



## SARKOPENIA W PRZEWLEKŁEJ CHOROBY NEREK – ZAŁOŻENIA, CELE I METODYKA PROJEKTU BADAWCZEGO „ROLA mikroRNA JAKO BIOMARKERÓW SARKOPENII U PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁĄ CHOROBY NEREK”



Sarcopenia in chronic kidney disease – the assumptions, aims and methodology of the research project “The role of microRNAs as biomarkers of sarcopenia in chronic kidney disease patients”

Katarzyna Romejko

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Dializoterapii, Polska

Katarzyna Romejko –  ORCID 0000-0003-1447-2917

**Streszczenie:** Sarkopenia jest definiowana jako zespół charakteryzujący się postępującą i uogólnioną utratą masy oraz siły mięśniowej ze zwiększonym ryzykiem niekorzystnych zdarzeń obejmujących ograniczoną aktywność fizyczną z nierezadką koniecznością korzystania z pomocy osób trzecich. Prowadzi także do upadków, pogorszenia jakości życia i zwiększenia śmiertelności. Sarkopenia jest jednym z powikłań występujących u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, znacząco pogarszającą rokowanie chorych. Przyczyny sarkopenii w przewlekłej chorobie nerek są liczne i obejmują nasilony subkliniczny stan zapalny, zaburzenia hormonalne oraz metaboliczne. Wczesne rozpoznanie sarkopenii lub ryzyka rozwoju sarkopenii w przewlekłej chorobie nerek umożliwiłoby szybsze wprowadzenie zmian stylu życia pacjentów oraz procesów terapeutycznych mających na celu zapobieganie utracie masy i siły mięśniowej, lub – w przypadku sarkopenii już rozpoznanej – spowolnienie jej przebiegu. Potrzebne są badania z udziałem pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, które pozwoliłyby na dokładne poznanie mechanizmów sarkopenii w tej grupie chorych oraz nowych markerów sarkopenii. W pracy przedstawiono projekt pt. „Rola mikroRNA jako biomarkerów sarkopenii u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek”, który został złożony do konkursu MINIATURA 7 organizowanego przez Narodowe Centrum Nauki i został rozpatrzony pozytywnie, uzyskując numer rejestracyjny 2023/07/X/NZ5/00637. Badanie będzie przeprowadzone w Klinice Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Dializoterapii Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. W pracy zostały przedstawione cele i metodyka badania.

**Abstract:** Sarcopenia is defined as a state with progressive and generalized loss of muscle mass and strength, with an increased risk of adverse events such as impaired physical activity often requiring assistance. It also leads to falls, worsening the quality of life, and increased mortality. Sarcopenia is one of the complications occurring in patients with chronic kidney disease which significantly worsens their prognosis. The causes of sarcopenia in chronic kidney disease are numerous and include intensified subclinical inflammatory state, hormonal and metabolic disturbances. Early diagnosis of sarcopenia or risk of sarcopenia development in chronic kidney disease would allow for earlier implementation of lifestyle changes and therapeutic procedures aimed at preventing muscle mass and strength loss, or, in the case of already diagnosed sarcopenia, slowing its progression. Studies involving patients with chronic kidney disease are needed to enable a detailed understanding of the mechanisms of sarcopenia in this group of patients, as well as the identification of new markers of sarcopenia. The paper presents the project titled „The role of microRNAs as biomarkers of sarcopenia in chronic kidney disease patients” which has been submitted to the MINIATURA 7 competition organized by the National Science Centre and has been positively evaluated, obtaining the registration number 2023/07/X/NZ5/00637. The study will be conducted at the Department of Internal Diseases, Nephrology and Dialysis, Military Institute of Medicine – National Research Institute, Poland. The aims and methodology of the study have been presented.

**Słowa kluczowe:** przewlekła choroba nerek, projekt, sarkopenia, mikroRNA.

**Keywords** chronic kidney disease, project, sarcopenia, microRNA.

DOI 10.53301/lw/174973

Praca wpłynęła do Redakcji: 05.11.2023

Zaakceptowano do druku: 08.11.2023

**Autor do korespondencji:**

Katarzyna Romejko

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Dializoterapii, Warszawa

e-mail: kromejko@wim.mil.pl

## Sarkopenia w przewlekłej chorobie nerek

Przewlekła choroba nerek (PChN) jest obecnie jednym z głównych problemów zdrowotnych na świecie. Nieodwracalne uszkodzenie nerek występuje u prawie 13% populacji [1]. Upośledzenie czynności nerek prowadzi do zaburzeń wodno-elektrolitowych, metabolicznych, hormonalnych, kostnych, niedokrwistości, zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej oraz licznych powikłań, w szczególności dotyczących układu sercowo-naczyniowego, jak również sarkopenii.

Mięśnie szkieletowe stanowią około 30-40% masy ciała. Główną funkcją mięśni szkieletowych jest utrzymywanie prawidłowej postawy i równowagi ciała, kontrolowanie ruchów i różnorodnych aktywności m.in. procesu jedzenia i mowy. Sarkopenia definiowana jest jako zmniejszenie masy mięśni szkieletowych lub nieprawidłowości budowy mięśni oraz obniżenie siły mięśniowej i pogorszenie funkcji mięśni szkieletowych. Termin „sarkopenia” został po raz pierwszy wprowadzony w 1988 r. przez Rosenberga do opisu utraty masy mięśni szkieletowych u osób starszych [2]. Obniżenie masy mięśniowej obserwuje się podczas procesu starzenia, w przebiegu chorób nerwowo-mięśniowych i przewlekłych procesów chorobowych [3]. Podobnie jak w populacji ogólnej, sarkopenia dotyczy również pacjentów z PChN. Częstość występowania sarkopenii w tej grupie chorych wynosi w zależności od różnych badań od 5,9% do 55% [4-6]. Kryteria diagnostyczne sarkopenii oparte są na wytycznych *European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP2) 2018* [7]. Wytyczne te są wykorzystywane w wielu badaniach nad sarkopenią również u pacjentów z PChN. Brakuje jednak specyficznych kryteriów rozpoznania sarkopenii w grupie osób z PChN, które są szczególnie narażone na pogorszenie siły mięśniowej, utratę masy mięśniowej i zaburzenia architektury mięśni. Sarkopenia wiąże się z procesem wyniszczenia białkowo-energetycznego (*protein-energy wasting*, PEW), jaki również jest obserwowany w PChN. Obniżenie masy i siły mięśniowej prowadzi do zmniejszenia aktywności fizycznej, wysokiej podatności na urazy, zwiększenia liczby hospitalizacji i śmiertelności [4, 8]. Utrata masy mięśniowej jest również jedną z przyczyn zespołu kruchości, którego cechą charakterystyczną jest zwiększona podatność na liczne czynniki stresowe, jak choroby lub urazy. Zespół kruchości dotyczy głównie osób starszych, jednak jest również związany z upośledzeniem czynności nerek [9]. Przyczyny utraty masy mięśniowej u pacjentów z PChN są liczne. Obecność subklinicznego procesu zapalnego u pacjentów z upośledzoną czynnością nerek prowadzi do nasilenia katabolizmu białek oraz hamuje procesy anaboliczne w tkance mięśniowej, co prowadzi do obniżenia masy mięśniowej [10]. Kwasica metaboliczna również odpowiada za intensyfikację procesów proteolitycznych [11]. Insulinooporność w znaczący sposób przyczynia się do rozwoju sarkopenii w grupie pacjentów z PChN, jak również wtórna nadczynność przytarczyc, która nasila wydatkowanie energii i bierze udział w rozwoju niedożywienia i utraty masy mięśniowej w tej grupie chorych [12]. Sarkopenia wiąże się także z niedoborem witaminy D [13]. Ponadto oporność na hormon wzrostu (*growth hormone*, GH) i zaburzenia osi GH/IGF-1 (*growth hormone/insulin-like growth factor-1*) występujące w niewydolności nerek mogą skutkować upośledzeniem syntezy

białek i w konsekwencji obniżeniem masy mięśniowej [14]. Nieprawidłowy profil adipocytokinowy, w szczególności wysokie stężenia leptyny oraz hypogonadyzm z obniżonym stężeniem osocznego testosteronu, również przyczyniają się do rozwoju sarkopenii u pacjentów z PChN [15].

Powikłania sercowo-naczyniowe występują już we wczesnych stadiach PChN oraz ulegają intensyfikacji wraz z progresją niewydolności nerek. Niewydolność serca, która jest jednym z powikłań sercowo-naczyniowych w PChN i dotyczy około 44% chorych hemodializowanych, jest również jednym z czynników ryzyka rozwoju sarkopenii [16]. Proces sarkopenii w PChN jest intensyfikowany przez liczne mechanizmy utraty masy mięśni szkieletowych, występujących również w niewydolności serca, takich jak: dysfunkcja śródbłonna, subkliniczny stan zapalny, zaburzenia hormonalne, podwyższone stężenie angiotensyny II oraz zwiększona synteza reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species*, ROS) [17]. Sarkopenia wiąże się także z innymi powikłaniami sercowo-naczyniowymi, takimi jak: uszkodzenia naczyń, miażdżycza czy gorsza kontrola ciśnienia tętniczego krwi [18].

Badania ostatnich lat wskazują, że homeostaza mięśni szkieletowych jest regulowana przez czynniki transkrypcyjne, takie jak specyficzne dla mięśni mikroRNA (miRNA). MiRNA są jednoniciowymi, niekodującymi molekułami RNA złożonymi z 21-25 nukleotydów. MiRNA rozpoznają sekwencje komplementarne mRNA, wchodzi w interakcje z regionem 3' nieulegającym translacji (*3'untranslated regions*, 3'UTR) docelowego mRNA, co prowadzi do hamowania procesów translacyjnych lub degradacji mRNA na poziomie post-transkrypcyjnym [19]. Obecnie wiadomo, że miRNA odgrywają rolę regulatorów ekspresji genów. Każde miRNA może docelowo oddziaływać z różnymi mRNA, jak również każde mRNA może być regulowane przez liczne miRNA [20]. Ekspresja miRNA może ulegać zmianie w przebiegu wielu procesów patologicznych [21]. Wiele różnych miRNA ulega ekspresji w różnych tkankach i komórkach, ale niektóre są specyficzne dla określonych tkanek. miRNA odgrywają rolę w rozwoju i homeostazie mięśni szkieletowych, przyczyniają się również do utrzymania masy i prawidłowej funkcji mięśni. miRNA są zaangażowane w procesy takie jak: proliferacja mioblastów, miogeneza mięśniowa oraz różnicowanie komórek mięśniowych. MyomiRs to specyficzne dla tkanki mięśniowej miRNA. Grupa MyomiRs obejmuje miR-1, miR-133, miR-206, miR-208, miR-499 i miR-486 [22]. Większość myomiRs ulega ekspresji zarówno w mięśniach szkieletowych, jak i w komórkach mięśnia serca, z wyjątkiem miR-206, który jest specyficzny dla mięśni szkieletowych, oraz miR-208, który ulega ekspresji głównie w mięśniu sercowym [23]. Dotychczasowe badania wykazały, że miRNA odgrywają istotną rolę w rozwoju i homeostazie mięśni szkieletowych, co więcej, różne miRNA są zaangażowane w dysfunkcję mięśni oraz choroby mięśni, w tym sarkopenię [24, 25].

## Klasyfikacja sarkopenii

Sarkopenię można podzielić na pierwotną i wtórną. Sarkopenia pierwotna jest związana z procesem starzenia, natomiast sarkopenia wtórna może, ale nie musi, występować u osób starszych, rozwija się natomiast w prze-

biegu licznych stanów chorobowych oraz u osób z niską aktywnością fizyczną. Wtórna sarkopenia występować może w przebiegu nowotworów złośliwych, chorób zapalnych lub zaburzeń hormonalnych, niewydolności narządowych, stosowania leków anorektycznych oraz zaburzeń odżywiania, takich jak zmniejszone spożycie pokarmów lub choroby układu pokarmowego [26]. Ponieważ wiele z tych zaburzeń występuje w PChN, bardzo prawdopodobne jest, że pacjenci z upośledzoną funkcją nerek rozwiną sarkopenię. Utrata masy mięśniowej w sarkopenii wtórnej jest szybsza i bardziej intensywna niż w pierwotnej formie choroby [27]. Sarkopenia może być również ostra lub przewlekła. Sarkopenia trwająca mniej niż 6 miesięcy uważana jest za ostrą i wynika ze współistniejącego procesu chorobowego lub urazu. Jeśli sarkopenia utrzymuje się przez więcej niż 6 miesięcy, można ją zdiagnozować jako stan przewlekły.

### Diagnostyka sarkopenii

Sarkopenię rozpoznaje się, gdy jednocześnie występuje obniżona siła mięśniowa oraz niska masa mięśniowa i/lub upośledzona jakość mięśni. Europejskie wytyczne dotyczące definicji i diagnostyki sarkopenii z 2018 r. potwierdzają, że upośledzenie siły mięśniowej jest najbardziej niezawodnym narzędziem do oceny funkcji mięśni, dlatego w przypadku rozpoznania niskiej siły mięśniowej sarkopenia jest prawdopodobna. Sarkopenia jest natomiast potwierdzona, gdy łącznie z niską siłą mięśniową występuje obniżona masa mięśni szkieletowych i/lub upośledzona jakość mięśni szkieletowych. Sarkopenię można określić jako ciężką, gdy występuje również obniżona sprawność fizyczna [7].

Istnieją różne metody oceny siły oraz masy mięśni szkieletowych, jakości mięśni oraz sprawności fizycznej. Siłę mięśni szkieletowych można ocenić za pomocą pomiaru siły ścisku dłoni lub testu 5-krotnego wstawiania z krzesła. Pomiar siły ścisku dłoni wymaga użycia kalibrowanego dynamometru. Udowodniono, że siła ścisku dłoni koreluje z siłą mięśni szkieletowych innych części ciała i może służyć jako substytut bardziej skomplikowanych pomiarów siły mięśniowej kończyn górnych i dolnych [28]. Ponieważ ta metoda jest prosta i nie wymaga użycia wysoce specjalistycznego sprzętu, można ją stosować zarówno w szpitalach, jak i w przychodniach. Inny sposób oceny siły mięśni szkieletowych to test 5-krotnego wstawiania z krzesła. Polega on na pomiarze czasu potrzebnego na pięciokrotnie wstanie z pozycji siedzącej bez użycia rąk [29]. Punkt odcięcia dla testu siły ścisku dłoni wynosi < 27 kg dla mężczyzn i < 16 kg dla kobiet, natomiast dla testu 5-krotnego wstawiania z krzesła wynosi > 15 s. [30].

Istnieje kilka metod służących ocenie masy mięśniowej. Złotymi standardami w ocenie masy mięśniowej są obrazowanie rezonansem magnetycznym (MRI) i tomografia komputerowa (CT). Jednak ograniczeniem korzystania z tych metod są: wysoki koszt, nie zawsze możliwy dostęp do badań i potrzeba specjalistycznie przeszkolonego personelu. Ponadto punkty odcięcia dla rozpoznania niskiej masy mięśni szkieletowych w przypadku CT i MRI nie są dobrze zdefiniowane. Bardziej dostępne niż MRI i CT jest badanie dwuwiązkowej absorpcjometrii rentgenowskiej (*dual energy X ray absorptiometry, DXA*), dzięki któremu można określić nie tylko całkowitą masę mię-

śniową, ale również masę mięśni szkieletowych kończyn (*appendicular skeletal muscle mass, ASM*) [7]. Kolejną metodą wykorzystywaną do oszacowania masy mięśniowej jest analiza bioimpedancji elektrycznej (*bioelectrical impedance analysis, BIA*). Jest to prosta i niezbyt droga metoda, sprzęt jest przenośny, dzięki czemu nie jest wymagany transport pacjenta, metoda jest również prosta w użyciu. Główną wadą BIA jest to, że metoda ta nie mierzy bezpośrednio masy mięśniowej, a jedynie szacuje całkowitą masę mięśniową lub przy użyciu wielu dostępnych wzorów pomaga oszacować masę mięśni szkieletowych kończyn. Ponieważ masa mięśniowa związana jest z wielkością ciała, w procesie szacowania ASM absolutna wartość ASM może być indeksowana do wzrostu lub masy ciała: ASM/wzrost<sup>2</sup>, ASM/masa ciała lub ASM/BMI [31]. Wartości nieprawidłowe ASM wynoszą < 20 kg dla mężczyzn i < 15 kg dla kobiet, a nieprawidłowe wartości indeksowane to < 7 kg/m<sup>2</sup> dla mężczyzn i < 5,5 kg/m<sup>2</sup> dla kobiet [7].

Ocena sprawności fizycznej to ocena funkcjonowania całego ciała, w szczególności w zakresie poruszania się, która obejmuje funkcję mięśni oraz funkcję ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego [7]. Metodami wykorzystywanymi do oszacowania sprawności fizycznej są: „Ocena prędkości chodu” (*Gait Speed test*), „Krótki test sprawności fizycznej” (*Short physical performance battery test, SPPB*), test „Wstań i idź” (*timed-up-and-go test, TUG*) oraz „Test chodu na dystansie 400 metrów”. Test prędkości chodu jest prosty i bezpieczny w procesie diagnostycznym sarkopenii, umożliwia przewidywanie wystąpienia niekorzystnych rokowniczo zdarzeń, takich jak: niepełnosprawność, zaburzenia funkcji poznawczych, upadki i zwiększoną śmiertelność [32]. Ocena prędkości chodu znana jest również jako „Test 4-metrowy”. Pacjenci zostają poproszeni o przejście indywidualnym tempem dystansu 4 metrów. Szybkość chodzenia mierzy się ręcznie za pomocą stopera lub przy pomocy elektronicznego urządzenia do pomiaru czasu przejścia 4 metrów [33]. Punktem odcięcia dla testu prędkości chodu jest wartość ≤ 0,8 m/s, która umożliwi rozpoznanie ciężkiej sarkopenii. Inną metodą pomiaru sprawności fizycznej jest test SPPB. Składa się on z trzech elementów: zdolności do utrzymania pozycji stojącej przez 10 sekund, czasu przejścia 3-metrowego lub 4-metrowego dystansu oraz czasu 5-krotnego podniesienia się z pozycji siedzącej do stojącej [34]. Pacjenci, którzy uzyskali niską punktację w teście SPPB są zwykle zależni od innych osób w wykonywaniu codziennych czynności życiowych, mają zwiększone ryzyko upadków, obniżoną sprawność ruchową, zwiększone ryzyko hospitalizacji oraz zwiększoną śmiertelność [35]. Obniżoną sprawność fizyczną można rozpoznać, gdy w teście SPPB pacjent uzyska ≤ 8 punktów. Test TUG polega na tym, że pacjent zostaje poproszony o wstanie z pozycji siedzącej, przejście 3 metrów, obrót, powrót i ponowne przyjęcie pozycji siedzącej. Punkt odcięcia dla niskiej sprawności fizycznej w teście TUG wynosi ≥ 20 s. [36]. Test chodu na dystansie 400 metrów mierzy możliwość samodzielnego chodzenia i wytrzymałość. Uczestnicy są proszeni o zrobienie 20 okrążeń po 20 metrów jak najszybciej z możliwością dwukrotnego odpoczynku podczas testu. Punkt odcięcia dla rozpoznania obniżonej sprawności fizycznej w teście chodu na dystansie 400 metrów to nieukończenie testu lub czas przejścia dystansu ≥ 6 minut.

Europejska Grupa Badawcza ds. Sarkopenii u Osób Starszych (EWG SOP2) przedstawiła zaktualizowany algorytm rozpoznania, diagnostyki oraz oceny ciężkości sarkopenii, który nosi nazwę *Find-Assess-Confirm-Severity* (F-A-C-S) [7]. Proces diagnostyczny powinien rozpocząć się od wypełnienia przez pacjenta kwestionariusza SARC-F celem potwierdzenia możliwości występowania sarkopenii (punkt „Find”). Kwestionariusz SARC-F został przedstawiony w Orlando w 2012 r. podczas Międzynarodowej Konferencji Dotyczącej Diagnostyki i Leczenia Sarkopenii [37]. Kwestionariusz SARC-F składa się z pięciu pytań dotyczących siły (S), konieczności pomocy podczas chodzenia (A), wstawania z krzesła (R), wchodzenia po schodach (C) oraz epizodów upadku (F). Liczba punktów, które można zdobyć wynosi od 0 do 2 dla każdego punktu, od „zupełnie nie” do „bardzo trudno”. Całkowita liczba punktów wynosi 10, liczba punktów konieczna do podejrzenia sarkopenii wynosi  $\geq 4$ . Jeśli pacjent uzyska 4 lub więcej punktów w kwestionariuszu SARC-F lub w przypadku klinicznego podejrzenia sarkopenii, pacjent przechodzi do punktu „Assess” algorytmu, podczas którego siła mięśniowa jest mierzona za pomocą pomiaru siły ścisku dłoni lub testu 5-krotnego wstawania z krzesła. Po potwierdzeniu obniżonej siły mięśniowej chory przechodzi do kolejnego punktu algorytmu – „Confirm”, który polega na ocenie masy mięśniowej lub jakości mięśni za pomocą metod DXA, BIA, CT lub MRI. Rozpoznanie obniżonej masy mięśniowej lub upośledzonej jakości mięśni potwierdza sarkopenię. Ostatnim punktem algorytmu jest „Severity”. Niska sprawność fizyczna oceniana przy pomocy „Oceny prędkości chodu”, testu SPPB, testu „Wstań i idź” lub „Testu chodu na dystansie 400 metrów” pozwala na rozpoznanie ciężkiej sarkopenii [7].

Pomimo że świadomość możliwości rozwoju sarkopenii i jej powikłań w PChN rośnie wśród pacjentów i personelu medycznego, wciąż wymaga ona poprawy diagnostyki i leczenia. Ponieważ sarkopenia w PChN wiąże się z większą zachorowalnością i śmiertelnością, kluczowe jest zrozumienie dokładnych mechanizmów utraty masy i siły mięśniowej u chorych z upośledzeniem funkcji nerek w celu zapobiegania rozwojowi sarkopenii, co w konsekwencji umożliwiłoby wydłużenie życia pacjentów i poprawę jego jakości. Wczesna diagnoza sarkopenii w PChN pozwoliłaby na wprowadzenie odpowiednich procesów terapeutycznych i działań profilaktycznych. Mimo że znane są liczne mechanizmy sarkopenii w PChN, wciąż potrzebne są dalsze badania i warto szukać nowych markerów, które mogą stać się pomocne w procesie diagnostycznym sarkopenii lub które mogłyby przewidywać ryzyko rozwoju zmniejszenia masy i siły mięśniowej w PChN. Biorąc pod uwagę fakt, że liczba pacjentów z PChN wciąż rośnie i będzie rosła w przyszłości, wysoce wartościowe jest szukanie przyczyn powikłań, które zwiększają zachorowalność i śmiertelność w PChN pod kątem ewentualnych przyszłych działań profilaktycznych lub terapeutycznych.

### Projekt „Rola mikroRNA jako biomarkerów sarkopenii u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek”

W związku z moim zainteresowaniem problematyką sarkopenii u chorych z PChN złożono wniosek do konkursu MINIATURA 7 organizowanego przez Naro-

dowe Centrum Nauki o finansowanie projektu pt. „Rola mikroRNA jako biomarkerów sarkopenii u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek”. W dniu 20.09.2023 r. wniosek został rozpatrzony pozytywnie i otrzymał nr rejestracyjny 2023/07/X/NZ5/00637. Celem badania będzie ocena genetycznych oraz pozagenetycznych mechanizmów sarkopenii u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek.

Hipoteza badawcza zakłada, że zmiany osoczowych stężeń mikroRNA specyficznych dla mięśni – MyomiRs, takich jak miR-1, miR-133, miR-206 i miR-499, wiążą się z rozwojem sarkopenii u chorych z przewlekłą chorobą nerek.

Badana grupa będzie składała się z 46 mężczyzn w wieku od 40 do 80 lat z PChN i eGFR 15-29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (23 mężczyzn z rozpoznaną sarkopenią oraz 23 mężczyzn bez sarkopenii). Pacjenci zostaną sparowani pod względem wieku. Uczestnikami badania będą pacjenci z Poradni Nefrologicznej Wojskowego Instytutu Medycznego – Narodowego Instytutu Badawczego w Warszawie. Przyczyną włączenia do badania jedynie mężczyzn jest obserwacja, że hypogonadyzm związany z obniżonym stężeniem testosteronu jest jedną z przyczyn sarkopenii w PChN. Co więcej, hypogonadyzm w PChN nasila powikłania sercowo-naczyniowe. Kryteriami włączenia do badania będą: pisemna zgoda na udział w projekcie badawczym, wiek od 40 do 80 lat oraz PChN w stadium G4 z eGFR 15-29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Kryteriami wykluczającymi z badania będą: brak zgody na udział w badaniu, wiek poniżej 40 i powyżej 80 lat, eGFR < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> oraz eGFR  $\geq 30$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, kliniczne objawy infekcji, obecność w ciele części metalowych, wysiłek fizyczny i nadmierne spożycie alkoholu dzień przed badaniem.

Ryzyko sarkopenii będzie ocenione za pomocą zwalidowanej polskiej wersji Mini Kwestionariusza Oceny Ryzyka Sarkopenii (PL-MSRA-7) [38]. Całkowita liczba punktów  $\leq 30$  w PL-MSRA-7 wskazuje na ryzyko sarkopenii. Ocena siły mięśniowej zostanie wykonana za pomocą pomiaru siły ścisku dłoni z użyciem skalibrowanego dynamometru. Sarkopenia będzie oceniona jako prawdopodobna, gdy siła ścisku dłoni wynosić będzie < 27 kg. Masa mięśni szkieletowych będzie mierzona za pomocą analizy impedancji bioelektrycznej (BIA) przy użyciu monitora składu ciała *Body Composition Monitor* (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Niemcy). Pacjenci będą pozostawać w pozycji leżącej, a elektrody będą umieszczone w konfiguracji tetrapolarnej (na jednej ręce i jednej stopie). Masa mięśni szkieletowych zostanie obliczona przy użyciu równania BIA autorstwa Janssena i jego współpracowników: masa mięśni szkieletowych (kg) =  $([\text{wzrost}^2/\text{opór BIA} \times 0,401] + 3,825 - [\text{wiek} \times 0,071]) + 5,102$ , gdzie wzrost jest mierzony w centymetrach, opór jest mierzony w omach, wiek jest mierzony w latach [39]. Masa mięśni szkieletowych zostanie przedstawiona jako indeksowana do wzrostu (kg/m<sup>2</sup>). Obniżona masa mięśni szkieletowych zostanie rozpoznana, jeśli jej wartość indeksowana do wzrostu wyniesie < 7 kg/m<sup>2</sup>. Sarkopenia zostanie rozpoznana, gdy zarówno siła ścisku dłoni, jak i masa mięśni szkieletowych, będą poniżej normy. Wysokość i masa ciała zostaną zmierzone przy użyciu wagi medycznej.

eGFR zostanie obliczone z równania CKD EPI (2021):  $eGFR_{cr} = 142 \times \min(Scr/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Scr/\kappa, 1)^{-1,200}$  x 0,9938Wiek, gdzie: Scr = standaryzowane stężenie kreatyniny w surowicy w mg/dL,  $\kappa = 0,9$ ,  $\alpha = -0,302$ ,  $\min(Scr/\kappa, 1)$  oznacza mniejszą wartość Scr/ $\kappa$  lub 1,  $\max(Scr/\kappa, 1)$  oznacza większą z wartości Scr/ $\kappa$  lub 1, Wiek (lata) [40].

Wykonane zostanie badanie echokardiografii przezklatkowej przy użyciu sondy konweksowej współpracującej z aparatem ultrasonograficznym Logiq P6 (GE Healthcare, Seoul, Korea). Pomiary echokardiograficzne zostaną wykonane na podstawie wytycznych *European Association of Cardiovascular Imaging*.

Próbki krwi zostaną pobrane po okresie 12-godzinnego nocnego przebywania na czczo. Osoczowe stężenia testosteronu, kreatyniny, albuminy, glukozy, insuliny, hemoglobiny, całkowitego cholesterolu, zostaną zbadane w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Pomiary osoczowych stężeń mikroRNA, takich jak: miR-1, miR-133, miR-206 i miR-499 zostaną wykonane w Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego przy użyciu metody *real-time PCR*. Leptyna, miostatyna, IGF-1 i TNF- $\alpha$  będą badane za pomocą testów ELISA.

W grupach pacjentów z rozpozną sarkopenią i bez sarkopenii zostaną zastosowane statystyki opisowe. W zakresie zmiennych ciągłych do porównania między grupą badaną i grupą kontrolną zostanie wykorzystany test t-Studenta dla danych sparowanych lub test Wilcozona, w zależności od spełnienia założeń. Zmienne dychotomiczne zostaną porównane za pomocą testu McNemary i analizy Mantela-Heanszela dla danych sparowanych. W celu zbadania zależności między badanymi parametrami w grupie pacjentów z rozpozną sarkopenią zostanie przeprowadzona analiza korelacji z zastosowaniem współczynnika korelacji Pearsona lub Spearmana (w zależności od spełnienia założeń). Kryterium istotności statystycznej będzie miało wartość  $p < 0,05$ .

Uzyskane wyniki zostaną porównane pomiędzy grupami pacjentów z rozpozną sarkopenią i bez sarkopenii. Ponadto wyniki projektu dostarczą podstaw do przygotowania bardziej rozległych i ukierunkowanych badań naukowych z większą liczbą uczestników, w tym kobiet w różnych stadiach PChN, dotyczących nowych potencjalnych mechanizmów sarkopenii w PChN. Pomimo poszerzającej się wiedzy na temat przyczyn sarkopenii w PChN możliwości zapobiegania i leczenia utraty masy mięśniowej są wciąż niewystarczające. Dotychczas nie do końca wiadomo dlaczego pacjenci różnią się intensywnością utraty masy mięśniowej oraz dlaczego sarkopenia u jednych pacjentów z taką samą wartością eGFR jest obecna, a u innych nie. Wyniki badania być może przybliżą zrozumienie przyczyn sarkopenii w PChN. Ponadto, połączenie wiedzy kardiologicznej i nefrologicznej jest bardzo wartościowe dla poszukiwania przyczyn sarkopenii, ponieważ utrata masy mięśniowej w PChN wpływa na progresję niewydolności serca, ale również niewydolność serca, która jest częstym powikłaniem sercowo-naczyniowym w PChN, nasila sarkopenię.

Ograniczeniem niniejszego badania jest relatywnie mała wielkość próby, wybór pacjentów tylko jednej płci i tylko w zaawansowanym stadium niewydolności nerek oraz selekcja jedynie wybranych miRNA. Jednoczasowy plan badania (badanie przekrojowe) uniemożliwia śledzenie rozwoju sarkopenii u pacjentów początkowo z prawidłową masą i siłą mięśniową. W celu wyeliminowania powyższych ograniczeń na podstawie wyników obecnego badania, planowane jest jego powtórzenie na większej próbie i z udziałem kobiet, a także przeprowadzenie prospektywnych kohortowych około 3-letnich badań pacjentów w różnych, również mniej zaawansowanych stadiach niewydolności nerek. Badanie takie powinno zawierać 6-miesięczną ocenę parametrów ukierunkowanych na potencjalną rolę miRNA jako modulatorów stanu odżywienia, masy mięśniowej, siły mięśniowej, jak również progresji PChN. W przyszłości planowane jest rozszerzenie panelu miRNA na miRNA specyficzne dla tkanki serca, co umożliwiłoby poszukiwanie nowych związków pomiędzy sarkopenią i powikłaniami sercowo-naczyniowymi u pacjentów z PChN.

## Piśmiennictwo

1. Ammirati AM. Chronic Kidney Disease. *Rev. Assoc. Med. Bras*, 2020; 66, 3-9. doi: 10.1590/1806-9282.66.S1.3
2. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J. Nutr*, 1997; 127, 990-991. doi: 10.1093/jn/127.5.990S
3. Lynch GS. Therapies for improving muscle function in neuromuscular disorders. *Exerc. Sport Sci. Rev*, 2001; 29, 141-148. doi: 10.1097/00003677-200110000-00002
4. Pereira RA, Cordeiro AC, Avesani CM, Carrero JJ, Lindholm B, Amparo FC, Amodeo C, Cuppari L, Kamimura MA. Sarcopenia in chronic kidney disease on conservative therapy: prevalence and association with mortality. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2015; 30, 1718-1725. doi: 10.1093/ndt/gfv133
5. D'Alessandro C, Piccoli GB, Barsotti M, Tassi S, Giannese D, Morganti R, Cupisti A. Prevalence and Correlates of Sarcopenia among Elderly CKD Outpatients on Tertiary Care. *Nutrients*, 2018; 10, 1951. doi: 10.3390/nu10121951
6. Slee A, McKeaveney C, Adamson G, Davenport A, Farrington K, Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Mallett J, Maxwell AP, Mullan R, et al. Estimating the Prevalence of Muscle Wasting, Weakness, and Sarcopenia in Hemodialysis Patients. *J. Ren. Nutr*, 2020; 30, 313-321. doi: 10.1053/j.jrn.2019.09.004
7. Cruz-Jentoft AJ, Glistan B, Jrgen B, Yves B, Olivier B, Tommy C, Cyrus C, Francesco L, Yves R, Aihie SA, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*, 2019; 48, 16-31. doi: 10.1093/ageing/afy169
8. Wilkinson TJ, Miksza J, Yates T, Lightfoot CJ, Baker LA, Watson EL, Zaccardi F, Smith AC. Association of sarcopenia with mortality and end-stage renal disease in those with chronic kidney disease: a UK Biobank study. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2021; 12, 586-598. doi: 10.1002/jcsm.12705
9. Nixon AC, Bampouras TM, Pendleton N, Woywodt A, Mitra S, Dhaygude A. Frailty and chronic kidney disease: Current evidence and continuing uncertainties. *Clin. Kidney J*, 2017; 11, 236-245. doi: 10.1093/ckj/sfx134
10. Hanna RM, Ghobry L, Wassef O, Rhee CM, Kalantar-Zadeh KA. Practical Approach to Nutrition, Protein-Energy Wasting, Sarcopenia, and Cachexia in Patients with Chronic Kidney Disease. *Blood Purif*, 2020; 49, 202-211. doi: 10.1159/000504240

11. Carrero JJ, Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease--what have we learned in 10 years? *Semin. Dial.*, 2010; 23, 498-509. doi: 10.1111/j.1525-139X.2010.00784.x
12. Deger SM, Sundell MB, Siew ED, Egbert P, Ellis CD, Sha F, Izkizler TA, Hung AM. Insulin resistance and protein metabolism in chronic hemodialysis patients. *J. Ren. Nutr.*, 2013; 23, 59-66. doi: 10.1053/j.jrn.2012.08.013
13. Molina P, Carrero JJ, Bover J, Chauveau P, Mazzaferro S, Torres PU. Vitamin D, a modulator of musculoskeletal health in chronic kidney disease. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2017; 8, 686-701. doi: 10.1002/jcsm.12218
14. Rabkin R, Sun DF, Chen Y, Tan J, Schaefer F. Growth hormone resistance in uremia, a role for impaired JAK/STAT signaling. *Pediatr. Nephrol.*, 2005; 20, 313-318. doi: 10.1007/s00467-004-1713-8
15. Carrero JJ, Witasz P, Stenvinkel P, Qureshi AR, Heimbürger O, Bárány P, Suliman ME, Anderstam B, Lindholm B, Nordfors L, et al. Visfatin is increased in chronic kidney disease patients with poor appetite and correlates negatively with fasting serum amino acids and triglyceride levels. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2010; 25, 901-906. doi: 10.1093/ndt/gfp587
16. House AA, Wanner C, Sarnak M.J, Piña IL, McIntyre CW, Komenda P, Kasiske BL, Deswal A, DeFilippi CR, Cleland JGF, et al. Heart failure in chronic kidney disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference *Kidney Int.*, 2019; 95, 1304-1317. doi: 10.1016/j.kint.2019.02.022
17. Delafontaine P, Yoshida T. The renin-angiotensin system and the biology of skeletal muscle: mechanisms of muscle wasting in chronic disease states. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.*, 2016; 127, 245-258
18. Kara M, Kara Ö, Ceran Y, Kaymak B, Kaya TC, Çıtır BN, Durmuş ME, Durmuşoğlu, E, Razaq S, Doğan Y, et al. Sarcopenia Assessment in Hypertension: The SARA Study. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.*, 2023; 102, 130-136. doi: 10.1097/PHM.0000000000002045
19. Lee CT, Risom T, Strauss WM. Evolutionary conservation of microRNA regulatory circuits: an examination of microRNA gene complexity and conserved microRNA-target interactions through metazoan phylogeny. *DNA Cell Biol.*, 2007; 26, 209-218. doi: 10.1089/dna.2006.0545
20. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2014; 15, 509-524. doi: 10.1038/nrm3838
21. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004; 116, 281-297. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5
22. Srivastava S, Rathor R, Singh SN, Suryakumar G. Emerging role of MyomiRs as biomarkers and therapeutic targets in skeletal muscle diseases. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2021; 321, 859-875. doi: 10.1152/ajpcell.00057.2021
23. Ma G, Wang Y, Li Y, Cui L, Zhao Y, Zhao B, Li K. MiR-206, a key modulator of skeletal muscle development and disease. *Int. J. Biol. Sci.*, 2015; 11, 345-352. doi: 10.7150/ijbs.10921
24. Gonçalves TJM, Armand AS. Non-coding RNAs in skeletal muscle regeneration. *Noncoding RNA Res.*, 2017; 2, 56-67. doi: 10.1016/j.ncrna.2017.03.003
25. Liu N, Williams AH, Maxeiner JM, Bezprozvannaya S, Shelton JM, Richardson JA, Bassel-Duby R, Olson EN. miRNA-206 promotes skeletal muscle regeneration and delays progression of Duchenne muscular dystrophy in mice. *J. Clin. Invest.*, 2012; 122, 2054-2065. doi: 10.1172/JCI62656
26. Sabatino A, Cuppari L, Stenvinkel P, Lindholm P, Avesani CM. Sarcopenia in chronic kidney disease: what have we learned so far? *J. Nephrol.*, 2021; 34, 1347-1372. doi: 10.1007/s40620-020-00840-y
27. Molfino A, Chiappini MG, Laviano A, Ammann T, Bollea MR, Alegiani F, Rossi Fanelli F, Muscaritoli M. Effect of intensive nutritional counseling and support on clinical outcomes of hemodialysis patients. *Nutrition*, 2012; 28, 1012-1015. doi.org/10.1016/j.nut.2012.01.008
28. Ibrahim K, May C, Patel HP, Baxter M, Sayer AA, Roberts H. A feasibility study of implementing grip strength measurement into routine hospital practice (GRIMP): study protocol. *Pilot Feasibility Stud.*, 2016; 2:27. doi: 10.1186/s40814-016-0067-x
29. Beaudart C, McCloskey E, Bruyere O, Cesari M, Rolland Y, Rizzoli R, Araujo de Carvalho I, Thiyagarajan JA, Bautmans I, Bertière MC, et al. Sarcopenia in daily practice: assessment and management. *BMC Geriatr.*, 2016; 16:170. doi: 10.1186/s12877-016-0349-4
30. Dodds RM, Syddall HE, Cooper R, Benzeval M, Deary IJ, Dennison EM, Der G, Gale CR, Inskip HM, Jagger C, et al. Grip strength across the life course: normative data from twelve British studies. *PLoS One*, 2014; 9:e113637. doi: 10.1371/journal.pone.0113637
31. Kim KM, Jang HC, Lim S. Differences among skeletal muscle mass indices derived from height-, weight-, and body mass index-adjusted models in assessing sarcopenia. *Korean J. Intern. Med.*, 2016; 31, 643-650. doi: 10.3904/kjim.2016.015
32. Abellan van Kan G, Rolland Y, Andrieu S, Bauer J, Beuchet O, Bonnefoy M, Cesari M, Donini LM, Guyonnet SG, Inzitari M, et al. Gait speed at usual pace as a predictor of adverse outcomes in community-dwelling older people: an International Academy on Nutrition and Aging (IANA) Task Force. *J. Nutr. Health Aging*, 2009; 13, 881-889. doi: 10.1007/s12603-009-0246-z
33. Kon SS, Patel MS, Canavan JL, Clark AL, Jones SE, Nolan CM, Cullinan P, Polkey MI, Man WD. Reliability and validity of 4-metre gait speed in COPD. *Eur. Respir. J.*, 2013; 42, 333-340. doi: 10.1183/09031936.00162712
34. Nishikawa H, Asai A, Fukunishi S, Takeuchi T, Goto M, Ogura T, Nakamura S, Kakimoto, K, Miyazaki, T, Nishiguchi S, et al. Screening Tools for Sarcopenia. *In Vivo* 2021, 35, 3001-3009. doi: 10.21873/in vivo.12595
35. Björkman M, Jyväkorpi SK, Strandberg TE, Pitkälä KH, Tilvis RS. Sarcopenia Indicators as Predictors of Functional Decline and Need for Care among Older People. *J. Nutr. Health Aging*, 2019; 23, 916-922. doi: 10.1007/s12603-019-1280-0
36. Kim S, Kim M, Won CW. Validation of the Korean version of the SARC-F questionnaire to assess sarcopenia: Korean frailty and aging cohort study. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2018; 19, 40-45. doi: 10.1016/j.jamda.2017.07.006
37. Malmstrom TK, Morley J.E. SARC-F: a simple questionnaire to rapidly diagnose sarcopenia. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2013; 14, 531-532. doi: 10.1016/j.jamda.2013.05.018
38. Krzywińska-Siemaszko R, Deskur-Śmielecka E, Styszyński A, Wieczorowska-Tobis, K. Polish Translation and Validation of the Mini Sarcopenia Risk Assessment (MSRA) Questionnaire to Assess Nutritional and Non-Nutritional Risk Factors of Sarcopenia in Older Adults. *Nutrients*, 2021; 13:1061. doi: 10.3390/nu13041061
39. Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical

- 
- impedance analysis. *J. Appl. Physiol.* (1985) 2000; 89, 465-471. doi: 10.1152/jappl.2000.89.2.465
40. Delgado C, Baweja M, Crews DC, Eneanya ND, Gadegbeku CA, Inker LA, Mendu ML, Miller WG, Moxey-Mims MM, Roberts GV, et al. A Unifying Approach for GFR Estimation: Recommendations of the NKF-ASN Task Force on Reassessing the Inclusion of Race in Diagnosing Kidney Disease. *Am. J. Kidney Dis.* 2022; 79, 268-288. doi: 10.1053/j.ajkd.2021.08.003