

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ANDREJ ŠTURM

## MAGISTRSKA NALOGA

MAGISTRSKI ŠTUDIJ LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2017

Univerza v Ljubljani  
Fakulteta za farmacijo



ANDREJ ŠTURM

**POVEZANOST SERUMSKIH KONCENTRACIJ  
25-HIDROKSIHOLEKALCIFEROLA Z GIBALNO  
ZMOŽNOSTJO DIALIZNIH BOLNIKOV**

**ASSOCIATION BETWEEN SERUM  
25-HYDROXYCHOLECALCIFEROL LEVELS AND  
PHYSICAL PERFORMANCE IN DIALYSIS PATIENTS**

**MAGISTRSKA NALOGA**

Ljubljana, 2017

Magistrsko naložko sem opravljal na Katedri za klinično biokemijo na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem., in somentorstvom doc. dr. Jerneja Pajka, dr. med., spec. int. med. Laboratorijske preiskave krvi smo izvedli v laboratoriju na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana. Del naloge je bil opravljen v Laboratoriju za fiziologijo športa na Fakulteti za šport.

### **Zahvala**

Iskreno se zahvaljujem mentorju, prof. dr. Jošku Osredkarju, za vso pomoč pri ustvarjanju magistrske naloge.

Prav tako se najlepše zahvaljujem somentorju, doc. dr. Jerneju Pajku, za vse nasvete, hitre odgovore, popravke in usmeritve pri delu.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem magistrsko naložko samostojno izdelal pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja in somentorja doc. dr. Jerneja Pajka.

Andrej Šturm

Ljubljana, 2017

**VSEBINA**

<b>POVZETEK .....</b>	<b>III</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV .....</b>	<b>V</b>
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1 LEDVICE .....	1
1.1.1 <i>Zgradba ledvic in nefrona</i> .....	1
1.1.2 <i>Glomerulna filtracija (GF)</i> .....	2
1.1.3 <i>Tubulna reabsorpcija</i> .....	2
1.1.4 <i>Tubulno izločanje</i> .....	2
1.1.5 <i>Vzdrževanje volumna telesnih tekočin in koncentracije elektrolitov</i> .....	3
1.2 KRONIČNA LEDVIČNA BOLEZEN (KLB).....	4
1.2.1 <i>Definicija in klasifikacija KLB</i> .....	4
1.2.2 <i>Prevalenca KLB</i> .....	5
1.2.3 <i>Diagnostika KLB</i> .....	5
1.3 VITAMIN D .....	7
1.3.1 <i>Nomenklatura vitamina D</i> .....	8
1.3.2 <i>Zgradba vitamina D</i> .....	8
1.3.3 <i>Fiziologija vitamina D</i> .....	8
1.3.4 <i>Bioaktivacija vitamina D</i> .....	9
1.3.5 <i>Presnova in izločanje vitamina D</i> .....	10
1.3.6 <i>Referentne vrednosti vitamina D</i> .....	10
1.3.7 <i>Biološki procesi, ki jih nadzoruje vitamin D</i> .....	10
1.3.8 <i>Metode določanja serumske koncentracije vitamina D</i> .....	11
1.4 ZDRAVLJENJE KRONIČNE LEDVIČNE BOLEZNI .....	11
1.4.1 <i>Ukrepi za upočasnitve napredovanja KLB</i> .....	11
1.4.2 <i>Nadomestno ledvično zdravljenje</i> .....	11
1.5 KRONIČNA LEDVIČNA BOLEZEN IN GIBALNA OVIRANOST .....	13
1.5.1 <i>Gibalni testi</i> .....	13
<b>2 NAMEN DELA .....</b>	<b>15</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE.....</b>	<b>16</b>
3.1 ZASNOVA RAZISKAVE .....	16
3.2 IZVEDBA MERITEV IN ZAJEM PODATKOV.....	16
3.2.1 <i>Določanje serumske koncentracije 25-hidroksiholekalciferola</i> .....	17

3.3	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV .....	18
3.3.1	<i>Izbor reprezentativnih antropometrijskih spremenljivk</i> .....	18
3.3.2	<i>Multivariabilni napovedni model</i> .....	18
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b> .....	<b>20</b>
4.1	OSNOVNI REZULTATI .....	20
4.2	MULTIVARIABILNI REGRESIJSKI MODELI.....	22
4.2.1	<i>Analiza rezultata 6-minutnega testa hoje</i> .....	22
4.2.2	<i>Analiza rezultata testa 10-kratnega vstajanja s stola</i> .....	23
4.2.3	<i>Analiza rezultata testa moči stiska pesti</i> .....	24
4.2.4	<i>Analiza aktivnosti v domačem okolju</i> .....	25
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA</b> .....	<b>27</b>
5.1	PREDNOSTI IN SLABOSTI RAZISKAVE .....	28
<b>6</b>	<b>SKLEPI</b> .....	<b>30</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>31</b>

## POVZETEK

Gibalna zmožnost dializnih bolnikov je močan napovedni dejavnik preživetja, obolenosti in kakovosti življenja. V okviru presečne kontrolirane raziskave smo ugotavliali, ali je serumska koncentracija vitamina D, sama po sebi, brez vplivov pridruženih bolezni, antropometrijskih danosti ter starosti in spola, pomemben napovedni dejavnik gibalne zmožnosti dializnih bolnikov. V raziskavo smo vključili 81 zdravih kontrolnih preiskovancev in 54 dializnih bolnikov brez hujših stopenj pridruženih bolezni. Gibalna zmožnost je bila merjena z gibalnimi testi: 6-minutni test hoje, test 10-kratnega vstajanja s stola in test moči stiska pesti. Rezultate gibalnih testov smo dopolnili še s podatki vprašalnika aktivnosti v domačem okolju s prilagojenim točkovanjem aktivnosti (HAP-AAS). Pusta in maščobna telesna masa je bila izmerjena z bioimpedančnim merilcem BCM Fresenius. Antropometrične meritve so izvedli s standardiziranimi merili in kaliperji. Demografski in klinični podatki so bili pridobljeni z anketiranjem preiskovancev in vpogledom v medicinsko dokumentacijo. Stopnja pridružene obolenosti je bila ocenjena po Daviesu. Serumsko koncentracijo kreatinina, albumina in hemoglobina so določili z rutinskimi laboratorijskimi metodami. Serumsko koncentracijo 25-hidroksiholekalciferola smo določili z dvostopenjsko imunoencimsko metodo s kompetitivno vezavo. Z ročno štoparico so izmerili čas 10-ih ponovitev vstajanja s stola, moč stiska pesti pa s hidravličnim ročnim dinamometrom. Povezanost serumske koncentracije vitamina D z rezultati gibalnih testov in točkami HAP-AAS smo preverili z multivariabilnim linearnim modelom. Dokazali smo, da je serumska koncentracija vitamina D statistično značilen in neodvisen pozitivni napovedni dejavnik uspeha na 6-minutnem testu hoje ( $B = 0,61$ , 95% interval zaupanja od 0,16 do 1,06,  $p = 0,008$ ). Dokazali smo tudi statistično značilno povezano med serumsko koncentracijo vitamina D in aktivnostjo v domačem okolju, ki jo odraža vprašalnik HAP-AAS ( $B = 0,091$ , 95% interval zaupanja od 0,040 do 0,142,  $p = 0,001$ ). Pri analizi povezanosti moči stiska pesti ter testa hitrosti vstajanja s stola nismo uspeli dokazati statistično značilne povezanosti s serumsko koncentracijo vitamina D. Rezultati kažejo na to, da je serumska koncentracija vitamina D statistično značilno povezana z gibalnimi zmožnostmi dializnih bolnikov, vendar le v delu, ki je povezan s submaksimalno fizično vzdržljivostjo. Šibkost naše raziskave je majhna velikost vzorca, saj zanesljiva multivariabilna analiza z več neodvisnimi napovednimi dejavniki zahteva velike vzorce. Prednost upoštevanja vseh pomembnih neodvisnih napovednih dejavnikov tako ni bila izkoriščena v polni meri.

## ABSTRACT

Physical performance of dialysis patients is a strong predictor of survival, morbidity and quality of life. We performed a cross-sectional case-control study to determine whether the level of vitamin D is associated with physical performance of dialysis patients, independent from anthropometric indices, comorbid diseases, age and gender. 54 dialysis patients free of advanced stages of chronic comorbid conditions potentially interfering with physical performance and 81 healthy control subjects were recruited. Physical performance was assessed with physical performance tests: 6-minute walk test, 10 repetition sit-to-stand test (STS-10) and handgrip strength (HGS). The results of physical performance tests were supplemented with human activity profile – adjusted activity score (HAP-AAS) questionnaire data. Lean and fat body mass were measured with a bioimpedance body composition monitor BCM Fresenius. Anthropometric indices were measured with standardized calipers. A questionnaire and medical documentation were used to gather clinical and demographic data. Davies comorbidity grade was used to score comorbidity level. Serum levels of creatinine, albumin and hemoglobin were determined with standard routine clinical laboratory methods. Serum levels of 25-hydroxycholecalciferol were measured with a two-step competitive binding immunoenzymatic assay. STS-10 time was measured with a stopwatch, HGS was measured with hydraulic hand dynamometer. The association between physical performance tests/HAP-AAS results and vitamin D level was tested with a general linear model. Statistical analysis revealed that the vitamin D level is a statistically significant and independent positive predictor of patient's 6-minute walk test success ( $B = 0.61$ , 95% confidence interval 0.16 to 1.06,  $p = 0.008$ ). Statistical analysis also revealed statistically significant correlation between vitamin D levels and HAP-AAS results ( $B = 0.091$ , 95% confidence interval 0.040 to 0.142,  $p = 0.001$ ). We were unable to demonstrate statistically significant relationship between HGS or STS-10 and vitamin D level. Our results revealed that there is a statistically significant correlation between vitamin D levels and physical performance of dialysis patients, but only in part that is related to submaximal physical endurance. The weakness of our study is small sample size as a reliable multivariable analysis of several independent covariates requires large samples. Thus the advantage of taking into account all significant independent covariates was not utilized in full.

**SEZNAM OKRAJŠAV**

ADH	antidiuretični hormon
CaB	kalcij vezova beljakovina
CCS	Canadian Cardiovascular Society
CKD-EPI	kratica študije Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CLIA	kemiluminiscenčna imunološka metoda (angl. Chemiluminescent Immunoassay)
DBP	vitamin D vezova beljakovina (angl. vitamin D Binding Protein)
EIA	encimskoimunske tehnike (angl. Enzyme-linked Immunosorbent Assay)
GF	glomerulna filtracija
HAP	vprašalnik aktivnosti v domačem okolju (angl. Human Activity Profile)
HAP-AAS	vprašalnik aktivnosti v domačem okolju s prilagojenim točkovanjem aktivnosti (angl. Human Activity Profile-Adjusted Activity Score)
HLA	humani levkocitni antigen
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. High Performance Liquid Chromatography)
IDMS	izotopno dilucijska masna spektrometrija
IFCC	Mednarodna zveza klinične kemije in laboratorijske medicine (angl. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
iPTH	intaktni paratiroidni hormon
IUPAC-IUB	International Union of Pure and Applied Chemistry-International Union of Biochemistry
KDIGO	kratica mednarodnih kliničnih priporočil Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KDOQI	Mednarodna strokovna iniciativa za kvalitetno obravnavo ledvične bolezni (angl. Kidney Disease Outcome Quality Initiative)
KLB	kronična ledvična bolezen
LC-MS/MS	tekočinska kromatografija s tandemsko masno spektrometrijo (angl. Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry)
MDRD	kratica raziskave Modification of Diet in Renal Disease
MS	masna spektrometrija

NYHA	New York Heart Association
PD	peritonealna dializa
PTH	paratiroidni hormon
RIA	radioimunske tehnike (angl. Radioimmunoassay)
SD	standardni odklon (angl. Standard Deviation)
STS-10	test 10-kratnega vstajanja s stola (angl. Sit-To-Stand-10 test)

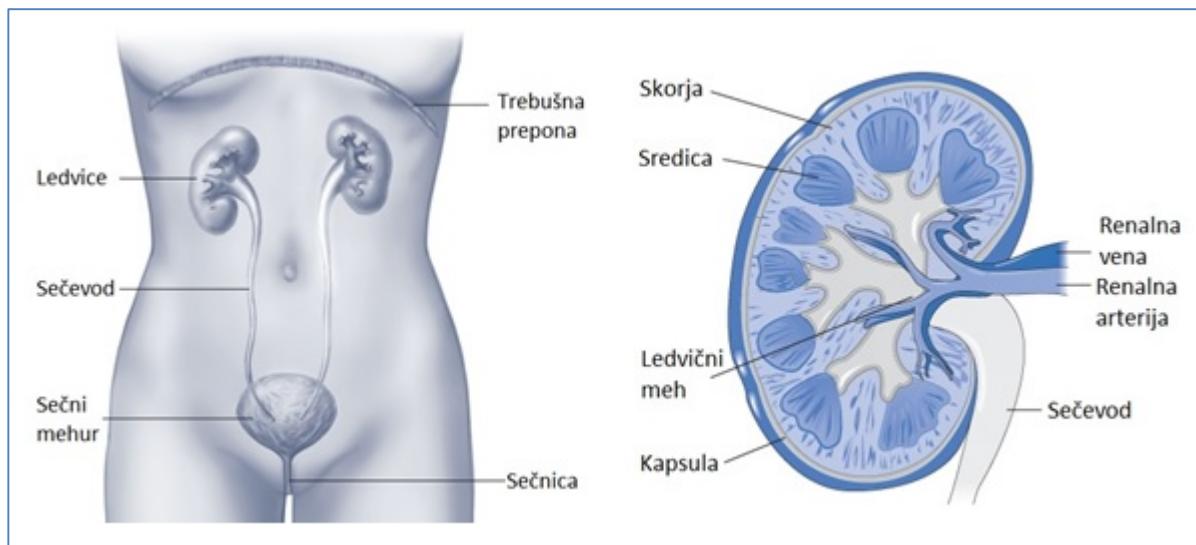
## 1 UVOD

### 1.1 LEDVICE

Ledvice opravljajo endokrino, presnovno in izločevalno naloge (1). Vzdržujejo stalnost notranjega okolja. Funkcije ledvic so: izločanje vode in neorganskih topljencev (npr.  $\text{Na}^+$ , fosfat,  $\text{Cl}^-$ ), izločanje organskih končnih produktov presnove (sečnina, kreatinin, sečna kislina) ter presnovkov telesu tujih organskih spojin (npr. zdravil), uravnavanje acidobaznega ravnotesja telesnih tekočin, sinteza hormonov (renin, eritropoetin in 1,25-dihidroksiholekalciferol) ter glukoneogeneze. Pri izvajanju naštetih funkcij ledvice sodelujejo z ostalimi organskimi sistemi, zlasti s srčnožilnim sistemom (2, 3).

#### 1.1.1 Zgradba ledvic in nefrona

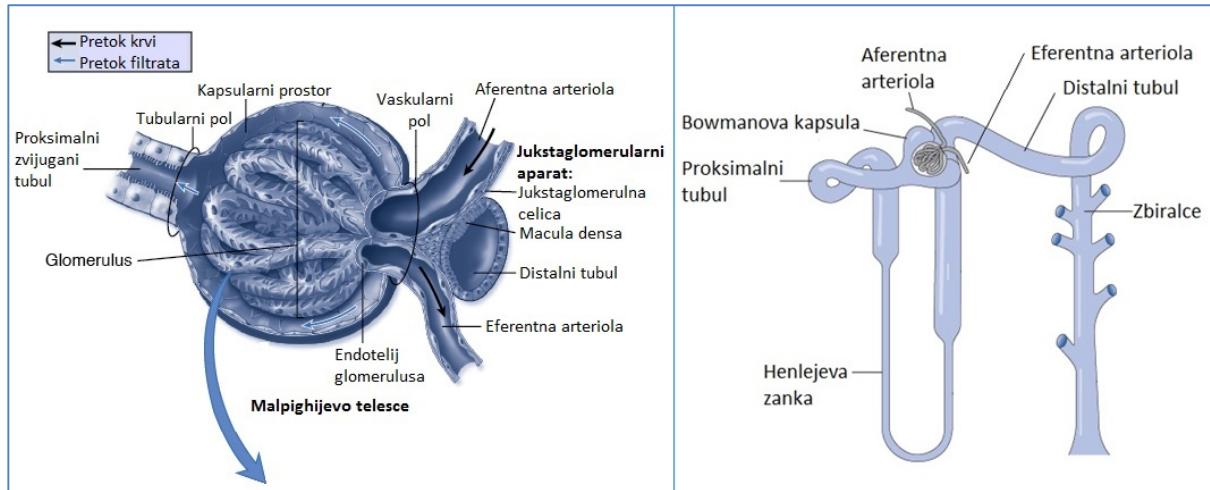
Ledvice so parni organ z vegetativnim oživčenjem. Ležijo v trebušni votlini in so povezane s sečnimi izvodili (slika 1 levo) (3).



**Slika 1:** Levo: Položaj ledvic in sečnih izvodil v telesu. Desno: Glavni strukturni deli ledvice (prirejeno po 2).

Ledvica je sestavljena iz skorje in sredice (slika 1 desno). Osnovna funkcionalna in morfološka enota ledvice je nefron. Zdravo ledvico sestavlja  $1,2 \times 10^6$  nefronov. Vsak nefron je sestavljen iz ledvičnega oziroma Malpighijevega telesca v ledvični skorji, proksimalnega in distalnega tubula ter Henlejeve zanke in zbiralca, ki se nahajata v ledvični sredici (slika 2). V Malpighijevem telescu je Bowmanova kapsula, ki jo tvori del proksimalnega tubula. V notranjosti Bowmana kapsule je glomerulus – klopčič kapilar, v katere se razplete aferentna

arteriola in splete eferentna arteriola. Bowmanova kapsula in stene glomerulnih kapilar se tesno prilegajo in skupaj sestavljajo basalno membrano. Mikroskopske pore v basalni membrani omogočajo, da se v procesu filtracije krvne plazme v krvi zadržijo krvne celice in beljakovine ter snovi, ki so vezane na te beljakovine (3).



**Slika 2:** Levo: Anatomija Malpighijevega telesca. Desno: Strukturni deli nefrona (prirejeno po 2).

### 1.1.2 Glomerulna filtracija (GF)

Proces filtracije krvne plazme se imenuje glomerulna filtracija. V procesu GF nastaja ultrafiltrat oziroma primarni urin. Za delovanje nefrona je potrebna ustrezna prekrvitev ledvic. Pretok krvi skozi ledvice znaša okoli 1200 ml na minuto, kar je četrtina minutnega volumena srca. Okoli 10 % krvi, ki se pretoči skozi ledvice, se v njih tudi filtrira, pretežni del krvi namreč le obliva proksimalne in distalne tubule v ledvični skorji. V procesu GF se filtrira le krvna plazma oziroma tekoči del krvi. V eni minutni se skozi ledvice pretoči 660 ml plazme, od tega se filtrira 120 ml plazme na minuto, kar je normalna velikost GF (3).

### 1.1.3 Tubulna reabsorpcija

Odrasel človek dnevno izloči okoli 1,5 litra urina, v Malpighijevih telescih pa dnevno nastane 180 litrov primarnega urina. To pomeni, da se velika večina vode v procesu tubulne reabsorpcije reabsorbira iz nefrona nazaj v kri. Poleg vode se reabsorbirajo tudi topljenci, kot so glukoza, fosfat,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ . Delno se reabsorbirajo tudi nekatere druge snovi, na primer sečnina. Neabsorbirani topljenci se izločijo z urinom (3).

### 1.1.4 Tubulno izločanje

Poleg tubulne reabsorpcije poznamo tudi tubulno izločanje (sekrecijo), saj se nekatere snovi (zdravila, sečna kislina,  $K^+$ ,  $H^+$ , amoniak) izločajo iz tubulov v urin. Tubulno izločanje

omogočata dva mehanizma. Prvi mehanizem: snovi prehajajo iz peritubulnih kapilar v peritubulni prostor iz katerega jih nato privzamejo tubulne celice. Te snovi (npr. zdravila, sečna kislina) nato tubulne celice izločajo v tubulni lumen. Drugi mehanizem: v tubulnih celicah nastale snovi (npr. amoniak, ioni  $H^+$ ) se izločajo v tubulni lumen (3).

### 1.1.5 Vzdrževanje volumna telesnih tekočin in koncentracije elektrolitov

Ledvice uravnavajo volumen elektrolitov in telesnih tekočin tako, da zagotovijo, da je vnos elektrolitov in vode v telo enak njihovemu izločanju iz telesa. Ledvice uravnavajo koncentracijo topljencev v urinu in spreminjajo volumen tekočine, ki se izloči z urinom. Za učinkovito izločanje produktov presnove morajo ledvice izločiti vsaj 500 ml urina na dan, kar imenujemo obligatorni volumen urina. Uravnavanje volumna telesnih tekočin in koncentracije elektrolitov omogočajo mehanizmi, ki spreminjajo količino in sestavo urina, ki se izloči skozi ledvice (3):

- antidiuretični hormon (ADH)
- aktivacija sistema renin-angiotenzin-aldosteron
- vplivanje na filtracijski delež v ledvicah

V primeru povečanja osmolarnosti zunajcelične tekočine pride do povečanja izločanja ADH iz hipotalamusa v kri. V ledvicah ADH privede do povečanja prepustnosti distalnih tubulov in zbiralca za vodo. Reabsorpcija vode je tako olajšana, kar zmanjša volumen urina. V primeru, da se osmolarnost zunajcelične tekočine zmanjša, se izločanje ADH iz hipotalamusa zavre. Brez ADH postanejo distalni tubuli in zbiralca zelo slabo prepustni za vodo, ki se v tem primeru izloči z urinom (3). V sistemskem krvnem obtoku se nahajajo volumoreceptorji. V primeru povečane polnitve ali natega stene obtočil se volumoreceptorji vzdražijo in refleksno zmanjšajo izločanje ADH. Pomemben regulator volumna zunajcelične tekočine je tudi hormon aldosteron. Izloča se iz skorje nadledvične žleze, če pride do zmanjšanega pretoka krvi skozi ledvice in v primeru, ko je v telesu premalo  $Na^+$ . Ob zmanjšanem pretoku krvi skozi ledvice, začnejo ledvice izločati encim renin. Ko iz posebne plazemske beljakovine nastaja angiotenzin I, deluje renin kot katalizator. Angiotenzin I se v pljučih encimsko pretvori v angiotenzin II, ki spodbuja izločanje aldosterona in deluje kot močan vazokonstriktor. Zaradi sistema renin-angiotenzin-aldosteron imajo ledvice pomembno vlogo pri uravnavanju arterijskega tlaka (3).

## 1.2 KRONIČNA LEDVIČNA BOLEZEN (KLB)

### 1.2.1 Definicija in klasifikacija KLB

Trenutna definicija opredeljuje KLB kot: "okvaro ledvičnega delovanja, ki traja več kot 3 mesece in se kaže kot: (a) zmanjšanje GF pod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, (b) proteinurija ali albuminurija, (c) morfološke spremembe pri slikovnih preiskavah ali patohistoloških preiskavah vzorca ledvičnega tkiva, pridobljenega z ledvično biopsijo" (4). Mednarodna klasifikacija je na osnovi ocene GF s pomočjo enačb "Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration" (CKD-EPI) in "Modification of Diet in Renal Disease" (MDRD), KLB razdelila na 5 stopenj ali glede na trenutna priporočila KDIGO (angleško Kidney Disease: Improving Global Outcomes) od G1 do G5 (4, 5). Klasifikacija KLB po KDIGO je prikazana v preglednici I.

**Preglednica I:** Klasifikacija KLB po KDIGO in priporočene presejalne preiskave (4, 5).

stopnja KLB	1	2	3 a	3 b	4	5
kategorija KLB	G1	G2	G3a	G3b	G4	G5
ocena GF (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	≥ 90 + eritrociturijs ali proteinurija ali albuminurija	89 do 60 + eritrociturijs ali proteinurija ali albuminurija	59 do 45	44 do 30	29 do 15	pod 15
preiskave	1-krat letno: – serumski kreatinin z oGF, Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , K <sup>+</sup> , glukoza, sečnina, lipidogram, SR, hemogram – pregled urina s testnim trakom ter pregled sedimenta urina – U-beljakovine / kreatinin	na 6 – 12 mesecev: – enako stopnji 1 in 2 – dodatno zaloga železa pri anemiji vsake 3 mesece – iPTH ( nefrolog )	na 1 – 3 mesece: – enako stopnji 1 do 3 – iPTH na 3 – 6 mesecev ( nefrolog )			

Kratice: iPTH – intaktni paratiroidni hormon, U-beljakovine/kreatinin – določitev razmerja beljakovin in kreatinina v vzorcu drugega jutranjega urina, oGF – ocena glomerulne filtracije po enačbi CKD-EPI ali MDRD.

V zadnjih KDIGO smernicah svetujejo, da v primeru sočasne prisotnosti albuminurije ali proteinurije, opišemo velikost le-te z dodano oznako (npr. a1, a2 oziroma a3) (5).

### 1.2.2 Prevalenca KLB

KLB je vse večji zdravstveni problem svetovnih razsežnosti (6). S klasifikacijo KLB so se poenotili kriteriji za oceno razširjenosti KLB v svetu. Globalno število bolnikov s KLB narašča, pri tem je prevalenca posameznih stopenj KLB različna (4). Ocenjena prevalenca KLB v splošni populaciji je bila v ZDA približno 13 %, v Avstraliji pa 11,2 % (7, 8). Prevalenca KLB je višja pri ženskah (5, 7, 8). Različnost prevalence se kaže tudi na podlagi starosti in prisotnih ledvičnih bolezni, ki vzrok za nastanek KLB. Zelo pomembno je, da pravočasno odkrivamo bolnike s KLB, da lahko začnemo zgodaj uvajati ustrezne ukrepe, s katerimi zmanjšamo tveganje za srčno-žilne ter druge zaplete (4).

### 1.2.3 Diagnostika KLB

Metoda, ki se največkrat uporablja za oceno delovanja ledvic je hitrost GF. Z določitvijo GF ugotovimo stopnjo ledvične okvare ter jo opredelimo kot akutno ali kronično. Z večkratnim določanjem GF spremljamo hitrost napredovanja ledvične bolezni (1, 9).

Ker GF v klinični praksi ni enostavno izmeriti, se GF najpogosteje ocenjuje s pomočjo enačb, ki vključujejo sledeče spremenljivke: serumska koncentracija kreatinina, starost, rasa, spol in površina telesa (10). Najpomembnejši taki enačbi za ocenjevanje GF sta enačbi MDRD in CKD-EPI, na katerih sloni tudi KDIGO klasifikacija KLB (1, 5, 10). Vse, kar vpliva na nastajanje, presnavljanje in izločanje kreatinina, vpliva tudi na izsledek enačb. Kljub temu je uporaba enačb primernejša za oceno GF, kot sama serumska koncentracija kreatinina. V zadnjem času se uporablja tudi določanje cistatina C v krvi ter na tej osnovi izpeljane enačbe (1, 9).

**Serumska koncentracija kreatinina:** kreatinin je končni presnovek pri razgradnji mišic, nastaja iz kreatina in fosfokreatina. Njegovo nastajanje je relativno konstantno in sorazmerno mišični masi. Serumska koncentracija kreatinina je zato stabilna. Kreatinin se ne veže na plazemske beljakovine, v glomerulih se filtrira, v tubulih pa se ne secernira, če so ledvice zdrave. Pri zmanjševanju GF se lahko sekrecija kreatinina v tubulih poveča na do več kot 50 %. Pri zmanjševanju GF pride hkrati tudi do zviševanja sekrecije kreatinina v črevesju, zato je lahko kljub zmanjšanju GF koncentracija kreatinina v serumu še dolgo v normalnem območju (1).

**Standardizacija meritve kreatinina:** referenčna metoda določanja serumskega kreatinina je izotopno dilucijska masna spektrometrija (IDMS). V želji po boljši primerljivosti med laboratoriji so leta 2004 pripravili mednarodni standard za kreatinin – SRM 967. Ta standard upošteva večina proizvajalcev laboratorijske opreme (1, 11). Laboratorijem so svetovali, da kot izbirno delovno metodo uporabljajo encimsko reakcijo, ki je specifična, a dražja, zato laboratoriji še vedno večinoma uporabljajo modificirano Jaffejevo reakcijo, ki pa je s stališča sledljivosti do standarda ustreznega (1).

**Enačba MDRD:** je nastala leta 1999. Enačba temelji na raziskavi, ki so jo opravili na 1070 bolnikih s KLB, od teh so radioizotopsko spremljali GF pri 528 bolnikih, od katerih ji je le manjšina imela hitrost GF večjo od  $60 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ . Koncentracijo kreatinina v serumu so določali z encimsko reakcijo ali z modificirano Jaffejevo kinetično reakcijo (1). Spodaj navedena enačba vsebuje faktor 175, in je do IDMS standarda sledljiva MDRD enačba (1, 11):

$$\text{ocena GF} = 175 \times (\text{S-kreatinin})^{-1,154} \times (\text{starost})^{-0,203} \times (0,742, \text{za ženske}) \times (1,212 \text{ za temnopolte})$$

Enote: *S-kreatinin -  $\mu\text{mol/l}$ , ocena GF -  $\text{ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ , starost - leta*

Za uporabo te enačbe moramo uporabiti serumsko koncentracijo kreatinina, ki je bila izmerjena z metodo, ki je sledljiva do IDMS standarda. Če je izračunana ocena GF v območju  $> 90 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ , laboratoriji podajo rezultat kot  $> 90 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ , ker vrednosti nad tem območjem niso zanesljive; če je izračunana ocena GF v območju  $< 90 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$  pa laboratoriji podajo natančno številko (1).

**Slabosti MDRD enačbe:** enačba MDRD ni ustrezena za ocenjevanje GF pri ljudeh z nestabilno koncentracijo kreatinina: izrazito mišičasti ljudje, hospitalizirani bolniki, vegetarijanci, bolniki z boleznimi skeletnih mišic, noseče ženske, bolniki po amputacijah, ljudje, ki pojejo veliko beljakovin in mesa (1, 11).

**Enačba CKD-EPI:** je pri vrednostih GF  $< 60 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$  enako natančna kot enačba MDRD, pri vrednostih GF  $> 60 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ , pa je enačba CKD-EPI bolj natančna (1, 10). Pri uporabi enačbe CKD-EPI, v primerjavi z enačbo MDRD, za 10 % zmanjšamo odstotek ljudi z GF  $< 60 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ , zlasti pri mlajših od 60 let. Namesto enačbe MDRD zato v

zadnjem času priporočajo uporabo enačbe CKD-EPI. Enačba CKD-EPI vključuje enake spremenljivke kot MDRD enačba, a je bolj kompleksna (1, 10):

$$GF \text{ (ml/min)} = 141 \times \min(S_{\text{kreat.}}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{\text{kreat.}}/\kappa, 1)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{starost}} \times 1,018 \text{ (za ženske)} \times 1,159 \text{ (za temnopolte)} \quad (10, 12)$$

Kjer je:  $\kappa = 0,7$  za ženske,  $0,9$  za moške

$\alpha = -0,329$  za ženske,  $-0,411$  za moške

$S_{\text{kreat.}}$  = serumska koncentracija kreatinina v mg/dl

$\min(S_{\text{kreat.}}/\kappa, 1)$  pomeni, da izberemo tisto vrednost, ki je manjša; izmed  $S_{\text{kreat.}}/\kappa$  ali 1

$\max(S_{\text{kreat.}}/\kappa, 1)$  pomeni, da izberemo tisto vrednost, ki je višja; izmed  $S_{\text{kreat.}}/\kappa$  ali 1

*Za pretvorbo serumske koncentracije kreatinina iz mg/dl v µmol/l pomnožimo s faktorjem 88,4 (10, 12).*

**Cistatin C:** spada v skupino cisteinskih proteaznih inhibitorjev. Nastaja s konstantno hitrostjo v vseh celicah z jedrom. Njegova molekulska masa je majhna. Nahaja se predvsem v zunajceličnih tekočinah. Cistatin C se filtrira v glomerulih, v tubulih se ne secernira, ampak se popolnoma resorbira v proksimalnih tubulih, kjer se tudi razgradi. Cistatin C tako ne prehaja več v krvni obtok, zato je dober endogeni označevalec za ocenjevanje GF. Na koncentracijo cistatina C ne vplivajo starost, spol, mišična masa ali prehrana. Koncentracija cistatina C v serumu je boljši kazalnik začetnega zmanjšanja GF kot koncentracija kreatinina v serumu ter primerljivo dobra kot ocena GF z uporabo enačb CKD-EPI in MDRD. Podobno velja tudi za enačbe, izpeljane iz koncentracije cistatina C (1, 9).

Slabosti cistatina C: zaradi višje cene se uporablja predvsem pri bolnikih, pri katerih z uporabo drugih preiskav ne moremo dobro oceniti hitrosti GF (1).

### 1.3 VITAMIN D

Vitamin D je eden najpomembnejših esencialnih bioregulatorjev presnove fosfata in  $\text{Ca}^{2+}$  pri višje razvitih živalih. Skupaj s peptidnima hormonoma – kalcitoninom in paratiroidnim hormonom (PTH) sodeluje pri vzdrževanju homeostaze fosfata in  $\text{Ca}^{2+}$ . Vitamin D spada v skupino lipofilnih vitaminov, zato se v organizmu shranjuje in če ga vnašamo v presežku, lahko pride do hipervitaminoze (13).

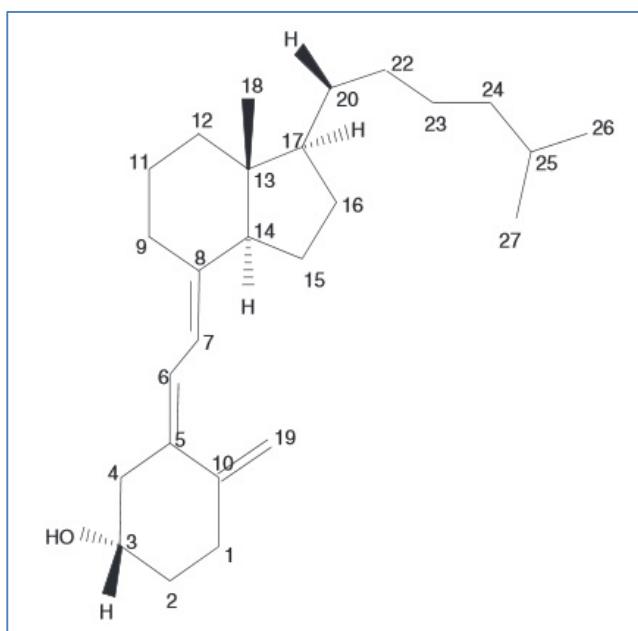
### 1.3.1 Nomenklatura vitamina D

Po priporočilih Komisije za biokemično nomenklaturo (IUPAC-IUB) se izraz vitamin D lahko uporablja za vse steroide s kakovostno enakimi biološkimi učinki kot kalciol. Zato se lahko uporabljajo izrazi, kot so antagonisti vitamina D, aktivnost vitamina D, pomanjkanje vitamina D in podobno. Izraz vitamin D lahko uporabljamо kot sinonim za kalciol (13).

### 1.3.2 Zgradba vitamina D

Kemično uvrščamo vitamin D in njegove presnovke v skupino sekosteroidov z odprtим obročem B. Zgradba kalciola je prikazana na sliki 3 (13).

V raztopini se vitamin D nahaja v dveh konformacijskih oblikah, "iztegnjeni" (slika 3) in "stisnjeni" (vrtenje okrog vezi C<sub>6</sub>-C<sub>7</sub>), ki sta v dinamičnem ravnotežju. Fiziološko pomembnejša je cis-trans izomerizacija kalciola okrog dvojne vezi C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>, ki pod vplivom UV-žarkov poteka v koži. Za biološko učinkovitost vitamina D sta bistveni hidroksilni skupini na atomih C<sub>1</sub> in C<sub>25</sub>, navzoči morata biti obe hkrati. Hidroksilna skupina na atomu C<sub>3</sub> ima razmeroma manj pomembno vlogo (13).



**Slika 3:** Kalciol; (5Z,7E)-(3S)-9,10-seko-5,7,10(19)-holestatrien-3-ol (13).

### 1.3.3 Fiziologija vitamina D

**Biosinteza vitamina D:** sinteza kalciola poteka v koži iz 7-dehidroholisterola s pomočjo UV-svetlobe. Koža je bogat vir 7-dehidroholisterola. Sončna svetloba pretvori približno 15 % razpoložljivega 7-dehidroholisterola v previtamin D<sub>3</sub>, ki se nadalje pretvori do vitamina D<sub>3</sub>.

V koži nastali vitamin D<sub>3</sub> (kalciol), se nato veže na vitamin D vezoco beljakovino (angl.: vitamin D binding protein DBP) in vstopa v krvni obtok (13).

**Absorpcija in transport vitamina D:** človeški organizem nima specifičnega mehanizma za absorpcijo peroralno vnesenega vitamina D. Absorpcijo, ki poteka vzdolž celotnega tankega črevesa z mehanizmom pasivne difuzije, spodbujajo soli žolčnih kislin, mleko in maščobe. Približno 90 % absorbiranega vitamina D se veže na hilomikrone limfe, približno 9,5 % pa se ga veže na  $\alpha$ -globulin. Del vitamina D, ki je vezan na hilomikrone, se v krvi prenese na DBP, preostali del vitamina D pa se sprosti pri razgradnji hilomikronov. Ostali hilomikroni, ki imajo vezan vitamin D, potujejo v jetra (13).

**Porazdelitev in shranjevanje vitamina D:** z izjemo plazme, natančnih ravni vitamina D v posameznih organih še ne poznamo. Največ kalciola vsebuje maščobno tkivo, nato plazma, pljuča, jetra in srce. Organi v katerih se nahaja največ kalcidiola pa so ledvica, jetra, aorta in srce. Porazdelitev je različna predvsem zato, ker je kalciol porazdeljen med lipoproteini in DBP, medtem ko je kalcidiol vezan večinoma na DBP (13).

#### 1.3.4 Bioaktivacija vitamina D

**Hidroksilacija kalciola:** hidroksilacija kalciola v kalcidiol (25-hidroksiholekalciferol) primarno poteka v jetrih, v manjšem obsegu pa tudi v ledvicah in tankem črevesu. Kalcidiol je kvantitativno najpomembnejša oblika vitamina D v krvni plazmi. Hidroksilacijo kalciola v kalcidiol omogoča encim kalciol-25-hidroksilaza. Aktivnost jetrne 25-hidroksilaze je uravnavana predvsem na podlagi koncentracije vitamina D v jetrih (13). Kalcidiol je biološko neaktivna oblika vitamina D.

**Hidroksilacija kalcidiola:** poteka primarno v ledvicah, ki so poglaviti organ sinteze aktivne oblike vitamina D - kalcitriola (1,25-dihidroksiholekalciferola), vendar ta proces poteka tudi zunaj ledvic (posteljica med nosečnostjo, embrionalne črevesne celice, kostne celice, kožne celice, mielomske celice). Hidroksilacija kalcidiola lahko poteka na mestu C<sub>1</sub> ali na mestu C<sub>24</sub>. Reakciji omogočata dva mitohondrijska encima, kalcidiol-24-hidroksilaza in kalcidiol-1 $\alpha$ -hidroksilaza, ki se nahajata v proksimalnem delu ledvičnega tubula. Aktivnosti obeh sta natančno uravnavani in recipročni. V primeru povečane koncentracije kalcitriola, pride do inhibicije kalcidiol-1 $\alpha$ -hidroksilaze in do aktivacije kalcidiol-24-hidroksilaze. Posledica tega je sinteza neaktivne oblike vitamina D, to je 24,25-dihidroksiholekalciferola. Mehanizem uravnovanja še ni natančno znan. (13). Kalcitriol je edina biološko aktivna oblika vitamina D.

### 1.3.5 Presnova in izločanje vitamina D

Kalcitriol in 24,25-dihidroksiholekalciferol se v glavnem razgrajujeta v jetrih, kjer pride do konjugacije med glukuronsko kislino in hidroksilno skupino na atomu C<sub>3</sub> kalcitriola. V jetrih nastanejo še nekateri drugi presnovki, ki se ravno tako izločijo v žolč. Kalcitriol in 24,25-dihidroksiholekalciferol se inaktivirata tudi v ledvicaх, kjer se stranska veriga kalcitriola oksidira, pri tem nastane kalcitetrol, kalcitrojska kislina ali 1,25-hidroksiholekalciferol-26,23-lakton (13).

### 1.3.6 Referentne vrednosti vitamina D

Preko leta se serumska koncentracija kalcidiola spreminja. Od junija do avgusta je koncentracija največja, najmanjša pa v zimskih mesecih, saj je koncentracija povezana z močjo sončnih žarkov. Koncentracija kalcitriola v serumu pa je razmeroma stalna, kar kaže na obstoj učinkovitega regulatornega mehanizma. Referentne vrednosti za vitamin D serumu so podane v preglednici II. Referentne vrednosti so določili leta 1996 na podlagi IFCC priporočil pri zdravi odrasli moški populaciji Republike Slovenije (13).

**Preglednica II:** Orientacijske referentne vrednosti za kalciol, kalcidiol in kalcitriol v serumu.

	<b>Kalciol</b> (nmol/l)	<b>Kalcidiol (nmol/l)</b>		<b>Kalcitriol</b> (pmol/l)
		jesenski	pomladni	
<b>Spodnja meja referentnega intervala</b>	3,4	114	50	93
<b>Zgornja meja referentnega intervala</b>	8,2	172	107	139

### 1.3.7 Biološki procesi, ki jih nadzoruje vitamin D

Glavna naloga, ki jo vitamin D opravlja v organizmu je vzdrževanje homeostaze Ca<sup>2+</sup>. Vitamin D pretežno vpliva na delovanje okostja, tankega črevesa in ledvic. V okostju spodbuja vgrajevanje in mobilizacijo mineralov, v tankem črevesu absorpcijo fosfata in Ca<sup>2+</sup>, v ledvicaх pa reabsorpcijo teh ionov. Vitamin D vpliva tudi na diferenciacijo in proliferacijo mišičnih celic (14). Kalcitriol v črevesnih celicah spodbuja sintezo od vitamina D odvisne, kalcij vezocene beljakovine (CaB). Količina črevesnega CaB je natančno sorazmerna količini kalcitriola, ki se tam nahaja (13).

### 1.3.8 Metode določanja serumske koncentracije vitamina D

Stanje preskrbljenosti organizma z vitaminom D najbolje opredelimo z določanjem serumske koncentracije kalciola, to je 25-hidroksiholekalciferola. Najširše uporabljane analizne metode so: masna spektrometrija (MS), kemiluminiscenčna imunološka metoda (CLIA), radioimunske tehnike (RIA), tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) ter encimskoimunske tehnike (EIA). Trenutna referenčna metoda pa je tekočinska kromatografija s tandemsko masno spektrometrijo (LC-MS/MS) (15).

## 1.4 ZDRAVLJENJE KRONIČNE LEDVIČNE BOLEZNI

### 1.4.1 Ukrepi za upočasnitev napredovanja KLB

Največji učinek dosežemo z zdravljenjem hipertenzije in proteinurije. Pri bolnikih s KLB je ciljna vrednost krvnega tlaka pod 140/90 mmHg. Za zdravljenje arterijske hipertenzije in proteinurije se uporablajo zavralci angiotenzinske konvertaze in antagonisti receptorjev za angiotenzin II. Priporočljiva je dieta z majhno vsebnostjo natrija in beljakovin, izogibanje nefrotoksičnim zdravilom, vzdrževanje normoglikemičnega stanja ter zdravljenje anemije, presnovne acidoze in dislipidemije (4, 16).

### 1.4.2 Nadomestno ledvično zdravljenje

V zadnjem stadiju KLB, ko nastopi dokončna odpoved delovanja ledvic, je potrebno nadomestno ledvično zdravljenje. Nadomestno zdravljenje lahko izvajamo s tremi oblikami: (a) s hemodializo, (b) s peritonealno dializo in (c) s presaditvijo ledvice. Nadomestno ledvično zdravljenje zahteva predhodno pripravo, zato je pomembna pravočasna izbira oblike nadomestnega zdravljenja (4).

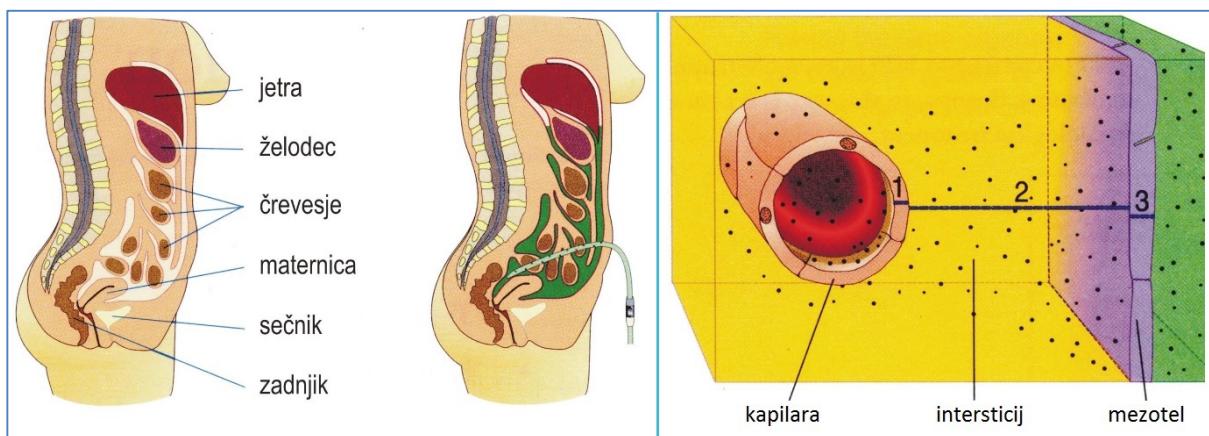
#### Hemodializa

Pri hemodializi odstranjujemo neželene snovi iz telesnih tekočin ter hkrati dodajamo želene snovi s pomočjo difuzije skozi polprepustno membrano hemodializatorja. S hemodializo nadomestimo izločevalno funkcijo ledvic, uravnavamo acidobazno ravnotežje ter vzdržujemo ravnotežje elektrolitov in vode (17). Med hemodializo iz bolnikovega telesa s krvno črpalko črpamo kri in jo poganjamo skozi dializator, v katerem je polprepustna membrana različnih površin ( $1-2 \text{ m}^2$ ). Dializator sestavlja kapilare, ki predstavljajo membrano. Kapilare so oblite z dializno elektrolitno raztopino, ki po sestavi posnema plazemske tekočine. Kri teže skozi kapilare. Smer toka krvi je nasprotna toku dializne tekočine. Med dializo poteka difuzija

molekul z mesta večje na mesto manjše koncentracije (npr.  $\text{HCO}_3^-$  ioni difundirajo iz dializne raztopine v kri, medtem pa  $\text{K}^+$  ioni, kreatinin in sečnina difundirajo iz krvi v dializno raztopino). Gonilna sila difuzije je koncentracijski gradient. Med hemodializo odstranjujemo tudi odvečno tekočino, ki jo odstranjujemo z ultrafiltracijo (18). Odstranjevanje molekul z ultrafiltracijo imenujemo konvekcija. Med hemodializo odstranjujemo majhne molekule z difuzijo, večje in srednje molekule ter odvečno vodo pa z ultrafiltracijo in konvekcijo. Posamezna dializa traja okoli 5 ur, večina bolnikov s kronično odpovedjo ledvic pa opravi dializo trikrat na teden (18).

### Peritonealna dializa

Peritonealna dializa (PD) poteka v telesu. Bolnik, ki se zdravi s PD ima v peritonealno votlino vstavljen stalen peritonealni kateter, preko katerega mu večkrat na dan vtočimo svežo dializno raztopino, iztočimo pa dializat. Trebušna membrana oziroma peritonej predstavlja dializno polprepustno membrano, preko katere prehajajo tekočina in topljenci (slika 4) (19).



**Slika 4:** Levo: trebušno votlino obdaja trebušna membrana - peritonej. Pri PD s pomočjo stalnega katetra v peritonealno votlino vtočimo dializno raztopino. Desno: tri plasti peritoneja, skozi katerega prehajajo topljenci in tekočina (prirejeno po 19).

Trebušno membrano (kot dializator) sestavljajo mezotelij, intersticij in kapilare, ki imajo pore različnih velikosti. Peritonealni transport omogočajo trije različni procesi: difuzija, ultrafiltracija in absorpcija. S peritonealno dializo želimo doseči dobro bolnikovo telesno stanje (stabilno primerno težo, normovolemijo, urejen arterijski tlak in dobro počutje (19, 20)). Peritonealna dializa poteka na bolnikovem domu in mu omogoča precejšnjo svobodo, neodvisnost in manjše dietne omejitve (20).

## Presaditev ledvice

Najuspešnejše nadomestno zdravljenje ledvične odpovedi dosežemo s presaditvijo ledvice (21). Presaditev ledvice je možna od živega ali od urmlega darovalca. Za dolgtrajno preživetje presajene ledvice je izrednega pomena visoka stopnja skladnosti v humanih levkocitnih antigenih (HLA). Stopnja skladnosti v HLA-antigenih vpliva na pogostost zavrnitve in na preživetje ledvice. Na preživetje presajene ledvice vpliva tudi trajanje dializnega zdravljenja pred samo presaditvijo - krajši čas dializnega zdravljenja pomeni večjo verjetnost preživetja presadka. Zato je priporočljivo pripraviti bolnika na presaditev že pred dokončno odpovedjo ledvic (21).

## 1.5 KRONIČNA LEDVIČNA BOLEZEN IN GIBALNA OVIRANOST

V zadnjem stadiju KLB, ko nastopi dokončna odpoved delovanja ledvic, je potrebno nadomestno ledvično zdravljenje. Takšno zdravljenje prizadene številne organske sisteme, kar se izraža s simptomi kot so anemija, zmanjšana funkcija srca, zmanjšana mišična moč ter zmanjšana aerobna kapaciteta (22). Dejavniki zmanjšane telesne zmožnosti so nižja telesna aktivnost dializnih bolnikov, presnovne spremembe, ki spremljajo KLB, katabolni učinki dialize, trajanje ledvične bolezni, stanje prehranjenosti, starost in pridruže bolezni (22, 23).

Telesna zmožnost je eden od najmočnejših napovednih dejavnikov preživetja pri dializnih bolnikih (24). V klinični praksi uporabljamo oceno telesnih zmožnosti za: (1) identifikacijo bolnikov z visokim tveganjem za zgodnjo umrljivost, (2) spremljanje poteka zdravljenja bolnikov, (3) oceno tveganja pred kompleksnejšimi kliničnimi posegi (25). Telesno zmožnost lahko merimo na več nivojih: (1) ugotavljanje fizioloških nepravilnosti (na nivoju posameznega organa, meritve izvajamo v laboratoriju s posebno opremo), (2) ugotavljanje gibalnih omejitev (izvajamo s pomočjo gibalnih testov) ter (3) ugotavljanje oviranosti pri aktivnostih v domačem okolju, to je pri vsakodnevnih opravilih (izvajamo s pomočjo vprašalnika) (25).

### 1.5.1 Gibalni testi

Z gibalnimi testi merimo določene preproste gibalne veščine, za njihovo izvedbo ni potrebno posebno izurjeno osebje (25). Ti testi so cenovno ugodni, enostavni in hitro izvedljivi. Obstajajo številni gibalni testi, v nalogi smo uporabili sledeče: 6-minutni test hoje, test vstajanja s stola in test moči stiska pesti.

**6-minutni test hoje:** je ena izmed najbolj uporabljenih različic testov hoje (25). Tekom testa pacient sam določa intenzivnost hoje, med testom se lahko tudi ustavi in počiva. Rezultat testa

je prehojena dolžina v 6-ih minutah in odraža integriran odziv organskih sistemov, ki so vključeni pri izvajanju testa hoje (25).

**Test vstajanja s stola:** je test, ki odraža mišično moč spodnjih okončin. Pri izvedbi testa mora pacient brez pomoči vстатi s stola običajne višine. Število zaporednih ponovitev je lahko 5 ali 10. V nalogi smo uporabili test vstajanja s stola z desetimi ponovitvami (angl. sit-to-stand test-10, STS-10). Rezultat testa je čas, porabljen za izvedbo desetih zaporednih vstajanj s stola (25).

**Test moči stiska pesti:** je enostaven, hiter in poceni test za oceno mišične moči zgornjih okončin ter stanja prehranjenosti in je neodvisni napovedni dejavnik preživetja pri dializnih bolnikih (26).

**Vprašalnik aktivnosti v domačem okolju:** angl. Human Activity Profile (HAP) je pogosto uporabljan vprašalnik za oceno nivoja fizične aktivnosti bolnikov. Pri izpolnjevanju vprašalnika mora preiskovanec odgovoriti na 94 vprašanj z izbirnim odgovorom. Vprašanja se nanašajo na običajne fizične aktivnosti, ki se stopnjujejo od lahkih (npr. vstajanje s stola ali postelje; pri prvem vprašanju), vse do fizično zelo napornih (preteči 4,8 km v 30 minutah ali manj; pri 94-tem vprašanju). Na posamezno vprašanje preiskovanec odgovori z enim od sledečih izbirnih odgovorov: »še izvajam«, »ne izvajam več« ali »nisem nikoli izvajal« (27). V nalogi smo rezultat vprašalnika izrazili v obliki prilagojenega točkovana aktivnosti (angl. Adjusted Activity Score, AAS). AAS predstavlja razliko med točko, ki predstavlja najzahtevnejšo fizično aktivnost, ki jo preiskovanec še izvaja in številom točk fizičnih aktivnosti, ki jih preiskovanec ne izvaja več (27). V nadaljevanju besedila bomo »vprašalnik aktivnosti v domačem okolju s prilagojenim točkovanjem aktivnosti« pisali s kratico HAP-AAS (angl. Human Activity Profile – Adjusted Activity Score).

## 2 NAMEN DELA

V okviru magistrske naloge bomo ugotovili ali je koncentracija 25-hidroksiholekalciferola (kalciadiola) v krvi, sama po sebi, brez vplivov pridruženih bolezni, antropometrijskih danosti ter starosti in spola, pomemben napovedni dejavnik gibalne zmožnosti dializnih bolnikov. Gibalno zmožnost bomo izmerili s tremi gibalnimi testi, ki pokrivajo področje zgornjih in spodnjih okončin: 6-minutni test hoje, čas 10-ih ponovitev vstajanja s stola in test moči stiska pesti. Rezultate gibalnih testov bomo dopolnili še s podatki vprašalnika aktivnosti v domačem okolju s prilagojenim točkovanjem aktivnosti (HAP-AAS). Povezanost med serumsko koncentracijo kalciadiola in gibalno zmožnostjo preiskovancev bomo ugotavljal z uporabo multivariabilnega linearnega statističnega modela.

### Glavne hipoteze magistrske naloge

1. hipoteza: koncentracija kalciadiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik uspeha na 6-minutnem testu hoje
2. hipoteza: koncentracija kalciadiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik hitrosti vstajanja s stola
3. hipoteza: koncentracija kalciadiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik moči stiska pesti
4. hipoteza: koncentracija kalciadiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik aktivnosti v domačem okolju

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 ZASNOVA RAZISKAVE

Raziskavo smo izvedli v obliki presečne kontrolirane raziskave z izbranim vzorcem 54-ih dializnih bolnikov in 81-ih kontrolnih zdravih preiskovancev, ki so morali zadostiti izbirnim merilom. Ključno izbirno merilo za zdrave kontrolne preiskovance je bila odsotnost anamneze ledvične bolezni in/ali znana izmerjena koncentracija serumskega kreatinina pod 130 µmol/L, starost nad 18 let in podano soglasje k vključitvi v raziskavo. Ključna izbirna merila za dializne bolnike so bila: prisotnost ledvične odpovedi na kroničnem dializnem zdravljenju s hemodializo, starost nad 18 let in podano soglasje k vključitvi v raziskavo. Prisotnost enega ali več sledečih bolezenskih stanj je bilo negativno izbirno merilo, tako za bolnike, kot za kontrolne preiskovance: Parkinsonova bolezen, psihiatrična psihotična stanja, stanje po amputaciji na okončini (če je obsegala več kot izgubo 2 prstov), duševna manjrazvitost, hospitalizacija ali akutna bolezen v zadnjih štirih tednih pred meritvijo gibalnih testov (tudi zlom v zadnjih treh mesecih pred meritvijo), aktivna maligna bolezen (trenutno aktivno ali paliativno zdravljenje ter vsaka maligna bolezen, kjer v medicinski dokumentaciji ni zabeležka, da bi bila v remisji ali ozdravljena), aktivna kronična okužba, predhodna možganska kap, srčno popuščanje (New York Heart Association (NYHA) razred 2,3,4) ali koronarna bolezen oziroma nizkobražna obremenitvena angina pektoris (Canadian Cardiovascular Society (CCS) razred 2,3,4), kronična obstruktivna pljučna bolezen 3. ali 4. stopnje, dekompenzirana jetrna ciroza, simptomatska periferna obliterativna bolezen arterij, boleča degenerativna, deformantna ali vnetna bolezen sklepov, nosečnost. Raziskava je potekala kot del študije Ocena gibalne oviranosti dializnih bolnikov, ki jo je odobrila Komisija republike Slovenije za medicinsko etiko s številko 125/05/14.

#### 3.2 IZVEDBA MERITEV IN ZAJEM PODATKOV

Antropometrične meritve ter meritve gibalnih testov so izvedli v atletski telovadnici na Fakulteti za šport Univerze v Ljubljani. Pri dializnih bolnikih so meritve izvajali na nedializni dan. Pred pričetkom meritev so preiskovanci prostovoljno podpisali obveščen pristanek k raziskavi in izpolnili vprašalnik o splošnih demografskih podatkih, dosedanjem zdravljenju in pridruženih bolezenskih stanjih.

Izometrično moč stiska pesti so merili s hidravličnim ročnim dinamometrom Jamar (proizvajalec Sammons Preston). Moč stiska pesti so izmerili na obeh rokah, v treh ponovitvah. Kot končni rezultat meritve smo upoštevali najboljši rezultat šestih stiskov. Test vstajanja s stola so preiskovanci izvedli po ustreznih navodilih. Rezultat testa je čas desetih ponovitev. Telesno višino in širino zapestja so merili do 1 mm natančno z instrumenti podjetja SiberHegner (Zurich, Switzerland). Maso pustega telesnega tkiva ter maso maščobnega tkiva (v kg) so izmerili s pomočjo bioimpedančnega merjenja s prenosno napravo Fresenius BCM (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Germany).

Manjkajoče podatke o dializnih bolnikih (podatki o primarni ledvični bolezni, pridruženih bolezenih in zavedenih diagozah) so pridobili naknadno s pomočjo lečečih zdravikov v dializnih centrih in z vpogledom v medicinsko dokumentacijo. Vpliv prisotnosti pridruženih bolezni na skrajšanje preživetja dializnih bolnikov so ocenili z Daviesovo lestvico. Lestvica zajema 7 bolezenskih modalitet, ki so osnova za postavitev ocene (28). Ocena 0 pomeni pomeni odsotnost takih bolezenskih stanj, ocena 1 pomeni prisotnost ene ali dveh takih stanj, ocena 2 pa označuje prisotnost treh ali več pomembnih bolezenskih stanj.

Laboratorijske analize krvi so opravili na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. Meritve koncentracije hemoglobina ter serumske koncentracije kreatinina in albumina so izvedli z rutinskimi laboratorijskimi metodami.

### 3.2.1 Določanje serumske koncentracije 25-hidroksiholekalciferola

Serumsko koncentracijo 25-hidroksiholekalciferola smo določili z analizatorjem Beckman Coulter Access2.

**PRINCIP METODE.** Metoda je dvostopenjska imunoencimska s kompetitivno vezavo. Med prvo inkubacijo preiskovanemu vzorcu dodamo reagent, ki sprosti 25-hidroksiholekalciferol od vitamin D vezavnega proteina, in paramagnetne delce, ki so prekriti z ovčjimi monoklonskimi anti-25-hidroksiholekalciferol protitelesi. 25-hidroksiholekalciferol se sprosti iz vitamin D vezavnega proteina in se nato veže na trdno fazo imobilizirane monoklonske anti-25-hidroksiholekalciferol protitelesa. Nato v reakcijsko zmes dodamo konjugat analoga 25-hidroksiholekalciferola, na katerega je vezana alkalna fosfataza. Konjugat in 25-hidroksiholekalciferol iz preiskovanega vzorca nato tekmujeta za vezavo na prosta mesta imobiliziranih monoklonskih anti-25-hidroksiholekalciferol protiteles. Po drugi inkubaciji sledi spiranje s katerim odstranimo ves nevezani material. Vezani material se med procesom

spiranja zadrži na mestu s pomočjo magnetnega polja. Sledi dodatek kemiluminiscenčnega substrata, ki tekom kemijske reakcije oddaja svetlobo, katere intenzivnost je obratno sorazmerna koncentraciji 25-hidroksiholekalciferola v preiskovanem vzorcu. Analizator poda rezultat na podlagi shranjene več-točkovne kalibracijske krivulje (29).

### 3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Statistične analize smo opravili s programom IBM SPSS (verzija 22, IBM Corp.). Normalnost porazdelitve spremenljivk smo preverjali s Shapiro-Wilk testom. Pri opisni statistiki smo za normalno porazdeljene spremenljivke uporabljali povprečje in standardni odklon (SD), pri nenormalno porazdeljenih spremenljivkah pa mediano in rang. Pri primerjavi vzorcev smo normalno porazdeljene spremenljivke testirali s t-testom in nenormalno porazdeljene z Mann-Whitneyevim testom, pri kategoričnih spremenljivkah smo uporabili hi-kvadrat test. Pri vseh statističnih testih je bila meja statistične značilnosti  $p < 0,05$ .

#### 3.3.1 Izbor reprezentativnih antropometrijskih spremenljivk

Reprezentativne antropometrijske spremenljivke za izračun posameznega multivariabilnega linearnega statističnega modela smo izbrali vnaprej na podlagi teoretičnih predpostavk o možnih, ali v strokovni literaturi (30) že navedenih povezavah z izbrano odvisno spremenljivko statističnega modela.

#### 3.3.2 Multivariabilni napovedni model

Povezanost odvisnih spremenljivk z neodvisnimi napovednimi spremenljivkami (dejavniki) smo preverjali z uporabo multivariabilnega linearnega modela. Odvisne spremenljivke so bile štiri: 6-minutni test hoje, test vstajanja s stola, moč stiska pesti ter točke iz vprašalnika HAP-AAS. Za vsako odvisno spremenljivko smo izračunali en multivariabilni statistični model s koncentracijo vitamina D (25-hidroksiholekalciferola) kot neodvisno spremenljivko ter model dopolnili še z vnaprej izbranimi kontrolnimi spremenljivkami - kovariatami. Te spremenljivke so bile: spol, starost, telesna višina, širina zapestja, masa pustega tkiva, masa maščobnega tkiva, spontana hitrost hoje, Daviesov razred pridružene obolenosti ter dializna odvisnost – vrednost te spremenljivke v statističnem modelu opredeljuje ali preiskovanec pripada kontrolni skupini ali pa skupini dializnih bolnikov. Kontrolne spremenljivke smo v posamezni statistični model vključili glede na odvisno spremenljivko modela. Vsak multivariabilni statistični model smo računali z vsemi zajetimi preiskovanci (dializni bolniki in kontrolni preiskovanci skupaj). Pri vsakem statističnem modelu smo izračunali linearni koeficient povezanosti odvisne in neodvisne spremenljivke (koeficient B), 95% interval

zaupanja za koeficient B, stopnjo značilnosti povezave (p) in delni Eta<sup>2</sup>, ki je mera velikosti učinka. Parameter delni Eta<sup>2</sup> opredeli za vsako neodvisno spremenljivko posebej, kako velik delež variabilnosti odvisne spremenljivke pojasnjuje ta neodvisna spremenljivka. Pri vsakem izračunanem modelu smo navedli prilagojeni R<sup>2</sup>, ki odraža kolikšen delež celotne variabilnosti odvisne spremenljivke pojasni statistični model kot celota.

## 4 REZULTATI

### 4.1 OSNOVNI REZULTATI

V raziskavo smo uspeli zajeti 54 dializnih bolnikov in 81 kontrolnih preiskovancev. Njihovi demografski in klinični podatki so prikazani v preglednici III.

**Preglednica III:** Demografski in klinični podatki preiskovancev

Parameter	Skupno (n=135)	Kontrolni preiskovanci (n=81)	Dializni bolniki (n=54)	p
Spol (Ž (%)/ M (%))	59 (44%)/ 76 (56%)	47 (58%)/ 34 (42%)	12 (22%)/ 42 (78%)	<0,001
Albumin (g/l) ( $\bar{x}$ (SD))	43 (3,3)	44,8 (2,8)	40,7 (2,2)	<0,001
Kreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ ) ( $\bar{x}$ (SD))	404 (78)	63 (12)	872 (235)	<0,001
Hemoglobin (g/l) ( $\bar{x}$ (SD))	133 (16)	142 (11)	120 (12)	<0,001
Diabetes mellitus (n (%))	21 (16%)	7 (9%)	14 (26%)	0,07
Starost (leta) ( $\bar{x}$ (SD))	56,1 (15,2)	56,2 (14,8)	56 (16,1)	0,96
Trajanje dialize (meseci) ( $\bar{x}$ (SD))	/	/	93,1 (112,1)	/
Trajanje dialize na teden (h) ( $\bar{x}$ (SD))	/	/	13,9 (2,9)	/

$\bar{x}$  = povprečna vrednost, SD = standardni odklon, Ž = ženski spol, M = moški spol, n = število preiskovancev

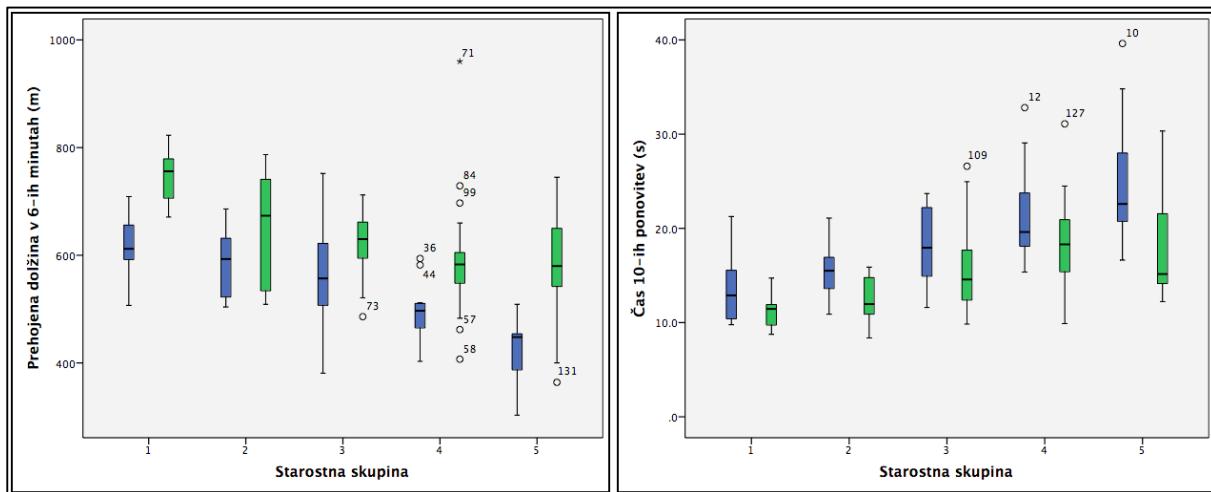
Povprečna koncentracija 25-hidroksiholekalciferola je bila 68,0 nmol/L, s standardnim odklonom 28,4 nmol/L, pri dializnih bolnikih 73,1 nmol/L, s standardnim odklonom 35,4 nmol/L in pri kontrolnih preiskovancih 64,6 nmol/L, s standardnim odklonom 22 nmol/L. Povprečna koncentracija 25-hidroksiholekalciferola v serumu se med skupino dializnih bolnikov in skupino kontrolnih preiskovancev statistično značilno ne razlikuje (p = 0,12). Preglednica IV prikazuje število preiskovancev, ki so se zdravili z vitaminom D.

#### **Preglednica IV: Število preiskovancev, ki so se zdravili z vitaminom D.**

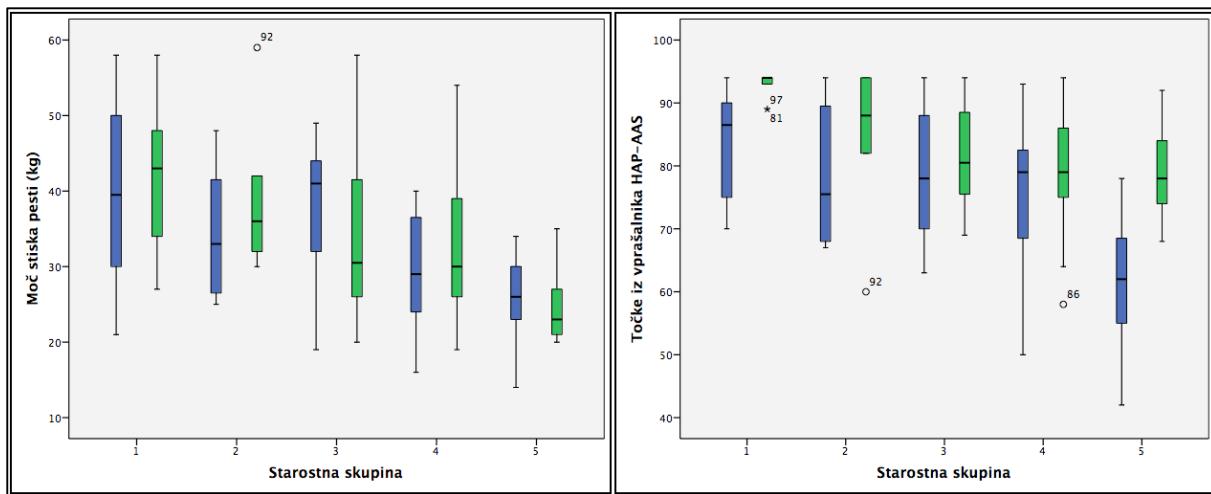
Terapija	Dializni bolniki (n=54)	Kontrolni preiskovanci (n=81)
Brez zdravljenja z vitaminom D (%)	33,3	88
Neaktivna oblika vitamina D (25-hidroksiholekalciferol) (%)	14,8	11,1
Aktivna oblika vitamina D (kalcitriol) (%)	31,5	0
Obe obliki (%)	20,4	1,2

*n* = število preiskovancev

Povprečna prehojena dolžina v 6-minutah je bila pri dializnih bolnikih 532 metrov, s standardnim odklonom 101 meter, pri zdravih preiskovancih pa 627 metrov, s standardnim odklonom 102 metra. Na sliki 5 levo je razvidno, da so dializni bolniki v 6-ih minutah prehodili krajšo razdaljo, ne glede na starostno skupino. Na sliki 5 desno so prikazani rezultati testa STS-10, mediana pri dializnih bolnikih je 18,3 sekunde (25. percentil 14,9 in 75. percentil 22,3), pri zdravih preiskovancih 14,7 sekund (25. percentil 11,9 in 75. percentil 18,4).



**Slika 5:** Izmerjeni rezultati testa 6-minutne hoje in testa STS-10 (boxplot). Modri stolpci označujejo rezultate dializnih bolnikov, zeleni kontrolnih preiskovancev. Oznake starostnih skupin: 1 – starost 40 let ali manj, 2 – starost 40-50 let, 3 – starost 50-60 let, 4 – starost 60-70 let in 5 – starost nad 70 let.



**Slika 6:** Izmerjeni rezultati testa moči stiska pesti in točke iz vprašalnika HAP-AAS (boxplot). Modri stolpci označujejo rezultate dializnih bolnikov, zeleni kontrolnih preiskovancev. Oznake starostnih skupin: 1 – starost 40 let ali manj, 2 – starost 40-50 let, 3 – starost 50-60 let, 4 – starost 60-70 let in 5 – starost nad 70 let.

Rezultati testa moči stiska pesti ter točke iz vprašalnika HAP-AAS pa so prikazani na sliki 6. Mediana moči stiska pesti pri dializnih bolnikih je bila 32,0 kg (25. percentil 26,0 in 75. percentil 42,0), mediana moči stiska pesti pri kontrolnih preiskovancih pa 31,0 kg (25. percentil 26,0 in 75. percentil 40,0). Mediana števila točk na vprašalniku HAP-AAS je bila pri dializnih bolnikih 77,0 (25. percentil 67,0 in 75. percentil 86,5), mediana števila točk pri kontrolnih preiskovancih pa 82,0 (25. percentil 76,0 in 75. percentil 93,0).

## 4.2 MULTIVARIABILNI REGRESIJSKI MODELI

### 4.2.1 Analiza rezultata 6-minutnega testa hoje

Povezavo med koncentracijo vitamina D in rezultatom 6-minutnega testa hoje smo preverjali z uporabo multivariabilnega linearnega modela. Poleg odvisnosti od koncentracije vitamina D smo v statističnem modelu hkrati upoštevali še starost, spol, telesno višino, dializno odvisnost in spontano hitrost hoje. Izračunan statistični model je prikazan v preglednici V, iz katere razberemo, da je serumska koncentracija vitamina D statistično značilno pozitivno ( $B = 0,61$ ,  $p = 0,008$ ) povezana z uspehom preiskovancev na 6-minutnem testu hoje. Vrednost koeficiente  $B$  v tem primeru pove, da bo v povprečju preiskovanec za vsako povečanje serumske koncentracije 25-hidroksiholekalciferola za 1 nmol/l v 6-ih minutah prehodil za 0,61 metra daljšo razdaljo. Iz preglednice V razberemo tudi, da dializni bolnik v 6-ih minutah prehodi 92 metrov krajšo razdaljo, kot zdrav kontrolni preiskovanec.

**Preglednica V:** Povezanost serumske koncentracije 25-hidroksiholekalciferola z rezultatom 6-minutnega testa hoje, kot odvisno spremenljivko

Napovedni dejavnik	B(SD)	95% interval zaupanja	Delni Eta <sup>2</sup>	p
Dializna odvisnost	-92 (19)	-128 do -55	0,16	<0,001
Starost (leta)	-3,5 (0,5)	-4,4 do -2,6	0,32	<0,001
Spontana hitrost hoje (m/s)	91 (33)	26 do 155	0,06	0,006
25-hidroksiholekalciferol (nmol/l)	0,61 (0,23)	0,16 do 1,06	0,05	0,008
Telesna višina (cm)	2,0 (1,1)	-0,1 do 4,2	0,03	0,07
Ženski spol	-12 (24)	-59 do 35	0,002	0,61

n = 135. Prilagojeni R<sup>2</sup> modela = 0,57. Presečišče = 313m (p za presečišče = 0,13).

#### 4.2.2 Analiza rezultata testa 10-kratnega vstajanja s stola

Povezavo med koncentracijo vitamina D in rezultatom testa 10-kratnega vstajanja s stola (STS-10) smo preverjali z uporabo multivariabilnega linearnega modela. Poleg odvisnosti od koncentracije vitamina D smo v statističnem modelu hkrati upoštevali še starost, telesno višino, maso pustega tkiva in dializno odvisnost (preglednica VI).

**Preglednica VI:** Multivariabilni linearni model z rezultatom testa STS-10, kot odvisno spremenljivko

Napovedni dejavnik	B(SD)	95% interval zaupanja	Delni Eta <sup>2</sup>	p
Telesna višina (cm)	0,26 (0,06)	0,14 do 0,38	0,13	<0,001
Dializna odvisnost	3,7 (0,8)	2,2 do 5,1	0,16	<0,001
Starost (leta)	0,19 (0,03)	0,14 do 0,25	0,28	<0,001
Masa pustega tkiva (kg)	-0,20 (0,06)	-0,31 do -0,09	0,09	0,001
25-hidroksiholekalciferol (nmol/l)	-0,013 (0,013)	-0,039 do 0,012	0,008	0,31

n = 135. Prilagojeni R<sup>2</sup> modela = 0,47, presečišče = -30,7 (p za presečišče = 0,001).

Izračunan statistični model ni pokazal statistično značilne povezanosti med serumsko koncentracijo vitamina D in rezultatom testa STS-10 (B = -0,013, p = 0,31). Koeficient B nam tukaj pove, da bo preiskovanec za 10-kratno vstajanje s stola v povprečju porabil 13 milisekund manj časa, če se mu koncentracija 25-hidroksiholekalciferola v serumu poveča za 1 nmol/l. Iz preglednice VI lahko razberemo, da bo dializni bolnik za 10-kratno vstajanje s

stola potreboval 3,7 sekunde več časa, kot zdrav kontrolni preiskovanec ( $B = 3,7$ ,  $p < 0,001$ ). Statistično značilen vpliv na rezultat testa STS-10 ima tudi starost: preiskovanec bo čez 5 let potreboval v povprečju 1 sekundo več časa za 10-kratno vstajanje s stola ( $B = 0,19$ ,  $p < 0,001$ ). Podobno velja tudi za maso pustega tkiva: vsakih 5 dodatnih kg pustega tkiva bo preiskovancu omogočilo, da bo za 10 vstajanj s stola potreboval 1 sekundo manj časa ( $B = -0,20$ ,  $p = 0,001$ ). Pri vstajanju s stola je telesna višina zavirajoč dejavnik, saj vsak dodatni cm telesne višine upočasni preiskovanca za 0,26 sekunde ( $B = 0,26$ ,  $p < 0,001$ ).

#### 4.2.3 Analiza rezultata testa moči stiska pesti

Povezavo med koncentracijo vitamina D in močjo stiska pesti smo preverjali z uporabo multivariabilnega linearnega modela. Poleg odvisnosti od koncentracije vitamina D smo v statističnem modelu hkrati upoštevali še telesno višino, starost, maso pustega tkiva, maso maščobnega tkiva, širino zapestja, dializno odvisnost in spol. Povezava se je izkazala za statistično neznačilno ( $B = 0,015$ , delni Eta<sup>2</sup> = 0,006,  $p = 0,39$ ), prilagojeni R<sup>2</sup> modela = 0,71, presečišče = -31,5 (p za presečišče = 0,05). Izračunani statistični model je prikazan v preglednici VII, iz katere lahko razberemo, da ni statistično značilne razlike ( $p = 0,33$ ) med močjo stiska pesti dializnih bolnikov in kontrolnih preiskovancev. Na moč stiska pesti imajo statistično značilen pozitiven vpliv telesna višina, masa pustega in maščobnega tkiva ter širina zapestja. Starost pa je z močjo stiska pesti povezana statistično značilno negativno: čez 5 let se bo preiskovancu mišična moč pri stisku pesti zmanjšala za 1 kg ( $B = -0,21$ ,  $p < 0,001$ ).

**Preglednica VII:** Multivariabilni linearni model z močjo stiska pesti kot odvisno spremenljivko

Napovedni dejavnik	B(SD)	95% interval zaupanja	Partial Eta <sup>2</sup>	p
Starost (leta)	-0.21 (0.05)	-0.31 do -0.12	0.14	<0.001
Telesna višina (cm)	0.27 (0.10)	0.08 do 0.46	0.06	0.006
Masa pustega tkiva (kg)	0.28 (0.10)	0.08 do 0.47	0.06	0.006
Širina zapestja (cm)	3.3 (1.6)	0.22 do 6.40	0.035	0.036
Masa maščobnega tkiva (kg)	0.12 (0.06)	0.00 do 0.24	0.03	0.04
Ženski spol	-3.8 (2.0)	-7.9 do 0.2	0.027	0.063
Dializna odvisnost	-1.5 (1.5)	-4.4 do 1.5	0.008	0.33
25-hidroksiholekalciferol (nmol/l)	0.015 (0.018)	-0.020 do 0.051	0.006	0.39

SD = standardni odklon

#### 4.2.4 Analiza aktivnosti v domačem okolju

Pri analizi aktivnosti v domačem okolju nas je zanimala povezava med rezultatom vprašalnika aktivnosti v domačem okolju s prilagojenim točkovanjem aktivnosti (HAP-AAS) in serumsko koncentracijo vitamina D. Tudi tukaj smo uporabili multivariabilni linearni model. Izračunan model je prikazan v preglednici VIII.

**Preglednica VIII:** Povezanost rezultata vprašalnika HAP-AAS s serumsko koncentracijo 25-hidroksiholekalciferola v linearinem multivariabilnem modelu

Napovedni dejavnik	B(SD)	95% interval zaupanja	Delni Eta <sup>2</sup>	p
Starost (leta)	-0,32 (0,06)	-0,44 do -0,20	0,18	<0,001
25-hidroksiholekalciferol (nmol/l)	0,091 (0,026)	0,040 do 0,142	0,089	0,001
Dializna odvisnost	-6,5 (2,2)	-10,8 do -2,3	0,068	0,003
[Dializna odvisnost]*[Ženski spol]	-8,3 (3,3)	-15 do -1,8	0,048	0,013
Masa maščobnega tkiva (kg)	-0,17 (0,09)	-0,33 do 0,00	0,029	0,05
Telesna višina (cm)	-0,18 (0,14)	-0,45 do 0,10	0,013	0,21
Masa pustega tkiva (kg)	0,16 (0,14)	-0,11 do 0,43	0,011	0,24
Ženski spol	-0,046 (3,0)	-6,0 do 6,0	0,000	0,99

SD = standardni odklon

Izračunan statistični model je pokazal, da je koncentracija vitamina D v serumu statistično značilno pozitivno povezana s točkami, doseženimi na vprašalniku HAP-AAS ( $B = 0,09$ , delni Eta<sup>2</sup> = 0,089, p = 0,001), prilagojeni R<sup>2</sup> modela = 0,49, presečišče 122,6 (p za presečišče < 0,001). Pri tem vrednost koeficiente B pove, da se vsako povečanje koncentracije 25-hidroksiholekalciferola v serumu za 1 nmol/L, odraža z dodatne 0,09 točke na vprašalniku HAP-AAS. Drugače povedano: preiskovanec doseže dodatno točko na vprašalniku HAP-AAS, če se mu koncentracija vitamina D v serumu poveča za približno 11 nmol/L. Iz preglednice VIII razberemo tudi, da dializni bolniki na vprašalniku HAP-AAS v povprečju dosežejo 6,5 točke manj, kot zdravi kontrolni preiskovanci ( $B = -6,5$ , p = 0,003). V preglednici VIII je navedena tudi prisotnost interakcije spremenljivk "Dializna odvisnost" in "Ženski spol", ki je statistično značilno (p = 0,013) negativno ( $B = -8,3$ ) povezana s točkami vprašalnika HAP-AAS. Ta interakcija pomeni, da ženska dializna bolnica doseže statistično značilno nižje število točk na vprašalniku HAP-AAS, in sicer 8,3 točke manj, v primerjavi z zdravim kontrolnim preiskovancem. Omeniti velja, da je navedena interpretacija vrednosti

koeficiente B iz tabel poenostavljena in služi le za lažjo predstavo jakosti vpliva koeficienta na vrednost odvisne spremenljivke modela.

## 5 RAZPRAVA

V nalogi smo raziskovali ali je serumska koncentracija vitamina D (kalcidiola) sama po sebi, brez vplivov pridruženih bolezni, antropometrijskih danosti ter starosti in spola, pomemben napovedni dejavnik gibalne zmožnosti. Pri primerjanju serumske koncentracije vitamina D med skupino dializnih bolnikov in skupino zdravih kontrolnih preiskovancev nismo uspeli dokazati statistično značilne razlike. To je pričakovano, saj večina dializnih bolnikov prejema vitamin D peroralno. Gibalno zmožnost smo ocenili z uporabo treh gibalnih testov in dodatno še z vprašalnikom aktivnosti v domačem okolju. Omenjeni gibalni testi sodijo med najbolj preiskane in uporabljane teste za ocenjevanje funkcij zgornjih in spodnjih okončin. Dokazali smo, da je serumska koncentracija vitamina D statistično značilen in neodvisen pozitivni napovedni dejavnik uspeha na 6-minutnem testu hoje. Dokazali smo tudi statistično značilno povezavo med serumsko koncentracijo vitamina D in aktivnostjo v domačem okolju, ki jo odraža vprašalnik HAP-AAS. Pri analizi povezanosti moči stiska pesti ter testa hitrosti vstajanja s stola nismo uspeli dokazati statistično značilne povezanosti s serumsko koncentracijo vitamina D.

**Hipoteza 1: koncentracija kalcidiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik uspeha na 6-minutnem testu hoje.**

Prvo hipotezo smo potrdili. 6-minutni test hoje odraža integriran odziv organskih sistemov, ki so vključeni pri hoji. Rezultat tega testa napoveduje aerobno kapaciteto preiskovancev: višja koncentracija vitamina D napoveduje večjo toleranco posameznika na telesni napor in obratno. Do enakega zaključka so prišli leta 2012 v presečni raziskavi, ki so jo izvedli na naključno izbranih 2694 starejših (starost  $\geq 65$  let) moških in ženskah (31). V isti študiji je bila višja koncentracija vitamina D povezana s pogostejšo fizično aktivnostjo in nižjo obolenostjo.

**Hipoteza 2: koncentracija kalcidiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik hitrosti vstajanja s stola.**

Druge hipoteze nismo potrdili, kar je v nasprotju s pričakovanji, saj v literaturi navajajo značilno povezanost med koncentracijo vitamina D in mišično močjo (14, 31, 32). Hipovitaminoza D je povezana z atrofijo mišičnih vlaken tipa IIB in mišično oslabelostjo ter s tem povezanimi težavami pri vsakodnevnih aktivnostih. Z učinkovitim zdravljenjem hipovitaminoze D sta atrofija mišičnih vlaken in mišična oslabelost reverzibilni (32).

**Hipoteza 3: koncentracija kalcidiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik moči stiska pesti.**

Tretje hipoteze nismo potrdili. Tako kot test hitrosti vstajanja s stola, tudi test stiska pesti odraža mišično moč, zato je podobno kot pri drugi hipotezi, rezultat statistične analize moči stiska pesti nepričakovani.

**Hipoteza 4: koncentracija kalcidiola v krvi je neodvisni pozitivni napovedni dejavnik aktivnosti v domačem okolju.**

Četrto hipotezo smo potrdili. Aktivnost preiskovancev v domačem okolju, ki jo odraža HAP-AAS vprašalnik, je povezana predvsem z aerobno kapaciteto preiskovancev. Ugotovili smo močno povezanost med koncentracijo vitamina D in doseženimi točkami na vprašalniku HAP-AAS ( $B = 0,09$ ,  $p = 0,001$ ). Statistično značilno, a šibkejšo povezavo ( $p = 0,03$ ), so ugotovili tudi Anand in sodelavci v raziskavi, izvedeni na 192 dializnih bolnikih (33). V članku navajajo, da je bilo 25-odstotno znižanje koncentracije vitamina D je povezano z 1,5-krat nižjim številom točk, doseženih na vprašalniku HAP-AAS.

Rezultati kažejo na to, da je serumska koncentracija vitamina D statistično značilno povezana z gibalno zmožnostjo dializnih bolnikov, vendar le v delu, ki je povezan s submaksimalno fizično vzdržljivostjo (potrjeni hipotezi 1 in 4). Ugotovili smo, da serumska koncentracija vitamina D ni statistično značilno povezana z gibalnimi zmožnostmi, ki so povezane s čisto mišično močjo (nepotrjeni hipotezi 2 in 3). V literaturi lahko zasledimo vedno več dokazov za obstoj povezave med koncentracijo vitamina D in gibalno zmožnostjo (14, 31, 32, 33). Neposredno primerjanje rezultatov različnih raziskav pogosto ni mogoče zaradi razlik v izvedenih raziskavah: razlik v demografiji preiskovane populacije (zajeti samo starejši preiskovanci, zajeta samo zdrava populacija, ipd.), razlik v zasnovi raziskav ter razlik v številu upoštevanih spremljajočih dejavnikov, ki jih upoštevajo v statistični analizi. Ne glede na to, lahko iz literature in lastnih ugotovitev povzamemo, da lahko igra vitamin D pomembno vlogo pri zagotavljanju ustrezne gibalne zmožnosti, kakovosti življenja in verjetnosti preživetja dializnih bolnikov.

## **5.1 PREDNOSTI IN SLABOSTI RAZISKAVE**

Pri ugotavljanju povezanosti serumske koncentracije vitamina D in gibalne zmožnosti nam je uspelo izločiti pomembne pridružene dejavnike, ki bi poleg vitamina D še lahko vplivali na gibalno zmožnost preiskovancev. Pomembno je, da smo v veliki meri nevtralizirali tudi vpliv pridruženih bolezni. Stanja, kot so napredovale oblike srčno-žilnih bolezni, revmatične in

nevrološke bolezni lahko že same po sebi poslabšajo gibalne zmožnosti. Glavna šibkost naše raziskave je njena presečna narava. Šibkost naše raziskave je tudi majhna velikost vzorca. Zanesljiva multivariabilna analiza z več neodvisnimi napovednimi dejavniki zahteva velike vzorce. Prednost upoštevanja pomembnih neodvisnih napovednih dejavnikov tako ni bila izkoriščena v polni meri.

## 6 SKLEPI

Rezultati raziskave so nas pripeljali do sledečih sklepov:

- nismo uspeli dokazati statistično značilne razlike v serumski koncentraciji vitamina D med skupino dializnih bolnikov in skupino zdravih kontrolnih preiskovancev
- serumska koncentracija vitamina D je statistično značilno povezana z gibalno zmožnostjo dializnih bolnikov, vendar le v delu, ki je povezan s submaksimalno fizično vzdržljivostjo
- nismo uspeli potrditi povezanosti serumske koncentracije vitamina D z gibalnimi zmožnostmi, ki so povezane s čisto mišično močjo

Do navedenih sklepov smo prišli na podlagi statistične analize, s katero nam je uspelo izločiti pomembne pridružene dejavnike, ki bi poleg vitamina D še lahko vplivali na gibalno zmožnost dializnih bolnikov, a smo pri tem uporabili razmeroma majhen vzorec preiskovancev. Prednost upoštevanja vseh pomembnih neodvisnih napovednih dejavnikov bo v polni meri izkoriščena šele takrat, ko bomo v raziskavo uspeli zajeti vzorec preiskovancev, ki bo po velikosti v polni meri zadostil vsem kriterijem multivariabilnega linearnega modela.

## 7 LITERATURA

1. Lindič J. Ocena ledvičnega delovanja. V: Lindič J, Ferluga D, Rott T, Vizjak A. Bolezni ledvic. 3. izdaja. Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo: Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Ljubljana 2014: 31-41.
2. Eaton DC, Pooler JP. 1. poglavje. Renal Functions, Basic Processes, and Anatomy. V: Eaton DC, Pooler JP. Vander's Renal Physiology. 8. izdaja. New York, NY: McGraw-Hill; 2013.  
<http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=505&Sectionid=4251198>  
0. Datum dostopa: 17.7. 2015.
3. Bresjanac M, Rupnik M. Patofiziologija s temelji fiziologije. 3. Izdaja. Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana 2002: 63-67.
4. Malovrh M. Vodenje bolnika s kronično ledvično boleznijo. V: Lindič J, Ferluga D, Rott T, Vizjak A. Bolezni ledvic. 3. izdaja. Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo: Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Ljubljana 2014: 559-567.
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2013; Suppl 3: 5-8.
6. Penko M, Bevc S, Kanič V, Hojs R. Prevalenca kronične ledvične bolezni pri bolnikih z akutnim koronarnim sindromom. *Zdrav Vestn* 2007; 76: 151–157.
7. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA* 2007; 298: 2038-2047.
8. Chadban SJ, Briganti EM, Kerr PG, Dunstan DW, Welborn TA, Zimmet PZ, et al. Prevalence of kidney damage in Australian adults: The AusDiab kidney study. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 131-138.
9. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L. Ocena glomerulne filtracije – primerjava serumskega kreatinina, serumskega cistatina C in enačb za izračun očistka kreatinina. *Zdrav Vestn* 2006; 75: 255-262.
10. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease

- Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. Ann Intern Med. 2009; 150: 604-612.
11. <http://nkdep.nih.gov/lab-evaluation/gfr/estimating.shtml> Datum dostopa: 23.7.2015
  12. [http://nephron.com/epi\\_equation](http://nephron.com/epi_equation) Datum dostopa: 26.7.2015
  13. Osredkar J, Marc J. Vitamin D in presnovki: fiziologija, patofiziologija in referenčne vrednosti. Med Razgl 1996; 35: 543-565.
  14. Halfon M, Phan O, Teta D. Vitamin D: A Review on Its Effects on Muscle Strength, the Risk of Fall, and Frailty. BioMed Research International 2015. Dostopno na: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/953241>
  15. Zerwekh J. Blood biomarkers of vitamin D status. Am J Clin Nutr 2008; 87: 1087-1091.
  16. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, de Jong PE, de Zeeuw D, Shahinfar S, Toto R, Levey AS; AIPRD Study Group. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria, and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. Ann Intern Med 2003; 139: 244-252.
  17. Kandus A. Zgodovina in principi hemodialize. V: Ponikvar R, Ponikvar-Buturović J. Dializno zdravljenje. Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo SPS Interna klinika, Ljubljana 2004: 75-82.
  18. Buturović Ponikvar J. Nadomestno zdravljenje s hemodializo. V: Lindič J, Ferluga D, Rott T, Vizjak A. Bolezni ledvic. 3. izdaja. Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo: Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Ljubljana 2014: 683-694.
  19. Guček A. Peritonealna dializa. V: Ponikvar R, Ponikvar-Buturović J. Dializno zdravljenje. Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo SPS Interna klinika, Ljubljana 2004: 227-242.
  20. Guček A, Lindič J, Pajek J. Nadomestno zdravljenje s peritonealno dializo. V: Lindič J, Ferluga D, Rott T, Vizjak A. Bolezni ledvic. 3. izdaja. Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo: Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Ljubljana 2014: 709-726.
  21. Kovač D. Presaditev ledvice. . V: Lindič J, Ferluga D, Rott T, Vizjak A. Bolezni ledvic. 3. izdaja. Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo: Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Ljubljana 2014: 727-744.

22. Overend T, Andreson C, Saqant A, Perryman B, Locking-Cusolito H. Relative and Absolute Reliability of Physical Function Measures in People with End-Stage Renal Disease. *Physiother Can.* 2010; 62: 122-128.
23. Johansen KL, Chertow GM, da Silva M, Carey S, Painter P. Determinants of physical performance in ambulatory patients on hemodialysis. *Kidney Int.* 2001; 60: 1586-1591.
24. Torino C, Manfredini F, Bolignano D, Aucella F, Baggetta R, Barilla A, et al. Physical performance and clinical outcomes in dialysis patients: a secondary analysis of the EXCITE trial. *Kidney Blood Press Res.* 2014; 39: 205-211.
25. Painter P, L. Marcus R. Assessing Physical Function and Physical Activity in Patients with CKD.
26. Wang a. YM, Sea MMM, Ho YSY, Lui SF, Li PKT, Woo J. Evaluation of handgrip strength as a nutritional marker and prognostic indicator in peritoneal dialysis patients. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81: 79-86.
27. Fix A, Daughton D. Human Activity Profile professional manual. Psychological Assessment Resources, Inc.; 1988.
28. Davies SJ, Phillips L, Naish PF, Russell GI. Quantifying comorbidity in peritoneal dialysis patients and its relationship to other predictors of survival. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17: 1085-1092.
29. Beckman Couter, Inc. Access 25(OH) Vitamin D Total (Ref. A98856).
30. Bučar Pajek M, Leskošek B, Vivoda T, Svilan K, Čuk I, Pajek J. Integrative Examination of Motor Abilities in Dialysis Patients and Selection of Tests for a Standardized Physical Function Assessment. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2016; 20: 286-294.
31. To anello ED, Perissinotto E, Sergi G et al. Vitamin D and physical performance in elderly subject: the Pro.V.A study. *PLoS ONE*; 2012; 7 (4).
32. Ziambaras K, Dagogo-Jack S. Reversible Muscle Weakness in Patients with Vitamin D Deficiency. *West J Med* 1997; 167: 435-439.
33. Anand S, Kaysen GA, Chertow GM, Johansen KL, Grimes B, Dalrymple LS, Tamura MK. Vitamin D deficiency, self-reported physical activity and health-related quality of life: The Comprehensive Dialysis Study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 3683-3688.