



Маркеры минеральных и костных нарушений при ХБП

В.Ю. Ряснянский

Кафедра внутренних болезней и нефрологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова

Синдром минерально-костных нарушений при ХБП Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (KDIGO, 2009)

Системное нарушение минерального и костного метаболизма в результате ХБП, манифестирующее следующими проявлениями (одним или их комбинацией):

1. Нарушениями метаболизма кальция, фосфора, витамина Д и ПТГ
2. Нарушениями скорости костного обмена, минерализации, объема, роста и прочности костной ткани
3. Кальцификацией сосудов или других мягких тканей

Методы диагностики

Проявление синдрома	Рутинные и относительно доступные методы оценки	Уточняющие и дополняющие методы оценки	проблемы
Нарушения метаболизма кальция, фосфора, ПТГ и витамина Д (причинные факторы ВГПТ)	Сывороточный уровень кальция, фосфора, ПТГ, вит. Д	FGF - 23	Индивидуальные колебания
Нарушения скорости костного обмена, минерализации, объема, роста и прочности костной ткани	ПТГ, ЩФ	Гистоморфологическое исследование, денситометрия	Необходимость более простых, надежных лабораторных маркеров, существующие трудно интерпретировать
Кальцификация сосудов или других мягких тканей	Рентгенография, ЭХО-КГ	Компьютерная томография, Оценка скорости пульсовой волны	Б/х маркеров процесса нет, можно говорить о факторах риска

Критерии качества коррекции МКН при ХБП, используемые в обычной клинической практике

- Фосфор
- Кальций
- Кальций-фосфорное произведение
- ПТГ

KDIGO 2009 (по сравнению с KDOQI 2003):

- значимое сужение целевых значений для фосфора
- расширение целевых значений для ПТГ

Фосфор – интерпретация проста

- Главный фактор риска смерти, основной стимул ВГПТ и кальцификации
- Отражает питательный статус
- Косвенный признак адекватности диализа (динамика выведения близка к средне-молекулярным веществам)
- Определяет показания к назначению фосфатсвязывающих препаратов
- Может быть относительным противопоказанием к назначению вит Д

Почему у ряда пациентов, с нормальным питательным статусом, отсутствием остаточной функции почек фосфор может быть на нижней границе нормы?

Кальций

- Фактор риска смерти, ко-стимул кальцификации
 - Вклад в патогенез ВГПТ имеет две фазы:
 1. гипокальциемия – стимул ВГПТ
 2. гиперкальциемия - показатель рефрактерного гиперпаратиреоза
- Для оценки чувствительности ПЩЖ – нужна оценка set point
- Влияет на выбор фосфатсвязывающего препарата (коррекцию или отмену)
 - Определяет выбор между вит. Д и кальцимитетиками
 - Присутствует в фосфатбиндерах, что затрудняет назначение вит Д (который усиливает его всасывание)

Кальций сложно интерпретировать

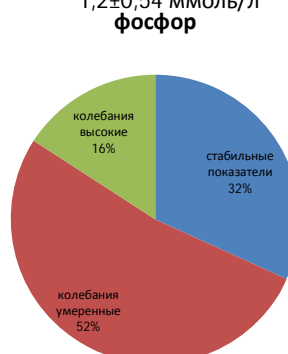
- Быстрая регуляция гомеостаза кальция изучена плохо (большая роль отводится неколлагеновым белкам костной ткани, которые играют роль буфера, поэтому важна емкость этого буфера)
- На практике у пациентов на диализе значительная индивидуальная вариабельность
- По данным изотопных исследований ежедневный пул кальция который подвергается активному обмену больше 6000 мг, однако это гораздо больше того объема, что может освобождаться в результате ремоделирования костной ткани (около 400 мг)
- Это свидетельствует о наличии «быстрообменного пула» кальция
- В идеале важен не уровень кальция, а его движение и емкость «обменного пула», клинически доступных методов нет

Индивидуальные колебания кальция и фосфора сыворотки (n=107) (отделение диализа СПбГМА, 2010)

Колебания по кальцию
 $0,7 \pm 0,25$ ммоль/л



Колебания по фосфору
 $1,2 \pm 0,54$ ммоль/л



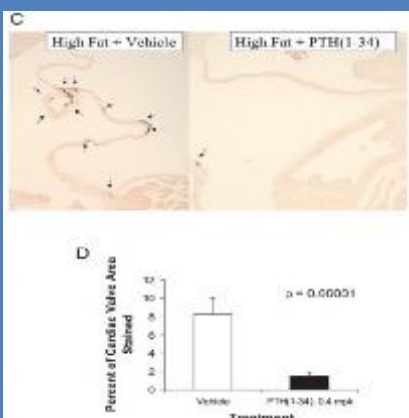
Анализ уровня кальция в большей мере должен быть основан на динамике его изменений и на сочетании этого показателя с другими б/х параметрами

ПТГ

- Фактор риска смерти, сосудистой кальцификации
- Модулирует реакцию костей на нарушения фосфорно-кальциевого обмена (средне- и долгосрочная перспектива)
- Стимулирует образование активной формы витД в почках, снижает потерю кальция в почках
- Способствует повышению FGF-23 и усиливает его фосфатурическое действие
- Длительное повышение преимущественно (вторичная) стимуляция остеокластов и развитие фиброзирующего кистозного остеоита
- Короткое воздействие (не больше 2 часов) – сильный анаболический эффект и стимуляция остеобластов

Действие ПТГ: в небольших дозах предохраняет от кальцификации, в сверхфизиологических – усиливает

Умеренные дозы ПТГ предохраняют от кальциноза



Jian-Su Shao et al, Journal Of Biological Chemistry (2003) 278, 50195-50202

Высокие дозы ПТГ потенцируют кальциноз

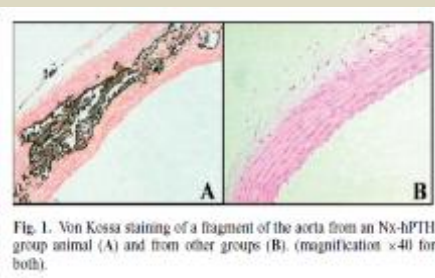


Fig. 1. Von Kossa staining of a fragment of the aorta from an Nx-hPTH group animal (A) and from other groups (B). (magnification $\times 40$ for both).

Fabiana G. Gracioli et al Nephrol Dial Transplant (2009) 24: 1416-1421,

ПТГ как показатель состояния обмена костной ткани

- Данные по интактному ПТГ работают на общей статистике, но индивидуально их интерпретировать трудно
 - Определение интактного ПТГ обозначает определение суммы биоинтактного ПТГ -1-84ПТГ и в биологическом смысле его антагониста, «усеченной формы» - 7-84 ПТГ
 - При снижении СКФ, несмотря на увеличение иПТГ, соотношение 1-84ПТГ/7-84ПТГ уменьшается, а значит биологическое действие 1-84ПТГ нарастает нелинейно
 - Соотношение 1-84ПТГ/7-84ПТГ может быть более надежным показателем состояния костного обмена, чем уровень иПТГ
- Второй участник- костная ткань снижает свою чувствительность к ПТГ, к этому в т.ч. предраполагает хроническое воспаление

Выявление ПТГ 7-84 различными наборами первой генерации для оценки «интактного» ПТГ

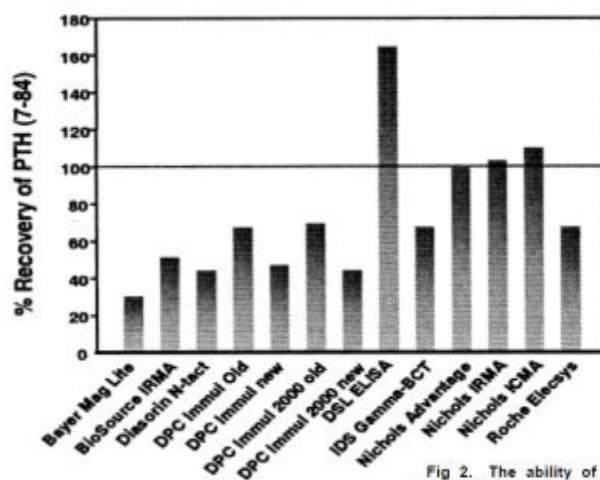
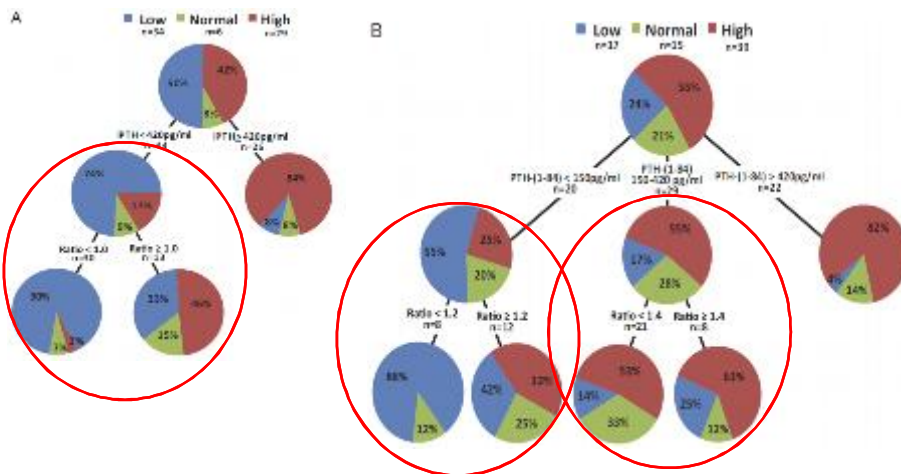


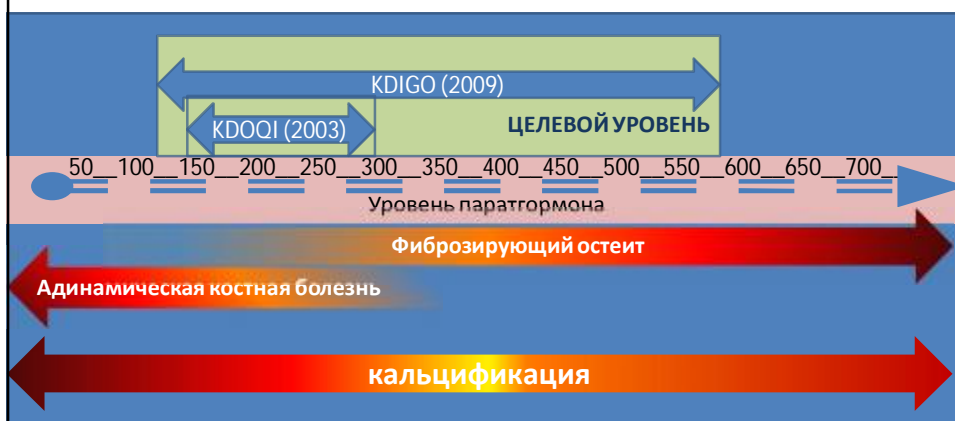
Fig 2. The ability of various commercial first-generation "Intact" PTH immunometric assays to detect PTH 7-84. Considerable variability is apparent and may contribute to variations in PTH values between different laboratories. (Data from UK NEQAS, with permission.)

Оценка соотношения 1-84ПТГ/7-84ПТГ повышает точность дифференциальной диагностики обмена костной ткани



Herberth J et al American Journal of Kidney Diseases, Vol 55, No 5 (May), 2010; pp 897-906

Паратгормон: риск различных вариантов поражения костной ткани и целевой уровень



Данные по ПТГ работают на общей статистике, индивидуальная интерпретация затруднена
Мы никогда не сможем ответить на вопрос об уровне обмена костной ткани по уровню ПТГ

Изменение целевого уровня ПТГ приводит к значительному снижению потребности в терапии вторичного гиперпаратиреоза (на 33%)

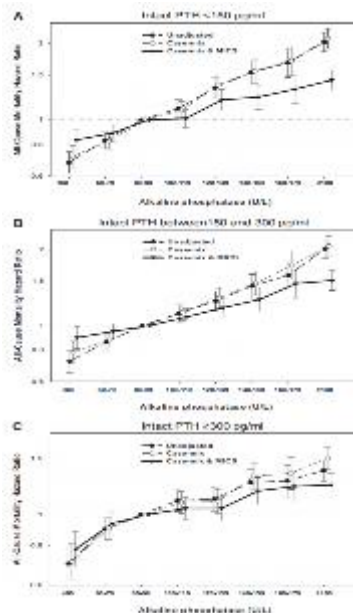
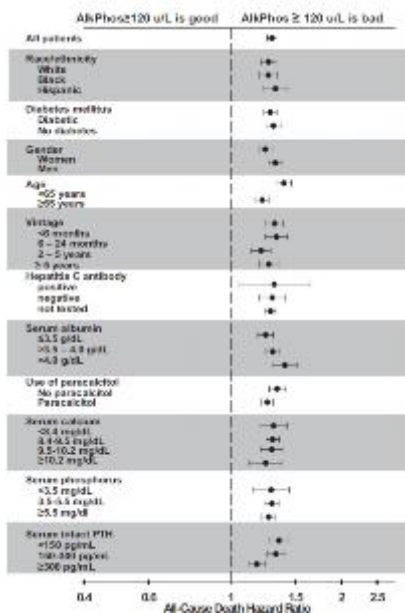
Рекомендации	Меньше целевого уровня n (%)	Целевой уровень n (%)	Выше целевого уровня n (%)	ИТОГО n (%)
KDOQI, 2003	22 (31)	14 (19)	36 (50)	72 (100)
KDIGO, 2009	21 (29)	39 (54)	12 (17)	72 (100)

- Насколько это оправдано с патогенетической точки зрения?
- Не долечить или перелечить: и то и другое может иметь неблагоприятные последствия для пациента?

Щелочная фосфатаза

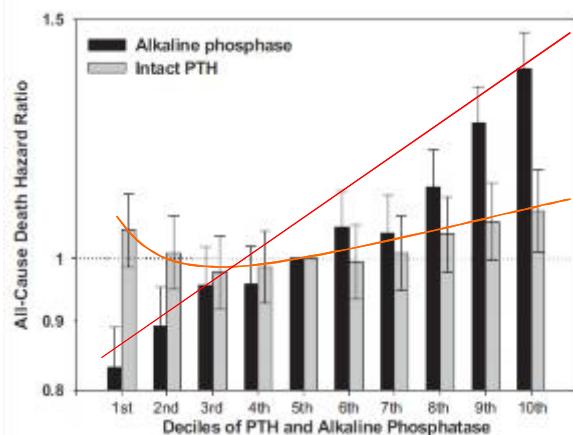
- ЩФ- гликолизированный белок вырабатывается как минимум 5 различными органами: печень, кости, почки, кишечник и плацента.
- В костной ткани ЩФ продуцируется остеобластами и их предшественниками
- Специфичность костной фракции ЩФ в отношении оценки резорбции и формирования костной ткани более высока, чем уровень ПТГ и общей ЩФ (Urena P., 1996)
- Уровень кфЩФ выше 20 нг/мл имеет высокую специфичность и чувствительность (до 100%) для диагностики высокой скорости костного обмена. В случае сочетания повышенного уровня ЩФ с повышением ПТГ выше 200 пг/мл, предиктивность в отношении высокообменного поражения скелета повышается с 84 до 94% (Jarava C, 1996)
- Предиктивная значимость снижения кфЩФ меньше 25 Ед/л и ПТГ меньше 150 пг/мл в отношении адинамической костной болезни может достигать по специфичности до 78,1% и 80,6% и чувствительности до 86,4% и 76,2% соответственно (Couttenuy MM, 1996)
- Тем не менее эти данные не всегда подтверждаются, так по данным Fletcher *et al.* (1997), использование ЩФ, кфЩФ и ПТГ не дает возможности разграничить адинамическую костную болезнь, нормальное состояние костного обмена и маловыраженный фиброзирующий остеоит .

Повышение ЩФ как самостоятельный фактор риска



Regidor D. L. et al J Am Soc Nephrol 19: 2193-2203, 2008

Предиктивная значимость ПТГ и ЩФ в отношении риска смерти



Regidor D. L. et al J Am Soc Nephrol 19: 2193-2203, 2008

ЩФ и кальцификация

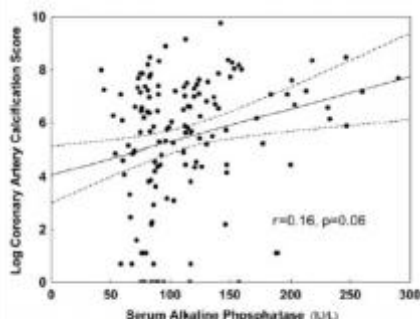


Figure 1. Scatter plots, regression line, and 95% confidence intervals, reflecting the correlation between serum alkaline phosphatase (AlkPhos) and logarithm of coronary artery calcification score (CACS).

Shantouf R et al. Clin J Am Soc Nephrol 4: 1106–1114, 2009

1. Минерализация = ЩФ + коллаген 1 типа + гидроксиапатит
2. Единственные клетки которые в физиологических условиях коэкспрессируют **ЩФ** и **коллаген 1** типа это остеобласты и одонтобласты
3. Под воздействием уремических стимулов кальцификации гладкомышечные клетки начинают ко-экспрессировать **ЩФ**.
4. **ЩФ** участвует в деградации пирофосфатов, которые препятствуют минерализации костного матрикса

[E Neven et al.: Cell biology of arterial calcification](#)

Изоферменты костной фракции ЩФ

- Костная фракция ЩФ имеет 4 изофермента: V/I, V1, V2 b и V1x
- При почечной недостаточности у ряда больных в сыворотке начинает выявляться изофермент V1x, который у здоровых никогда не определяется
- Появление данного изофермента ассоциируется с более высоким фосфором и кальций-фосфорным произведением, что делает возможным предположение о его взаимосвязи с кальцификацией сосудов

[Haarhaus M. 2009](#)

ЩФ – как показатель эффективности терапии

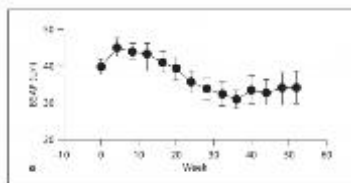


Fig. 2. Effect of cinacalcet treatment on serum levels of a) BSAP, b) TRAP and c) NIX in HD patients with SHPT. Values are mean \pm SEM. BSAP = Bone alkaline phosphatase; HD = hemodialysis; NIX = amino-terminal telopeptide of type I collagen; SHPT = secondary hyperparathyroidism; TRAP = tartrate-resistent acid phosphatase.

- Преходящее повышение ЩФ после паратиреоидэктомии, отражающее активацию активности остеобластов отмечается после паратиреоидэктомии, что сопровождается быстрым снижением ПТГ, супрессией остеокластов и гипокальциемией и носит название «синдром голодной кости»
- Похожее состояние описано и после назначения цинакальцета

Shigematsu T et al Am J Nephrol 2009;29:230–236

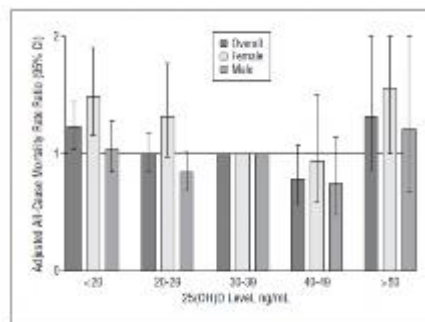
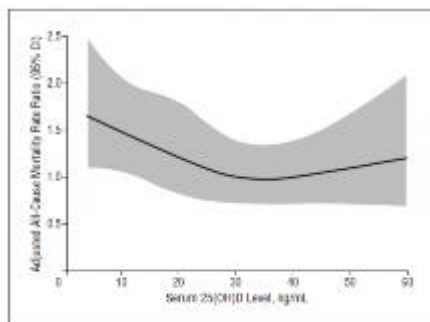
Частота повышения костной фракции щелочной фосфатазы в зависимости от целевых значений ПТГ (собственные данные)

		ПТГ (пг/мл)			Итого
		меньше 150	150-300	больше 300	
ЩФ костная фракция (нг/мл)	до 20	16	8	17	41
	больше 20	6	6	19	31
Итого		22	14	36	72

		ПТГ			Итого
		до 130	130-585	больше 585	
ЩФ костная фракция (нг/мл)	до 20	15	23	3	41
	больше 20	6	16	9	31
Итого		21	39	12	72

Какой клинический подход выбрать в случае когда есть диссонанс между уровнем ПТГ и ЩФ?

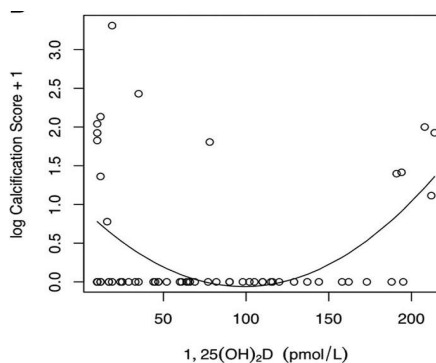
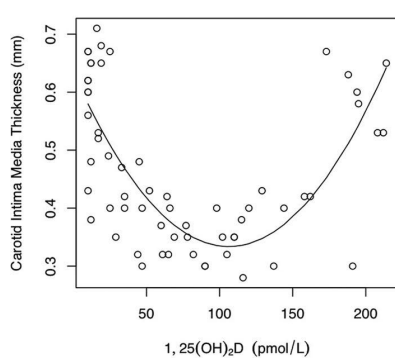
Риск смерти и уровень 25-гидроксивитамина Д в общей популяции (n=13331, длительность наблюдения до 12 лет)



U-образная кривая

Michal L. Melamed, et al., 2008

Уровень кальцитриола и кальцификация сосудов у детей получающих диализ



Бимодальное распределение!

Shroff R, J Am Soc Nephrol (2008) 19:1239-1246.

Частота выявления дефицита вит. Д у пациентов на диализе (собственные данные)

		ПТГ (пг/мл)				Итого	
		меньше 150	150-300	300-600	больше 600	п	%
Витамин D (25-ОН), нг/мл	до 15	12	4	12	11	39	49
	15-30	7	7	11	3	28	35
	больше 30	4	5	4	0	13	16
Итого		23	16	27	14	80	100

Информация о дефиците вит. Д позволяет назначить терапию для его компенсации, даже в тех случаях, когда от собственно терапии ВГПТ можно и воздержаться

Повышение уровней кальцидиола и кальцитриола на фоне лечения холекальциферолом

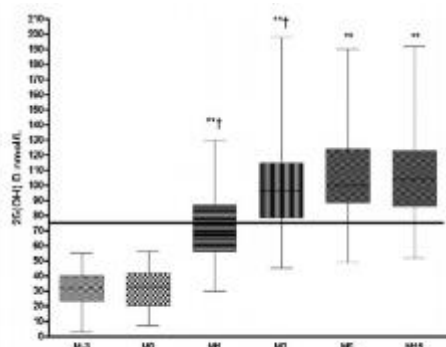


Fig. 1. Evolution of 25(OH)D serum levels (Box plot). $^{***}P < 0.001$ with baseline, $^{\dagger}P < 0.05$ with the previous value.

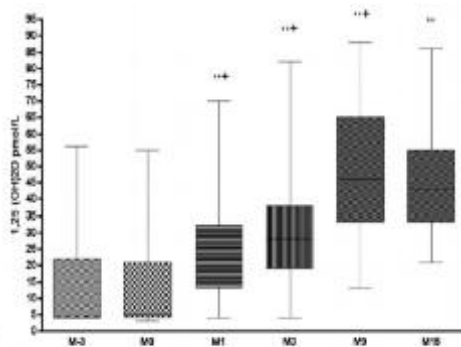


Fig. 2. Evolution of 1,25(OH)2D serum levels (Box plot). $^{***}P < 0.001$ with baseline, $^{\dagger}P < 0.05$ with the previous value.

Monthly cholecalciferol administration in haemodialysis patients: a simple and efficient strategy for vitamin D supplementation. G. Jean *et al*, 2009

Cholecalciferol Supplementation in Hemodialysis Patients: Effects on Mineral Metabolism, Inflammation, and Cardiac Dimension Parameters

Patrícia João Matias,^{1,11} Cristina Jorge,^{2,11} Carina Ferreira,^{2,11} Marília Borges,⁵ Inês Aires,^{4,11} Tiago Amaral,^{4,11} Célia Gil,^{4,11} José Cortez,^{3,11} and Aníbal Ferreira^{4,11}

¹Hemodialysis Unit, Vila Franca de Xira, Portugal; ²Dialysis Unit, Forte do Casa, Portugal; ³Núcleo de Investigação na Área Nefrológica, Lisboa, Portugal; ⁴Laboratório Dr. Fernando Teixeira, Lisboa, Portugal; and ⁵Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

Холекальциферол (Vigantol) 1 или 3 р/нед, после ГД, в течение 56 мес.

В зависимости от уровня кальцидиола - 25(OH)D:

- меньше 15 ng/ml - 50,000 IU (2.5 ml, or 75 drops) 1 р/нед
- 16 - 30 ng/ml - 10,000 IU (0.5 ml, or 15 drops) 1 р/нед
- больше 30 ng/ml. - 2700 IU (4 drops) 3 р/нед

Clin J Am Soc Nephrol 5: 905-911, 2010

Table 1. Clinical, biochemical, and echocardiographic parameters before and after supplementation

Parameter	Before Supplementation	After Supplementation	P
25(OH)D (ng/ml; mean ± SD)	22.3 ± 12.0	42.0 ± 12.1	<0.001
1,25(OH) ₂ D (pg/ml)	4.6	5.9	0.001
Ca (mg/dl; mean ± SD)	8.6 ± 0.8	8.4 ± 0.7	0.014
P (mg/dl; mean ± SD)	4.7 ± 1.3	4.5 ± 1.3	0.011
iPTH (pg/ml)	233	208	<0.001
bAP (μg/L)	18.6	18.0	NS
Hemoglobin (g/dl; mean ± SD)	12.1 ± 1.2	11.9 ± 1.4	NS
Ferritin (mg/dl; mean ± SD)	438 ± 182	431 ± 196	NS
Albumin (g/dl; mean ± SD)	3.9 ± 0.5	4.2 ± 0.4	<0.001
CRP (mg/dl)	0.4	0.2	0.004
BNP (pg/ml)	338	296	0.008
eKt/V (mean ± SD)	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.3	NS
nPCR (g/kg per d; mean ± SD)	1.24 ± 0.50	1.23 ± 0.60	NS
Paricalcitol (%)	44	33	<0.001
Paricalcitol dosage (μg/wk; mean ± SD)	7.2 ± 4.5	6.0 ± 4.1	<0.001
Sevelamer (%)	66	48	<0.001
Sevelamer dosage (mg/d; mean ± SD)	3738 ± 1761	3284 ± 1391	
Darbepoetin (%)	91	89	NS
Darbepoetin dosage (μg/kg per wk per g/dl)	0.042	0.033	0.013
Antihypertensive therapy (%)	71	69	NS
ACEIs (%)	43	44	NS
ARBs (%)	9	7	NS
Statins (%)	18	19	NS
SBP (mmHg; mean ± SD)	132 ± 21	129 ± 23	NS
DBP (mmHg; mean ± SD)	64 ± 16	63 ± 15	NS
PP (mmHg; mean ± SD)	69 ± 15	68 ± 17	NS
Interdialytic weight gain (ml; mean ± SD)	1647 ± 968	1662 ± 897	NS
Dry weight (kg; mean ± SD)	66.3 ± 13.1	65.7 ± 12.8	NS
LVMI (g/m ² ; mean ± SD)	134 ± 31	121 ± 32	0.01

bAP, bone alkaline phosphatase; nPCR, normalized protein catabolic rate.

Clin J Am Soc Nephrol 5: 905-911, 2010

Маркеры костного обмена

1. Показатели образования костной ткани:

- общий аминотерминальный пропептид проколлагена 1 типа (N-terminal propeptide of type I collagen — PINP)
- N-MID-фрагмент остеокальцина (аминокислоты 1-43 интактной формы остеокальцина)
- костная фракция щелочной фосфатазы

2. Показатели резорбции костной ткани:

- продукт деградации коллагена I типа: карбокситерминальный телопептид (β -isomerized carboxy-terminal cross-linking region of collagen type I — β -cross laps)
- изоэнзим кислой фосфатазы (5 тип тартрат резистентной щелочной фосфатазы -TRAP 5b).

PINP - аминотерминальный пропептид проколлагена

- Коллаген I типа составляет более 90% белков костного матрикса, синтезируется остеобластами в виде молекулы –предшественника (проколлагена) неся на себе удлиняющие его пептиды на карбокси-(C) и аминокислотных-(N) окончаниях.
- Эти концевые пептиды отсекаются протеазами во время внеклеточного метаболизма коллагена, что приводит к повышению N-terminal (PINP) и C-terminal (PICP) пропептидов коллагена I типа.(Figure 1).
- Они уходят в циркуляции в виде тримера, которая быстро конвертируется в мономерную форму, что в конечном итоге и определяется как маркер синтеза коллагена I типа(15).
- Существуют способы оценки как тримерной, так и мономерной форм.
- С практической точки зрения оценка PINP более предпочтительна, поскольку имеет меньшую суточную вариабельность, мало зависит от приема пищи и первично метаболизируется печенью, клиренс не зависит от функции почек (16,17).
- На преддиализных стадиях ХБП показана высокая корреляция с динамическим гистоморфологическими показателями и другими гуморальными маркерами костной резорбции (Coen G, 1992)
- Уровень у пациентов на диализе повышен, однако данные о взаимосвязи с гистоморфологическими показателями не подтверждаются (Ugen`a P, 1995; Mazzaferro S,1995), за исключением возможном повышении при алюминиевой остеопатии при одновременном низком уровне ЩФ и остеокальцина(Hamdy NAT,1994).

Остеокальцин

- Остеокальцин – это наиболее распространенный неколлагеновый белок, встречающийся в костной ткани, дентине и хрящевой ткани.
- По своей структуре – это мономер, состоящий из 49 аминокислот и остатков три-гамма-карбоксиглутаминовых кислот, которые отвечают за кальций-связывающие свойства этой молекулы.
- Во время синтеза остеоида остеокальцин секретируется остеобластами и первично участвует в минерализацию костной ткани, в сыворотку попадает в том числе и в случае резорбции костной ткани
- Долгое время считался маркером формирования костной ткани.
- Незначительная фракция остеокальцина выходит в циркуляцию, где достигает максимума в 4 часа утра.
- Секретируется почками, поэтому его уровень зависит от функции почек.
- Имеет короткий период полувыведения, который меньше часа, быстро деградирует так, что интактные молекулы и фрагменты совместно циркулируют в крови (20).
- Есть разные методы оценки интактного и фрагментированного остеокальцина, что затрудняет их сравнение.

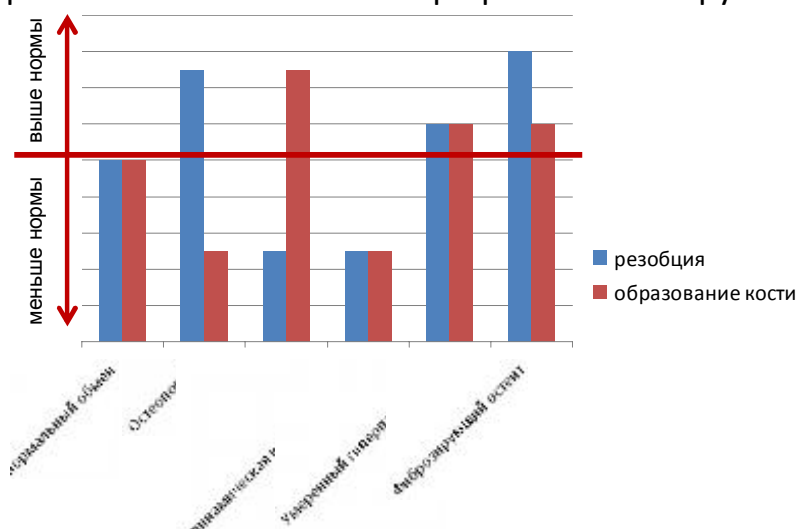
Телопептиды коллагена I типа

- Продукты деградации коллагена I типа в амино- (NTX) и карбокси-(CTX) терминальных областях, продуцируются остеокластами во время резорбции костной ткани.
- NTX и CTX могут определяться как в крови, так и в моче.
- Сывороточная концентрация подвержена циркадному ритму и зависит от приема пищи.
- Сбор мочи за 24 часа имеет преимущества, поскольку позволяет исключить влияние циркадных ритмов.
- Оценка CTX в сыворотке более доступна и заменяет собой оценку NTX в моче благодаря своей простоте
- Референсные интервалы зависят от возраста и пола.
- Синонимы: B-CTX, Beta CrossLaps, Beta-CTX, C-Telopeptide, C-terminal collagen crosslinks, Carboxy terminal collagen crosslinks, CTX

Кислая фосфатаза

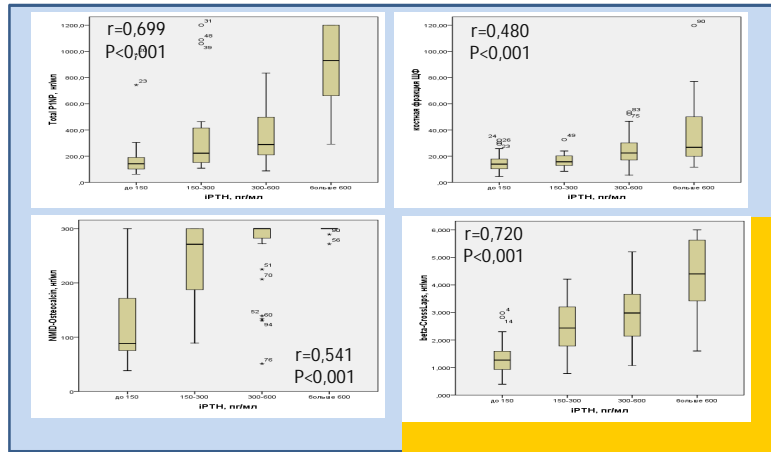
- Остеокласты продуцируют изоэнзим кислой фосфатазы, который не ингибируется тартратом, поэтому называется 5 тип тартрат резистентной щелочной фосфатазы (TRAP 5b). Этот фермент находится в ворсинчатой кайме мембраны остеокластов в области резорбции. Повышение уровня TRAP5b отмечается при высоком костном обмене как это бывает при болезни Педжета и костных метастазах.
- Благодаря разработке доступных методов оценки TRAP 5b стал одним из прогностических маркеров костного обмена, значимо коррелирующего с потерей плотности костной ткани (24).

Взаимоотношения между процессами резорбции и образования костной ткани при различных нарушениях



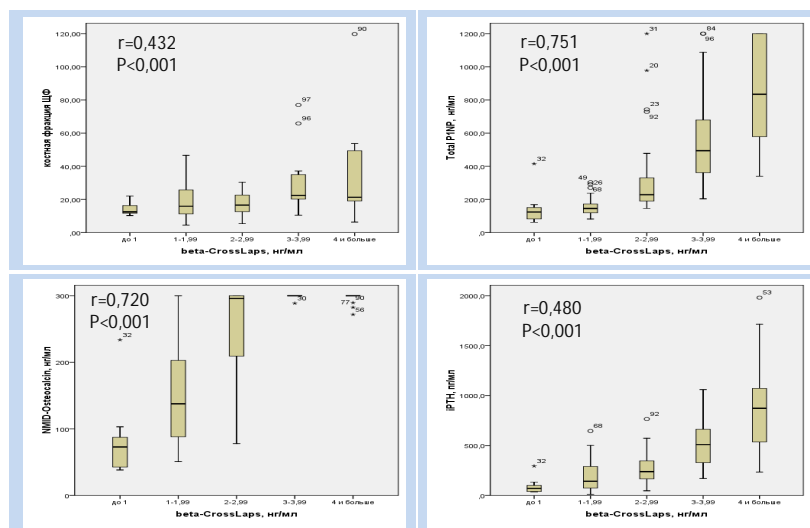
При ХБП изменение маркеров не всегда соответствует реальным процессам резорбции и образования костной ткани

Взаимосвязь показателей обмена костной ткани с иПТГ



Собственные данные

Положительная взаимосвязь между показателями резорбции (beta-CrossLaps) и синтеза костной ткани (PINP, Osteocalcin, кФЩФ, иПТГ)



Собственные данные

Маркеры костного обмена

1. Показатели образования костной ткани:
2. Показатели резорбции костной ткани:
3. Регуляторы костного обмена:
 - Ингибиторы и стимуляторы остеобластов:
 - Ингибиторы и стимуляторы остеокластов
 - Прочие факторы, оказывающие регуляторное действие на костную ткань

Маркеры кальцификации

1. **Ингибиторы кальцификации:**
 - MGP (Матриксный γ -карбоксиглутаровоислый (Gla) протеин);
 - BMP-7 (костный морфогенетический протеин 7);
 - OPG (остеопротегерин),
 - Фетuin A,
 - OPN (остеопонтин)
 - И т.д.
2. **Промоутеры кальцификации:**
 - BMP-2 (костный морфогенетический протеин 2)
 - RANKL (рецептор лиганда нуклеарного фактора κ B)
 - CBFA1/RUNX2 (специфический транскрипционный фактор дифференциации остеобластов из их мезенхимальных предшественников)
 - И т.д.

Выводы

- Лабораторные проявления МКН при ХБП – это прежде всего маркеры развития вторичного гиперпаратиреоза
- Среди дополнительных лабораторных обследований, доступных в рутинной практике оценка ЩФ и кальцидиола может существенно повлиять на дальнейшую лечебную тактику МКН при ХБП
- Оценка обмена костной ткани, с использованием маркеров, которые используются в общей клинической практике, при ХБП затруднена
- Дальнейшее направление развития оценки МКН при ХБП должно дополниться показателями, отражающими процессы регуляции костного и минерального обмена