

**mgr Marek Wójcik**

***„Analiza zależności genotyp – fenotyp na podstawie wybranych parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej, metabolitów witaminy D, markerów obrotu kostnego oraz składu ciała u pacjentów z podejrzeniem nadwrażliwości na witaminę D”***

**Streszczenie**

Głównym powikłaniem długotrwałej hiperkalcemii może być wapnica nerek, prowadząca w niektórych przypadkach do przewlekłej niewydolności nerek.

Odległe powikłania metaboliczne, nerkowe, kostne i naczyniowe u osób, które w dzieciństwie przebyły idiopatyczną hiperkalcemię nie zostały do tej pory dokładnie zbadane i opisane. Brakuje również badań wpływu zaleceń profilaktycznych dotyczących diety oraz trybu życia na stan zdrowia tych pacjentów.

Celem głównym badania była biochemiczna i densytometryczna ocena stanu zdrowia dzieci hospitalizowanych na oddziale lub przyjętych w poradni IPCZD w latach od 2000 roku do momentu rozpoczęcia projektu, u których w okresie niemowlęcym stwierdzono hiperkalcemię  $>2,69$  mmol/l o nieznanym przyczynie, z co najmniej jedнокrotnym oznaczeniem 25(OH)D i/lub 1,25(OH)<sub>2</sub>D w pierwszym roku życia, przekraczającym górną granicę normy, oraz młodych dorosłych hospitalizowanych lub będących pod opieką poradni IPCZD w latach 80-tych oraz 90-tych XX wieku z powodu wystąpienia hiperkalcemii idiopatycznej.

W celu oceny stanu zdrowia osób biorących udział w powyższym projekcie zostały wykonane badania lekarskie, laboratoryjne, obrazowe, genetyczne oraz ocena antropometryczna z uwzględnieniem badania składu ciała. W ramach badań biochemicznych zostały oznaczone parametry związane z gospodarką wapniowo-fosforanową, czynnością i funkcją nerek, metabolizmem tkanki kostnej oraz szlakiem metabolicznym witaminy D.

Badania składu ciała wykazały, że wartości Z-score dla wzrostu, masy ciała oraz BMI wyliczone w grupie badanej mieściły się w granicach  $\pm 1.0$  SD, a więc nie odbiegały od wartości oczekiwanych w fizjologii. Również średnie wartości Z-score dla gęstości tkanki kostnej całego szkieletu (Total BMD), masy tkanki kostnej całego szkieletu (Total BMC), masy tkanki tłuszczowej całego ciała (Total Fat Mass) oraz masy ekwiwalentu tkanki mięśniowej (Total Lean Mass) mieściły się w granicach  $\pm 1,0$  SD, a więc nie odbiegały znacząco od wartości oczekiwanych w fizjologii.

Zaobserwowano, że wskaźniki Z-score Total BMD, Total BMC, oraz Total Lean Mass we wszystkich porównywanych podgrupach (bez stwierdzonej mutacji oraz z mutacjami CYP24A1 oraz SLC34A1) mieściły się w granicach  $\pm 1,0$  SD, a więc nie odbiegały od wartości oczekiwanych w fizjologii. Wyjątkiem była wartość Z-score dla Total Fat Mass, a więc dla masy tkanki tłuszczowej w grupie z mutacją CYP24A1 ( $1,96 \pm 0,89$ ), która w istotny sposób była wyższa od wartości oczekiwanych w fizjologii.

Oznaczenia stężenia witaminy D – total 25(OH)D nie wykazały istotnej różnicy między wartościami notowanymi w grupie badanej i w grupie kontrolnej. Podobnie, nie wykazano różnic w zakresie ocenianych stężeń total 25(OH)D między grupą kontrolną a grupą badaną analizowaną z uwzględnieniem obecności i rodzaju wykrytej mutacji.

W grupie kontrolnej niedobór witaminy D, a więc wartości stężenia total 25(OH)D w przedziale 0-20 ng/ml stwierdzono u 10 badanych osób (13,7%). Stężenie total 25(OH)D uznawane jako stężenie suboptymalne (>20-30 ng/ml) wykazano u 26 osób (35,61%). Optymalne stężenie witaminy D (>30-50 ng/ml) odnotowano u 37 badanych (50,7%), natomiast u 1 osoby (1,4%) zaobserwowano stężenie total 25(OH)D wynoszące 76,9 ng/ml, które uznaje się za wysokie (>50-100 ng/ml).

W grupie badanej (z przebyta hiperkalcemią) niedobór witaminy D zdefiniowany jako stężenie total 25(OH)D w przedziale 0-20 ng/ml stwierdzono u 8 badanych (12,7%). Stężenie suboptymalne odnotowano u 29 osób (46,0%), zaś wartości prawidłowe stężenia total 25(OH)D wykazano u 25 osób (39,7%). W grupie tej, podobnie jak w grupie kontrolnej wysokie stężenie total 25(OH)D ujawniono jedynie u 1 pacjenta (1,6%) (63,7 ng/ml).

W ujęciu ogólnym, status witaminy D u osób z przebyta hiperkalcemią okazał się raczej prawidłowy. Obserwacja ta wskazuje pośrednio, że pierwotnie podwyższone stężenie 25(OH)D, które mogło występować u pacjentów nie leczonych redukowało się do wielkości pożądaných ok. 30 ng/ml.

Zaobserwowano, szczególnie w grupie osób z przebyta hiperkalcemią, niezależnie od płci wartości stężenia 1,25(OH)<sub>2</sub>D uznane w praktyce klinicznej za podwyższone (około 70 pg/ml lub powyżej). Dodatkowo, w grupie badanej względem kontrolnej odnotowano istotnie wyższe stężenia 1,25(OH)<sub>2</sub>D.

Istotne różnice w wartościach stężeń między badanymi grupami zaobserwowano w przypadku metabolitu 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, a więc biochemicznego markera szlaku katabolicznego witaminy D. Stwierdzono również istotnie wyższą wartość ilorazu 25(OH)D<sub>3</sub>/24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> w grupie badanej względem wartości wyliczonych w grupie kontrolnej.

Współczynnik 25(OH)D<sub>3</sub>/24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> był istotnie statystycznie wyższy w grupie z mutacją CYP24A1 względem wartości notowanych w grupie badanej bez mutacji a także względem grupy z mutacją SLC34A1 oraz w grupy kontrolnej.

Nie wykazano różnic w zakresie ocenianych stężeń wapnia (Ca) w surowicy między grupą kontrolną a grupą badaną analizowaną z uwzględnieniem obecności i rodzaju wykrytej mutacji.

W podgrupie bez mutacji u 5 pacjentów (10,6%) wykazano podwyższone stężenie Ca w surowicy, w jednym przypadku zaobserwowano stężenie Ca wynoszące 2,78 mmol/l – co uznaje się za znaczną hiperkalcemię. W podgrupie z mutacją CYP24A1 podwyższone stężenie Ca w surowicy występowało u 4 pacjentów (30,8%), z czego w dwóch przypadkach zaobserwowano poziom Ca uznawany za znaczną hiperkalcemię: odpowiednio 2,70 mmol/l oraz 2,80 mmol/l.

Istotną klinicznie obserwacją u osób z grupy badanej była hiperkalciuria.

Zwiększoną kalciurię zaobserwowano u 32 pacjentów (71,1%) z podgrupy bez mutacji, w tym w jednym przypadku odnotowano masywną hiperkalciurię – wskaźnik Ca<sub>m</sub>/kreat wynosił 6,83 przy normie wynoszącej < 0,81. W podgrupie z mutacją CYP24A1 zwiększone wydalanie Ca z moczem stwierdzono u 10 pacjentów (76,9%), natomiast w podgrupie z

mutacją SLC34A1 wydalanie Ca z moczem powyżej normy zaobserwowano u wszystkich 3 pacjentów (100%).

W podgrupie z mutacją CYP24A1 podwyższone stężenie fosforanów (P) w surowicy występowało u 4 pacjentów (30,8%), natomiast w podgrupie z mutacją SLC34A1 znaleziono 1 pacjenta z podwyższonym stężeniem fosforanów (P). W podgrupie z mutacją SLC34A1 u wszystkich 3 pacjentów (100%) odnotowano nadmierne wydalanie fosforanów (P) z moczem.

Obniżone stężenie PTH odnotowano u 8 pacjentów (17,4%) w podgrupie bez mutacji, u 7 pacjentów (63,6%) w podgrupie z mutacją CYP24A1 oraz u jednego pacjenta (33,3%) w podgrupie z mutacją SLC34A1.

Ocena stężenia kreatyniny wykazała w podgrupie z mutacją CYP24A1 4 pacjentów (30,8%) ze stężeniem przekraczającym górną granicę normy. Z kolei podwyższone stężenie cystatyny C - uznawanej jako czuły wskaźnik niewydolności nerek, stwierdzono u 6 pacjentów (66,7%) w podgrupie z mutacją CYP24A1. Stężenia FGF-23 we wszystkich ocenianych podgrupach mieściły się w granicach wartości referencyjnych (18-108 pg/ml).

Wyniki pomiarów stężenia markerów obrotu kostnego opisane w niniejszej pracy potwierdziły ogólnie ich dużą zmienność. Najwyższe średnie stężenia zarówno markerów kościotworzenia, jak również markerów resorpcji kości zostały odnotowane u pacjentów z przebyłym epizodem hiperkalcemii. Jednocześnie, najniższe średnie stężenia zarówno markerów kościotworzenia, jak również markerów resorpcji kości znaleziono u osób zdrowych, należących do grupy kontrolnej. Zwiększony całkowity obrót kostny był charakterystyczny dla osób z przebyłym epizodem hiperkalcemii.

Na podstawie uzyskanych wyników wyciągnięto następujące wnioski:

Parametry antropometryczne oraz skład ciała (z wyjątkiem Total Fatt mass) u osób z przebyłym w dzieciństwie epizodem hiperkalcemii idiopatycznej mieściły się w granicach wartości fizjologicznych. Osoby te wykazywały również lepsze zaopatrzenie w witaminę D w stosunku do populacji ogólnej.

Pacjenci z mutacją CYP24A1 posiadali wyższy od pozostałych dwa rzędy wielkości iloraz  $25(\text{OH})\text{D}_3 / 24,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ , co umożliwiło stosowanie tego ilorazu jako skutecznego narzędzia diagnostycznego.

Osoby z przebyłym w dzieciństwie epizodem hiperkalcemii posiadały prawidłowe stężenie wapnia w surowicy z tendencją do przetrwałej hiperkalciurii.

Stwierdzono zwiększony obrót u osób z różnorodnymi zaburzeniami gospodarki wapniowo-fosforanowej manifestującymi się hiperkalcemią.