

На правах рукописи

МИЛОВАНОВА ЛЮДМИЛА ЮРЬЕВНА

**ОЦЕНКА КАРДИОВАСКУЛЯРНОГО РИСКА У БОЛЬНЫХ ХБП
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ (FGF-23, sKLOTНО) И
ГЛИКОПРОТЕИНА СКЛЕРОСТИНА; ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ
КАРДИОНЕФРОПРОТЕКТИВНОЙ СТРАТЕГИИ**

14.01.04 - внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Москва 2017

Работа выполнена на кафедре внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

Фомин Виктор Викторович

Официальные оппоненты:

Профессор кафедры внутренних болезней
ФГБОУ ДПО Института повышения
квалификации федерального медико-
биологического агентства,
доктор медицинских наук, профессор

Федосеев Анатолий Николаевич

Заведующий кафедрой нефрологии и гемодиализа
ФГБОУ ДПО Российской медицинской академии
непрерывного профессионального образования
Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор,

Ермоленко Валентин Михайлович

Профессор кафедры трансплантологии, нефрологии
и искусственных органов ФУВ ГБУЗ МО
«МОНИКИ» им. М.Ф. Владимирского
доктор медицинских наук, профессор

Ветчинникова Ольга Николаевна

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский Государственный Медико-стоматологический Университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России (127473, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1)

Защита состоится « 28 » сентября 2017 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.18 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (117292, Москва, ул. Вавилова, д. 61).

С диссертацией можно ознакомиться в УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский Университет Дружбы народов» (117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6)

Автореферат разослан « ___ » _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 212.203.18
доктор медицинских наук, профессор

Киякбаев Г. К.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Среди актуальных задач внутренней медицины, ведущее место по-прежнему занимают профилактика и лечение сердечно-сосудистых заболеваний, которые составляют основную причину смерти среди населения [McCullough P.A. et al., 2012; Alani H. et al., 2016]. В этом отношении Хроническая болезнь почек (ХБП) как одно из распространенных популяционных заболеваний, имеющих не только общемедицинское, но и социально-экономическое значение, привлекает пристальное внимание исследователей с точки зрения частоты сердечно-сосудистых осложнений (ССО). По данным Foley R. и нашим собственным данным, летальность от ССО среди больных с ХБП в 10 раз, а среди лиц молодого возраста в 100 и более раз выше, чем в общей популяции [Foley R. et al., 2005; Милованова Л.Ю., 2010].

Ремоделирование миокарда сердца и кальцификация артериальных сосудов лежат в основе развития ССО при ХБП, являясь мощными независимыми факторами риска смерти больных [Wright J., 2009; Garland J.S., 2016].

Понимание основных механизмов, ведущих к артериальной кальцификации и гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) при ХБП важно для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на снижение ССО, уменьшение экономических затрат на заместительную почечную терапию (ЗПТ), госпитальное лечение и в целом на увеличение общей выживаемости больных ХБП.

Поиск возможных ранних маркеров развития ССО у больных ХБП обусловил интерес к изучению идентифицированных в последние годы факторов - морфогенетических белков - фактору роста фибробластов-23 (FGF-23) и Klotho (sКлото), которые изучались первоначально только с точки зрения их участия в регуляции костно-минерального обмена при ХБП [Imura A., 2007; Мое S.M., 2008]. К настоящему времени стала понятной более широкая функциональная роль FGF-23 и sКлото, в том числе как гуморальных факторов,

вовлеченных в процессы ремоделирования сердца и артериальных сосудов при ХБП [Gutiérrez O. M., 2009; Hu M.C., 2013]. Кроме того, недавно открытый гликопротеин склеростин, секретируемый остеоцитами, стали оценивать, наряду с FGF-23 и sKlotho, как возможного участника внескостной кальцификации, включая сердце и артерии при ХБП [Brandenburg VM., 2015].

В то же время, большинство исследований, посвященных проблеме сердечно-сосудистого ремоделирования и кальцификации при ХБП, с позиции роли в этом процессе морфогенетических белков и склеростина, было проведено преимущественно в эксперименте, в клинических условиях - главным образом на диализной популяции больных. У больных с додиализными стадиями ХБП эта проблема наименее изучена.

Цель исследования

Установить значение изменений сывороточного уровня морфогенетических белков (FGF-23, sKlotho) и функционально тесно связанного с ними гликопротеина склеростина для оценки почечного и кардиального прогноза и эффективности кардио-нефропротективной стратегии при ХБП.

Задачи исследования

У больных ХБП 1 – 5Д стадий:

1. Определить роль морфогенетических белков – FGF-23, sKlotho, и гликопротеина склеростина среди традиционно изучаемых регуляторов минерально-костного обмена - паратиреоидного гормона (ПТГ), неорганического фосфора и кальция, возможность использования морфогенетических белков и склеростина в качестве ранних диагностических маркеров костно-минеральных нарушений и риска развития вторичного гиперпаратиреоза (ВГПТ).

2. Изучить связь изменений в системе морфогенетических белков - FGF-23, sKlotho и гликопротеина склеростина с формированием ремоделирования сердца и артериальных сосудов [выраженностью ГЛЖ, увеличением индексов аугментации (ригидности) артериальных сосудов, скорости пульсовой волны, кальцинозом клапанов сердца и магистральных артерий - брюшной аорты (по методу Каурпила)].
3. У больных без клинической манифестации острого инфаркта миокарда (ОИМ) и острого коронарного синдрома (ОКС) оценить возможное прямое влияние повышения в сыворотке крови уровня FGF-23 на морфофункциональные показатели миокарда (ИММЛЖ, субэндокардиальный кровоток, уровень тропонина I).
4. Уточнить характер изменений сывороточных показателей FGF-23, sKlotho и склеростина у больных, получающих терапию различными видами диализа (гемодиализ, гемодиализация), возможность использования этих показателей для мониторинга эффективности диализной терапии и ранней диагностики развития осложнений (ВГПТ, белково-энергетическая недостаточность (БЭН), МІА- синдрома и др.).
5. Установить возможность практического использования определения в сыворотке крови FGF-23, sKlotho и склеростина для оценки прогноза ХБП и совершенствования персонализированного подхода к выбору кардионефропротективной терапии с учетом стадии ХБП; определить влияние на изменение соотношения FGF-23/sKlotho/склеростин ингибиторов АПФ, сартанов, фосфатбиндеров, препаратов эпоэтина и железа, малобелковой диеты (МБД), дополненной кетоаналогами аминокислот.

Научная новизна

Впервые в России осуществлена клиническая разработка нового научного направления в области нефрологии и внутренней медицины в целом: на основе

изучения достаточного клинического материала – у 130 больных ХБП 1-5Д стадий, определено значение морфогенетических белков (FGF-23 и Klotho) и склеростина как неотъемлемой части общей системы регуляции костно-минерального обмена и факторов риска ССО при ХБП. Обнаружено, что повышение FGF-23 и склеростина и снижение Klotho в сыворотке крови у больных ХБП выявляются раньше, чем изменение традиционных маркеров нарушения костно-минерального обмена и создают предпосылки для возникновения сердечно-сосудистых и других осложнений ХБП.

Обнаружена статистически значимая связь снижения сывороточного уровня sKlotho с повышением АД, частотой выявления кальцификации магистральных артерий и сердца, анемии, белково-энергетической недостаточности, наиболее сильная в группе пациентов, которым не удалось достичь адекватной коррекции уровня АД, анемии, БЭН. Выявлена прямая корреляция повышения сывороточного уровня FGF-23 с выраженностью ремоделирования ЛЖ, в том числе подтверждено прямое токсическое влияние FGF-23 на миокард, проявляющееся повышением уровня тропонина I в сыворотке крови. Впервые в отечественной и зарубежной клинической практике определено значение оценки динамики изменений сывороточных показателей морфогенетических белков и гликопротеина склеростина в качестве маркеров эффективности нефрокардиопротективного действия ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) и сартанов, назначаемых в сочетании со стимуляторами эритропоэза (эритропоэтины и железо), фосфатсвязывающими препаратами, малобелковой диетой и кето/аминокислотами (КА).

Практическая значимость

В результате проведенного исследования подтверждена целесообразность применения сывороточных показателей FGF-23, Klotho и склеростина в качестве более ранних маркеров минерально-костных нарушений и

формирования ВГПТ, чем традиционно используемые показатели – гиперфосфатемия и повышение ПТГ.

Определены новые подходы к оценке кардиоренальных взаимоотношений у больных ХБП. Показано, что снижение сывороточного уровня sKlotho является фактором высокого риска кальциноза сердца и магистральных артерий; повышение уровня FGF-23 – предиктором развития ГЛЖ. По результатам многофакторного анализа, повышение сывороточного уровня склеростина может расцениваться как фактор, противодействующий процессам кальцификации сердца и артериальных сосудов (протективный фактор).

Обоснована целесообразность применения сывороточных показателей FGF-23, sKlotho и склеростина в качестве ранних диагностических маркеров костно-минеральных нарушений и в целом для оценки прогноза ХБП. Установлена информативность этих показателей для мониторинга результатов проводимой кардионепротективной терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. Морфогенетические белки и гликопротеин склеростин являются неотъемлемой частью общей системы регуляции костно-минерального обмена; их изменения - повышение сывороточного уровня FGF-23, склеростина и снижение sKlotho, выявляются уже в начальной (3А) стадии ХБП, предшествуя развитию гиперфосфатемии и повышению уровня ПТГ, и могут оцениваться как ранние биомаркеры костно-минеральных нарушений у больных ХБП.

2. Нарушения функции морфогенетических белков и склеростина прогрессируют по мере нарастания почечной недостаточности, приводят к развитию ВГПТ и одновременно создают предпосылки для возникновения ССО, БЭН, анемии, железодефицита и воспаления, что необходимо учитывать при разработке общей стратегии мер по коррекции нарушений костно-минерального обмена и минимизации сердечно-сосудистого риска при ХБП.

3. Снижение сывороточного уровня sKlotho по мере прогрессирования ХБП коррелирует с выраженностью АГ, увеличением ИММЛЖ и степенью кальцификации сердца и артерий. Повышение в сыворотке уровня FGF-23 у больных ХБП оказывает прямое, независимое от уровня АД, токсическое влияние на миокард с увеличением уровня тропонина I. Эти нарушения могут служить маркером формирования ремоделирования сердца и сосудов. Более низкий уровень склеростина по мере прогрессирования ХБП является фактором риска кальцификации сердца и артериальных сосудов.

4. Кардионефропротективная терапия у больных ХБП при использовании иАПФ и сартанов ассоциируется с более высоким сывороточным уровнем sKlotho и менее выраженным кальцинозом сердца и сосудов, чем при использовании других антигипертензивных препаратов. Сочетание иАПФ и сартанов со стимуляторами эритропоэза (эпоэтин + железо), фосфатбиндерами (некальцийсодержащими – севеламера гидрохлорид), малобелковой диетой с добавлением кетоаналогов аминокислот позволяет добиться еще более стабильного оптимального соотношения FGF-23/Klotho/склеростин и эффективного уменьшения сердечно-сосудистого риска. Выявленные закономерности подтверждают роль морфогенетических белков и в первую очередь – сохранной продукции sKlotho, в торможении процессов ремоделирования сердца и артериальных сосудов и механизмах реализации эффектов кардионефропротективных препаратов.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования используются в практической работе отделений нефрологии и «искусственная почка» клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева, в лекционном курсе и практических занятиях со студентами и курсантами кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, кафедры фундаментальной медицины МГМУ. Результаты работы включены в руководства для врачей по лечению

минерально-костных и нутритивных нарушений при ХБП (издательская группа «ГЕОТАР-медиа» 2016, 2017гг, анемий («ГЕОТАР-медиа» 2016), клинические рекомендации по ведению больных ХБП (изданы Минздравом России в 2016 г.)

Апробация работы

Апробация работы проведена на совместном заседании кафедры нефрологии и гемодиализа, кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии и отдела нефрологии НИЦ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России 24 июня 2016 г., протокол № 11.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 47 печатных работ, в том числе 33 – в журналах, рецензируемых ВАК. Результаты работы доложены на:

- Заседание рабочей группы CKD-MBD - 2nd Workshop of CKD-MBD, Milan, December 5, 2014
- IX Russian Dialysis Society Conference «Renal Week 2015», September 15-19, St. Petersburg, Russia (награда за лучший доклад)
- Заседание рабочей группы CKD-MBD – 3rd Workshop of CKD-MBD, Milan, December 5, 2015
- ERA-EDTA working group on CKD-MBD: Symposium: The bone in Chronic Kidney disease, September 23, 2016, Amsterdam
- Юбилейный XX Форуме "Национальные дни лабораторной медицины России - 2016" (14-16 сентября 2016 г., Москва, СК "Олимпийский"
- Общероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Консолидация лабораторной медицины и клинической практики: диагностические инновации, лабораторная индустрия»)
- Общероссийская научно-практическая конференция «Дни Нефрологии в Москве - 2016»
- Научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 55-летию медицинского факультета РУДН, октябрь 2016, Москва (основная награда конференции)
- XIII Всероссийский конгресс с международным участием «Артериальная гипертензия 2017», Уфа, март 2017
- 53rd Congress ERA-EDTA (European Renal Association – European Dialysis Transplant Association), Vienna, Austria, May 21-24, 2016
- CKD-MBD working group at 54th ERA-EDTA Congress, Madrid, Spain, June 3, 2017
- 54 Congress ERA-EDTA, Madrid, Spain, June 3-6, 2017

Личный вклад автора

Автором лично проведены планирование работы, поиск и анализ литературы по теме диссертации, набор пациентов, клиническое обследование больных, формирование базы данных, статистическая обработка, обобщение и анализ полученных результатов. Автором освоены методики определения морфогенетических белков (FGF-23, Klotho) и гликопротеина склеростина в сыворотке крови методом ELISA. Автор непосредственно участвовал во всех этапах исследования от постановки задач, их теоретической и практической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и внедрения в практику.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.04 – «внутренние болезни». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пунктам 2, 4, 6 и 11 паспорта внутренние болезни.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 155 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, выводов, библиографии, включающей 155 отечественных и зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 37 таблицами и 50 рисунками.

База проведения исследования

Работа выполнена на кафедре внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии (зав. кафедрой – академик РАН, профессор Мухин Н.А.) в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева.

Исследование поддержано грантом РНФ (№14-15-00947 2014).

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

1. Характеристика больных

В исследование включены 130 пациентов ХБП 1-5Д ст., наблюдавшихся в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева - УКБ № 3 (период наблюдения - март 2014 – апрель 2015 гг.); и 40 здоровых добровольцев (контрольная группа), сопоставимых по возрасту и полу с основной группой.

Вид основного исследования - когортный, проспективный.

В основное исследование были включены пациенты - мужчины и женщины в возрасте 18-65 лет, с диагнозом, отвечающим критериям «ХБП», принятым KDIGO (2009, 2012) и Национальными рекомендациями 2010 г; при отсутствии на момент забора проб крови и за полгода до начала наблюдения активности основного заболевания, требующего лечения глюкокортикостероидами и цитостатиками; тяжелых инфекционных осложнений; тяжелой артериальной гипертензии (АД более 180 и 100 мм рт ст.); инфарктов миокарда, ОКС, мозговых инсультов, ХСН III-IV ФК (NYHA); онкологических и системных заболеваний, сахарного диабета и беременности.

Стадии ХБП определяли по критериям KDIGO (2009, 2012) на основании СКФ, рассчитанной по уравнению СКД EPI.

Причинами ХБП у обследованных больных были: у 35 – хронический гломерулонефрит (гематурический, латентный), у 38 – тубулоинтерстициальный нефрит (лекарственной, подагрической этиологии), у 30 – поликистоз почек, у 28 – гипертензивный нефросклероз [рис. 1а] - всего 67 мужчин и 63 женщины, средний возраст больных на момент включения в исследование составил $41 \pm 6,7$ лет. Распределение больных по возрасту, полу и стадиям ХБП было примерно одинаковым (17-20 человек в группе) [рис. 1б].

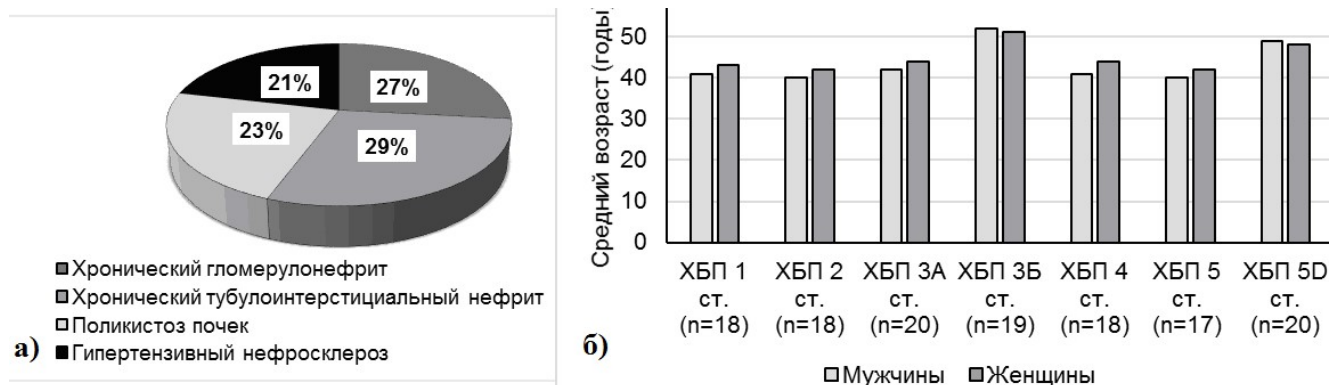


Рис. 1 а. Нозологические формы поражения почек у обследованных больных; б. Распределение больных по стадиям ХБП, возрасту и полу

2. Специальные методы исследования

У всех больных помимо общеклинического обследования, определяли традиционные показатели фосфорно-кальциевого обмена (ПТГ, кальций, фосфор, щелочная фосфатаза) в крови, величину суточной экскреции фосфора и кальция с мочой; исследовали уровень С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, ферритина. У всех больных измеряли уровень АД, в том числе и центрального (аортальное), скорость пульсовой волны (СПВ), индексы аугментации (ригидности) сосудов, показатель субэндокардиального кровотока - с помощью прибора «SphygmoCor» (Австралия); выполняли ЭКГ, ЭхоКГ, рентгенографию брюшной аорты в боковой проекции по методу Каурпила (для оценки степени кальцификации аорты), биоимпедансометрию (для оценки мышечной и жировой массы тела, индекса массы тела) с помощью прибора «OMRON» (USA). Всем больным исследовали сывороточный уровень FGF-23, sKlotho, склеростина и тропонина I - с использованием наборов ELISA kit, оценивали влияние на сывороточные уровни изучаемых маркеров препаратов, применяемых для нефропротекции.

3. Статистические методы анализа.

Для оценки характеристик исследуемых групп пациентов во время скрининга и на момент конца исследования были использованы стандартные описательные методы статистики с вычислением средних значений, частоты $n(\%)$ или медиан и квартилей с определением статистически значимых

различий для тренда. Для оценки статистически значимых различий между двумя группами использовали критерий χ^2 (для качественных переменных) и U-тест Манна-Уитни (для количественных переменных). Наличие значимых связей между переменными определяли при помощи коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена. Для проведения однофакторного и многофакторного анализа использовался метод логистической регрессии. Для всех расчетов значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми. Статистический анализ был выполнен с использованием программного обеспечения SPSS версии 21.0 (Чикаго, Иллинойс, США).

Результаты исследования и их обсуждение

1. Сывороточный уровень FGF-23, sKlotho и склеростина у больных с разными стадиями ХБП

Сывороточный уровень FGF-23, sKlotho и склеростина различался у обследованных больных в зависимости от стадии ХБП. По мере прогрессирования почечной недостаточности от 3-й к 5 стадии отмечено постепенное нарастание сывороточных показателей FGF-23, склеростина и снижение - sKlotho. Наиболее выраженные изменения отмечены у больных на гемодиализе (рис. 2).

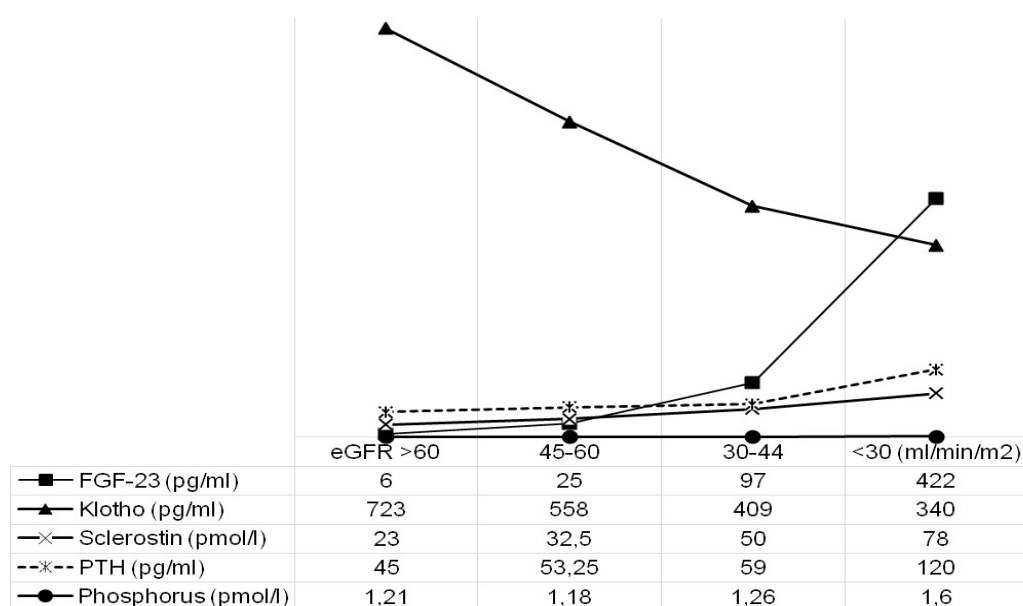


Рис. 2. Изменение сывороточного уровня FGF-23, sKlotho, склеростина, ПТГ и фосфора в зависимости от стадии ХБП

При этом, нарастание уровня FGF-23, склеростина и снижение sKlotho по мере падения СКФ опережало повышение сывороточного уровня фосфора и ПТГ, начинаясь уже с 3А стадии ХБП, в то время как гиперфосфатемия и повышение ПТГ - с 4-5 стадий ХБП (рис. 2).

На основании полученных данных, можно считать сывороточные показатели FGF-23, sKlotho и склеростина *более ранними маркерами развивающихся при ХБП минерально-костных нарушений*, чем показатели фосфора и ПТГ.

2. Связь сывороточного уровня FGF-23, Klotho и склеростина с уровнем артериального давления (АД) и индексом массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) у больных ХБП

Мы оценили связь изучаемых факторов с уровнем АД (периферического и центрального – по данным сфигмографии) - как одного из ведущих факторов риска ССО при ХБП: наиболее сильная связь – обратная, отмечена между центральным систолическим (ЦсАД) и диастолическим (ЦдАД) и сывороточным уровнем Klotho (соответственно, $r = -0,684$, $p < 0,001$; $r = -0,528$, $p < 0,001$). При этом у пациентов, которым проводили медикаментозную коррекцию АД с достижением целевого уровня ($n=96$) ЦАД ($< 130/90$ мм рт ст), к концу наблюдения выявлены более высокие показатели sKlotho ($p < 0,01$) и меньшая степень увеличения ИММЛЖ ($p < 0,01$), чем у тех больных ($n=21$), которым адекватной коррекции уровня ЦАД достигнуть не удалось (рис. 3а, б).

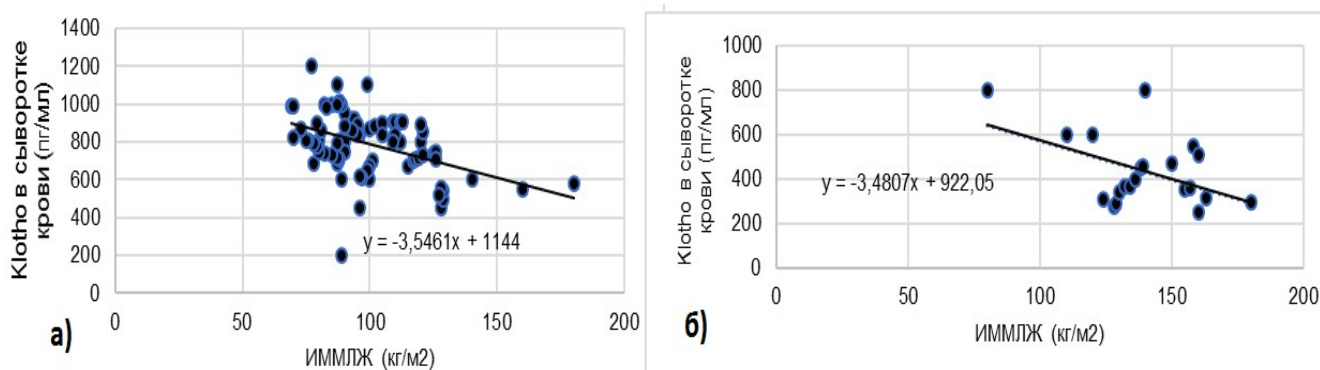


Рис. 3. Связь уровня sKlotho с ИММЛЖ у пациентов ХБП а) с достигнутым целевым уровнем АД (ЦАД<math>< 130/90</math> мм рт. ст., $n=96$, ($r = -0,447$; $p < 0,05$); б) с

недостигнутым целевым уровнем АД (ЦАД \geq 130/90 мм рт. ст.), n=21, (r = -0,652; p < 0,001)

По данным корреляционного анализа, между уровнем Склеростина в сыворотке, величиной ЦсАД и ИММЛЖ установлена прямая связь: (соответственно r=0,449; p=0,049; r = 0,549; p=0,05), (рис. 4а, б).

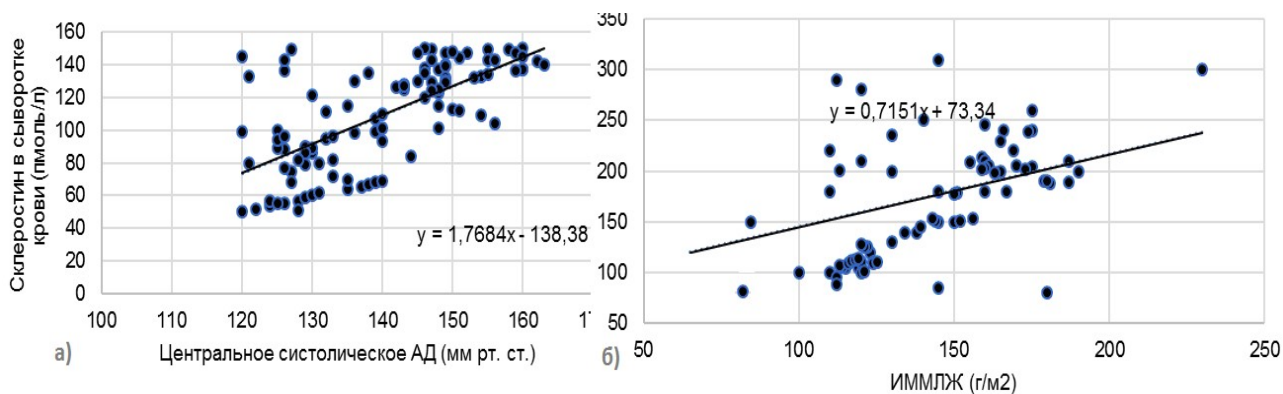


Рис. 4. Связь сывороточного уровня склеростина а) с ЦсАД (r=0,449; p=0,049); б) с ИММЛЖ (r = 0,549; p=0,05) у пациентов ХБП, n=130.

В то же время связь повышенного уровня FGF-23 в сыворотке крови с увеличением ИММЛЖ не зависела от показателей ЦАД (рис. 5а, б).

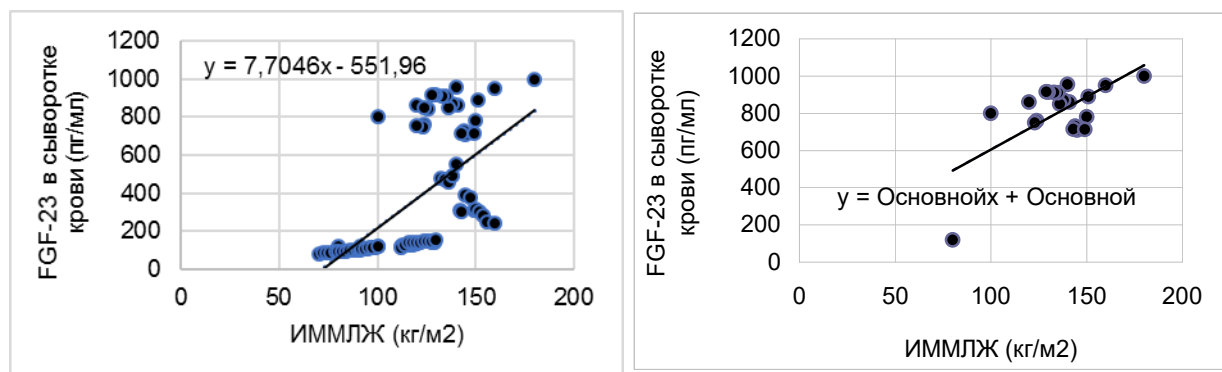


Рис. 5. Связь сывороточного уровня FGF-23 с ИММЛЖ у пациентов ХБП а) с достигнутым целевым уровнем АД [ЦАД <130/90 мм рт. ст., (r=0,514; p<0,05); n=96]; б) с недостигнутым целевым уровнем АД [ЦАД \geq 130/90мм рт. ст., (r=0,634; p<0,01; n=21)]

Сходные взаимоотношения были отмечены и для периферического АД.

Для уточнения независимых взаимосвязей изучаемых маркеров с ИММЛЖ мы провели многофакторный анализ (табл.1).

Таблица 1. Данные однофакторного и многофакторного логистического регрессионного анализа влияния изучаемых сывороточных биомаркеров на риск увеличения ИММЛЖ

Показатель	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	beta	p	beta	p
sKlotho (пг/мл)	- 0,037	<0,01	- 0,052	0,057
logFGF-23 (пг/мл)	2,436	<0,001	3,576	<0,01
склеростин (пмоль/л)	0,023	<0,01	- 0,017	0,173

Таким образом, у больных ХБП связь увеличения ИММЛЖ со снижением уровня sKlotho и более низкими значениями склеростина, по-видимому, опосредуется через уровень АД, в то время как связь ИММЛЖ с сывороточным уровнем FGF-23 не зависит от величины АД и имеет прямой характер. При этом обращало на себя внимание изменение знака у показателя beta для склеростина с «плюса» в однофакторном анализе на «минус» в многофакторном анализе, что может свидетельствовать скорее о протективной, чем негативной роли склеростина в ремоделировании сердца при ХБП.

При оценке характера ремоделирования сердца и изменения сывороточного уровня изучаемых биомаркеров было выявлено, что у больных с ранними стадиями ХБП (1-3А ст.) снижение сывороточного уровня sKlotho было ассоциировано с развитием ГЛЖ концентрического типа ($p < 0,05$), особенно при недостаточной коррекции АГ (рис. 6 а). При прогрессировании ХБП снижение уровня Klotho и повышение FGF-23 было ассоциировано с эксцентрическим типом ГЛЖ и формированием дилатационной КМП (рис. 6 б).

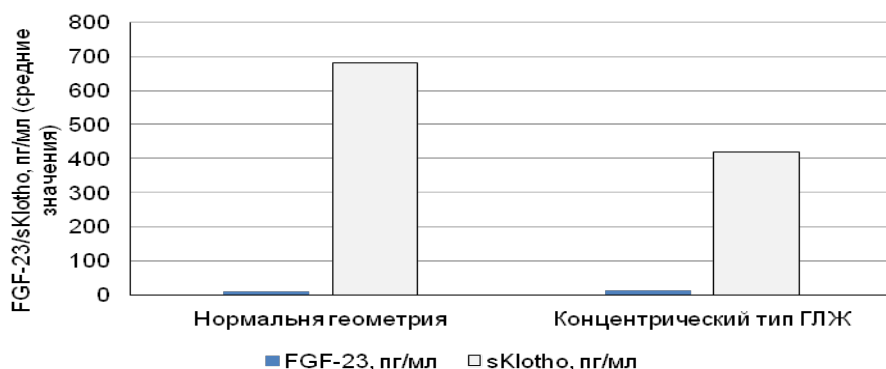


Рис. 6. а) связь изменения сывороточного уровня FGF-23 и Klotho с ремоделированием сердца у больных ХБП 1-3А ст. (n=56)

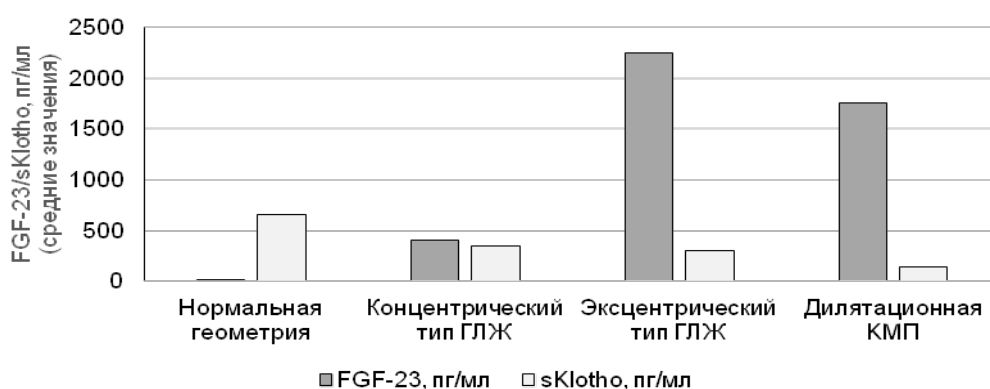


Рис. 6. б) связь изменения сывороточного уровня FGF-23 и Klotho с ремоделированием сердца у больных ХБП 1-5Д ст. (n=130)

Для уточнения механизмов повреждения кардиомиоцитов, нами изучена связь FGF-23, Klotho и склеростина с сывороточным уровнем тропонина I. Подтверждено умеренное повышение сывороточного уровня тропонина I по мере нарастания стадии ХБП у обследованных пациентов, без клинической манифестации ОКС и ОИМ (рис. 7).

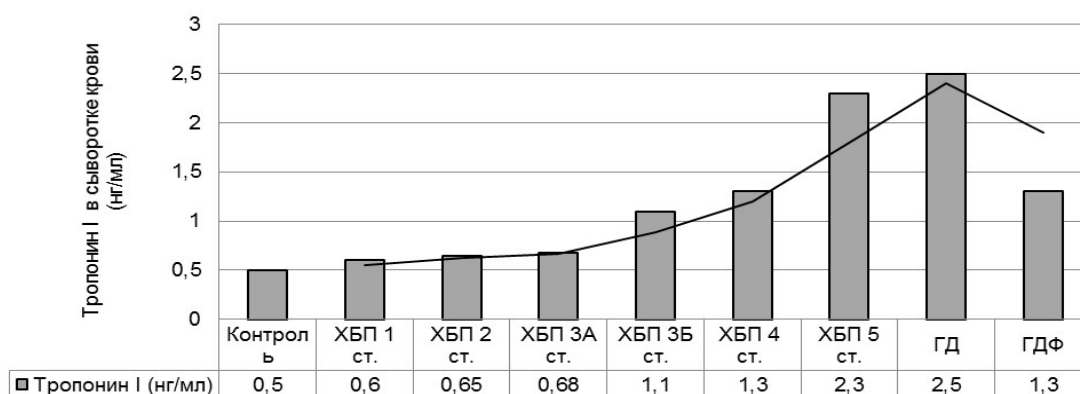


Рис. 7. Динамика уровня тропонина I в сыворотке крови больных ХБП в зависимости от стадии ХБП

При проведении корреляционного анализа, из всех изученных биомаркеров повышение сывороточного уровня тропонина I достоверно коррелировало лишь с увеличением сывороточного уровня FGF-23 (прямая связь), табл.2.

Таблица 2. Корреляционные связи между уровнем FGF-23, sKlotho, склеростина и уровнем тропонина I в сыворотке крови у больных ХБП

Показатель	FGF-23	sKlotho	склеростин
Тропонин I	r=0,612; p<0,01	r= - 438; p=0,062	r= - 0,364; p=0,081

В пользу независимого влияния FGF-23 на риск развития ГЛЖ у больных ХБП свидетельствуют и данные проведенного нами ROC-анализа (рис. 8). На основании построенных ROC кривых, значение сывороточного уровня FGF-23 более 412 пг/мл с чувствительностью 80% и специфичностью 86% (площадь под кривой (AUC) - 0,86) предсказывает развитие ГЛЖ, в то время как уровень фосфора 1,7 ммоль/л и выше в сыворотке крови, уровень ПТГ 150 пг/дл и выше и уровень ЦсАД 130 мм рт. ст. и выше имели меньшую прогностическую ценность (соответственно AUC= 0,68; AUC=0,76 и AUC= 0,83) у обследованных больных (рис. 8).

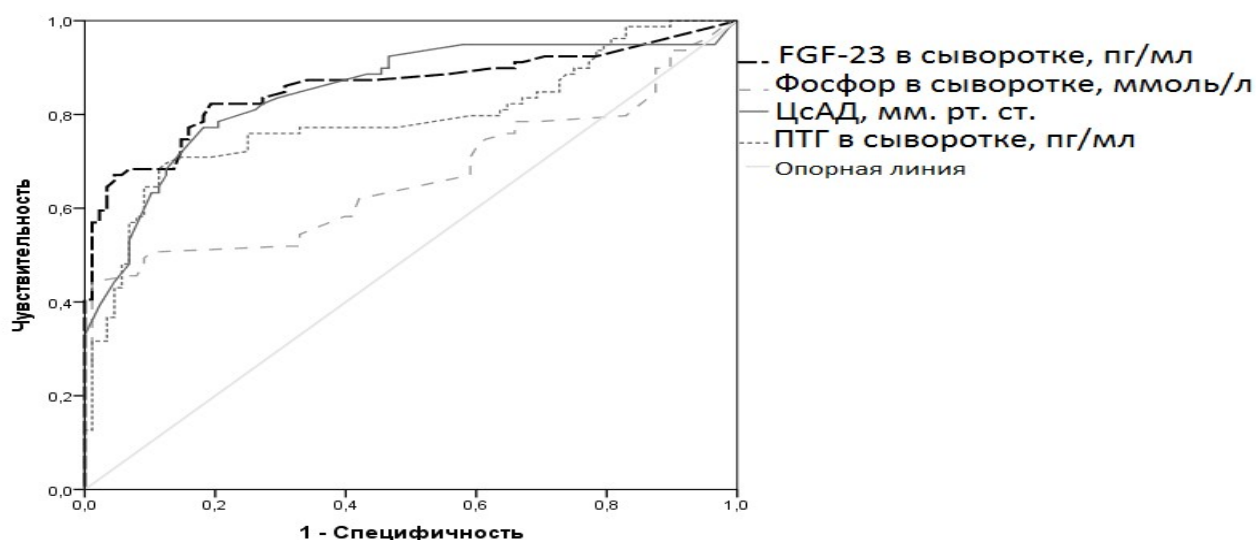


Рис. 8. Прогностическое значение повышения сывороточного уровня FGF-23, фосфора, ПТГ и уровня ЦсАД - как факторов риска увеличения ИММЛЖ у больных ХБП 3-5Д стадий (результаты ROC анализа)

3. Связь сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина с кальцификацией сердца и сосудов

Для уточнения роли морфогенетических белков и склеростина в механизмах кальцификации сердца и сосудов - как важной составляющей поражения сердечно-сосудистой системы при ХБП, мы изучили взаимосвязь сывороточного уровня этих белков с жесткостью артериальных сосудов и выраженностью кальциноза сердца и сосудов.

По данным корреляционного анализа, установлена значимая связь снижения сывороточного уровня sKlotho ($r = -0,647$; $p < 0,01$) с увеличением СПВ (>10 м/с) – интегрального показателя жесткости сосудистой стенки (рис. 9).

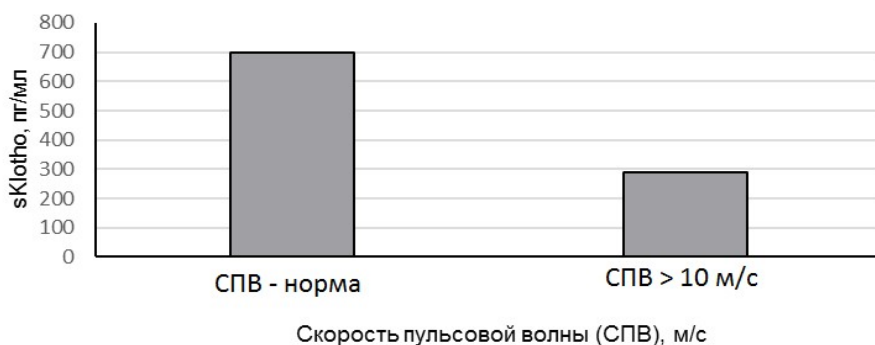


Рис. 9. Связь снижения уровня sKlotho в сыворотке крови со СПВ у больных ХБП

Наряду с этим, установлена связь снижения уровня sKlotho ($r = -0,612$; $p < 0,01$) со степенью кальциноза клапанов сердца (рис.10) по данным ЭХО-КГ (полуколичественная балльная шкала).

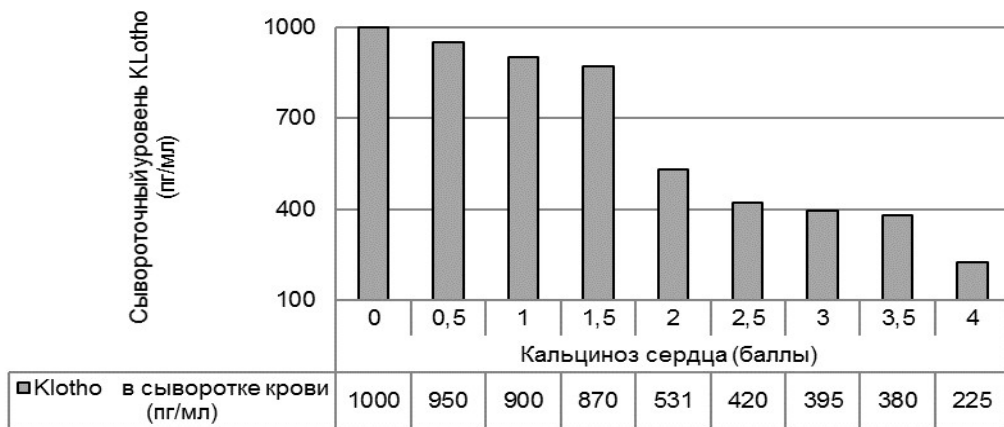


Рис. 10. Связь снижения сывороточного уровня Klotho с кальцинозом клапанов сердца у больных ХБП (по данным ЭХО-КГ)

Сходные взаимоотношения были выявлены также между степенью кальцификации брюшной аорты и снижения сывороточного уровня Klotho ($r = -0,715$; $p < 0,001$), (рис. 11).

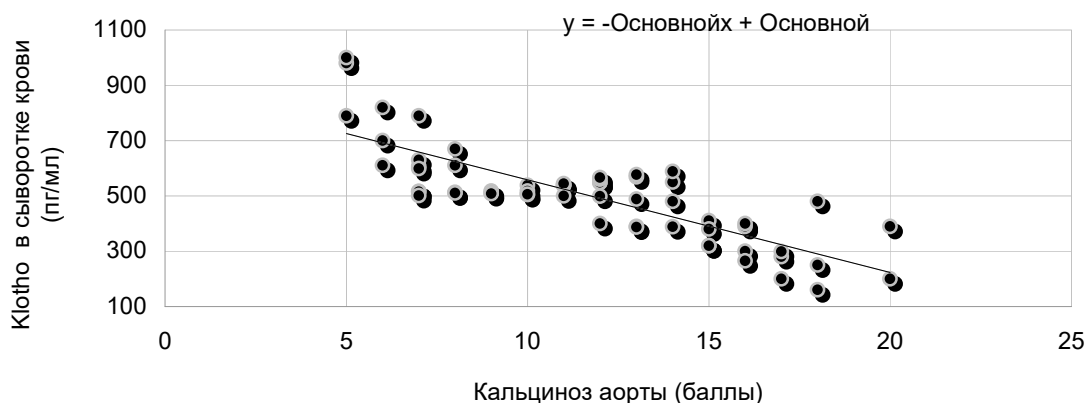


Рис. 11. Связь снижения сывороточного уровня sKlotho с кальцинозом брюшного отдела аорты по методу Каурпила у больных ХБП

По данным ROC анализа (рис.13), прогностически значимое увеличение риска развития кальциноза сосудов (брюшная аорта) у больных ХБП отмечено нами при снижении уровня sKlotho, pСКФ и повышении сывороточного уровня FGF-23, склеростина, ПТГ и фосфора, при этом повышение сывороточного уровня фосфора имело наименьшую прогностическую ценность, в то время как снижение sKlotho - наибольшую (рис.12). Высокое прогностическое значение отмечено также для ЦсАД и склеростина.

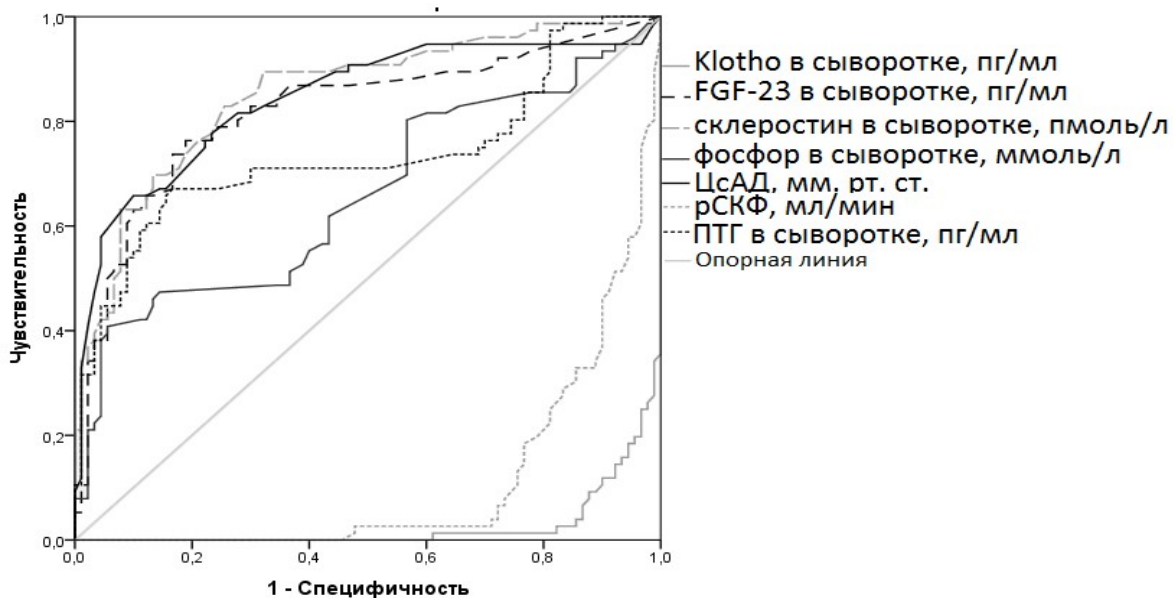


Рис. 12. Прогностическое значение снижения sKlotho, pСКФ и повышения FGF-23, склеростина, ПТГ, фосфора и ЦсАД в сыворотке крови больных ХБП для оценки риска развития кальциноза брюшной аорты

При этом обращало на себя внимание, что по данным, однофакторного анализа, ROC анализа, повышение сывороточного уровня склеростина прямо коррелирует со степенью кальциноза аорты. Однако при проведении многофакторного анализа – как и при оценке роли склеростина в ремоделировании сердца, отмечена обратная корреляция (табл.3), что может свидетельствовать скорее о протективной, чем потенцирующей роли склеростина в механизмах кальцификации артериальных сосудов при прогрессировании ХБП. Однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения этой гипотезы.

Таблица 3. Данные однофакторного и многофакторного логистического регрессионного анализа влияния изучаемых биомаркеров на риск кальциноза брюшной аорты

Показатель	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	beta	p	beta	p
sKlotho (пг/мл)	- 0,024	<0,001	- 0,007	<0,001
logFGF-23 (пг/мл)	0,938	<0,001	0,059	0,720
Склеростин (пмоль/л)	0,050	<0,001	- 0,011	<0,05

Таким образом, согласно результатам многофакторного анализа, усиление жесткости артериальных сосудов (СПВ) и кальциноз клапанов сердца и аорты ассоциированы преимущественно со снижением сывороточного уровня sKlotho и более низкими значениями склеростина (табл. 3), а ремоделирование миокарда – с повышением сывороточного уровня FGF-23 (табл. 1).

Поскольку по результатам однофакторного анализа в 3-х моделях кальциноза (1 модель - СПВ, 2 модель - кальциноз клапанов сердца, 3 модель - кальциноз брюшной аорты) прогностическое значение имели, кроме изученных морфогенетических белков - FGF-23 (beta=0,938, OR 2,562 (95%CI-1,870-3,503), p<0,001), sKlotho (beta= - 0,024, OR 0,976 (95%CI-0,971-0,988), p<0,001) и склеростина (beta= 0,050, OR-1,051 (95%CI-1,033-1,071), p<0,001), и традиционные факторы риска ССО при ХБП - фосфор (beta=2,643, OR-13,968 (95%CI-3,575-54,501) p<0,001), ПТГ (beta= 0,014, OR-1,015 (95%CI-1,006-1,023), p<0,001) в сыворотке крови, а также pСКФ (beta=0,068, OR-0,928 (95%CI-0,920-0,952) p<0,001) и ЦсАД (beta=0,093, OR-1,101 (95%CI-1,066-1,134) p<0,001), мы провели многофакторный анализ всех этих параметров с использованием тех же моделей кальциноза с целью выявления среди них независимых факторов риска кальциноза сердца и сосудов (табл.4).

Таблица 4. Многофакторный анализ связей сывороточного уровня sKlotho, FGF-23, склеростина, фосфора, ПТГ, pСКФ, уровня ЦсАД со СПВ, кальцинозом аорты и клапанов сердца (* - скорректировано по возрасту и СОЭ)

Показатель	СПВ*		Кальциноз аорты*		Кальциноз клапанов сердца*	
	beta	p	beta	p	beta	p
sKlotho	-0,027	<0,001	-0,007	0,001	-0,002	0,342
logFGF-23	1,256	0,019	0,050	0,829	0,399	0,057
Склеростин	-0,014	0,048	-0,011	0,032	-0,013	0,072
pСКФ	-0,006	0,882	-0,033	0,178	-0,056	0,007
ЦсАД	0,113	0,004	0,057	0,053	0,079	0,001
Фосфор	4,773	0,054	0,053	0,961	2,688	0,001
ПТГ	0,013	0,103	0,001	0,937	0,008	0,008

По данным многофакторного логистического регрессионного анализа, независимое значение в развитии кальциноза сердца и сосудов в 2 из 3-х моделей имели: **sKlotho, склеростин, ЦсАД**; в одной из 3-х моделей - FGF-23, pСКФ, фосфор, ПТГ. Учитывая, что изученные факторы, включая pСКФ, были значимы не во всех 3-х моделях, мы предположили, что это различие может зависеть от стадии ХБП. Для проверки данной гипотезы мы разделили выборку пациентов по уровню pСКФ на 2 подгруппы (1 подгруппа - pСКФ<45 мл/мин и 2-ая подгруппа - pСКФ>45 мл/мин) и провели многофакторный анализ отдельно в каждой подгруппе больных. По результатам анализа в 1-ой подгруппе (pСКФ<45 мл/мин) независимое влияние на риск кальциноза сердца и сосудов имели: **во всех трех моделях - sKlotho, в двух моделях – ЦсАД и склеростина**; в одной модели – FGF-23, фосфор, ПТГ (табл. 5).

Таблица 5. Многофакторный анализ параметров, влияющих на кальциноз сердца и сосудов в подгруппе больных с **pСКФ <45 мл/мин**

Показатель	СПВ*		Кальциноз аорты*		Кальциноз клапанов сердца*	
	beta	p	beta	p	beta	p
sKlotho	-0,047	0,028	-0,006	0,044	-0,001	0,037
logFGF-23	1,532	0,056	0,059	0,851	0,477	0,049
Склеростин	-0,022	0,034	-0,017	0,312	-0,016	0,048
ЦсАД	0,161	0,071	0,044	0,020	0,052	0,017
Фосфор	5,503	0,031	0,741	0,569	1,608	0,094
ПТГ	0,024	0,170	0,001	0,850	0,008	0,012

*- скорректировано с учетом возраста и СОЭ (мм/час)

Во 2-й подгруппе (pСКФ>45 мл/мин) независимое значение как факторов риска кальциноза установлено только для ЦсАД (в трех моделях) и sKlotho (в одной модели), табл. 6.

Таблица 6. Многофакторный анализ параметров, влияющих на кальциноз сердца и сосудов в подгруппе больных с рСКФ>45 мл/мин

Показатель	СПВ*		Кальциноз аорты*		Кальциноз клапанов сердца*	
	beta	p	beta	p	beta	p
sKlotho	-0,016	0,077	-0,007	0,180	-0,026	0,019
logFGF-23	0,645	0,502	0,015	0,975	0,270	0,577
Склеростин	-0,029	0,635	-0,013	0,717	-0,108	0,155
ЦсАД	0,171	0,044	0,127	0,032	0,397	0,007
Фосфор	3,524	0,638	3,298	0,498	15,709	0,076
ПТГ	0,123	0,261	0,072	0,263	0,053	0,271

*- скорректировано с учетом возраста и СОЭ (мм/час)

На основании полученных результатов, можно полагать, что влияние изученных показателей на риск кальциноза сердца и артерий зависит от стадии ХБП. На ранних стадиях доминирующее влияние оказывают преимущественно факторы, значимые и в общей популяции в частности - ЦсАД. В то же время ранним фактором - участником процессов кальцификации при ХБП, является также и sKlotho. В дальнейшем, по мере прогрессирования ХБП, начинают проявляться эффекты и других ассоциированных с ХБП факторов, в первую очередь - склеростина, FGF-23 и затем - фосфора и ПТГ. При этом, среди всей выборки, снижение рСКФ имело независимое влияние на кальциноз сердечно-сосудистой системы только в одной из трех моделей многофакторного анализа, указывая на то, что роль СКФ как фактора риска кальцификации сердца и сосудов не является определяющей, а скорее опосредованна эффектами других факторов - sKlotho, склеростина и FGF-23, а в дальнейшем - фосфора и ПТГ.

Таким образом, на основании результатов многофакторного анализа, можно заключить, что низкий уровень sKlotho и склеростина и высокий - FGF-23 ассоциируются с усилением жесткости артерий и кальцинозом клапанов сердца. При этом, связь низкого уровня sKlotho и склеростина в сыворотке крови с ремоделированием миокарда - развитием ГЛЖ концентрического типа следует рассматривать как преимущественно вторичную - за счет кальциноза артерий и повышения их жесткости. Кроме того, повышение сывороточного уровня FGF-23, помимо влияния на

кальцификацию артерий, имеет также выраженный прямой независимый эффект на увеличение ИММЛЖ через ишемию миокарда и апоптоз кардиомиоцитов с развитием миокардиального фиброза, дилатационной кардиомиопатии и формированием ХСН.

4. Связь изменения соотношения сывороточного уровня FGF-23/sKlotho/склеростина с клиническими проявлениями ССО при ХБП

У обследованных больных нарушение соотношения FGF-23/sKlotho/склеростин, обусловленное структурными изменениями сердца и артерий, проявлялись клинически симптомами ИБС, нарушениями ритма сердца, ОКС в ассоциации со снижением показателя субэндокардиального кровотока (коэффициент Buckner), по данным сфигмографии. Снижение кровоснабжения субэндокарда, так же как и нарушение ритма сердца (по данным ЭКГ), отмечалось преимущественно у больных с повышенным уровнем FGF-23 и низким sKlotho и склеростина (табл. 7).

Таблица 7. Связь сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина с ИБС, нарушением ритма сердца, показателем субэндокардиального кровотока у больных ХБП

Показатель	ИБС	Нарушение ритма сердца	Снижение субэндокардиального кровотока
FGF-23 (пг/мл)	$r= 0,501; p<0,01$	$r= 0,433; p<0,01$	$r= - 0,532; p<0,01$
sKlotho (пг/мл)	$r= - 0,445; p<0,01$	$r= - 0,512; p<0,01$	$r= 0,587; p<0,01$
Склеростин (пмоль/л)	$r= - 0,416; p<0,05$	$r= - 0,445; p<0,05$	$r= 0,496; p<0,05$

Таким образом, у обследованных больных ХБП нарушение соотношения показателей FGF-23/sKlotho/склеростин были ассоциированы с ремоделированием сердца и артериальных сосудов, а также с клиническими проявлениями ССО (ИБС, ОКС, нарушение ритма сердца, снижение субэндокардиального кровотока при сфигмографии).

5. Изменение сывороточного уровня морфогенетических белков - FGF-23, sKlotho и гликопротеина склеростина в зависимости от уровня

суточной протеинурии, выраженности БЭН, наличия факторов неиммунного воспаления и тяжести анемии у больных ХБП

Мы оценили изменения сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина в зависимости от величины суточной протеинурии (СПУ) – показателя структурно-функциональных нарушений почечного фильтра при ХБП. Установлена значимая корреляция между величиной СПУ и сывороточным уровнем белка sKlotho у больных ХБП 1-3А ст. - обратная ($r = -0,643$; $p < 0,05$), у больных ХБП 3Б-5Д ст. - прямая ($r = 0,493$; $p < 0,05$). Значимой связи увеличения сывороточного уровня FGF-23 ($p = 0,087$) и склеростина ($p = 0,126$) с уровнем СПУ выявлено не было.

На основании полученных данных, можно предполагать, что степень снижения уровня sKlotho отражает выраженность почечного повреждения у больных ХБП 1-3А ст. и коррелирует с прогрессированием стадии ХБП у больных 3Б-5ст.ХБП.

С помощью корреляционного анализа Спирмена, выявлена связь снижения сывороточного уровня sKlotho и склеростина и повышения FGF-23 с показателями воспаления (СОЭ, СРБ), атеросклероза и степенью белково-энергетической недостаточности (БЭН) при прогрессировании ХБП. (табл. 8).

Таблица 8. Индексы корреляции между сывороточным уровнем FGF-23, Klotho и склеростина и показателями выраженности атеросклероза, БЭН и активности воспаления при ХБП

Показатель	FGF-23 (пг/мл)	sKlotho (пг/мл)	Склеростин (пмоль/л)
	r/p		
Альбумин (г/л)	-0,341; $p > 0,05$	0,597; $p < 0,01$	0,412; $p > 0,05$
Холестерин общ. (ммоль/л)	0,396; $p > 0,05$	-0,325; $p > 0,05$	0,264; $p > 0,05$
Триглицериды (ммоль/л)	0,405; $p < 0,01$	-0,489; $p < 0,01$	-0,254; $p < 0,05$
Фибриноген (г/л)	0,429; $p > 0,05$	-0,432; $p < 0,05$	-0,372; $p > 0,05$
СРБ (мг/л)	0,476; $p < 0,05$	-0,597; $p < 0,01$	-0,453; $p < 0,05$
СОЭ (мм/час)	0,472; $p < 0,05$	-0,711; $p < 0,001$	-0,532; $p = 0,05$

Примечание: СРБ – С-реактивный белок; СОЭ – скорость оседания эритроцитов

Наличие независимой обратной связи между снижением уровня sKlotho и повышением уровня СРБ в сыворотке крови у больных ХБП 3-5Д ст. было подтверждено и результатами многофакторного анализа, включавшего наряду с Klotho ($\beta = -0,043$, $p=0,0037$) также - FGF-23 ($\beta = 0,456$, $p=0,057$) и склеростин ($\beta = -0,051$, $p=0,073$).

На основании полученных данных, можно предположить, что снижение сывороточного уровня белка sKlotho отражает не только тяжесть локально почечного повреждения, но и выраженность системного неиммунного воспаления, ассоциированного с ХБП.

Мы также проанализировали изменение сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина у больных ХБП в зависимости от основного параметра нутритивного статуса – сывороточного уровня альбумина. Выявлена значимая прямая связь между уровнем sKlotho и уровнем альбумина ($r=0,487$; $p<0,01$) в сыворотке крови (рис.13, табл. 8). Достоверной связи FGF-23 ($r=-0,341$; $p=0,077$), и склеростина ($r=0,412$; $p=0,093$) с уровнем альбумина отмечено не было.

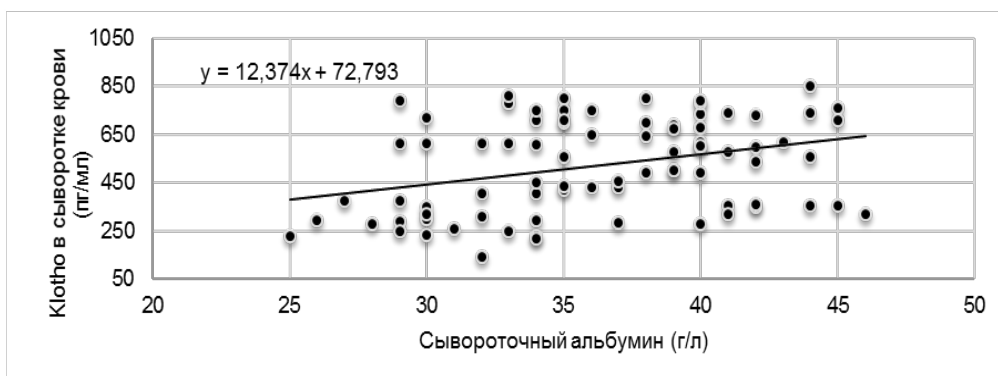


Рис. 13. Связь уровня sKlotho с уровнем сывороточного альбумина у больных ХБП 3А-5ст., (n=74)

Выявленные корреляции между изменениями в сыворотке крови содержания морфогенетических белков и изменениями основных параметров нутритивного статуса и воспаления по мере прогрессирования ХБП от 3 к 5Д стадии позволяют рассматривать изменение сывороточного уровня в первую очередь - Klotho, а также склеростина и FGF-23 в качестве ранних факторов риска развития у больных ХБП неиммунного воспаления и БЭН, при этом

снижение сывороточного уровня sKlotho может служить также предиктором нутритивных нарушений при ХБП.

Среди 130 больных ХБП на момент скрининга у 72 (55,4%) была диагностирована анемия (Hb<120 г/л). Установлена достоверная корреляция выраженности анемии (снижения уровня гемоглобина и железа) с уровнем sKlotho (рис. 14 а, б).

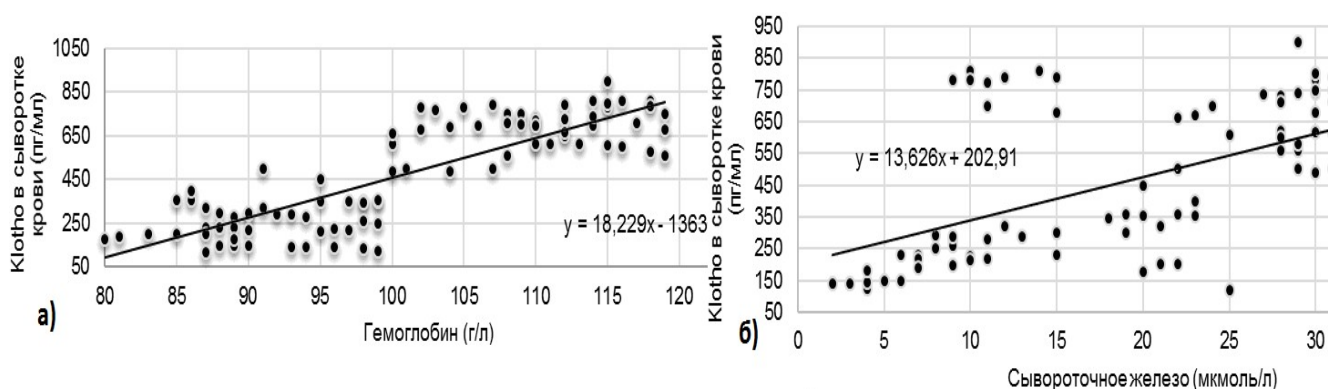


Рис. 14. Связь сывороточного уровня sKlotho а) с уровнем гемоглобина; б) уровнем железа в сыворотке крови у больных ХБП и анемией (n=72)

Связь повышения уровня FGF-23 и склеростина в сыворотке крови с величиной гемоглобина и железа не была значимой (табл. 9).

Таблица 9. Связь гемоглобина и показателей обмена железа с уровнем sKlotho, FGF-23 и склеростина в сыворотке крови больных ХБП и анемией (n=72)

Показатель	Гемоглобин (г/л)	Сывороточное железо (мкмоль/л)	% насыщения железом трансферрина	Сывороточный ферритин (мкг/л)
	r			
sKlotho, пг/мл	0,842; p<0,001	0,596; p<0,001	0,492; p<0,001	0,504; p<0,001
FGF-23 (пг/мл)	-0,450; p=0,051	-0,480; p=0,054	-0,320; p=0,064	-0,150; p=0,152
Склеростин (пмоль/л)	0,154; p=0,082	0,130; p=0,134	0,030; p=0,150	0,319; p=0,061

По результатам проведенного анализа, у больных ХБП и анемией отмечена значимая положительная корреляция между уровнем гемоглобина (r=0,842; p<0,001), а также показателями обмена железа [ферритином (r=0,504; p<0,001), процентом насыщения трансферрина железом (r=0,492; p<0,001) и сывороточным железом (r=0,596; p<0,001)] с уровнем sKlotho в

сыворотке крови. В то же время значимой связи между уровнем гемоглобина, показателями обмена железа и сывороточным уровнем FGF-23 и склеростина отмечено не было (табл. 9). Таким образом, среди изученных нами факторов сывороточный уровень sKlotho является наиболее чувствительным биомаркером ишемии почечной ткани и развития анемии при ХБП.

На основании проведенного нами анализа факторов риска ХБП, ассоциированных с сывороточным уровнем Klotho у больных ХБП, можно предполагать, что среди возможных причин снижения экспрессии sKlotho как кардионепротективного фактора имеет значение АГ, ишемия почки на фоне анемии, персистирующее локально почечное и системное неиммунное воспаление, БЭН, - что важно с точки зрения понимания высокой частоты развития процессов кальцификации артерий и сердца при прогрессировании ХБП.

В свою очередь, снижение экспрессии Klotho, как ко-рецептора для FGF-23, обуславливает повышение FGF-23 в циркуляции и его патогенные эффекты на сердце (прямое кардиотоксическое действие) и артериальные сосуды (через процессы воспаления и эндотелиальной дисфункции). Развивающаяся гиперфосфатемия и повышение ПТГ по мере прогрессирования ХБП, усугубляют кардиотоксический эффект FGF-23 и кальцификацию сердца и артерий.

В то же время, повышение уровня склеростина по мере прогрессирования ХБП, учитывая инверсию знака «плюс» в однофакторном анализе на минус в многофакторном анализе, может иметь защитное значение в условиях прогрессирования кальцификации сосудов при ХБП, что, однако, требует дальнейшего отдельного изучения.

6. Частота госпитализаций по поводу ССО и смертности в течение 1 года диализной терапии в зависимости от сывороточного уровня FGF-23, Klotho и склеростина

По нашим данным, больные с выраженными нарушениями в системе FGF-23/sKlotho/склеростин имели большую потребность в госпитализации по поводу ССО, причем частота госпитализаций находилась в прямой зависимости

от уровня FGF-23 ($r=0,435$; $p<0,001$) и обратно коррелировала с сывороточным уровнем sKlotho ($r= - 0,531$; $p<0,05$) и склеростина ($r=-0,495$; $p<0,05$), (рис. 15 а).

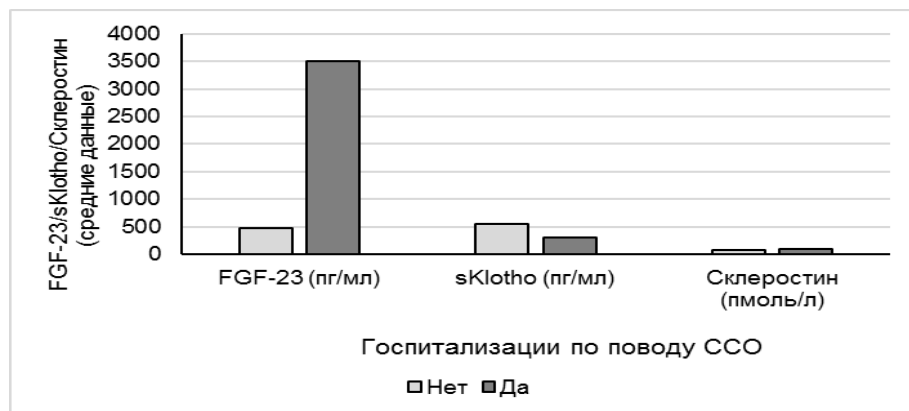
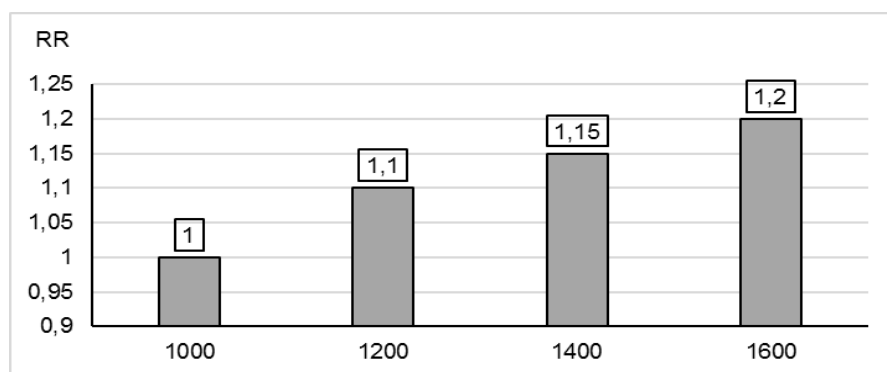


Рис. 15 а. Связь частоты госпитализаций по поводу ССО с сывороточным уровнем Klotho, FGF-23 и склеростина

Среди диализных больных с высоким сывороточным уровнем FGF-23 риск летальности в течение первого года лечения регулярным гемодиализом был выше, чем среди больных с более низким уровнем FGF-23. (рис. 15б).



15 б. Связь сывороточного уровня FGF-23 с риском летальности от ССО у больных ХБП 5Д стадии в течение 1-го года лечения ГД

7. Связь режима диализной терапии с сывороточным уровнем FGF-23, Klotho и склеростина

Для оценки динамики сывороточных показателей FGF-23, sKlotho и склеростина в зависимости от эффективности диализной терапии (гемодиализ (ГД), гемодиализация (ГДФ)) мы обследовали 20 больных с терминальной (5Д) стадией ХБП, получающих лечение регулярным ГД длительностью не менее 6 месяцев. Возраст пациентов составил в среднем $41,1 \pm 5,5$ лет, длительность ГД - $82,2 \pm 46,5$ мес. Большинство больных - 16

(79,2)% получали лечение традиционным ГД, остальные 4 (20,8%) - ГДФ on line в режиме постдилюции (3) и предилюции (1).

По данным корреляционного анализа, у больных на ГД более высокие показатели FGF-23, и низкие sKlotho и склеростина в сыворотке крови были ассоциированы с синдромом неадекватного диализа ($Kt/V < 1,0$), хронического воспаления (СРБ > 10 мг/л), а также с развитием БЭН (сывороточный уровень альбумина < 35 г/л) (табл. 10).

Таблица 10. связь показателей FGF-23, Klotho и склеростина с режимом диализной терапии и ее адекватностью, факторами воспаления и гипоальбуминемией

Показатель	FGF-23 (пг/мл)	sKlotho (пг/мл)	склеростин (пмоль/л)
$Kt/V < 1,0$	$r = -0,450; p < 0,05$	$r = 0,496; p < 0,05$	$r = 0,472; p < 0,05$
СРБ белок (мг/л)	$r = 0,502; p < 0,05$	$r = -0,485; p < 0,01$	$r = -0,492; p < 0,01$
Альбумин в сыворотке (г/л)	$r = -0,452; p < 0,05$	$r = 0,464; p < 0,05$	$r = 0,421; p < 0,05$

Нарушение соотношения FGF-23/Klotho/склеростин было более выражено у больных, получавших лечение традиционным ГД по сравнению с показателями больных, длительно (не менее 6 мес.) получавших ГДФ on line (рис. 16).

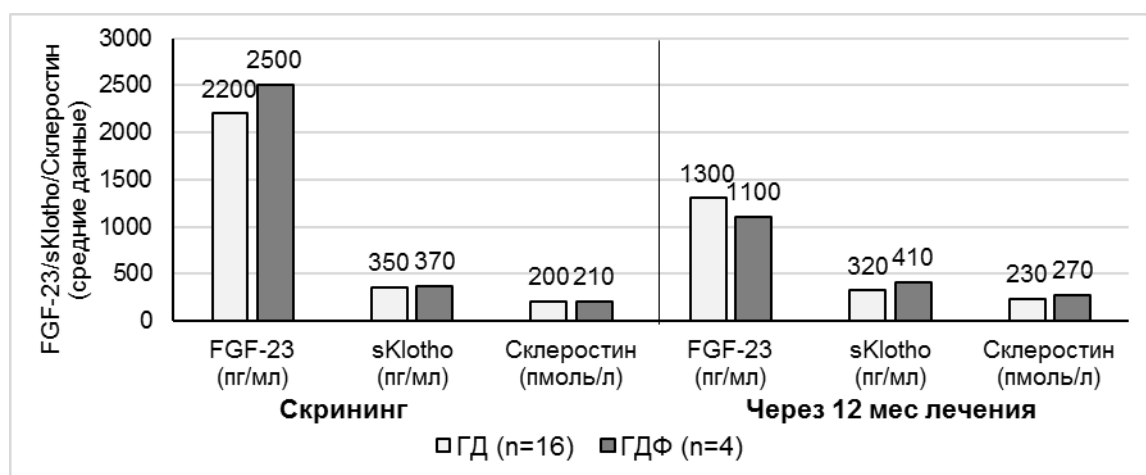


Рис. 16. Динамика показателей FGF-23/sKlotho/склеростин у больных терминальной стадией ХБП при использовании различных режимов диализной терапии

Возможно, что, поскольку ГДФ обеспечивает более эффективную элиминацию неорганического фосфора, коррекцию ацидоза и провоспалительных цитокинов, ГДФ также может быть мерой профилактики

гиперпродукции FGF-23 и снижения уровня sKlotho у больных, получающих ЗПТ.

Принимая во внимание значение изученных биомаркеров как сильных прогностически значимых ранних предикторов ССО при ХБП, нами проведена оценка влияния применяемой у больных ХБП традиционной нефропротективной терапии и малобелковой диеты на сывороточный уровень FGF-23, sKlotho и склеростина (дополнительное исследование).

8. Влияние малобелковой диеты (МБД) с добавлением кетоаналогов незаменимых аминокислот на соотношение FGF-23, sKlotho и склеростина у больных ХБП

Мы изучили возможность влияния ограничения белка в диете (МБД) с восполнением дефицита белка кетоаналогами незаменимых аминокислот (КА) на сывороточный уровень FGF-23, sKlotho и склеростина у 37 больных ХБП 3Б-4 стадий, соблюдавших в течение 12 мес. МБД (0,6 г белка пищи на кг массы тела в сутки).

Больные были распределены на 2 группы: в 1-ю группу (основная группа) включили 20 больных ХБП, дополнявших МБД КА (кетостерил по 1 табл./5 кг массы тела/сутки). 2-ю группу (группа сравнения) составили 17 больных, которые также соблюдали МБД, но не принимали КА по личной мотивации. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и степени снижения СКФ.

Было установлено, что к концу 12 месячного периода наблюдения у пациентов 2-ой группы (только МБД) наблюдалось статистически значимое снижение ИМТ ($p=0.046$), включая снижение мышечной массы тела у мужчин ($p=0.027$) и у женщин ($p=0.044$), согласно биоимпеданс-анализу (прибор OMRON, USA). В то же время у пациентов 1 группы (МБД + КА), не было отмечено признаков БЭН за время периода наблюдения ($p=0,098$). Кроме того, на момент конца наблюдения мы отметили статистически значимое снижение общего белка в сыворотке крови (с 76.2 до 65.6 г/л) и трансферина (с 3.0 до 2.1)

также во 2-ой группе (соответственно, $p=0,039$ и $p=0,048$), хотя средний уровень сывороточного альбумина сохранялся в нормальном диапазоне значений в обеих группах ($p=0,482$). Уровень мочевины в сыворотке крови был статистически значимо ниже к концу наблюдения в 1 группе [МБД+КА] – ($p=0,027$).

Кроме того, наше исследование подтвердило ренопротективный эффект МБД особенно в комбинации с КА, при этом средняя рСКФ оказалась выше ($p=0,047$) к концу наблюдения в группе МБД+КА (рис. 17).

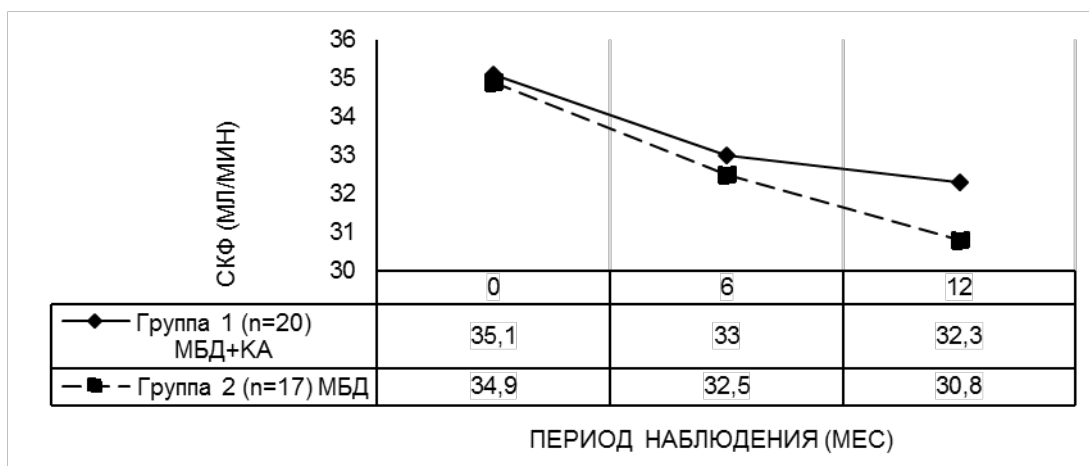


Рис. 17. Средние значения рСКФ в изученных группах за время периода наблюдения

Наряду с этим мы отметили, что МБД+КА в большей степени улучшала сывороточный уровень фосфора, кальция и ПТГ по сравнению с изолированной МБД. Средний сывороточный уровень кальция в 1 группе повышался к концу периода наблюдения, но не выходил за верхнюю границу нормы. При этом, у пациентов 1 группы целевой уровень сывороточного фосфора (0.81-1.45 ммоль/л) удалось достичь и поддерживать с использованием меньших доз ФСП (севеламера гидрохлорид 1600 мг в день, кальция карбонат 1000 мг в день) по сравнению с пациентами 2-ой группы, получавших только МБД (соответственно, - 2400 мг и 2000 мг).

Во 2-ой группе уровень ПТГ и фосфора был выше ($p=0,042$ и $p=0,037$) к концу наблюдения, чем в 1-ой группе, что увеличивало потребность пациентов в фосфатсвязывающих препаратах (ФСП) и витамине Д ($p=0,041$ и $p=0,048$).

Наряду с этим мы отметили, что пациенты 2 группы имели статистически выше уровень FGF-23 ($p=0.029$) и ниже - sKlotho ($p=0.037$) в сыворотке к концу наблюдения по сравнению с пациентами 1 группы (рис. 18).

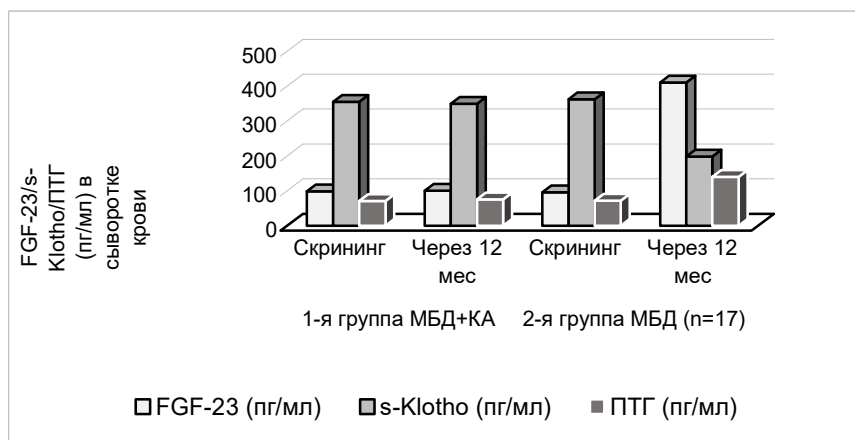


Рис.18. Показатели FGF-23, sKlotho и ПТГ в сыворотке крови в группах больных 3Б-4 стадиями ХБП в зависимости от типа диеты

Уровень склеростина в сыворотке крови к концу наблюдения не достиг статистически значимого различия между группами ($p=0,051$).

К концу наблюдения мы отметили также статистически существенное различие между группами в отношении уровня ЦсАД ($p=0.049$). В 1 группе уровень ЦсАД был ниже, чем у пациентов 2 группы. Принимая во внимание, что КА могут приводить к повышению сывороточного уровня Са, но в то же время учитывая выявленный более низкий уровень ЦсАД в группе МБД+КА мы провели оценку жесткости/кальцификации сосудов в исследуемых группах пациентов. Установлено, что индексы аугментации (ригидности) сосудов и кальцификация клапанов сердца были статистически выше во 2-ой группе (табл. 11), кроме того, количество пациентов, имеющих увеличение ИММЛЖ к концу наблюдения было также больше во 2-ой группе (14,3% против 67,6%).

Таблица 11. Индекс аугментации (ригидности), степень кальцификации клапанов сердца и ИММЛЖ в группах больных, получавших МБД+КА и только МБД. Результаты представлены в виде медианы (межквартильный интервал) или частоты n(%)

Параметр		Группа 1 МБД+КА (n=20)	Группа 2 МБД (n=17)	р
Индекс аугментации %	исходно	19,7 (16,0-25,00)	19,4 (15,4-25,00)	0,734
	к концу наблюдения	21,2 (17,5-27,00)	29,8 (19,5-36,9)	0,047
Степень кальцификации клапанов сердца, n (%)				
«0 баллов»	исходно	7 (16,6)	5 (13,5)	0,593
	к концу наблюдения	5 (11,9)	0 (0)	0,049
«0.5-1 баллов»	исходно	31 (73,8)	29(78,3)	0,382
	к концу наблюдения	31 (73,8)	31 (83,7)	0,261
«>1.5 баллов»	исходно	4 (9,5)	3 (8,1)	0,732
	к концу наблюдения	6 (14,3)	6 (16,2)	0,673
Увеличение ИММЛЖ к концу наблюдения, n (%)		6 (14,3)	25 (67,6)	0,020

По результатам исследования, применение МБД в сочетании с КА у больных с 3Б-4 стадиями ХБП позволяет не только профилактировать развитие нарушений нутриционного статуса, но также может вносить вклад в поддержание экспрессии sKlotho и подавление продукции FGF-23, сопровождаясь уменьшением кардиоваскулярной кальцификации и ремоделирования. Значимого эффекта МБД в комбинации с КА на сывороточный уровень склеростина отмечено не было.

9. Влияние коррекции повышенного уровня АД на соотношение сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина у больных ХБП

Мы оценили изменения сывороточных показателей sKlotho, FGF-23 и склеростина в зависимости от степени коррекции АД и используемых для этой цели антигипертензивных средств у больных с ХБП 1-4 стадий (n=75).

Среди 93 пациентов 1-4 стадией ХБП АГ (1-3 ст.) отмечалась у 82 больных. Все пациенты с АГ получали антигипертензивные препараты разных классов. Монотерапию получали 75 пациентов.

У пациентов ХБП 1-4 ст. с достигнутым целевым уровнем АД (n=71) по сравнению с пациентами с недостаточно скорректированной АГ (n=11) отмечалась большая степень сохранения sKlotho и меньшая степень увеличения ИММЛЖ (рис. 19 а).

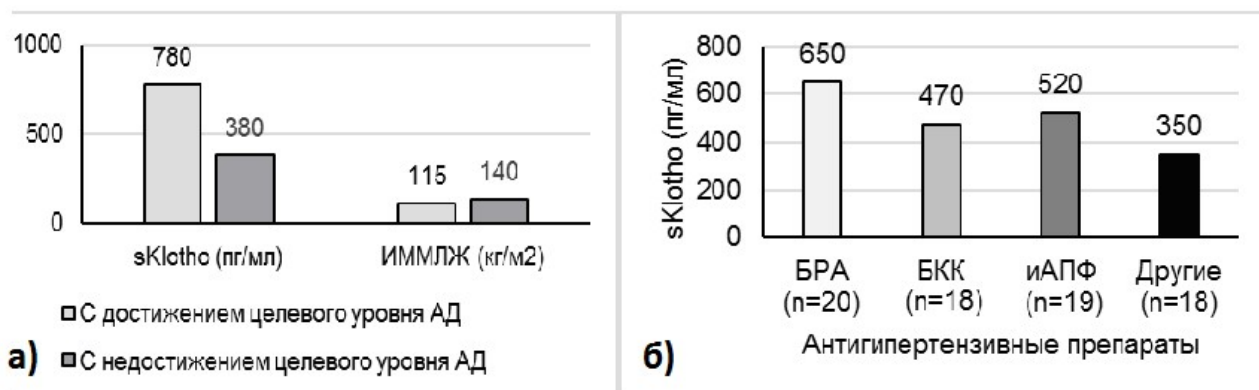


Рис. 19 а. Сывороточный уровень sKlotho и величина ИММЛЖ у пациентов ХБП 1-4 ст., (n=82) в зависимости от адекватности коррекции АГ; б) сывороточный уровень sKlotho в зависимости от применяемых групп антигипертензивных препаратов у пациентов ХБП 1-4 ст., (n=75)

Примечание: БРА-блокаторы рецепторов ангиотензина, БКК-блокаторы кальциевых каналов, иАПФ- ингибиторы ангиотензин-превращающегося фермента

При этом у больных ХБП 1-4 ст., которым удалось достичь и поддерживать целевой уровень АД с помощью блокаторов рецепторов к АТ (n=20), иАПФ (n=19) отмечались более высокие показатели sKlotho ($p < 0,05$ и $p < 0,01$) в сыворотке крови (рис. 19б) и менее выраженная степень ремоделирования миокарда ($p < 0,05$ и $p < 0,01$) и кальцификации сосудов ($p < 0,05$ и $p < 0,05$) по сравнению с больными с некорректированной АГ (n=11) и больными, получавшими другие группы антигипертензивных препаратов (n=18). Влияния антигипертензивной терапии на сывороточные уровни FGF-23 и склеростина нами отмечено не было.

Согласно полученным результатам, можно предполагать, что у больных ХБП с АГ механизм кардиопротекции при использовании иАПФ и сартанов не ограничивается только блокадой РААС, но может быть также опосредован

сохранением почечной продукции sKlotho как кардионефропротективного фактора.

10. Влияние коррекции гиперфосфатемии на соотношение сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина у больных ХБП

Нами оценено влияние коррекции гиперфосфатемии фосфат-биндерами (ФСП) на сывороточный уровень FGF-23 у 61 больного ХБП, 3Б-5Д стадиями с гиперфосфатемией.

В группе больных ХБП с гиперфосфатемией, которым удалось достичь и поддерживать (n=34) целевой уровень неорганического фосфора (0,9-1,45 ммоль/л) в сыворотке крови в результате терапии ФСП, по сравнению с группой больных (n=27) с недостаточно скорректированной гиперфосфатемией (P > 1,45 ммоль/л), отмечено более выраженное снижение повышенного уровня FGF-23 (p<0,01) и ПТГ (p<0,05) и повышение склеростина (p<0,05) в крови (причем преимущественно среди тех больных, у кого для коррекции гиперфосфатемии использовались не содержащие кальций ФСП - севеламера гидрохлорид (табл.12, рис. 20).

Таблица 12. Динамика сывороточного уровня FGF-23, sKlotho, склеростина, фосфора, ПТГ у обследованных больных ХБП 3Б-5Д стадии (n=61) на фоне терапии ФСП

Параметр		Пациенты, не достигшие нормофосфатемии (n=27)	Пациенты, достигшие нормофосфатемии (n=34)	P
Содержание в сыворотке крови Me (МКИ)				
FGF-23, пг/мл	исходно	1494 (424 – 12243)	1602 (481-13102)	>0,05
	конец наблюдения	3600 (1630- 6780)	938(721-4800)	<0,01
Klotho, пг/мл	исходно	231(439-51)	240 (452-59)	>0,05
	конец наблюдения	112 (386-48)	164 (392-74)	>0,05
Склеростин, пмоль/л	исходно	89 (68-200)	91(71-212)	>0,05
	конец наблюдения	101 (73-231)	128 (98-249)	<0,05
ПТГ, пг/мл	исходно	236 (59 – 770)	241 (64 – 820)	>0,05
	конец наблюдения	171 (37-478)	105 (78-410)	<0,05
Фосфор, ммоль/л	исходно	1,69 (1,29- 1,87)	1,72 (1,31-1,89)	>0,05
	конец наблюдения	1,64 (1,32-1,89)	1,43 (1,29-1,67)	<0,05
Кальций общ. ммоль/л	исходно	2,26 (2,02- 2,60)	2,29 (2,15- 2,62)	>0,05
	конец наблюдения	2,07 (2,02- 2,51)	2,36 (2,02- 2,60)	>0,05



Рис. 20. Уровень FGF-23 в сыворотке крови больных ХБП 3Б-5Д стадий и гиперфосфатемией в зависимости от адекватности коррекции гиперфосфатемии и вида терапии (карбонат кальция и севеламера гидрохлорид), n=61

Статистически значимого влияния коррекции гиперфосфатемии на сывороточный уровень Klotho нами отмечено не было.

В то же время среди 14 больных, которые в течение не менее 12 мес. на преддиализном этапе получали МБД+КА в сочетании с ФСП и у которых был достигнут целевой уровень неорганического фосфора в сыворотке крови, в течение первого года лечения регулярным ГД, достоверно реже ($\chi^2 = 8,2$; $p < 0,05$), чем среди больных, которым коррекция повышенного сывороточного уровня фосфора была начата одновременно с ГД (n=11), отмечалось формирование ВГПТ и ССО – ухудшение функционального класса стенокардии, ОКС, ОИМ (табл. 13).

Таблица 13. Влияние ранней коррекции гиперфосфатемии (на додиализном этапе) на сывороточный уровень FGF-23 и риск развития ВГПТ и ССО в течение первого года диализной терапии у больных ХБП

Осложнения ХБП, n(%)	Ранняя коррекция ГФ (до начала диализа)		Поздняя коррекция ГФ (одновременно с диализом)		p
	Частота осложнений	Сывороточный уровень FGF-23, пг/мл	Частота осложнений	Сывороточный уровень FGF-23, пг/мл	
ВГПТ	1(7,1%)	1140,8±226,8	6(54,5%)	3170,9±613,2	<0,01
Ухудшение ФК стенокардии	2(14,3%)	2280,±345,3	6 (54,5%)	5310,4±321,5	<0,01
ГЛЖ	5(35,7)%	1167,5±133,6	11(100%)	2955,0±422,8	<0,01
ОКС, ОИМ	1(7,1%)	2001,2±102,1	5(45,5 %)	4082,5±863,4	<0,01

При этом у больных, соблюдавших МБД+КА до поступления на ГД, дозы ФСП, необходимых для достижения и поддержания целевого уровня фосфора, были в 1,5-2 раза ниже, чем у больных не соблюдавших МБД и не принимавших КА.

В этой связи, рано начатое (на додиализном этапе) подавление гиперпродукции FGF-23 с помощью диетических мероприятий и применения при необходимости ФСП может являться у пациентов с ХБП важной составляющей оптимальной нефропротективной стратегии, в частности, в отношении профилактики ВГПТ, почечной остеодистрофии и ССО (ГЛЖ, эктопической минерализации).

11. Влияние коррекции анемии на соотношение сывороточного уровня FGF-23, sKlotho и склеростина у больных ХБП

Среди 47 больных 3Б-5 стадиями ХБП с анемией у 34 (72,3%) [табл. 14] больных проводимая терапия (эпоэтин бета + железа сахарат) позволила достигнуть целевого уровня гемоглобина (Hb=110-120 г/л) и поддерживать его в этом диапазоне в результате продолжения лечения, у остальных 13 (27,7%) - сохранялась анемия (Hb < 110 г/л).

Таблица 14. Показатели гемоглобина и уровня FGF-23, Klotho и склеростина при лечении анемии эпоэтином бета и железа сахаратом 47 больных ЗБ-5 стадиями ХБП с анемией

Показатель	В период скрининга	Через 12 мес.		
		Целевой уровень гемоглобина (110-120 г/л)		
		достигнут (n=34)	не достигнут (n=13)	p
Гемоглобин (г/л)	91 (86-105)	116 (110-121)	97 (89-109)	<0,05
Ферритин (мкг/л)	112±11,5	230±19,8	227±12,1	>0,05
Насыщение трансферина железом (%)	14,2±2,3	36±9,8	19,5±2,9	<0,05
Klotho (пг/мл)	390 (490-115)	412 (485-118)	98 (72-239)	<0,01
FGF-23 (пг/мл)	1110 (324 – 8351)	638(221-1100)	2300 (930- 4780)	<0,01
Склеростин (пмоль/л)	78 (69-127)	102 (78-149)	87 (63-131)	>0,05

При этом у больных с достигнутым целевым уровнем Hb (110-120 г/л) процент насыщения трансферина железом ($p < 0,05$) и уровень sKlotho ($p < 0,01$) в сыворотке крови были значимо выше [табл. 14, рис. 20а], чем у остальных больных (2-я группа), у которых целевой уровень Hb достигнуть не удалось; разница между этими группами по величине уровня sKlotho составила 70%, что подтверждает значение коррекции анемии как одного из реальных путей поддержания сывороточного уровня sKlotho и его кардиопротективного эффекта (рис. 21а).

По результатам ROC анализа оценки прогностического значения сывороточного уровня Klotho, показатель площади под кривой (AUC) для Hb 110-120 г/л составил 0,87 при уровне Klotho в сыворотке крови 400 пг/мл и более (рис. 21б). Т.е., достижение целевого уровня Hb может быть критерием ожидаемого более высокого уровня sKlotho (400 пг/мл и более).



Рис. 21 а. Зависимость уровня sKlotho от эффективности коррекции анемии (эпоэтин + железа сахарат) у больных с 3Б-5 стадиями ХБП; б. Тестирование уровня Hb 110-120 г/л как предиктора более высокого уровня sKlotho (400 пг/мл и более) у больных ХБП 3Б-5 стадий (результаты ROC анализа)

Кроме того, нами отмечено достоверное снижение сывороточного уровня FGF-23 ($p < 0,01$) в результате адекватной коррекции анемии у больных ХБП (табл.13), что также может являться важной составляющей кардиопротекции у больных ХБП 3Б-5 стадий ХБП при достижении целевого уровня Hb.. Достоверного влияния коррекции анемии на сывороточный уровень склеростина нами отмечено не было ($p = 0,079$).

Заключение

Нарушение соотношения FGF-23/sKlotho/склеростин – увеличение FGF-23, склеростина и снижение sKlotho по мере прогрессирования ХБП сопровождается развитием кальцификации клапанов сердца и магистральных артерий, увеличением жесткости сосудов, формированием ГЛЖ, повышая сердечно-сосудистый риск и ухудшая прогноз у больных ХБП, независимо от сывороточного уровня фосфора и ПТГ.

Полученные нами результаты о возможности изменения продукции морфогенетических белков – FGF-23, sKlotho и склеростина под влиянием кардионефропротективной терапии подтверждают обоснованность ее применения уже с ранних стадий ХБП. С другой стороны, результаты исследования открывают новые перспективы дальнейшего совершенствования

нефропротекции на основе персонафицированного подхода с учетом степени нарушения в системе морфогенетических белков и склеростина.

Выводы

1. Изменения сывороточных показателей морфогенетических белков – повышение FGF-23, снижение sKlotho и повышение гликопротеина склеростина у больных ХБП опережают появление гиперфосфатемии, увеличение уровня ПТГ, являясь ранними биомаркерами нарушения костно-минерального обмена и риска развития ССО.
2. Снижение сывороточного уровня sKlotho у больных ХБП коррелирует с выраженностью АГ и ремоделирования миокарда ЛЖ - увеличением ИММЛЖ, частотой выявления и степенью кальциноза сердца и сосудов; у больных с скорректированной АГ процессы кальцификации и ремоделирования менее интенсивны. Повышение сывороточного уровня FGF-23 у больных ХБП имеет прямое независимое от уровня АД влияние на ИММЛЖ, проявляясь персистированием повышения сывороточного уровня тропонина I. Повышение сывороточного уровня склеростина по мере прогрессирования ХБП может иметь протективное значение в условиях увеличения кальцификации сердца и артерий.
3. Выявляется связь нарушений в системе FGF-23/sKlotho/склеростин со степенью белково-энергетической недостаточности (БЭН), выраженностью анемии и железодефицита; у больных, получавших малобелковую диету (МБД) в сочетании с кетоаналогами незаменимых аминокислот (КА), отмечаются более низкие сывороточные показатели ПТГ и FGF-23 и более высокие – sKlotho; у больных ХБП с скорректированной в результате лечения анемией сывороточный уровень Klotho превышал на 70% его уровень у больных с сохраняющейся анемией, что подтверждает значение коррекции анемии как одного из реальных путей поддержания сывороточного уровня Klotho и его кардиопротективного эффекта.

4. У больных, получающих лечение интермиттирующим гемодиализом или гемодиафильтрацией в режиме on-line более низкие сывороточные показатели sKlotho, более высокие - FGF-23 и склеростина являются предикторами развития хронического воспаления (гиперпродукция С-реактивного белка), БЭН и формирования вторичного гиперпаратиреоза (ВГПТ), ассоциируясь с высоким риском смерти от ССО в течение первого года диализной терапии.
5. Положительный эффект на течение ХБП, в том числе ССО, применения ингибиторов АПФ и блокаторов рецепторов к ангиотензину с кардиопротективной целью ассоциируется с более высоким уровнем белка sKlotho в сыворотке крови, что свидетельствует о значении показателя sKlotho для оценки эффективности кардионефропротективной терапии.
6. Адекватная коррекция гиперфосфатемии с помощью фосфатсвязывающих препаратов, преимущественно кальцийнесодержащих (севеламера гидрохлорид) особенно при сочетании с МБД и кето/аминокислотами, начатая уже на додиализных стадиях ХБП, является предпосылкой достижения оптимальных сывороточных показателей FGF-23 и ПТГ, обеспечивая условия для профилактики развития не только ВГПТ, но и ССО.

Практические рекомендации

1. В программу обследования больных ХБП целесообразно включить исследование в сыворотке крови морфогенетических белков – FGF-23, sKlotho и гликопротеина склеростина, которые являются более ранними, чем сывороточные показатели неорганического фосфора и иПТГ, маркерами изменений костно-минерального обмена и предикторами неблагоприятного прогноза при ХБП.
2. Ранняя коррекция изменений костно-минерального обмена, БЭН в первую очередь с помощью диетических мероприятий – МБД с добавлением кетоаналогов незаменимых аминокислот, при необходимости - фосфатбиндеров

(не содержащими кальций), ЭПО и препаратов железа с целью поддержания оптимального соотношения FGF-23/sKlotho/склеростин обеспечивает профилактику развития ВГПТ и ССО у больных ХБП.

3. У больных ХБП 1-4 стадий с АГ, важно поддерживать целевой уровень АД, особенно при использовании иАПФ или блокаторов ангиотензиновых рецепторов, поскольку таким образом возможно сохранение продукции циркулирующей формы белка Klotho, обладающего кардио-нефропротективными свойствами.

4. Коррекция анемии с помощью препаратов железа и ЭПО сопровождается замедлением снижения уровня sKlotho и повышения FGF-23 в сыворотке крови и т.о. способствует торможению почечной дисфункции и уменьшению сердечно-сосудистого риска у больных ХБП.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Милованова Л.Ю. Значение морфогенетических белков (FGF-23 и Klotho) как предикторов прогноза хронической болезни почек/ Милованова Л.Ю., Козловская Л.В., Мухин Н.А.// Терапевтический архив.- 2014.- №4. - С.36-43.
2. Милованова Л.Ю. Опыт применения активных метаболитов витамина Д при нарушении фосфорно-кальциевого обмена у больных с додиализными стадиями хронической болезни почек/ Милованова Л.Ю., Добросмыслов И.А. // Терапевтический архив.- 2014.- №6.- С.52-56.
3. Милованова Л.Ю. Значение сывороточных уровней белка Klotho и фактора роста фибробластов -23 (FGF-23) как ранних диагностических маркеров хронического почечного повреждения/Милованова Л.Ю., Крюкова Д.В., Моисеев С.В.//Сеченовский Вестник. - 2014. №2(16).- С.78-83.
4. Милованова Л.Ю. Значение морфогенетических белков (FGF-23 и Klotho) как предикторов прогноза хронической болезни почек/ Милованова Л.Ю., Козловская Л.В., Мухин Н.А // Терапевтический архив.- 2014.-N4. С.-36-43.
5. Милованова Л.Ю. Роль морфогенетических белков (фактор роста фибробластов – 23 - FGF-23, Klotho) и гликопротеина (склеростина) в оценке сердечно-сосудистого риска и прогноза хронической болезни почек/ Милованова Л.Ю., Кудрявцева(Крюкова) Д.В., Маркина М.М.// Тер.Архив.- 2015-№ 4.- С.46-54.
6. Милованова Л.Ю. Циркулирующая форма белка Klotho — новый ингибитор сосудистой кальцификации при хронической болезни почек/ Милованова Л.Ю., Саблина М.М // Артериальная гипертензия. – 2015.- №3.- С. 531-537.
7. Milovanova L.Y. Influence of traditional cardio-nephroprotective therapy on cardiovascular risk markers (FGF-23,Klotho) in patients with chronic kidney disease/ Milovanova L.Y., Kozlovscaya L.V. // International research journal.- 2015.- №7(38). - С. 39-41.
8. Милованова Л.Ю. Морфогенетические белки – фактор роста фибробластов -23 (FGF-23) и Klotho в сыворотке крови больных с хронической болезнью почек, как маркеры сердечнососудистого риска/ Милованова Л.Ю., Козловская Л.В., Маркина М.М.// Клиническая медицина.- 2015.- №2.- С.12-18.
9. Milovanova L.Y. Cardioprotective effects of alpha Klotho protein in chronic kidney disease patients/ Milovanova L.Y., Kozlovscaya L.V // Сборник статей международной исследовательской организации «Cognitio» по материалам I Международной научно-практической конференции: «Актуальные проблемы науки XXI века». – Москва.- 2015.
10. Милованова Л.Ю. Кардиопротективная роль циркулирующей формы белка Klotho при хронической болезни почек/ Милованова Л.Ю., Маркина М.М.// Materials of XI international research and practice conference «Modern scientific potential-2015» February 28-March 7.- 2015.- С.73-78.
11. Милованова Л.Ю. Роль малобелковой диеты, сбалансированной эссенциальными аминокетокислотами и высокоэнергетической питательной смесью в профилактике нарушений нутритивного статуса и торможении прогрессирования хронической болезни почек 3б-4ст./ Милованова Л.Ю., Маркина М.М.// Materials of XI international research and practice conference «Modern scientific potential-2015» February 28-March 7.- 2015.- С.40-45.
12. Milovanova L.Y. Role of morphogenetic proteins- FGF-23, Klotho and glycoprotein sclerostin in vascular calcification in patients with chronic kidney disease/ Milovanova L.Y., Lebedeva M.V., Beketov V.D. //II Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы и достижения в медицине». Сборник научных трудов по итогам конференции. – Самара.- 2015.- С.95-101.
13. Milovanova L. Role of Morphogenetic Proteins –FGF-23, soluble alfa-Klotho in Vascular Calcification in Patients with Chronic Kidney Disease// International Society of Blood Purification Congress. Сборник докладов по итогам конгресса - 2015г.

14. Milovanova L.Y. Role of circulating cardioprotective protein Klotho in chronic kidney disease/ Milovanova L.Y., Kudriavtseva D.V., Markina M.M.// News of Science and Education.- №5(29).- 2015.- ISSN 2312-2773.
15. Милованова Л.Ю. Морфогенетические белки – фактор роста фибробластов -23 (FGF-23) и Klotho в сыворотке крови больных с хронической болезнью почек, как маркеры сердечнососудистого риска/ Милованова Л.Ю., Козловская Л.В., Маркина М.М. // *Клиническая медицина*. – 2015.- Vol.4.- С.43-49.
16. Милованова Л.Ю. Сывороточный уровень морфогенетического белка - фактора роста фибробластов – 23 (FGF-23) как маркер эффективности лечения гиперфосфатемии фосфат-биндерами при ХБП/ Мухин Н.А., Козловская Л.В., Добросмыслов И.А., Милованова Л.Ю. // *Тер.арх.*- 2016 - №6. - С. 80-85.
17. Milovanova L.Impact of anemia correction therapy on cardio-vascular risk marker-serum soluble alpha Klotho protein in chronic kidney disease patients/ Markina M., Milovanova L., Kozlovskaya L. //Nephrol. Dial.Transplant. - 2016.- 31.Suppl 1.- i197-i198. doi:10.1093/ndt/gfw166.15.
18. Milovanova L. Influence of essential amino acids ketoanalogues and protein restriction to morphogenetic proteins (FGF-23 and soluble Klotho) in CKD patients/ Milovanova L., Dudareva A. //Nephrol. Dial. Transplant.-2016.- 31. Suppl 1. - i204. doi:10.1093/ndt/gfw167.14.
19. Milovanova L. Glycoprotein sclerostin and vascular calcification in patients with chronic kidney disease/ Borisov A., Milovanova L., Ermolaeva I. // Nephrol. Dial. Transplant.- 2016.- 31. Suppl 1. - i426.- doi:10.1093/ndt/gfw188.15.
20. Milovanova L. Impact of traditional antihypertensive therapy on cardiovascular risk marker-Klotho in chronic kidney disease patients/ Mukhin N., Milovanova L.//Nephrol. Dial. Transplant. – 2016.-Vol 31. Suppl 1.- i427-i428. doi:10.1093/ndt/gfw188.19.
21. Milovanova L. Association of FGF-23 and KLOTHO serum levels with cardiovascular risk in chronic kidney disease patients/ Dudareva A., Milovanova L., Brovko M.// Nephrol. Dial. Transplant. – 2016.-Vol 31. Suppl 1.- i432 doi:10.1093/ndt/gfw188.34.
22. Milovanova L. Impact of vitamin D receptor activators on cardiovascular risk marker – Klotho in chronic kidney disease patients/ Kozlovskaya L., Dobrosmislov I., Milovanova L.//Nephrol. Dial. Transplant.- 2016.-Vol 31. Suppl 1.- i432. doi:10.1093/ndt/gfw188.35.
23. Milovanova L. Impact of hyperphosphatemia corrective therapy on cardiovascular risk marker - FGF-23 in chronic kidney disease patients/ Milovanov Y., Dudareva A., Milovanova L. //Nephrol. Dial. Transplant.- 2016. - Vol 31. Suppl 1.- i469-i470. doi:10.1093/ndt/gfw190.49.
24. Милованова Л.Ю. «Минеральные и костные нарушения при хронической болезни почек»// издательство ИНФРА-М (Клиническая практика) –Москва.- 2014.
25. Милованова Л.Ю. «Сывороточные уровни морфогенетических белков – фактора роста фибробластов (FGF-23) и Klotho при ХБП. Клиническое значение»//Lambert.- Германия.- 2015.
26. Милованова Л.Ю. Нарушение в системе регуляторов минерального и костного обмена (FGF-23,Klotho,склеростин) при хронической болезни почек. //Издательство ГЭОТАР-медиа.- Москва.- 2017.
27. Милованова Л.Ю. Питание больных на додиализных стадиях хронической болезни почек/ Лысенко Л.В., Милованова Л.Ю., Шилов Е.М.// Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения РФ.- ГЭОТАР-медиа.- Москва.- 2016.
28. Milovanova L. Phosphorus and Calcium Metabolism Disorders Associated with Chronic Kidney Disease Stage III-IV (Systematic Review and Meta-Analysis)/ Milovanova L., Plotnikova A.// Chapter in the book «Chronic Kidney Disease and renal Transplantation». Ed. by Manisha Sahay. INTECH. 2012.- С. 95-118.
29. Milovanova L. Nutritional status disorders in Chronic Kidney Disease: practical aspects/ Milovanova L., Fomin V.V., Mukhin N.A.// Chapter in the book «Chronic Kidney Disease». INTECH. – 2017.- С. 95-118. ISBN 978-953-51-5463-1.

30. Milovanova L. Disorders in the System of Mineral and Bone Metabolism Regulators—FGF-23, Klotho and Sclerostin—in Chronic Kidney Disease: Clinical Significance and Possibilities for Correction/ Milovanova L., Fomin V.V., Lysenko (Kozlovskaya) L.V. //Chapter in the book «Chronic Kidney Disease». INTECH. – 2017. ISBN 978-953-51-5463-1
31. Milovanova L. Anemia in Chronic Kidney Disease and After Kidney Allotransplantation (Systematic Review)/ Milovanova L., Lysenko (Kozlovskaya) L., Mukhin N., Fomin V. // Chapter in the book «Chronic Kidney Disease». INTECH. – 2017. ISBN 978-953-51-5450-1
- 32 Milovanova L. cardio-renalprotective effects, including impact on FGF-23 and Klotho, of protein restriction diet supplemented by essential amino acids ketoanalogues, in CKD 3B-4 stages russian patients/ Milovanova L., Fomin V., Lysenko (Kozlovskaya) L., Mukhin N.// Nephrol Dial Transplant.- 2017.- Vol. 32. Suppl 3.- С. iii590-iii591.
DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfx172.MP441>
33. Милованова Л.Ю. Факторы риска развития анемии на ранних стадиях хронической болезни почек/ Милованов Ю.С., Козловская Л.В., Милованова Л.Ю., Маркина М.М., Козлов В.В., Таранова М.В., Фомин В.В. // Тер. Архив - 2017.- 89(6).- С.41-47.

АННОТАЦИЯ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Миловановой Людмилы Юрьевны (Российская Федерация)

Оценка кардиоваскулярного риска у больных ХБП с использованием морфогенетических белков (FGF-23, sKlotho) и гликопротеина склеростина; значение для оптимизации кардионепропротективной стратегии.

Работа посвящена изучению ранних маркеров сердечно-сосудистых осложнений, составляющих основную причину смерти у больных хронической болезнью почек и в общей популяции. В исследование включено 130 пациентов с ХБП 1-5 ст. У всех больных помимо традиционных показателей фосфорно-кальциевого обмена (ПТГ, кальций, фосфор) исследовали сывороточный уровень FGF-23, sKlotho, склеростина и тропонина I - с использованием наборов ELISA kit; измеряли уровень центрального (аортального) АД, скорость пульсовой волны (СПВ) - с помощью прибора «SphygmoCor» (Австралия); выполняли ЭКГ, ЭхоКГ, рентгенографию брюшной аорты по методу Каурпила (для оценки степени кальцификации аорты), а также оценивали влияние на сывороточные уровни изучаемых маркеров препаратов, применяемых для нефропротекции. Показано, что сывороточные уровни FGF-23, Klotho, и склеростина являются более ранними маркерами костно-минеральных нарушений и сердечно-сосудистого риска (развитие ГЛЖ и кальцификации сердца и сосудов), чем гиперфосфатемия и повышение уровня ПТГ у больных ХБП. Среди возможных причин снижения экспрессии sKlotho как кардионепропротективного фактора имеет значение АГ, ишемия почки на фоне анемии, БЭН. Повышение в сыворотке уровня FGF-23 у больных ХБП оказывает прямое, независимое от уровня АД, токсическое влияние на миокард с увеличением уровня тропонина –I. Эти нарушения могут служить маркером формирования ремоделирования сердца и сосудов. Повышение уровня склеростина по мере прогрессирования ХБП направлено против развития кальцификации сердца и сосудов. Кардионепропротективная терапия у больных ХБП ассоциируется с более высоким сывороточным уровнем sKlotho и менее выраженным кальцинозом сердца и сосудов при применении иАПФ и сартанов, чем при использовании других антигипертензивных препаратов. Сочетание иАПФ и сартанов со стимуляторами эритропоэза (эпоэтин + железо), фосфатбиндерами (некальцийсодержащими – севеламера гидрохлорид), малобелковой диетой с добавлением кетоаналогов аминокислот сопровождается еще более эффективной коррекцией нарушений в системе FGF-23, Klotho и склеростин и уменьшением сердечно-сосудистого риска, указывая на роль морфогенетических белков и в первую очередь – предупреждения снижения сывороточного уровня sKlotho, в торможении процессов ремоделирования сердца и сосудов и механизмах реализации кардионепропротективных эффектов этих препаратов. Сывороточный уровень

изученных маркеров может являться предиктором сердечно-сосудистого прогноза и использоваться для мониторинга эффективности терапии ХБП.

SUMMARY

Milovanova Ludmila Yurievna (Russian Federation)

Evaluation of cardiovascular risk in CKD patients using morphogenetic proteins (FGF-23, sKlotho) and sclerostin glycoprotein; importance for cardio-nephroprotective strategy optimizing.

The work is devoted to the study of early markers of cardiovascular risk, that is the main cause of death in both patients with chronic kidney disease and in general population. The study included 130 patients with CKD 1-5 st. In addition to the traditional indicators of phosphate-calcium metabolism (PTH, calcium, phosphorus), all patients were examined serum levels of FGF-23, sKlotho, sclerostin and troponin I - using ELISA kit. The level of the central (aortic) blood pressure, pulse wave velocity - with help of "SphygmoCor" (Australia) were measured; ECG, echocardiography, abdominal aorta radiography, using the Kauppila method (to assess the degree of aorta calcification) were performed, as well as the effects of drugs, traditionally used for nephroprotection, on serum levels of the studied markers. It was shown that serum levels of FGF-23, Klotho, and sclerostin are earlier biomarkers of bone mineral and cardiovascular risk (development of LVH and cardiovascular calcification) than hyperphosphatemia and PTH increasing in patients with CKD. Among the possible reasons for sKlotho level decrease, as a cardioneuroprotective factor, are the significance of arterial hypertension, kidney ischemia due to anemia, protein energy malnutrition. Increase in serum level of FGF-23 has a direct, independent from blood pressure level, a toxic effect on the myocardium with an increase in troponin-I serum levels in CKD patients. These disorders can serve as a marker of cardiac and vascular remodeling formation. The increase in sclerostin levels as progression of CKD, is directed against cardiac and vessels calcification development. Cardioneuroprotective therapy in CKD is associated with a higher sKlotho serum level and low cardiac and arterial vessels calcification degree with the use of ACE inhibitors than other antihypertensive drugs used. The combination of ACE inhibitors and ARB with stimulators of erythropoiesis (epoetin + iron), phosphatbinders (noncalcium containing - sevelamer hydrochloride), as well as with a low protein diet supplemented with amino acid keto analogs used is accompanied by a more effective reduction of cardiovascular risk, indicating the role of morphogenetic proteins, first of all sKlotho, in cardiac and vascular remodeling processes and mechanisms of cardio-nephroprotective effects of these drugs realization. The serum levels of the studied markers can be an indicators of the cardiovascular prognosis and be used to monitor of CKD therapy effectiveness.

Список сокращений

АД - артериальное давление
АГ - артериальная гипертензия
БЭН - белково-энергетическая недостаточность
БРА- блокаторы рецепторов ангиотензина II
ВГПТ – вторичный гиперпаратиреоз
ГЛЖ- гипертрофия левого желудочка сердца
ГД- гемодиализ
ГДФ – гемодильтрация
ЗПТ- заместительная почечная терапия
ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка
и-АПФ - ингибиторы АПФ
ИБС- ишемическая болезнь сердца
КА – кетоаналоги
МБД – малобелковая диета
ОИМ- острый инфаркт миокарда
ОКС- острый коронарный синдром
ПТГ- паратиреоидный гормон
ССО - сердечно-сосудистые осложнения
СПВ - скорость пульсовой волны
СРБ – С-реактивный белок
СКФ- скорость клубочковой фильтрации
ФСФ- фосфатсвязывающие препараты
ХБП - хроническая болезнь почек
ХСН – хроническая сердечная недостаточность
ЭПО – препараты эритропоэтина
ЦАД - центральное артериальное давление
ЦсАД- центральное систолическое артериальное давление