосфат, витамин B12, фолиева киселина и е изчислен еритропоетинов резистивен индекс (ERI). Резултатите са обработени с SPSS v.20.0 for Windows, като са използвани дисперсионен, вариационен, сравнителен и корелационен анализи. За ниво на значимост се приема $p < 0,05$.

3. РЕЗУЛТАТИ

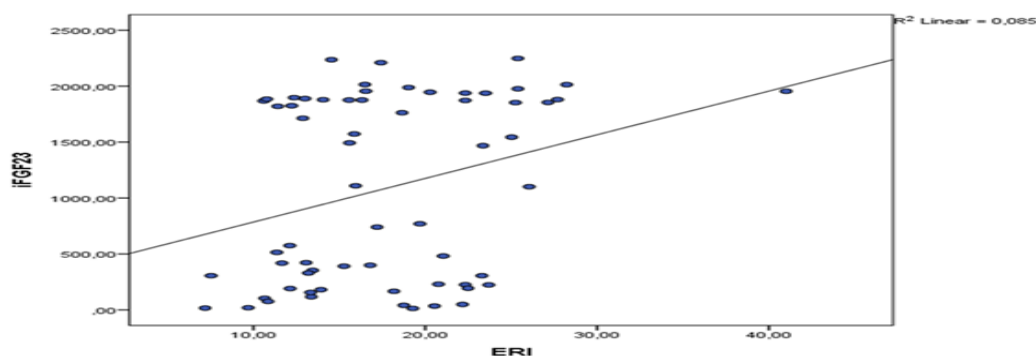
Установи се съществена разлика при сравняването на нивата на iPTH и iFGF-23 в двете изследвани групи ($p < 0,001$) (Фиг. 1).

Фиг.1. Сравнителен анализ между нивата на iPTH и iFGF23 според изследваните групи



Намерена е правопрпорционална умерена звисимост между ERI и iFGF23 ($r=0.30$; $p=0.02$), като високите нива на ERI корелират с високите нива на iFGF23. (фиг.2)

Фиг.2.Корелация между ERI и iFGF-23



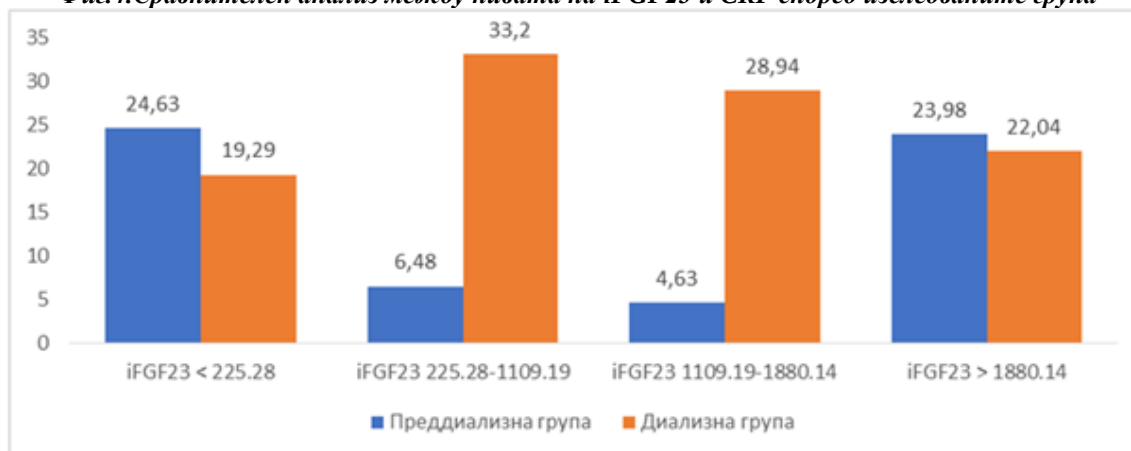
При провеждане на сравнителен анализ между нивата на iFGF23 според нивата на ERI се установяват значително по-високи стойности при пациентите в диализния стадий ($p < 0.001$), с изключение на най-високите нива на ERI > 22.29 , където и в двете групи нивата на iFGF23 са високи (съответно 1483.22pg/ml за пациентите в преддиализната група към 1438.60pg/ml за пациентите в диализната група) (фиг. 3)

Фиг.3.Сравнителен анализ между нивата на ERI и нивата на iFGF23 според изследваните групи



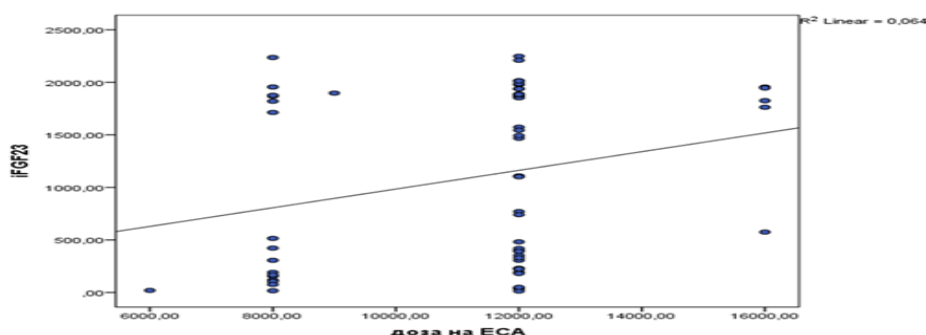
Установена е съществена разлика в нивата на iFGF23 и CRP според изследваните групи ($p < 0.05$), като при пациентите в преддиализната група се наблюдава спадане на нивата на CRP при iFGF23 < 1880.14 pg/ml, докато при пациентите в диализната група наблюдаваме повишаване на нивата на CRP при iFGF23 < 1109.19 pg/ml, след което бавно започва намаляване на стойностите на CRP, които остават над допустимата референтна граница (Фиг. 4).

Фиг.4.Сравнителен анализ между нивата на iFGF23 и CRP според изследваните групи



Правопропорционална слаба зависимост е установена и по отношение на нивата на iFGF23 според дозите на ECA ($r = 0.252$; $p = 0.046$) (Фиг. 5). Според получените резултати може да се каже, че в 6.4 % от случаите на повишени стойности на iFGF23 значение имат високите дози на ECA.

Фиг.5. Корелационен анализ между стойностите на iFGF23 и дозата на ECA



4. ОБСЪЖДАНЕ

Механизмите, чрез които вторичният хиперпаратиреоидизъм може да причини анемия не са напълно изяснени. Високите нива на РТН могат да повлияят на производството на червени кръвни клетки или директно чрез токсичния ефект на РТН върху еритроидните предшественици на костния мозък и повишената хемолiza или индиректно чрез стимулиране на фиброзата на костния мозък (2). РТН се счита за уремичен токсин, който потенциално инхибира синтеза на ЕРО, понижава преживяемостта на еритроцитите и причинява миелофиброза и по този начин потиска хематопоезата. Освен това FGF23 участва и в неефективната еритропоеза при ХБЗ.

Сое и съавт. са доказали, че FGF23 регулира негативно еритропоезата чрез потискане на производството на ЕРО и еритропоетин-рецепторната експресия (4). Освен това, експериментално изследване на Singh показва, че FGF23 директно стимулира възпалителна реакция. Тъй като хроничното възпаление е честа причина за анемия, предизвиканото от FGF23 възпаление може също да допринесе за бъбречна анемия и недостатъчна реакция към ЕРО.(17) В подкрепа на тези открития, в кохортното проучване Chronic Renal Insufficiency Cohort Study (CRIC) Mehta и съавт. демонстрират значителни асоциации на повишените нива на FGF23 с промяна на хемоглобиновите нива с течение на времето и развитие на анемия. В настоящото проучване не се намери зависимост между нивата на iFGF23 и CRP, но се установи съществена разлика в изследваните групи ($p < 0.05$). При пациентите в преддиализната група се наблюдава спадане на нивата на CRP при $iFGF23 < 1880.14 \text{ pg/ml}$, докато при пациентите в диализната група наблюдаваме повишаване на нивата на CRP при $iFGF23 < 1109.19 \text{ pg/ml}$, след което бавно започва намаляване на стойностите на CRP, които остават над допустимата референтна граница.(14).

Връзката между хиперпаратиреоидизма и отговора към ЕСА е оценена в редица проучвания. Amnuay и съавт. анализират 43-ма пациенти с ХБЗ, като установяват, че тези с високи нива на iPTH имат сигнификантно понижени стойности на хемоглобин и получават по-големи дози ЕСА в сравнение с групата с нормални стойности на iPTH (Hb 8.29 срещу 9.24 mg/dL, $p = 0.032$ и доза на ЕСА 16,352.94 UI/week срещу 12,444.44 UI/week, $p = 0.024$). Мултивариационен стъпков анализ сочи, че концентрациите на серумните фосфати са сигнификантно свързани с по-ниските нива на Hb ($p = 0.01$ и $p = 0.013$, респективно). В допълнение, хемоглобиновото ниво корелира обратнопропорционално с iPTH и нивото на серумните фосфати ($r = -0.54$, $p < 0.001$ и $r = -0.47$, $p = 0.005$; респективно). Хиперфосфатемията и ВtХПТ корелират значително с ниските нива на хемоглобин.(1) В настоящето изследване се намери съществена разлика в стойностите на РТН според ERI, като те са значително по-високи при пациентите в диализната група. Доказа се, че има правопрпорционална умерена зависимост между ERI и FGF-23 ($r = 0.3$, $p = 0.02$). Откри се и съществена разлика по отношение на нивата на фосфор според ERI между пациентите в двете групи ($p = 0.002$) (1).

През 2020г в своето проучването Japanese Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (J-DOPPS) Tomoko и съавт. представят резултати от проследяването на 1044 пациента в периода от 2012-2015г. Цел на проследяването е установяването на връзка между ЕРО резистентност и FGF23. ЕРО резистентност е била диагностицирана при 144 пациента (13,8%). Средната стойност на ERI е 20.7 [16.3, 28.3] при пациентите с ЕРО резистентност и 8.3 [5.3, 13.4] при тези без такава. Установява се, че най-ниските и най-високите нива на FGF - 23 са асоциирани с по-висока ЕРО резистентност при пациентите на ХД, въпреки че тази зависимост не е била статически значима (19). При провеждане на сравнителен анализ между нивата на iFGF-23 според нивата на ERI ние установихме значително по-високи стойности на iFGF-23 при пациентите в диализния стадий ($p < 0.001$), с изключение на най-високите нива на ERI > 22.29 , където и в двете групи нивата на iFGF-23 са високи (съответно 1483.22pg/ml за пациентите в преддиализната група и

1438.60pg/ml за пациентите в диализната група). Намерена е и правопрпорционална слаба зависимост по отношение на нивата на iFGF23 според дозите на ECA ($r=0.252$; $p=0.046$).

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Минералният дисбаланс е важен фактор, асоцииран с еритропоеиновата резистентност при ХБЗ. Системният синдром, наречен ХБЗ-минерално-костни нарушения (CKD-MBD) се свързва с повишена заболеваемост и смъртност и неблагоприятно влияние върху качеството на живот на бъбречно болните. Контролирането на нивата на РТН и своевременно лечение на вторичния хиперпаратиреоидизъм (витамин D рецепторни активатори, калцимитетици, паратиреоидектомия) са част от терапевтичните опции за намаляване на резистентността към еритропоеин.

РЕФЕРЕНЦИИ

- Amnuay, K., Srisawat, N., & Wudhikarn, K. (2019). Factors associated with erythropoiesis-stimulating agent hyporesponsiveness anemia in chronic kidney disease patients *Hematol Rep.* 11(3): 8183. Published online doi: 10.4081/hr.2019.8183
- Brancaccio, D., Cozzolino, M., & Gallieni, M. (2004). Hyperparathyroidism and anemia in uremic subjects: a combined therapeutic approach. *J Am Soc Nephrol*;15 Suppl. 1:S21–4.
- Brunner, S., Theiss, HD., & Murr, A. (2007). Primary hyperparathyroidism is associated with increased circulating bone marrow-derived progenitor cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 293: E1670–E1675.
- Coe, LM., Madathil, SV., Casu, C., & Lanske, B. (2014). FGF-23 is a negative regulator of prenatal and postnatal erythropoiesis. *J Biol Chem*;289:9795–810.
- David, V., Martin, A., & Isakova, T. (2016). Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. *Kidney Int.*; 89: 135- 146.
- Druke, TB., & Eckard, K. (2002). Role of secondary hyperparathyroidism in erythropoietin resistance of chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant.*;17(S5):28–31.
- Fabrice Mac, W., Myriam, L., & Lafage-Proust, M.-H. (2012). Pathophysiology of chronic kidney disease-mineral and bone disorder *Joint Bone Spine*;79(6):544-9.
- Flamme, I., Ellinghaus, P., Urrego, D., & Krüger, T. (2017). FGF23 expression in rodents is directly induced via erythropoietin after inhibition of hypoxia inducible factor proline hydroxylase. *PLoS One*; 12:e0186979.
- Gal-Moscovici, A., & Sprague, S.M. (2007). Bone health in chronic kidney disease mineral and bone disease. *Adv Chronic Kidney Dis*;14:27–36
- Hanudel, M.R., Eisenga, M.F., & Rappaport, M.(2019). Effects of erythropoietin on fibroblast growth factor 23 in mice and humans. *Nephrol Dial Transplant*; 34: 2057- 2065.
- Kalantar-Zadeh, K., Lee, G.H., Miller, J.E., Streja, E., & Jing, J. (2009). Predictors of hyporesponsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.*;53(5):823–34.
- Komaba, H., Kakuta, T., & Fukagawa, M. (2017). Management of secondary hyperparathyroidism: how and why? *Clin Exp Nephrol.*;21(Suppl S1):37–45. doi:10.1007/s10157-016-1369-2
- Kurosu, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., & Nandi, A. (2006). Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J. Biol. Chem.* 281, 6120–6123
- Mehta, R., Cai, X., & Hodakowski, A. (2017). Fibroblast growth factor 23 and anemia in the chronic renal insufficiency cohort Study. *Clin J Am Soc Nephrol*; 12: 1795- 1803.
- Moe, S., Druke, T., & Cunningham, J. (2006). Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*; 69:1945–53.
- Nam, K.H., Kim, H., & An, S.Y. (2018). Circulating fibroblast growth Factor-23 levels are associated with an increased risk of anemia development in patients with nondialysis chronic kidney disease. *Sci Rep*; 8:7294.
- Singh, S., Grabner, A., Yanucil, C., et al. (2016). Fibroblast growth factor 23 directly targets hepatocytes to promote inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int*;90:985–96.
- Tanaka, M., Komaba, H., & Fukagawa, M. (2018). Emerging association between parathyroid hormone and anemia in hemodialysis patients. *Ther Apher Dial.*;22(3):242–245. doi:10.1111/1744-9987.12685
- Tomoko, U., Zhao, J., Fuller, D.S., & Hanafusa, N. (2020). Association of erythropoietin resistance and fibroblast growth factor 23 in dialysis patients: Results from the Japanese Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study
- Toro, L., Barrientos, V., & León, P. (2018). Erythropoietin induces bone marrow and plasma fibroblast growth factor 23 during acute kidney injury. *Kidney Int*; 93: 1131- 1141.
- Tsai, M.H., Leu, J.G., Fang, Y.W., & Liou, H.H.(2016). High fibroblast growth factor 23 levels associated with low hemoglobin levels in patients with chronic kidney disease stages 3 and 4. *Medicine (Baltimore)*; 95:e3049

- Urakawa, I., Yamazaki, Y., Shimada, T., Iijima, K., & Hasegawa, H. (2006). Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature* 444, 770–774
- van Vuren, A.J., Gaillard, C.A.J.M., Eisenga, M.F., van Wijk, R., & van Beers, E.J. (2019). The EPO-FGF23 signaling pathway in Erythroid progenitor cells: opening a new area of research. *Front Physiol*; 10: 304.
- Wheeler, J.A., & Clinkenbeard, E.L. (2019) Regulation of fibroblast growth factor 23 by iron, EPO, and HIF. *Curr Mol Biol Rep*; 5: 8- 17.