

Доклад Герасимчука Р.П.

Дни нефрологии в

Санкт-Петербурге

Метаболизм железа и сосудистая  
кальцификация: есть ли связь?

Доклад Герасимчука Р.П.

СПбГБУЗ «Городская Мариинская больница»

СЗГМУ

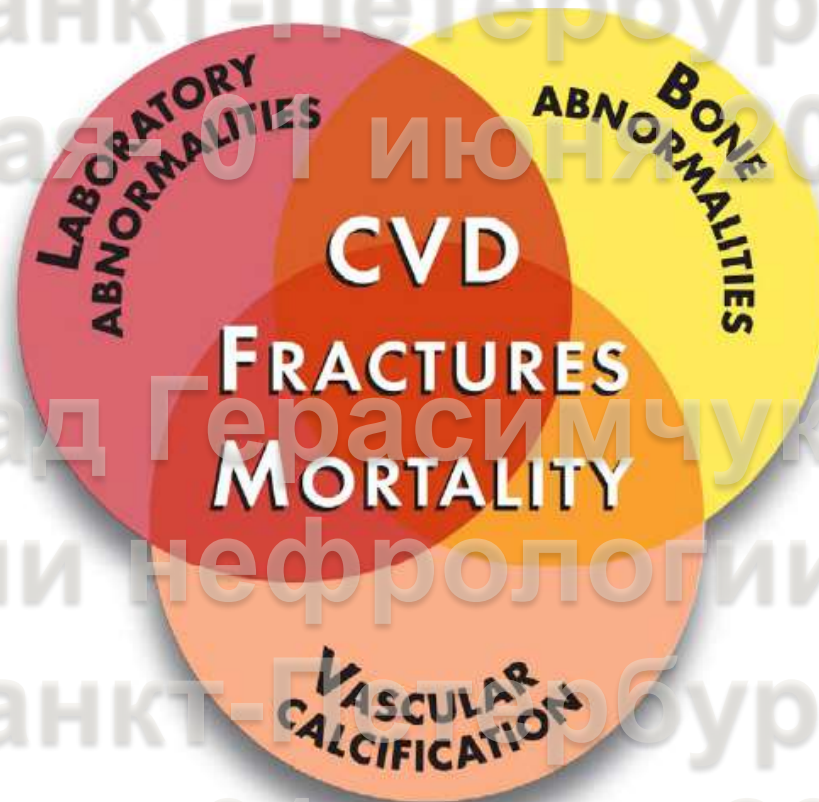
Дни нефрологии в

Санкт-Петербурге

Герасимчук Р.П., Земченков А.Ю.

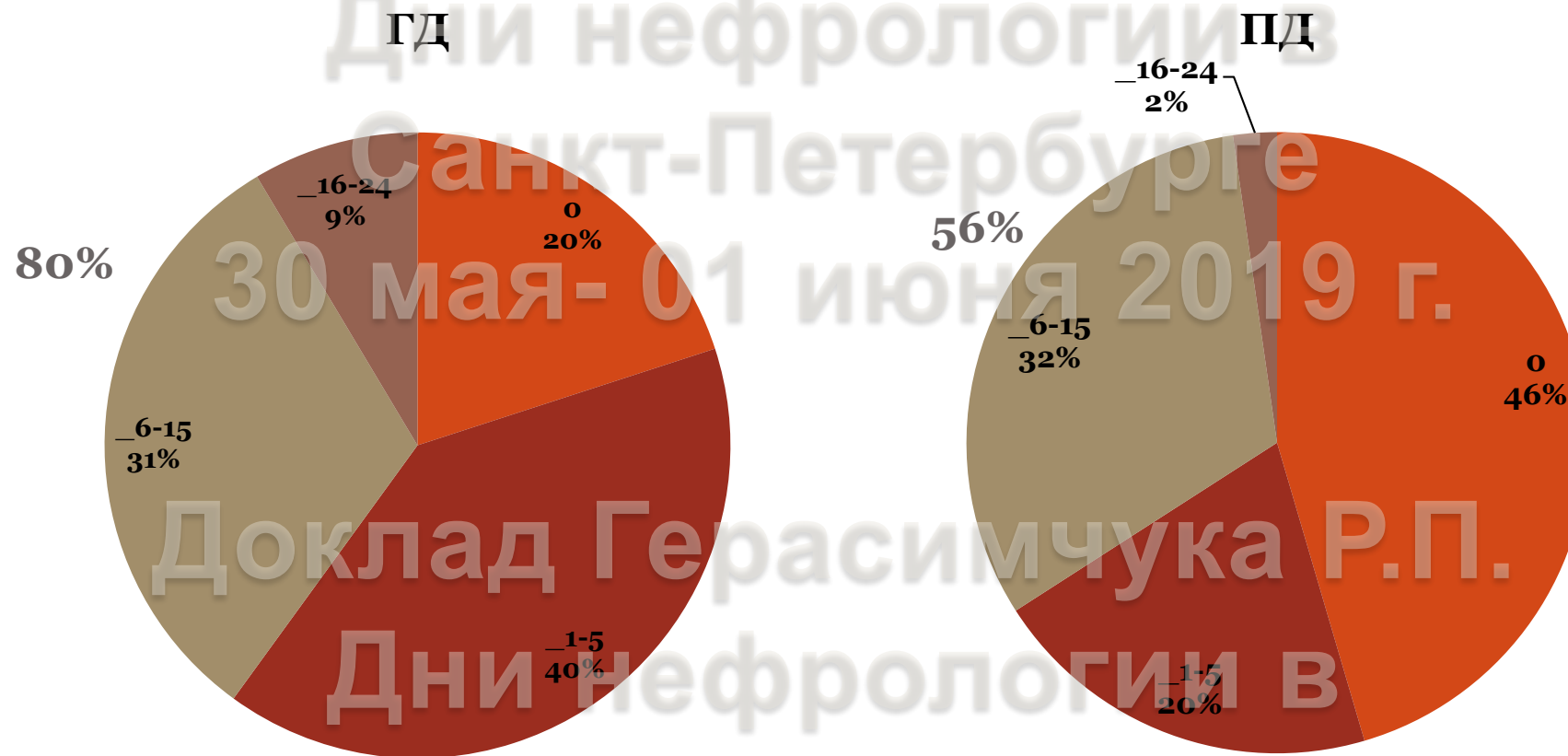
30 мая - 01 июня 2019 г.

Сосудистая кальцификация – один из основных компонентов минеральных и костных нарушений при ХБП, который в наибольшей мере связан с отдаленными результатами лечения



**CKD-MBD**

# Встречаемость КБА

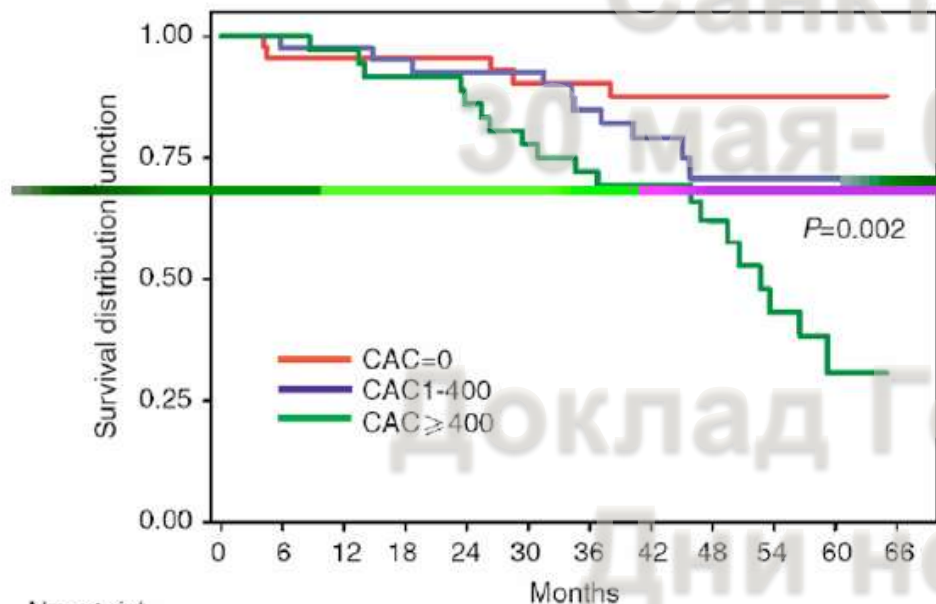


СПб, Мариинская больница, Боковой снимок аорты с подсчетом балла по Каурпила, 72 пациента

2012 г.

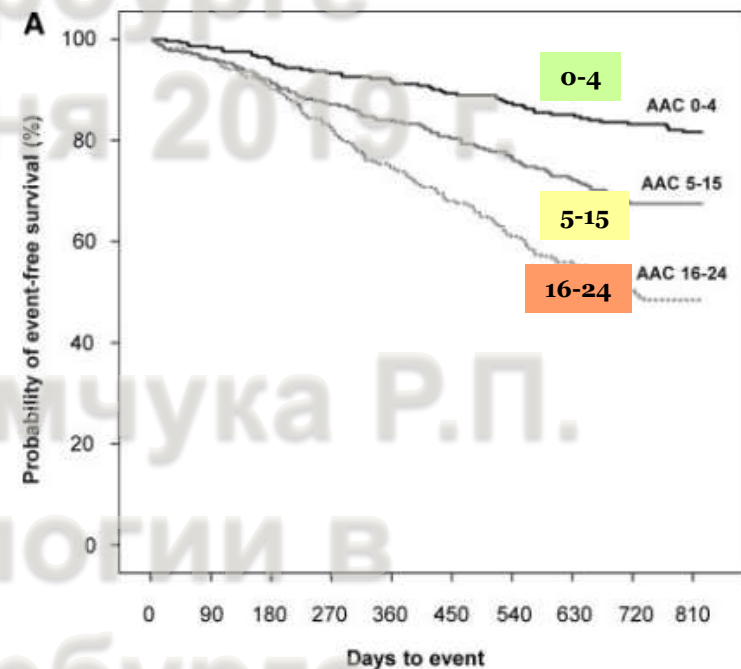
# Доклад Герасимчука Р.П. Дни нефрологии в Санкт-Петербурге 30 мая - 01 июня 2019 г. Кальциноз является предиктором выживаемости

Счет кальция коронарных артерий



No. at risk	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66
CCS = 0	46	42	42	39	34	18	4					
CCS < 400	42	41	40	36	32	14	1					
CCS ≥ 400	39	37	35	31	26	15	4					

Кальцификация брюшной аорты по Кауррлла



## CORD-Study

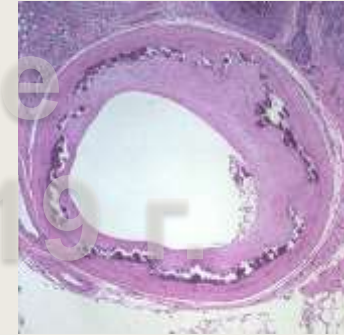
Verbeke et al. Clin J Am Soc Nephrol 6: 153–159, January, 2011

Block GA, Raggi P, Bellasi A, Kooienga L, Spiegel DM. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. Kidney Int 2007; 71: 438-41.

# Основные варианты сосудистой кальцификации



**Кальциноз интимы**



**Медиакальциноз**

Морфологический вариант Атеросклероз

Факторы

Нарушение проницаемости сосудистой стенки, Гиперлипидемия, воспаление...

Заболевания, состояния

ИБС

Последствия

Окклюзия сосуда,

ОИМ, ОНМК

Артериосклероз (Монкеберга и гиалиноз)

соотношение пролиферативных и антипролиферативных факторов, гемодинамические, метаболические (фосфаты)

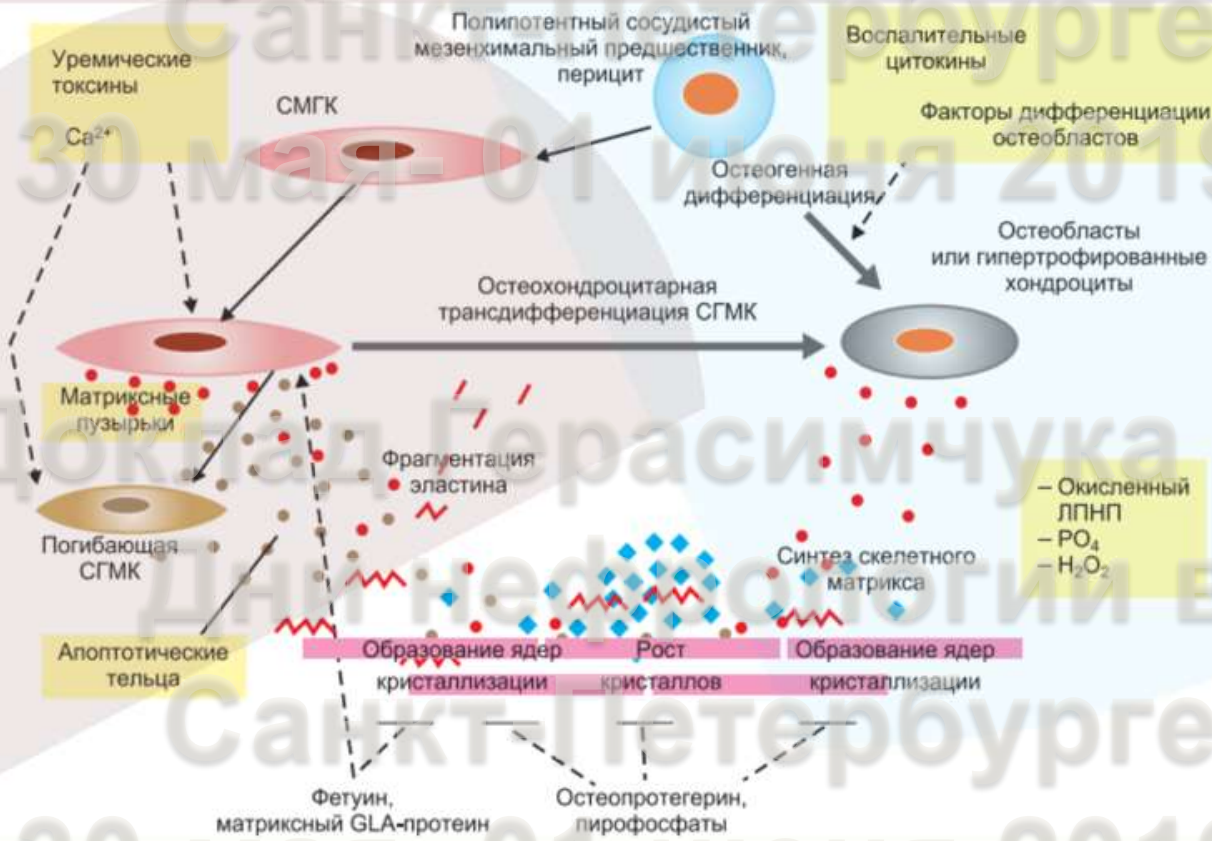
Возрастные изменения, гипертензия, диабет, ХБП

Неокклюзивное снижение эластичности, повышение пульсового давления, снижение общего коронарного кровотока, ГЛЖ,

НК, нарушения ритма, внезапная смерть

# Механизм развития сосудистой кальцификации

## ▽ Остеогенная дифференциация перицитов и ▽ Остеогенная трансдифференциация СГМК



## ▽ Дефицит ингибиторов кальцификации

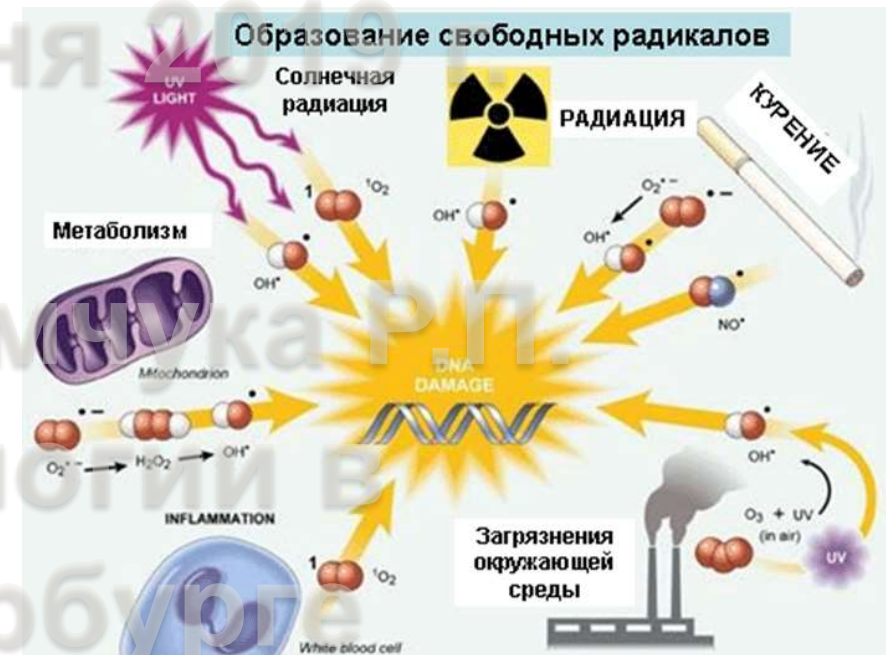
# Окисдательный стресс при ХБП

Причины - дисбаланс:

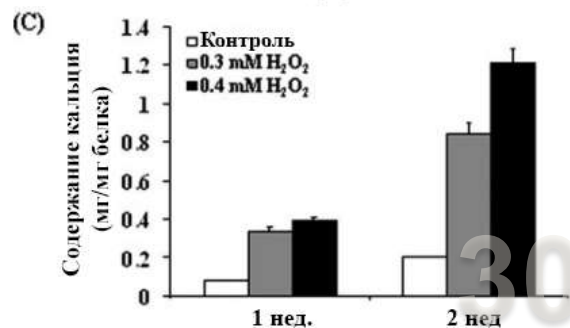
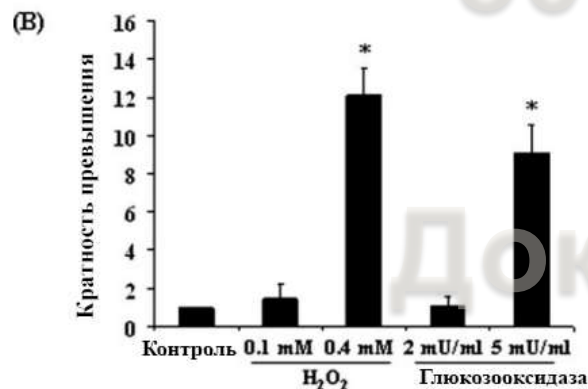
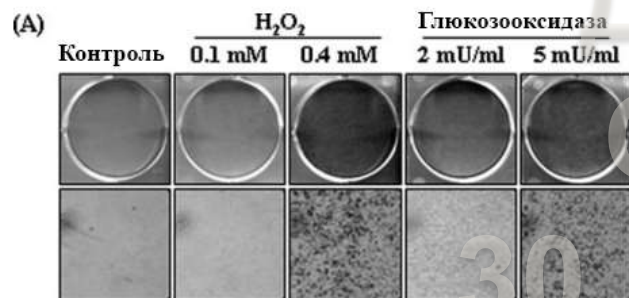
- Повышенная окислительная активность (повышенное разрушение лейкоцитов, лейкоцитарная реакция на контакт с чужеродными мембранами, хроническое воспаление)
- Сниженная активность антиоксидантной системы:
  - Дефицит витамина С
  - Дефицит селена
  - Сниженное внутриклеточное содержание витамина Е
  - Сниженная активность глутатионовой системы

Последствия:

- Перекисное окисление липидов,
- повреждение клеточных структурных компонентов
- Повреждение ДНК
- Клеточная гибель (апоптоз, некроз), старение



# Окислительный стресс, Runx-2 и кальцификация

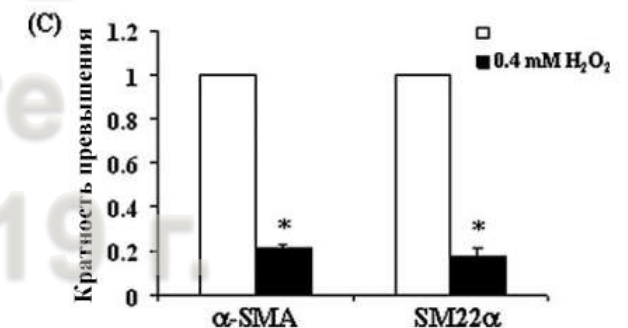
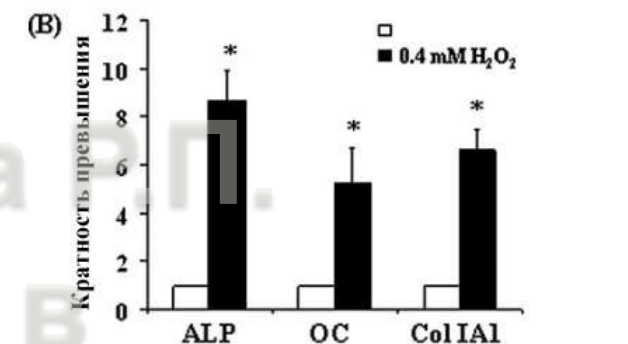
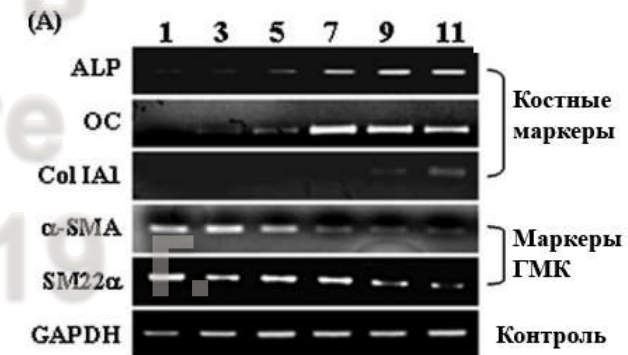
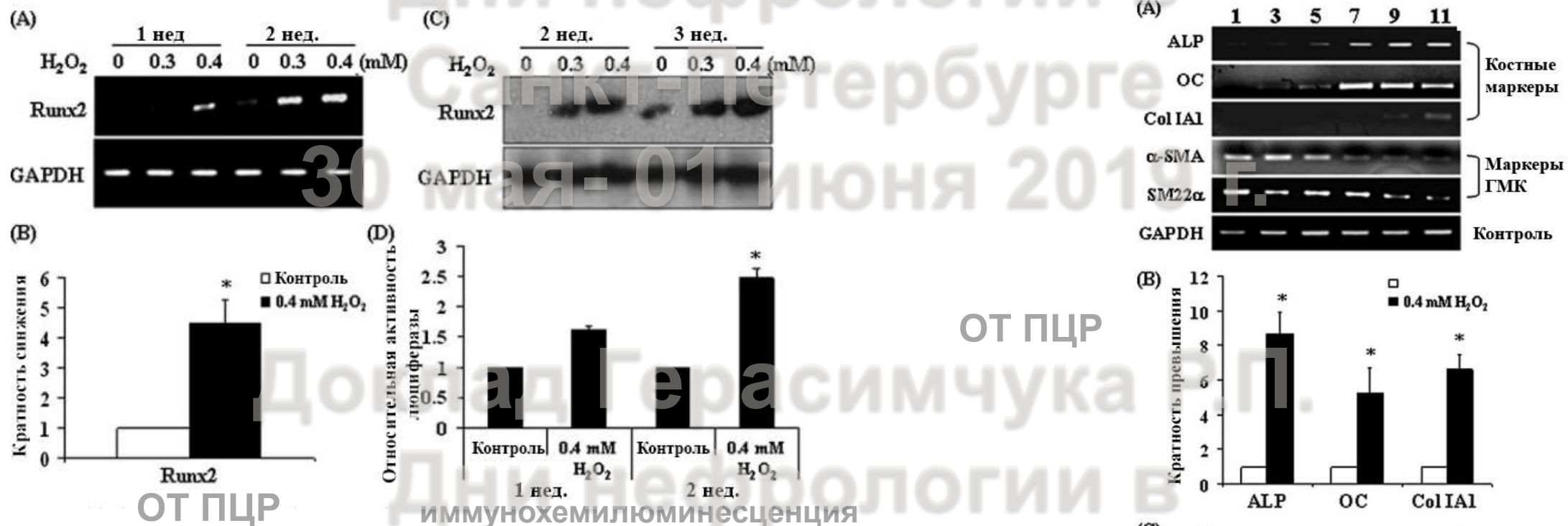


Стабильная культура гладкомышечных клеток мышей (3-5 пассаж)  
Экспозиция в питательных средах с добавлением нетоксичных концентраций H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в течение 3 нед. с заменой среды каждые 2-3 дня

- ❖ Видимое изменение в динамике окрашивания среды в чашках
- ❖ Выраженное возрастанием количества зон кальцификации при окраске по Фон Косса
- ❖ Значительное повышение общего кальция в лизате клеток с нарастанием концентрации в динамике



# Окислительный стресс, Runx-2 и кальцификация



- ❖ Дозозависимое повышение экспрессии гена Runx2
- ❖ Повышение экспрессии генов костных маркеров (ЩФ, остеокальцин, коллаген 1 типа)
- ❖ Снижение экспрессии генов маркеров гладкомышечных клеток

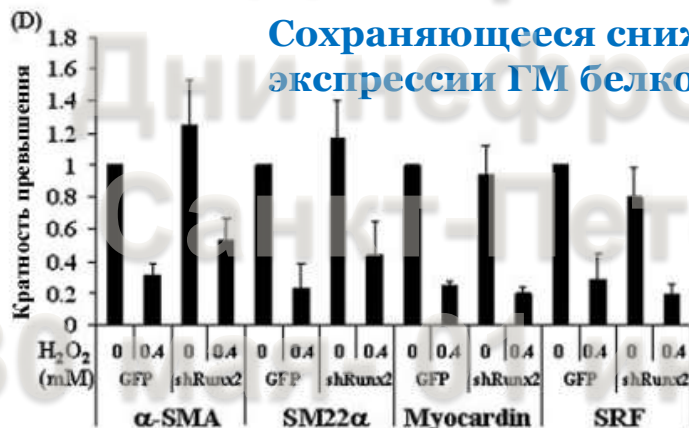
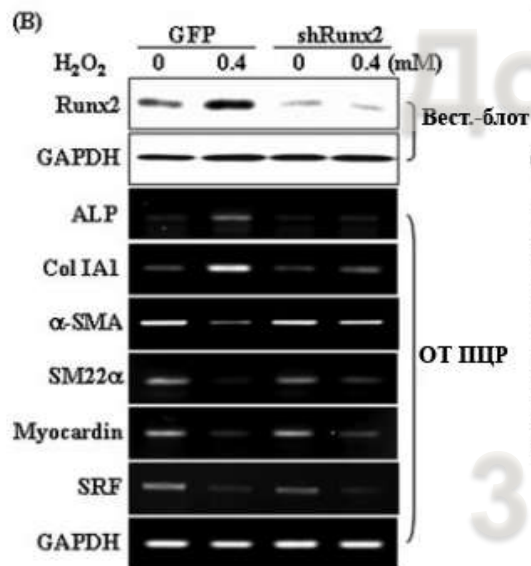
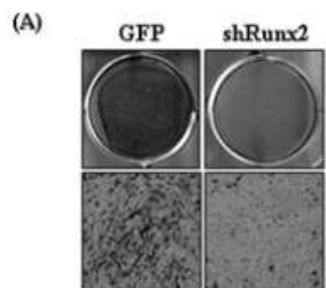
# Окислительный стресс, Runx-2 и кальцификация

Runx2 ⊖

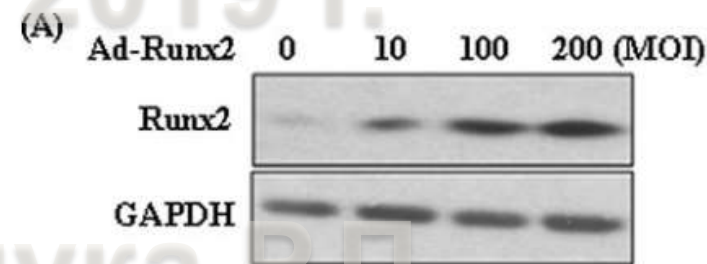
Вирус везикулярного стоматита – вектор малых РНК со шпильками Runx2  
 Подавление активности фактора за счет интерференции

Runx2 ⊕

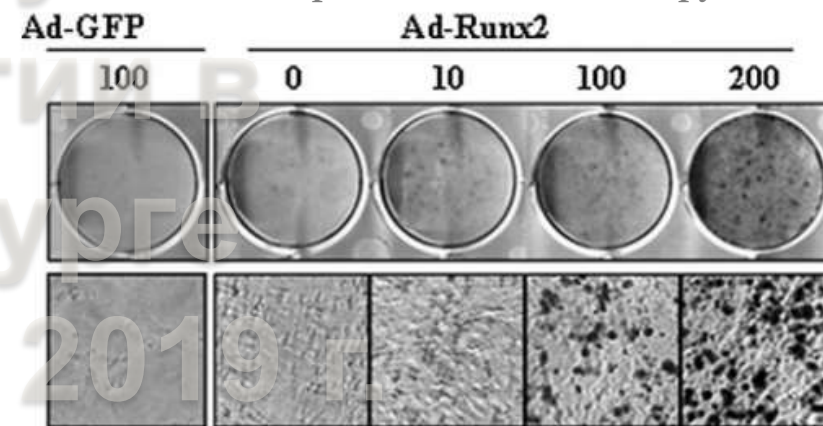
Аденовирус, содержащий ген Runx2  
 Повышение продукции фактора с увеличением репликации вируса



Нарастание кальцификации, пропорциональное активности репликации продуцир. вируса



(B) Активность репликации аденовируса



Доклад Герасимчука Р.П.

Дни нефрологии в  
Санкт-Петербурге

30 мая - 01 июня 2019 г.

# Окисдательный стресс, Runx-2 и кальцификация

1. RUNX-2 (СBF- $\alpha$ 1) является ключевым фактором трансдифференциации гладкомышечных клеток в клетки костной линии с увеличением образования специфических костных белков, способствующих развитию сосудистой кальцификации
2. Важным фактором повышения активности RUNX-2 является окисдательный стресс

Доклад Герасимчука Р.П.

Дни нефрологии в  
Санкт-Петербурге

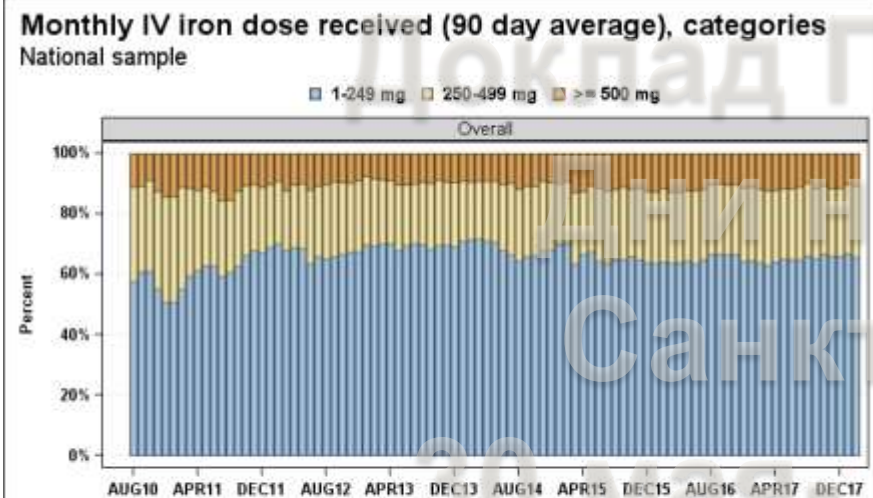
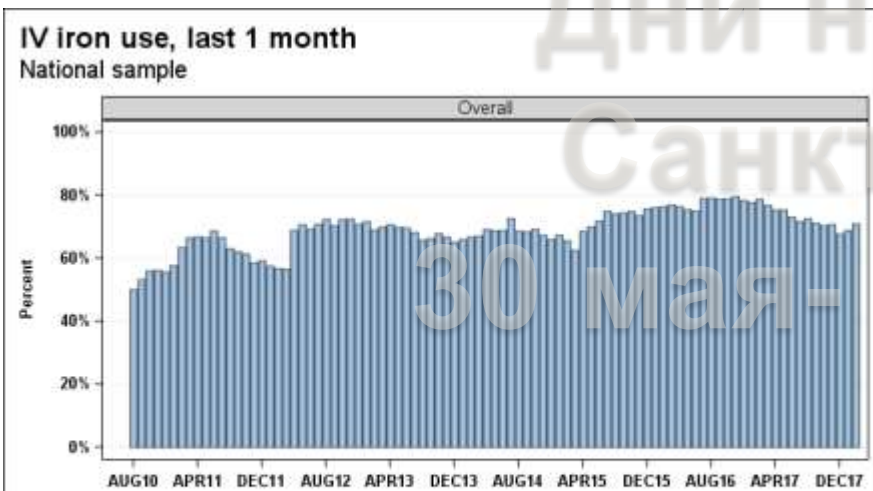
30 мая - 01 июня 2019 г.

## Причины необходимости восполнения железа при ХБП

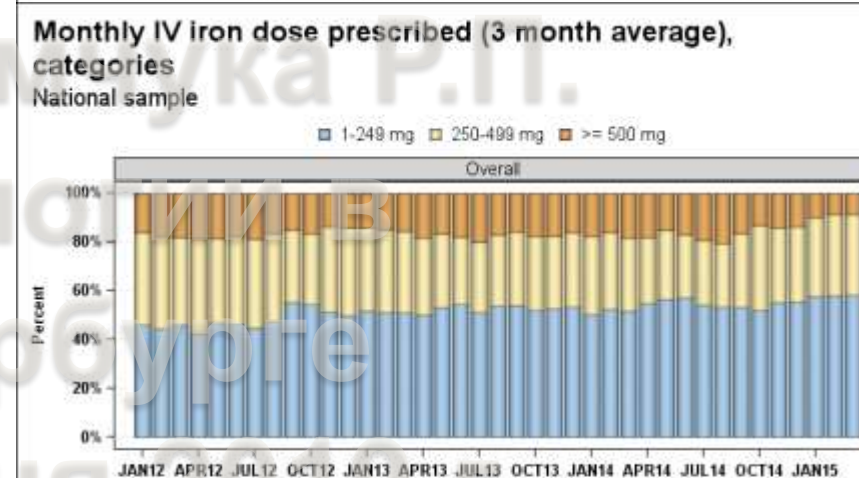
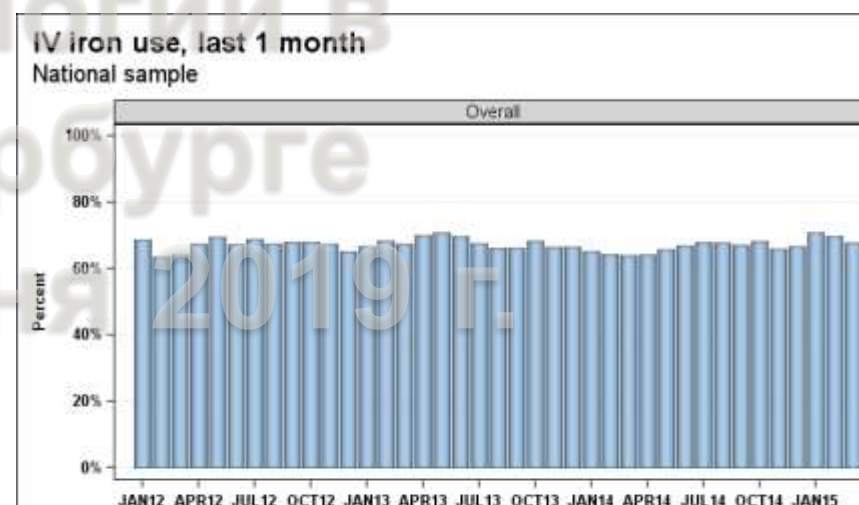
- Плохое всасывание диетарного железа
  - Применения препаратов, связующих фосфаты и других медикаментов уменьшающих кислотность желудочного содержимого
  - Снижение потребления железа при малобелковой диете или нарушении аппетита
  - Угнетение всасывания железа в кишечнике вследствие воспаления (гепсидин)
- **Повышенные потери крови**
  - **Гемодиализ**
  - Частые анализы крови
  - Хирургические вмешательства, случайные, ЖК кровотечения
- Внутреннее перераспределение железа (RE блокада) вследствие хронических и частых острых воспалительных реакций
- Стимуляция эритропоэза при терапии препаратами ЭПО (функциональный дефицит)

Санкт-Петербурге  
30 мая- 01 июня 2019 г.

# Частота использования в/в препаратов железа

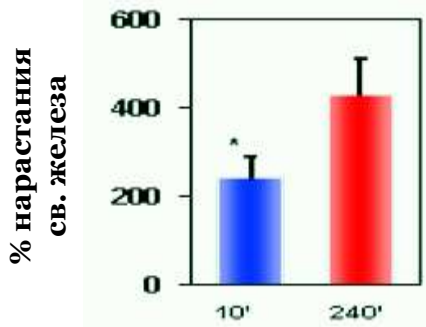


Values for each month reflect actual dose delivered over last 90 days  
 Facility sample transitioned from DOPPS 4 to 5 in Jan-Apr 2012 (see "Study Sample and Methods").  
 Facility sample transitioned from DOPPS 5 to 6 in Mar-Jul 2015 (see "Study Sample and Methods").  
 Source: US-DOPPS Practice Monitor, April 2018; <http://www.dopps.org/DPM>



Values for each month reflect average monthly dose prescribed over prior three months among patients receiving IV iron (<=1,000 mg in each month)  
 Facility sample transitioned from DOPPS 4 to 5 in Jan-Apr 2012 (see "Study Sample and Methods").  
 Facility sample transitioned from DOPPS 5 to 6 in Mar-Jul 2015 (see "Study Sample and Methods").  
 Source: Germany-DOPPS Practice Monitor, June 2016

# Fe провоцирует оксидативный стресс



Инфузия 100 мг сахара железа

Св. железо в 4 раза

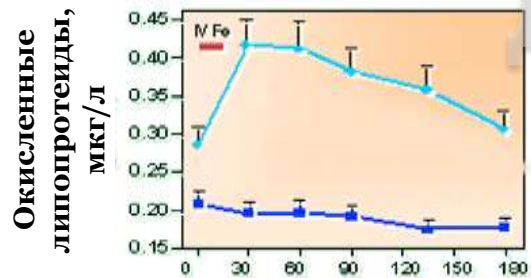
В условиях оксидативного стресса Реакция Фентона

- $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow \text{катализаторы} \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$
- $Fe^{3+} + O_2^{\cdot -} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$

Rooyackers TM. Et al. Eur J Clin Invest. 2002

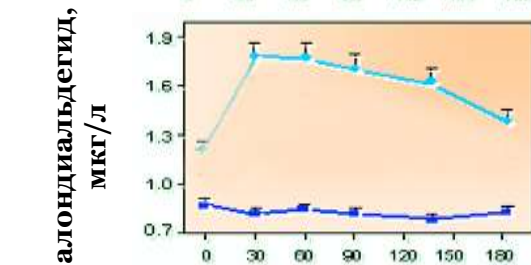
Увеличение образование свободных радикалов

Повышенное повреждение клеточных белков и ДНК  
Индукция апоптоза ГМК



↑RUNX-2

Остеогенная трансдифференциация ГМК  
(↑ЩФ, ↑Коллаген 1 типа, ↑остеокальцин)



Развитие/прогрессирование сосудистой кальцификации

Roob et al. J Am Soc Neptuol. 2000

# Опосредованное влияние Fe на сосудистую кальцификацию

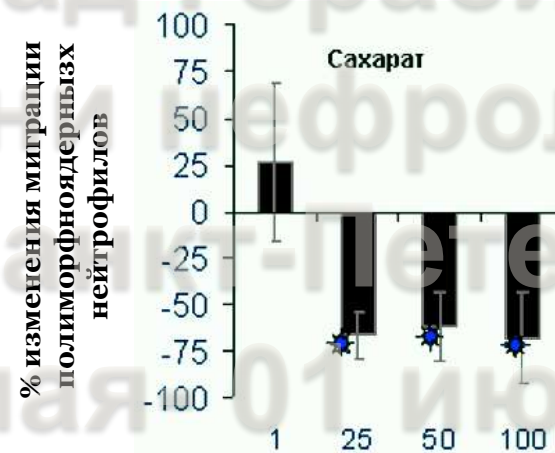
- Образование окисленных липопротеидов низкой плотности - Прогрессирование атеросклероза
  - Взаимосвязь между уровнем ферритина и суммарной дозой препаратов железа за год (даже при рекомендуемых значениях 1,5-2 г/год ) с толщиной комплекса интима/медиа общих каротидных артерий по данным УЗИ.

*T. Drüeke et al. Circulation 2002*

*K. Reis et al. Int Heart J 2005*

- Нарушение активности нейтрофилов – снижение иммунитета – увеличение риска развития инфекций -

*Slotki I. Nephrol Dial Transplant 2005*



*Sengoelge G. et al, J Am Soc Nephrol. 2003*

# Влияние оксидативного стресса на остеобласты



Культура остеобластов, полученных из ключицы мышей

Продукция NO-1 (в культуре клеток и у мышей с индуцированным диабетом) индуцировалась:

- $H_2O_2$  (оксидативным стрессом),
- Липосахаридами,
- провоспалительными цитокинами (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ )

*Аденовирусный вектор с экспрессией рекомбинантного гена Гемоксигеназы-1 (HO-1)*

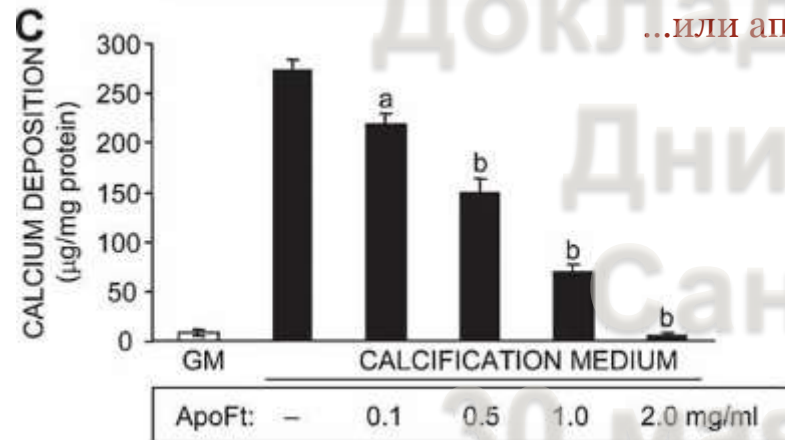
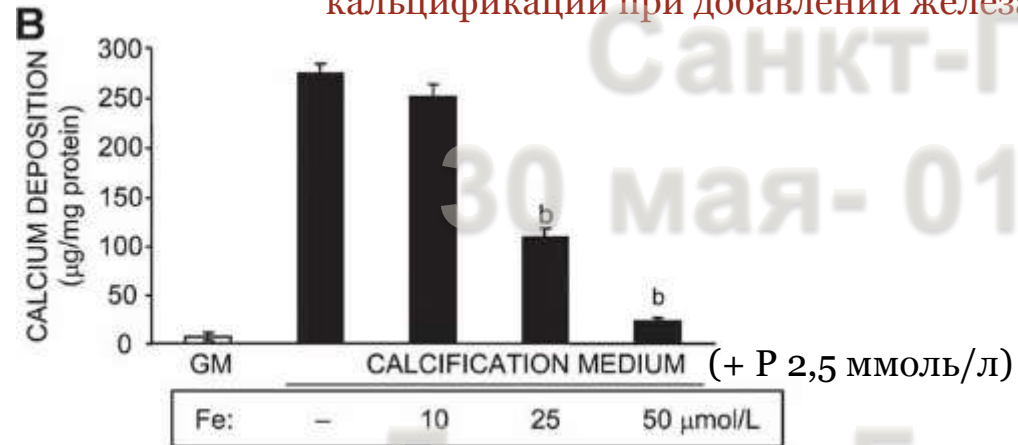
Повышение продукции NO-1 приводит к :

- Замедлению созревания остеобластов с уменьшением образования очагов минерализации
- Снижению экспрессии иРНК Runx2, щелочной фосфатазы и остеокальцина
- Продукты активности HO-1, в т.ч. Fe, были вовлечены в указанные процессы  
(3-дневная экспозиция культуры остеобластов и р-ре гистидината Fe приводила к избирательному снижению экспрессии ЩФ и RUNX-2)

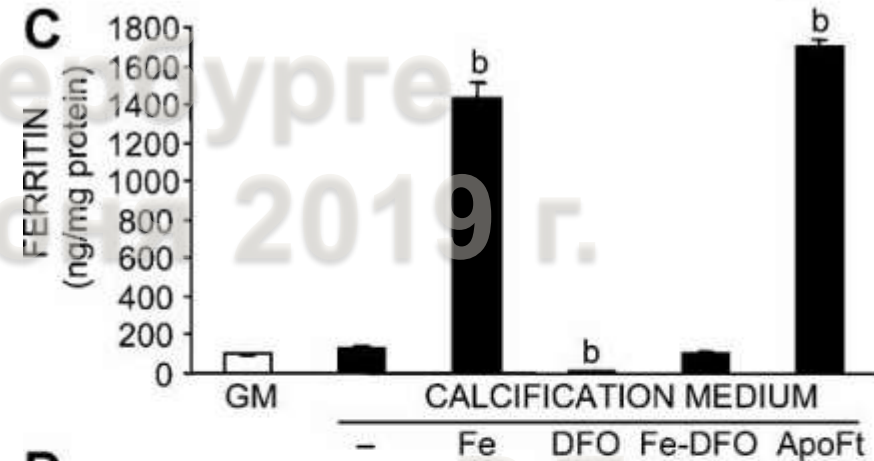


# Значение ферритин-фероксидазы в угнетении кальцификации

Дозозависимое замедление кальцификации при добавлении железа ...



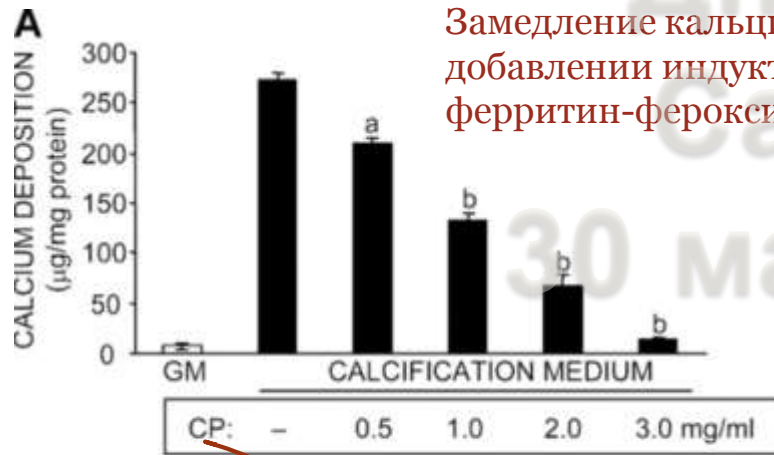
Выраженное повышение продукции ферритина остеобластами при добавлении железа и ферритина



Выраженная обратная связь кальцификации с уровнями ферритина.

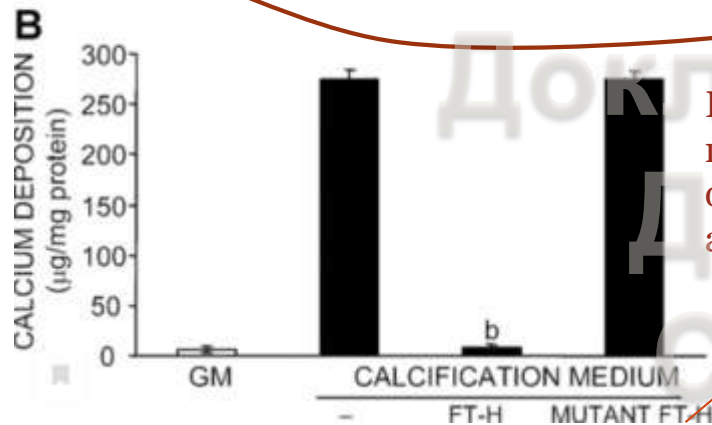


# Значение ферритин-фероксидазы в угнетении кальцификации



Замедление кальцификации при добавлении индуктора активности ферритин-фероксидазы

Церулоплазмин – индуктор активности ферритин-фероксидазы



Возобновление кальцификации при введении мутантного ферритина с отсутствием активности фероксидазы

Ферритин-Н с блокированной активностью фероксидазы

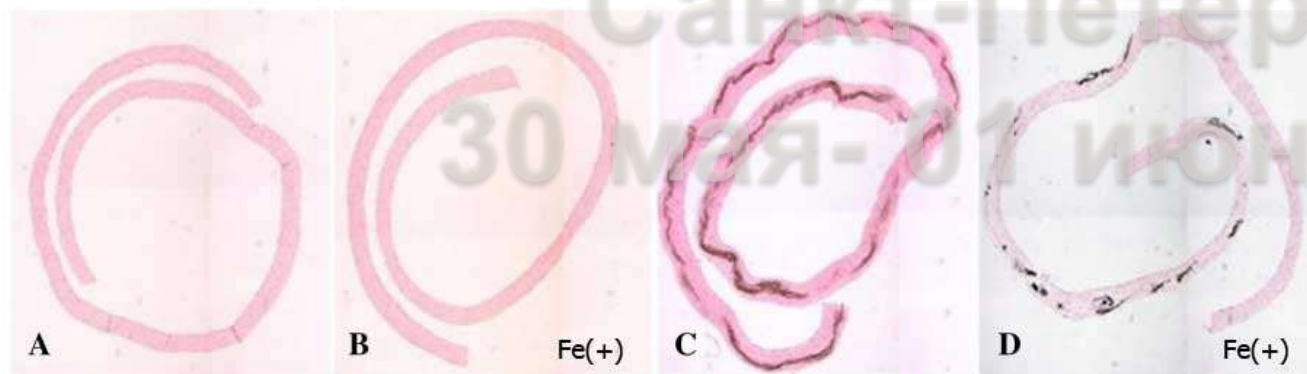
## Вывод

- Индуцированное железом замедление кальцификации опосредовано повышением образования ферритина и связано с его угнетающим действием на RUNX-2, и образование костных белков
- Указанные эффекты ферритина связаны с активностью его фероксидазы

# Поступление железа может предотвращать прогрессирование сосудистой кальцификации



# Интраперитонеальное введение железа и сосудистая кальцификация

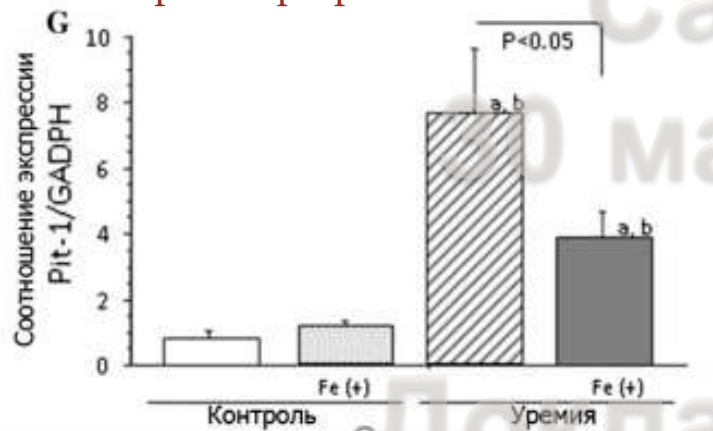


Через 8 недель от начала исследования в группе уремических животных с введением железа отмечалось выраженное замедление кальцификации в сравнении с группой с уремией без введения железа.

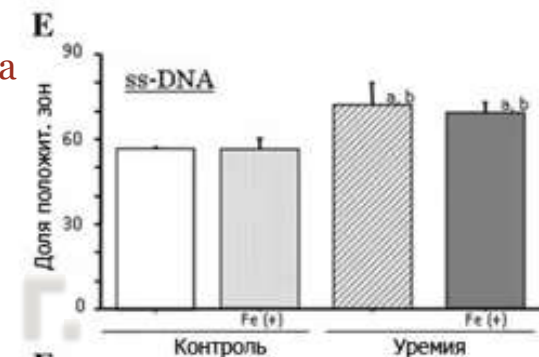


# Интраперитонеальное введение железа и сосудистая кальцификация

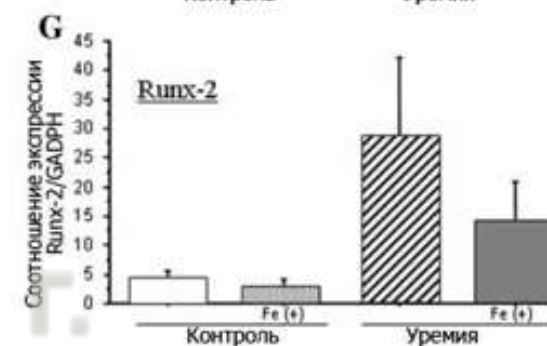
Снижение экспрессии гена фосфорных транспортеров 1 типа



Отсутствие признаков апоптоза



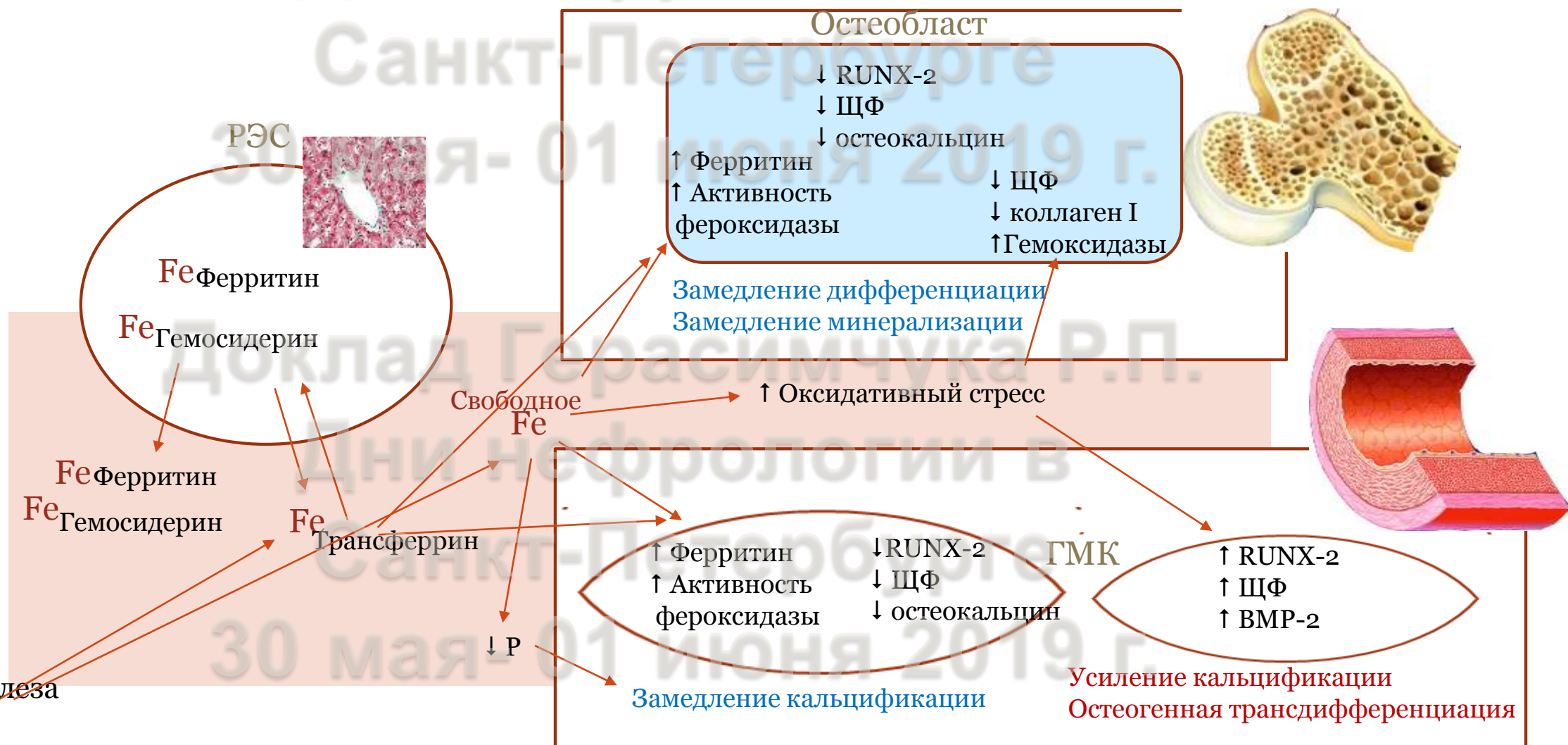
Снижение экспрессии РНК RUNX-2 в ОТ ПЦР и снижение доли положительных зон по иммуногистохимии



Параметры	Контроль (n = 8)	Контроль + Fe (n = 8)	Уремия (n = 6)	Уремия ± Fe (n = 6)
Ферритин (нг/мл)	2,618.8 ± 496.6	9,883.5 ± 3,757.5 <sup>a</sup>	<b>1,753.3 ± 491.4</b>	<b>15,116.7 ± 6,724.1<sup>bc</sup></b>
P (мг/дл)	9.03 ± 0.56	8.95 ± 0.59	17.35 ± 3.06 <sup>a</sup>	15.28 ± 3.54 <sup>ab</sup>
1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> (пг/мл)	133.0 ± 20.1	133.2 ± 27.1	24.0 ± 8.1 <sup>a,b</sup>	99.8 ± 107.1 <sup>c</sup>
FGF23 (пг/мл)	56.8 ± 12.2	103.1 ± 22.6	<b>74,502.0 ± 10,046.2<sup>ab</sup></b>	<b>2,672.4 ± 3,394.8<sup>c</sup></b>

# Влияние Fe на кальцификацию

Доклад Герасимчука Р.П.  
 Дни нефрологии в  
 Санкт-Петербурге  
 30 мая - 01 июня 2019 г.



## Что из этого следует

- Риск развития сосудистой кальцификации при уремии может проявляться как при недостаточности, так и при избытке его поступления.
- Направления развития ферротерапии должны быть связаны с уменьшением риска развития оксидативного стресса
- У пациентов с ХБП нужно избегать значимого снижения уровня ферритина и стараться поддерживать его выше 100 нг/мл даже при нормальных значениях гемоглобина