

На правах рукописи

Ананьин Петр Владимирович

РОЛЬ ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ 23 В
ФОРМИРОВАНИИ КОСТНО-МИНЕРАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У
ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

14.01.08 - Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва-2016

Работа выполнена в федеральном государственном автономном учреждении «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Алексей Николаевич Цыгин

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой педиатрии лечебного
факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.
Пирогова Минздрава России

Светлана Стояновна Паунова

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой госпитальной и
поликлинической педиатрии ГБОУ ВПО
ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава
России

Татьяна Леонидовна Настаушева

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «27» сентября 2016 года в «12» часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при федеральном государственном автономном учреждении «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр.1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного автономного учреждения «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр.1 и на сайте <http://www.nczd.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2016 года.

Ученый секретарь диссертационного
совета доктор медицинских наук
профессор РАН

Винярская Ирина Валерьевна

Актуальность

Нарушения костного и минерального обмена сопровождают большую часть заболеваний почек у детей. В связи с открытием в 2000 году нового фосфатурического гормона – фактора роста фибробластов 23 (FGF-23 – fibroblast growth factor 23) в современной науке произошла переоценка взглядов на регуляцию фосфорно-кальциевого обмена в организме, а также участие в этом процессе костной ткани и почек (Yamashita T., 2000).

По современным представлениям, в регуляции сывороточного уровня кальция и фосфора участвует не только паратгормон (ПТГ) и 1, 25-дигидроксивитамин D, но и фактор роста фибробластов 23 и его кофактор Klotho. FGF-23 вырабатывается в костной ткани остеобластами и остеокластами и увеличивает потери фосфора с мочой за счет блокады натрий-фосфорного транспортера в проксимальном канальце нефрона. Так же FGF-23 угнетает 1 α -гидроксилазу проксимального почечного канальца, приводя к снижению продукции 1, 25 – дигидроксивитамина D, и стимулирует 24-гидроксилазу, приводя к ускоренной деградации активной формы витамина D.

В физиологических условиях уровень фосфора в сыворотке поддерживается равновесием между поступлением из тонкой кишки, экскрецией в почках и депонированием или выведением фосфора из костной ткани. Основным механизмом регуляции является изменение уровня реабсорбции через натрий-фосфорный транспортер (NaPi-IIa,b) на мембране проксимального канальца нефрона. Нарушение функции или регуляции этого ионного канала отмечается при всех фосфортертяющих состояниях почечного генеза. Уровень FGF-23, а также генов, регулирующих его экспрессию, был исследован при данной патологии на животных моделях (Amatschek S., 2010), что привело к более глубокому пониманию патогенеза наследственных гипофосфатемий. Развитие высоких потерь фосфора с мочой и костных изменений при наиболее распространенных наследственных

гипофосфатемических рахитах (ГФР) в настоящий момент связывают с повышением активности FGF-23. В мировой литературе встречаются единичные публикации, описывающие различия активности FGF-23 при разных типах тубулопатий и при гипофосфатемических состояниях, связанных с дефицитом витамина D или вторичным гиперкортицизмом (Endo I., 2008, Weber T.J., 2003). В данных исследованиях уровень FGF-23 достоверно отличался при разных типах нарушений фосфорного обмена (Endo I., 2008). FGF-23 оказался перспективным маркером состояния фосфорно-кальциевого обмена, однако имеющихся данных недостаточно для его использования в клинической практике у детей. В настоящее время является актуальным проведение подобных исследований в детской популяции.

В то же время активно исследуется проблема минеральных и костных нарушений при хронической болезни почек (ХБП) другой этиологии. В многочисленных исследованиях на взрослых больных показано, что отмечается прогрессивное повышение уровня FGF-23 в сыворотке крови вместе со снижением скорости клубочковой фильтрации (Милованов Ю.С., 2011, Larsson T., 2003). По данным последних публикаций, FGF-23 является наиболее ранним маркером прогрессирования минеральной костной болезни при хронической болезни почек. Уровень FGF-23 в крови повышался еще до появления вторичного гиперпаратиреоза и изменения сывороточной концентрации фосфора (Vacchetta J., 2010, Oliveira R.V., 2010). Однако роль FGF-23 в развитии минеральных нарушений у детей с хронической болезнью почек с выраженным снижением скорости клубочковой фильтрации изучена недостаточно. В настоящее время является актуальным исследование FGF-23 у детей и решение вопроса о клинической важности данных маркеров.

Цель работы - установить роль фактора роста фибробластов в патогенезе нефропатий, сопровождающихся нарушением обмена фосфатов у детей, и выявить взаимосвязь с общепринятыми показателями минерального обмена.

Задачи исследования

1. Оценить уровень интактного фактора роста фибробластов у детей с гипофосфатемическим рахитом, синдромом Фанкони, стероидным остеопорозом и хронической болезнью почек 3-5 стадии в сравнении со здоровыми детьми.
2. Исследовать биохимические показатели обмена фосфатов в сыворотке крови и моче у детей с гипофосфатемическим рахитом, синдромом Фанкони, стероидным остеопорозом и хронической болезнью почек 3-5 стадии и изучить их связь с уровнем iFGF-23.
3. Описать клиническое течение гипофосфатемического рахита на фоне проводимого лечения, в том числе оперативного.
4. Оценить исследование уровня интактного фактора роста фибробластов 23 у детей с различными стадиями хронической болезни почек в качестве раннего маркера минеральной костной болезни.
5. Выработать рекомендации по оптимизации консервативной терапии и хирургической тактики у детей при гипофосфатемическом рахите.

Научная новизна

Впервые изучен FGF-23 у детей с различными формами фосфортеряющих тубулопатий. Получены убедительные доказательства роли FGF-23 как основного фосфатурического фактора у детей при гипофосфатемическом рахите. Выявлена достоверная связь между уровнем FGF-23 крови и степенью фосфатурии у детей с ГФР.

Впервые продемонстрирован высокий уровень FGF-23 при синдроме Фанкони. Показано, что FGF-23 может принимать вторичное участие в патогенезе минеральных и костных нарушений при синдроме Фанкони.

Впервые изучены взаимосвязи FGF-23 с основными показателями минерального обмена у детей со стероидным остеопорозом. Продемонстрировано, что для детей с остеопорозом характерно повышение

уровня FGF-23, вероятнее всего, как ответ на терапию метаболитами витамина D.

Установлено, что для детей со сниженной фильтрационной функцией почек характерно повышение уровня интактного фактора роста фибробластов. Кроме того, продемонстрировано повышение FGF-23 по мере дальнейшего снижения функции почек. Уровень FGF-23 достигает максимальных значений при хронической болезни почек 5 стадии.

Практическая значимость

Результаты работы позволяют рекомендовать измерение уровня iFGF-23 в крови у детей с нарушениями почечного транспорта фосфора, как в процессе диагностики, так и на фоне терапии, также рекомендовано измерение уровня iFGF-23 у детей со снижением функции почек по клубочковой фильтрации.

Детям с ХБП с высоким уровнем iFGF-23 следует уделить особое внимание и проводить комплексную оценку минерального обмена. Повышение уровня iFGF-23 в крови следует считать ранним маркером минеральной костной болезни при ХБП. У детей с высоким уровнем iFGF-23 крови следует рано начинать терапию альфакальцидолом или кальцитриолом и рекомендовать ограничение потребления фосфора с пищей даже при отсутствии других маркеров минерально-костной болезни при ХБП.

Детям с X-сцепленным гипофосфатемическим рахитом рекомендуется раннее начало заместительной терапии фосфатами в дозе 40-80 мг/кг/сутки (по элементарному фосфору) и альфакальцидолом или кальцитриолом в дозе 10-80 нг/кг. Раннее начало консервативной терапии может помочь избежать оперативного лечения костных деформаций нижних конечностей или отсрочить хирургическую коррекцию.

Внедрение результатов исследования в практику. Основные научные положения и рекомендации настоящего исследования используются в научной и клинической работе нефрологического отделения и отделения

восстановительного лечения детей с нефро-урологическими заболеваниями, ожирением и метаболическими болезнями ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России.

Апробация материалов диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XIX Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы в педиатрии» (Москва, февраль 2016 г.).

По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикаций результатов диссертационных исследований.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах, включая 12 таблиц и 17 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, описания объема и методов исследования, 2 глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 143 источника, из них 9 отечественных и 134 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Работа выполнена в нефрологическом отделении (руководитель – д.м.н., профессор Цыгин А.Н.), лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии (руководитель – д.м.н., профессор Маянский Н.А.), на базе ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России (директор – академик РАН, профессор Баранов А.А.).

В исследование было включено 87 детей в возрасте от 7 месяцев до 17 лет 10 месяцев. Среди детей, включенных в исследование, 56 девочек и 31 мальчик. Сформировано 4 группы: дети с гипофосфатемическим рахитом (n=15), дети с синдромом Фанкони (n=9), дети с нефротическим синдромом с вторичным остеопорозом на фоне стероидной терапии (n=10) и дети с

хронической болезнью почек 3-5 стадии (n=35). Распределение по полу и возрасту представлено в таблице 1.

У детей, страдающих нефропатиями, исследованы биохимические показатели фосфорного обмена: уровень фосфора, кальция, паратгормона и креатинина сыворотки крови. У больных нефропатиями с сохранной функцией почек и с ХБП 3 стадии исследован уровень фосфора и креатинина в разовой порции мочи и рассчитана фракционная экскреция фосфора (ФЭ). У всех детей измерен уровень креатинина сыворотки и рассчитана скорость клубочковой фильтрации по формуле Шварца (Schwartz G.J., 2009).

Таблица 1. Распределение детей в группах по полу и возрасту

		ГФР	Синдром Фанкони	ХБП 3-5 ст.	Остеопороз	Группа сравнения
n		15	9	35	10	18
Пол	Девочки	15	5	15	8	12
	Мальчики	0	4	20	2	6
Возраст (годы)	Минимум	3,83	1,33	0,58	8,58	3,25
	Максимум	17,58	11,92	17,92	17,08	17,75
	Среднее	10,21	5,08	9,31	11,79	10,73
	σ	3,52	3,63	5,24	2,99	4,26

Уровень интактного FGF-23 был одновременно измерен во всех накопленных сыворотках крови иммуноферментным методом. Для теста использован коммерческий набор “ELISA Kit for Fibroblast Growth Factor 23” («USCN», США).

Группа сравнения составила 18 здоровых детей, в данной группе измерен только уровень фактора роста фибробластов 23. На основании результатов рассчитаны референсные значения.

В группу детей с гипофосфатемическим рахитом вошло 15 девочек, средний возраст $10,21 \pm 3,52$ лет. На момент исследования все дети получали терапию фосфатами длительностью от 1 до 114 месяцев (Me 29,0 мес, 6,0; 48,0)

в дозе от 16,21 до 103,33 мг/кг (М 51,89±24,04 мг/кг). Так же все дети получали терапию альфакальцидолом в дозе от 11,6 до 119 нг/кг/сутки (М= 49,76±33,32 нг/кг).

Клинически отмечалось отставание в росте, варусные или вальгусные деформации нижних конечностей. Большая часть пациенток – 11 (73,3%) в анамнезе имели оперативные вмешательства по поводу костных деформаций. Первые оперативные вмешательства были произведены в возрасте от 3 до 12 лет (М 6,83±2,63 года). У 10 из 11 оперированных девочек отмечались рецидивы деформаций. У 2 детей наблюдалась выраженная положительная динамика с ликвидацией показаний к оперативному лечению на фоне заместительной терапии фосфатами и метаболитами витамина D, начатой у одной из девочек в возрасте 1 года 11 месяцев, у второй – с возраста 2 года 4 месяца.

В исследование включено 9 детей с синдромом Фанкони. Средний возраст составил 9,31±3,63 лет. Семеро из них наблюдались с диагнозом нефропатический цистиноз, один ребенок с синдромом Лоу и один ребенок с дистальным ренальным тубулярным ацидозом. Все дети на момент включения в исследование получали терапию фосфатами продолжительностью от 1 до 60 месяцев (Ме 16,0, 6,0: 29,0) в дозе от 13,40 до 95,23 мг/кг (М 50,08±28,50 мг/кг).

В исследование включено 35 детей с хронической болезнью почек 3-5 стадии, средний возраст 9,31± 5,24 лет, из них 18 детей с додиализной стадией хронической болезни почек (10 детей в 3 стадии ХБП и 8 – в 4 стадии) и 16 детей, получающих заместительную почечную терапию на базе центра гравитационной хирургии крови и гемодиализа ДГКБ св. Владимира (руководитель к.м.н. Зверев Д.В.).

В группу детей с нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом включено 10 детей, средний возраст 11,79±2,99 лет. В исследование вошли дети, страдающие нефротическим синдромом в стадии

ремиссии с признаками стероидной токсичности и сохранной функцией почек по клубочковой фильтрации (СКФ по формуле Шварца >90 мл/мин). Все дети получали длительную высокодозную стероидную терапию, минимальная длительность стероидной терапии в дозе 2 мг/кг массы тела (или 60 мг/сутки) составила 6 недель. На момент исследования все дети получали терапию преднизолоном в дозе от 10 мг через день до 30 мг через день или метилпреднизолоном в эквивалентной дозе. У всех включенных детей отмечались в анамнезе переломы тел позвонков (от 1 до 5). Остеопения по данным рентгеновской остеоденситометрии отмечалась у 7 детей. На момент включения в исследование все дети получали терапию альфакальцидолом в дозе от 3,85 до 27,37 нг/кг/сутки (M $11,32 \pm 8,35$ нг/кг/сутки).

Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере в программе IBM SPSS 20 для Windows с использованием параметрических и непараметрических методов. Количественные данные в группах предварительно проверялись на нормальность распределения с помощью W теста Шапиро-Уилка. При оценке различий средних для количественных признаков с нормальным распределением использовался критерий Стьюдента; для признаков, распределение которых было отлично от нормального - непараметрические критерии: медианный (k), Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. Для выявления зависимости между парными показателями применялся корреляционный анализ с использованием непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r). Сила связи оценивалась при $r < 0,25$ как слабая, при $0,25 < r < 0,75$ как умеренная и при $r > 0,75$ как сильная. Статистически значимыми считались различия между показателями при уровне вероятности ошибки $p < 0,05$. При значении $p < 0,01$ – значимость различий считалась высокой. При значении $p \leq 0,001$ – равной 99,9%.

Результаты исследования и их обсуждение

В группе сравнения измерен уровень iFGF-23. У 6 из 18 детей получены значения iFGF-23 ниже границы определения, средний уровень составил $22,92 \pm 20,11$ пг/мл. Рассчитанная на основании наших данных верхняя граница нормальных значений (95 перцентиль) составила 54,3 пг/мл. Полученные нами данные соответствуют результатам зарубежных работ, проведенных у взрослых (Igaki J.M., 2011).

Показатели минерального обмена у детей с хронической болезнью почек 3-5 стадии

У детей в группе ХБП 3-5 стадии по данным исследования общепринятых показателей минерального обмена выявлена гиперфосфатемия в 41,2%, гипокальциемия в 17,1%, гиперпаратиреоз в 85,7% случаев. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2. Показатели минерального обмена при ХБП 3-5 стадии

Фосфор сыворотки (ммоль/л)	n	34
	Мин-макс	0,83-4,34
	М \pm σ	1,90 \pm 0,69
Са (ммоль/л)	n	35
	Мин-макс	1,99-2,9
	М \pm σ	2,30 \pm 0,21
ЩФ ЕД/л	n	34
	Мин-макс	38-712
	М \pm σ	241 \pm 149
ПТГ пг/мл	n	35
	Мин-макс	4,19-2500
	Ме (25; 75)	206,7 (116,0; 422,0)
ФЭ РО4 (%)	n	10
	Мин-макс	11,1-68,6
	Ме (25; 75)	15,9 (11,4; 24,6)

Высокий уровень общей щелочной фосфатазы относительно возрастных нормативов отмечен в 11,8% случаев, низкий – в 14,3% случаев. Фракционная экскреция фосфора измерена у 10 из 35 больных в 3 и 4 стадиях ХБП. Зафиксированы как высокие, так и низкие значения фракционной экскреции

фосфора в пределах от 11,1% до 68,6%. Фосфатурия зафиксирована у 60% детей.

Уровень iFGF-23 у больных с ХБП 3-5 стадии составил $613,71 \pm 1016,60$ пг/мл, от 20,15 пг/мл, до 1153,96 пг/мл. Группа ХБП 3-5 стадии достоверно отличалась по уровню iFGF-23 от группы сравнения ($p < 0,01$) (рисунок 1).

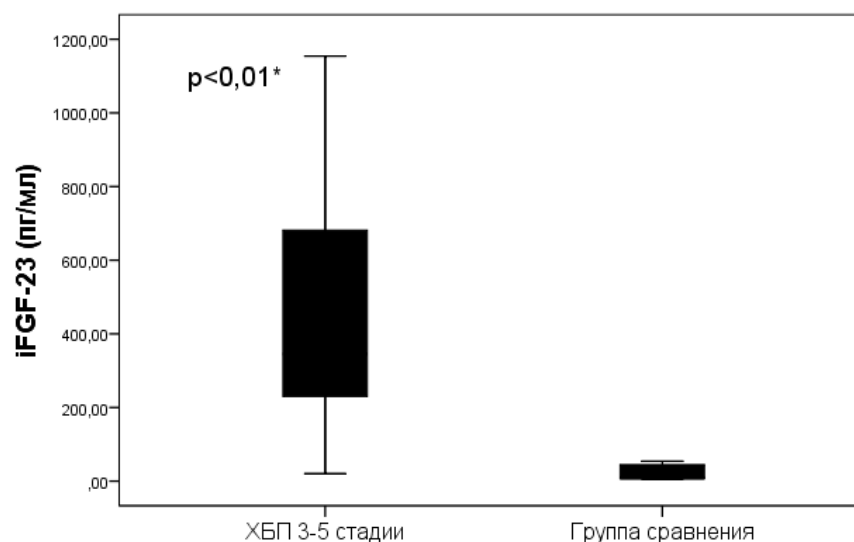


Рисунок 1. Уровень iFGF-23 у детей со сниженной СКФ и в группе сравнения

У детей с хронической болезнью почек 3-5 стадии выявлена отрицательная корреляция умеренной силы ($r = -0,678$, $p < 0,01$) между расчетной СКФ по формуле Шварца и уровнем iFGF-23 крови (рисунок 2).

Максимальные значения iFGF-23 фиксировались при 5 стадии ХБП у детей, получающих заместительную почечную терапию. Минимальные значения iFGF-23 крови зафиксированы у 2 детей в 3 стадии ХБП, имеющих расчетную СКФ по формуле Шварца 56 и 53 мл/мин и не имеющих отклонений исследованных показателей минерального обмена от возрастных нормативов.

Также были выявлены различия в уровне iFGF-23 между детьми с разной стадией ХБП, (таблица 3).

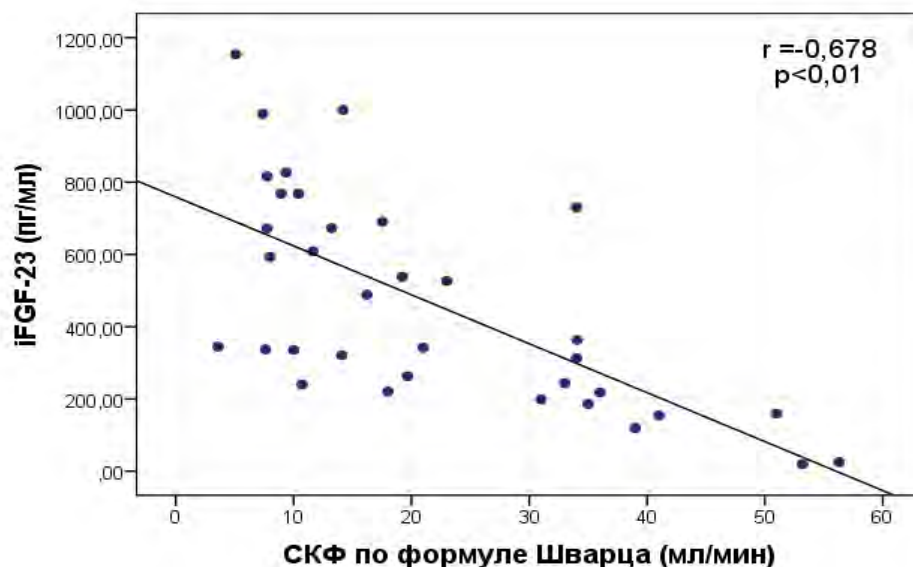


Рисунок 2. Диаграмма рассеяния iFGF-23 и СКФ по формуле Шварца при ХБП 3-5 стадии.

Таблица 3. Уровень iFGF-23 (пг/мл) у больных в разной стадии ХБП

	ХБП 3 ст.	ХБП 4 ст.	ХБП 5 ст.		
			Все	ПД	ГД
n	10	8	17	8	9
Среднее	163,77	453,24^{**}	646,21^{**}	643,82	648,34
Ст. откл.	91,33	189,04	269,55	283,11	274,17
Медиана	172,81	426,37[*]	672,00[‡]	672,54	608,50
25-75 процентиль	95,98- 224,52	282,84- 649,60	341,20- 821,50	387,53- 768,23	340,30- 907,80
Минимум	20,15	220,66	239,9	239,90	320,86
Максимум	312,64	730,03	1153,96	1153,96	1000,0
* – $p < 0,05$ в сравнении с ХБП 3 стадии					
** – $p < 0,01$ в сравнении с ХБП 3 стадии					
‡ – $p \leq 0,001$ в сравнении с ХБП 3 стадии					

Проанализировано наличие у детей высокого уровня iFGF-23, ПТГ, и гиперфосфатемии. В нашем исследовании 5 (14,29%) детей с ХБП 3-5 стадии имели нормальные значения фосфора крови и уровня ПТГ, однако у них уже зафиксировано повышение уровня iFGF-23 крови. Не было выявлено ни одного пациента с уже развившимся гиперпаратиреозом или гиперфосфатемией и

нормальным уровнем iFGF-23. Повышение уровня FGF-23 было первым признаком нарушения минерального обмена у этих детей, что свидетельствует о целесообразности применения iFGF-23 в качестве раннего маркера минеральных нарушений при хронической болезни почек у детей. Полученные нами данные приоритетны для отечественной детской нефрологии и согласуются с результатами исследований, проведенных у взрослых пациентов (Милованов Ю. С., 2011, Oliveira R.V., 2010, Weber T.J., 2003).

Показатели минерального обмена при нефропатиях с сохранной функцией почек у детей

Результаты исследования общепринятых биохимических показателей минерального обмена у детей с гипофосфатемическим рахитом, синдромом Фанкони, а также нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом представлены в таблице 4.

Гипофосфатемия выявлена у 13 (86,7%) больных с ГФР, 4 (44,4%) больных с синдромом Фанкони на фоне терапии препаратами фосфора, гиперфосфатемия не зафиксирована ни у одного из обследованных больных. У всех детей с остеопорозом фосфор крови находился в пределах референсных значений. Корреляционный анализ уровня фосфора крови с дозой потребляемого фосфора (выраженного в мг/кг массы тела) не выявил достоверной связи ($p > 0,05$) ни у детей с ГФР, ни с синдромом Фанкони.

Уровень ПТГ находился в пределах референсных значений (10-65 пг/мл) в группе ГФР у 8 (53,3%) детей, при синдроме Фанкони у 2 (22,2%) детей, при стероидном остеопорозе у 4 (40%) детей. Гиперпаратиреоз выявлен в 7 (46,7%) случаях при ГФР, 4 (44,4%) случаях при синдроме Фанкони и в 1 (10%) случае при стероидном остеопорозе.

Фракционная экскреция фосфора, превышающая 15%, зафиксирована у 15 детей (100 %) в группе ГФР, у 9 детей (100%) с синдромом Фанкони и у 1

ребенка со стероидным остеопорозом. У 9 детей с остеопорозом зафиксирована нормальная ФЭ фосфора.

Таблица 4. Биохимические маркеры минерального обмена в группах

		ГФР	Синдром Фанкони	ХБП	Стероидный остеопороз
Фосфор сыворотки (ммоль/л)	n	15	9	34	10
	Мин-макс	0,69-1,08	0,82-1,33	0,83-4,34	1,06-1,7
	М	0,92	0,82	1,90 ^{*/**}	1,41
	σ	0,12	0,2	0,69	0,20
Са (ммоль/л)	n	15	9	35	10
	Мин-макс	1,74-2,45	1,98-2,68	1,99-2,9	1,95-2,53
	М	2,31	2,35	2,30	2,35
	σ	0,18	0,19	0,21	0,18
ЩФ ЕД/л	n	15	9	34	10
	Мин-макс	80-575	239-727	38-712	31-197
	М	381 ^{***‡}	434 ^{***‡}	241 ^{****}	92
	σ	129	165	149	54
ПТГ пг/мл	n	15	7	35	10
	Мин-макс	40,2-149,2	5,2-364,4	4,19-2500	6,3-78,7
	Ме	64,0 [#]	133,3	206,7	18,2 [#]
	25-75 процентиль	54,7-110,8	31,1-241,6	116,0-422,0	10,1-51,0
ФЭ PO ₄ (%)	n	15	9	10	10
	Мин-макс	17,5-62,4	29,8-90,4	11,1-68,6	2,7-16,0
	Ме	26,1 [‡]	45,3 ^{‡/***}	15,9	5,6
	25-75 процентиль	20,4-30,2	39,5-58,4	11,4-24,6	4,4-9,04
Са – общий кальций сыворотки, ФЭ – фракционная экскреция					
* - p<0,05 в сравнении с ГФР					
** - p<0,05 в сравнении с синдромом Фанкони					
*** - p<0,05 в сравнении с ХБП					
**** - p<0,05 в сравнении с остеопорозом					
‡ - p<0,01 в сравнении с остеопорозом					
# - p<0,01 в сравнении с ХБП					

У всех детей исследован уровень iFGF-23 в крови, результаты представлены в таблице 5. Распределение признака не отличалось от нормального во всех исследованных группах, включая группу сравнения.

Однофакторный дисперсионный анализ показал достоверные различия в уровне iFGF-23 между группами ($p < 0,01$). Далее проведено попарное сравнение

основных групп с группой сравнения (рисунок 3)

Таблица 5. Уровень iFGF-23 у больных с различной патологией и группы сравнения (пг/мл)

	ГФР	Синдром Фанкони	Остеопороз	ХБП	Группа сравнения
М	73,11**	141,56**	106,65**	613,71**	22,92
σ	26,76	101,85	39,63	1016,60	20,11
Минимум	40,08	34,27	61,64	20,15	5,91
Максимум	125,71	302,64	147,74	6230,77	54,37
Me	64,50	90,16	117,61	345,00	8,70
25 перцентиль	52,37;	54,42	65,60	220,66	6,76
75 перцентиль	96,00	219,45	144,34	690,57	45,19

**отличие от группы сравнения при $p < 0,01$

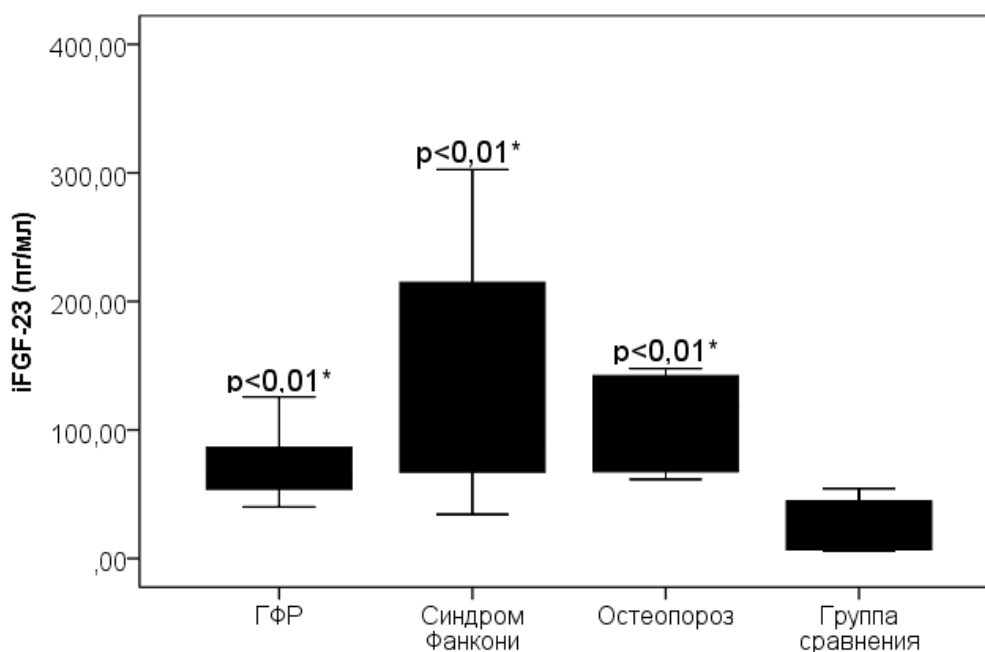


Рисунок 3. Уровень iFGF-23 у детей с нормальной функцией почек

Дополнительно проводился непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, который так же показал значимое различие между группами ($p \leq 0,001$). Попарное сравнение уровня iFGF-23 в группе сравнения с каждой из

основных групп с помощью U критерия Манна-Уитни показало значимые отличия от ГФР ($p \leq 0,001$), синдрома Фанкони ($p = 0,001$), стероидного остеопороза ($p \leq 0,001$) и ХБП 3-5 стадии ($p \leq 0,001$). Также попарное сравнение выявило различие в уровне iFGF-23 между ГФР и ХБП 3-5 стадии ($p \leq 0,001$).

Полученные значения iFGF-23 при гипофосфатемическом рахите сравнимы с данными у взрослых больных в зарубежных работах (Endo I., 2008, Igaki J.M., 2011). В настоящем исследовании, как и у наших зарубежных коллег (Endo I., 2008), выявлено несколько больных с ГФР, у которых уровень iFGF-23 не превышал референсных значений. Все эти больные имели умеренно повышенную экскрецию фосфатов, не более 20%. Данный феномен ярко демонстрирует связь между уровнем iFGF-23 и ФЭ у детей с ГФР. В подтверждение этого в нашей работе проведен корреляционный анализ, выявивший достоверную связь между ФЭ фосфатов и уровнем iFGF-23 ($r = 0,481$, $p < 0,05$) (рисунок 4).

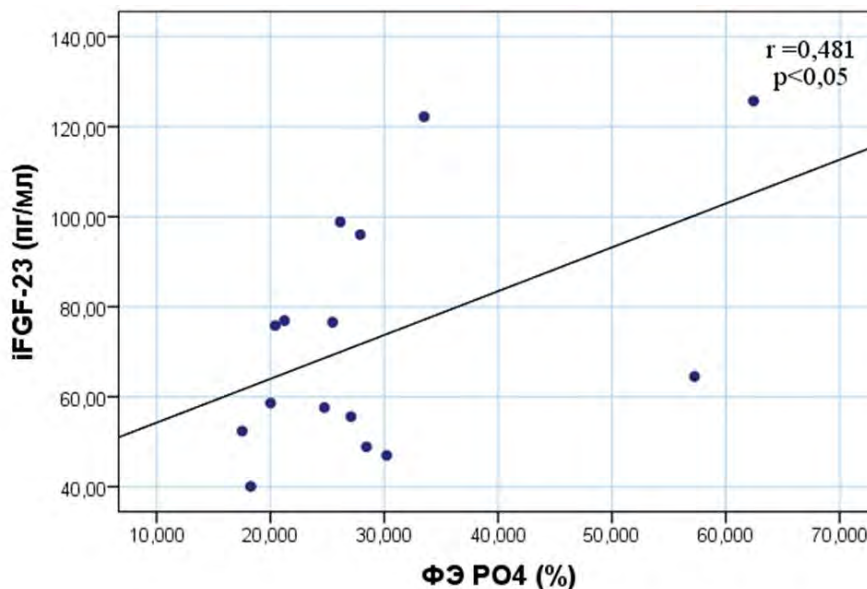


Рисунок 4. Диаграмма рассеяния фракционной экскреции фосфора и уровня iFGF-23 крови при гипофосфатемическом рахите.

В нашем исследовании выявлена положительная корреляционная связь между уровнем iFGF-23 и дозой принимаемого альфакальцидола ($r = 0,539$, p

<0,05). Можно предполагать, что потребление активных форм витамина D выше рекомендованных доз может приводить не только к увеличению количества таких побочных явлений как нефрокальциноз, но и к снижению эффективности терапии ГФР за счет увеличения фосфатурии.

У детей с синдромом Фанкони (n=7) средний уровень iFGF-23 достоверно превышал таковой в группе сравнения (M 141,56 ± 101,85 пг/мл, p<0,05). (отличие в уровне iFGF-23 от группы сравнения при p<0,05). У 2 (22,2%) детей с нефропатическим цистинозом уровень iFGF-23 был ниже границы определения. У 1 ребенка выявлен нормальный уровень iFGF-23, у 6 (66,7%) — высокий.

У детей с синдромом Фанкони не было выявлено статистической связи уровня iFGF-23 с фракционной экскрецией фосфора, и дети имели высокую экскрецию фосфора даже при уровне iFGF-23 ниже границы определения. Связи уровня iFGF-23 с общепринято исследуемыми биохимическими показателями не найдено.

Следует отметить, что в работе Endo I. et al представлено 8 пациентов с синдромом Фанкони. У всех 8 пациентов получен низкий уровень iFGF-23 в крови (максимальное зафиксированное значение 28 пг/мл). Однако в данное исследование были включены одновременно дети и взрослые больные (возраст больных от 1 до 75 лет).

Сопоставление полученных в нашей работе данных с результатами исследований Ferrari S.L. и соавторов (2005) о влиянии потребления фосфора с пищей на уровень FGF-23 у здоровых людей позволяет предположить, что высокое поступление фосфора из кишечника является основным стимулирующим фактором к повышению уровня iFGF-23 в крови.

В нашей работе впервые в мировой литературе получены данные о высоком уровне iFGF-23 крови пациентов с синдромом Фанкони.

Отсутствие корреляционной связи между уровнем iFGF-23 и фракционной экскрецией фосфора у детей с синдромом Фанкони объясняется тем, что при синдроме Фанкони наблюдается первичное поражение проксимального почечного канальца. Таким образом, iFGF-23 при синдроме Фанкони не имеет точки приложения в качестве фосфатонина и не может рассматриваться как первичный фактор развития фосфатурии. В то же время наличие высокого уровня iFGF-23 в крови у данной группы пациентов позволяет предположить его возможную прогностическую значимость, как, например, при хронической болезни почек.

Отсутствие корреляций между уровнем фосфора в крови и дозой препаратов фосфора у детей с ГФР и синдромом Фанкони свидетельствует о нецелесообразности назначения препаратов фосфора выше рекомендованных доз (40-80 мг/кг/сутки) в связи с неэффективностью. Было продемонстрировано, что повышение дозы фосфатов более 80 мг/кг/сутки не приводило к увеличению фосфора до возрастных референсных значений. Данное наблюдение свидетельствует о необходимости рационального подхода к назначению заместительной терапии препаратами фосфора у детей с гипофосфатемическими состояниями.

В нашей работе при исследовании группы из 10 детей с нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом в большинстве случаев (80%) получены высокие значения iFGF-23. При том, что мы не наблюдали каких-либо достоверных корреляционных связей с биохимическими показателями минерального обмена у этих больных, высокая концентрация iFGF-23 в крови у большинства может опосредованно свидетельствовать о «напряженном» костном обмене при данных нарушениях. В единственной на сегодняшний день работе, посвященной изучению уровня iFGF-23 в крови при вторичном стероидном остеопорозе, группой японских авторов был показан

низкий (ниже уровня определения) уровень iFGF-23 при стероидном остеопорозе у одного изученного ими взрослого больного (Endo I., 2008).

Несмотря на высокие значения iFGF-23 у детей с остеопорозом, ни у одного из больных не выявлено повышения фракционной экскреции фосфора и гипофосфатемии. Можно предположить, что в данной ситуации имеет место снижение экспрессии Klotho в клетках проксимального канальца, однако данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Нам впервые удалось продемонстрировать высокий уровень iFGF-23 у детей с вторичным остеопорозом, что открывает возможность более глубокого изучения патофизиологических закономерностей при данной патологии у детей.

Суммируя результаты нашей работы, можно заключить, что FGF-23 имеет патогенетическое, диагностическое и прогностическое значение при редких, но в то же время инвалидизирующих нефропатиях у детей, сопровождающихся нарушениями минерального обмена.

ВЫВОДЫ

1. У детей с гипофосфатемическим рахитом, синдромом Фанкони, стероидным остеопорозом и хронической болезнью почек 3-5 стадии выявлен достоверно более высокий уровень интактного фактора роста фибробластов 23 в крови в сравнении со здоровыми детьми ($p < 0,01$), что обусловлено различными патофизиологическими механизмами и свидетельствует о нарушении костно-минерального метаболизма.

2. Доказана роль FGF-23 как основного фосфатурического фактора у детей при гипофосфатемическом рахите. Выявлена достоверная связь между уровнем FGF-23 крови и степенью фосфатурии у детей с гипофосфатемическим рахитом.

3. На основании изучения клинической динамики детей с ГФР, подвергшихся хирургической коррекции костных деформаций в возрасте от 3

до 12 лет, установлена высокая частота рецидивов при отсутствии адекватной терапии фосфатами и витамином D. Это свидетельствует о нецелесообразности ранней хирургической коррекции костных деформаций без лечения препаратами фосфора.

4. Установлено, что для детей с почечной недостаточностью характерно повышение уровня iFGF-23 с максимальными значениями при хронической болезни почек 5 стадии. Данный факт подтверждает участие FGF-23 в формировании костно-минеральных нарушений при хронической болезни почек.

5. Повышение уровня iFGF-23 у детей при хронической болезни почек отражает тяжесть нарушений минерального обмена и указывает на необходимость раннего начала терапии фосфат-биндерами и метаболитами витамина D.

6. Детям с гипофосфатемическим рахитом обосновано раннее назначение препаратов неорганического фосфата и альфакальцидола или кальцитриола.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовано исследование уровня iFGF-23 в сыворотке крови у детей с нарушением почечного транспорта фосфора для оптимизации диагностики формы и стадии заболевания.

2. В лечении X-сцепленного гипофосфатемического рахита необходимо раннее назначение препаратов неорганического фосфата в дозе 40-80 мг/кг/сутки и альфакальцидола или кальцитриола в дозе 10-80 нг/кг/сутки, что позволяет предотвратить или отсрочить хирургическое лечение деформаций нижних конечностей.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Ананьин П.В., Комарова О.В., Вашурина Т.В., Зробок О.И., Зубкова И.В., Бржозовская Е.А., Панкратенко Т.Е., Музуров А.Л., Зверев Д.В., Цыгин А.Н. Роль фактора роста фибробластов 23 в патогенезе нарушений обмена фосфора при нефропатиях у детей. *Нефрология*, 2016, 20 (2) – С. 59-67.
2. Ананьин П.В., Комарова О.В., Вашурина Т.В., Зробок О.И., Цыгина Е.Н., Цыгин А.Н. Клинические и метаболические особенности детей с гипофосфатемическим рахитом. *Российский педиатрический журнал*, 2016, 19 (4): 223-227.
3. Ананьин П.В., Маянский Н.А., Зубкова И.В., Бржозовская Е.А., Зробок О.А., Вашурина Т.В., Дмитриенко С.В., Комарова О.В., Сергеева Т.В., Цыгина Е.Н., Цыгин А.Н. Фактор роста фибробластов 23 у детей с фосфор-теряющими тубулопатиями. Материалы XIX Съезда педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии», Москва, 2016. – С. 9.

Список сокращений

ГД — гемодиализ

ГФР — гипофосфатемический рахит

ЗПТ — заместительная почечная терапия

ПД — перитонеальный диализ

ПТГ – паратиреоидный гормон

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ФЭ – фракционная экскреция

ХБП – хроническая болезнь почек

ЩФ – щелочная фосфатаза

FGF-23 – фактор роста фибробластов 23

iFGF-23 — интактный фактор роста фибробластов 23