

ЛЕЧЕНИЕ АНЕМИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА

Ряснянский Владимир Юрьевич,
медицинский директор группы компаний НефроМед
С. Петербург

Клинико-индустриальный симпозиум

"Современные технологии и медикаментозные средства в
нефрологии и диализе"



Почему Вы
глубокоуважаемая почка
недостаточно синтезируете
эритропоэтин?

1

Не могу и не хочу

2

Хочу, но не могу

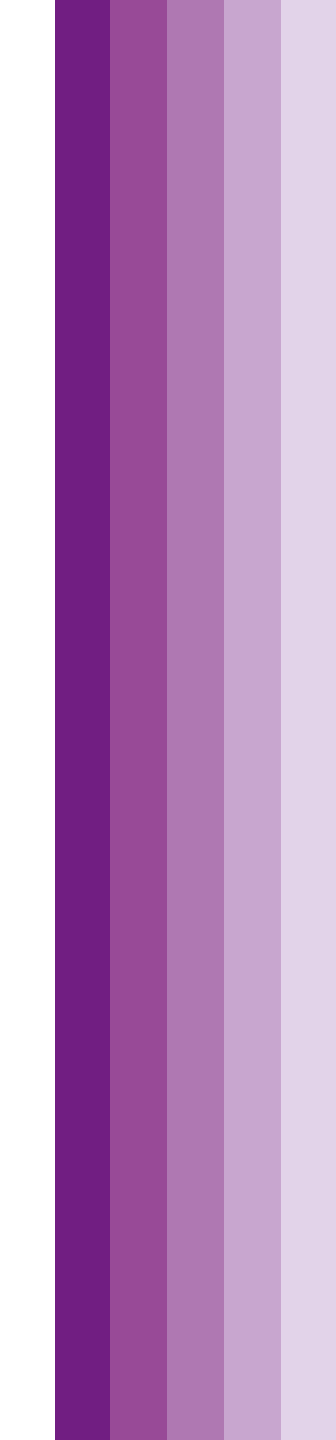
3

Могу, но не хочу

Выбери правильный ответ склерозированной почки.

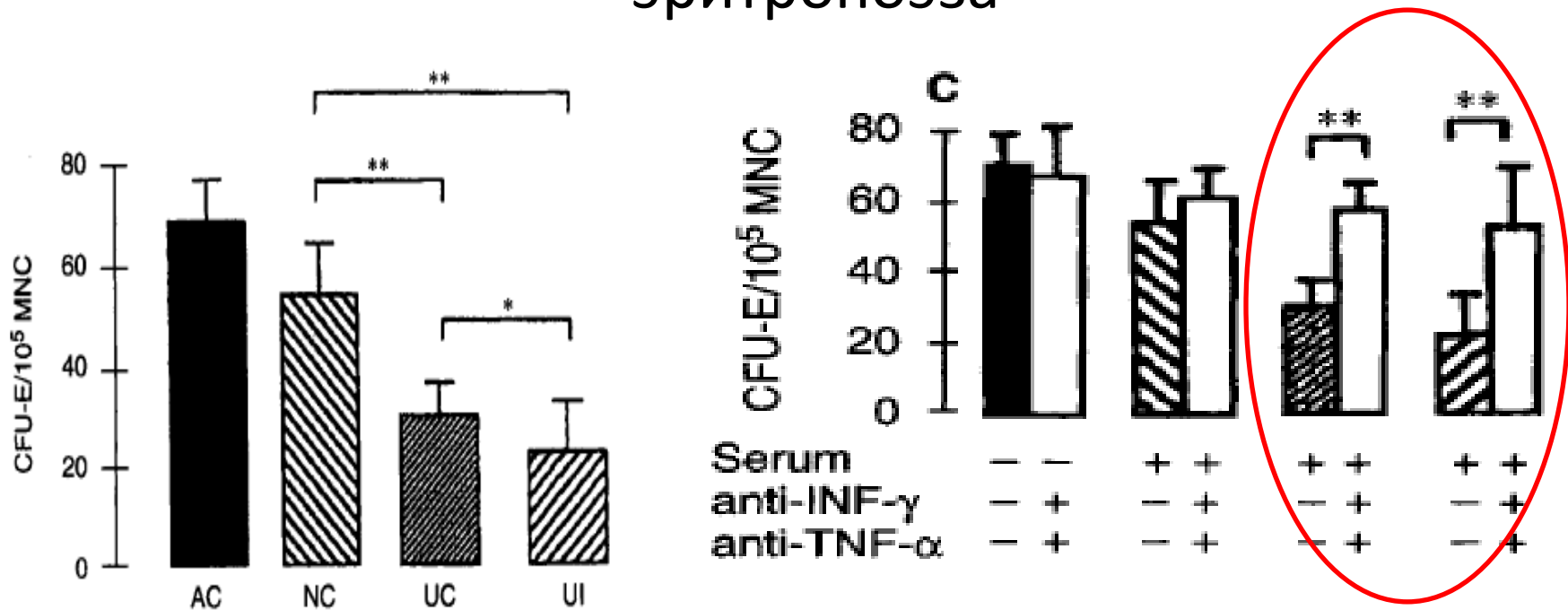
Причины нефрогенной анемии

1. Неэффективность эритропоэза
 - Действие уремических токсинов
 - Синдром воспаления
2. Снижение продолжительности жизни эритроцитов
3. Изменение феррокинетики – ведущий механизм воспаления и активация гепсидина
4. Недостаточная продукция эритропоэтина (начиная с ХБП 4 ст. корреляция между уровнем ЭПО и гемоглобином исчезает)



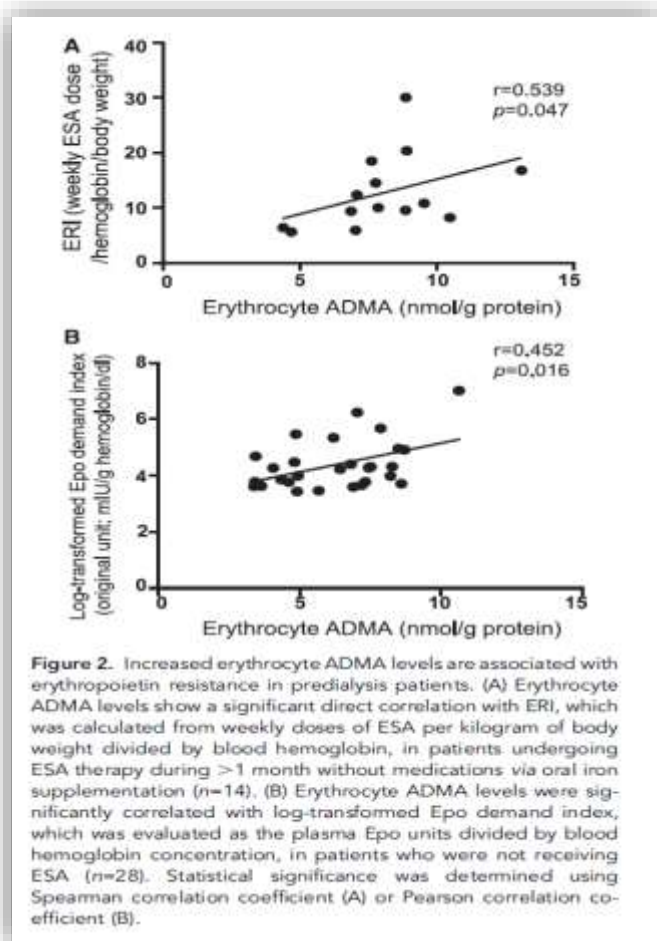
**УРЕМИЧЕСКИЕ ТОКСИНЫ – ОТ НАРУШЕНИЯ
ЭРИТРОПОЭЗА ДО ГЕМОЛИЗА**

Уремия и воспаление – главные факторы угнетения эритропоэза

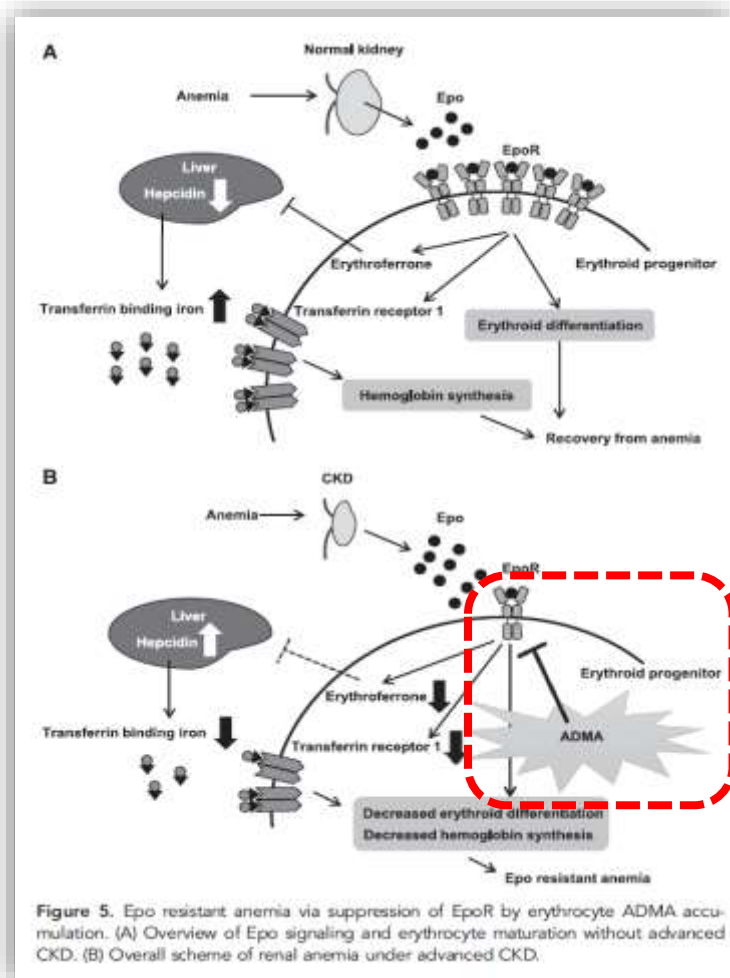


Ответ культуры костного мозга больных на ЭПО угнетается при добавлении сыворотки больных с уремией (UC) и степень угнетения усиливается при воспалении у больных с уремией (UI). Дальнейшее добавление в культуру костного мозга антител к интерферону- γ (IFN- γ) и антител к TNF- α почти полностью восстанавливает чувствительность ЭПО (Allen et al.(1999)).

Ассиметричный диметиларгинин (АДМА) как причина нарушения чувствительности к эритропоэтину при нефрогенной анемии



Повышение концентрации АДМА ассоциируется с резистентностью к эритропоэтину



Супрессирующее действие АДМА на сигнальную систему рецептора к эритропоэтину

Снижение длительности жизни эритроцитов у пациентов с ХБП

Indicator	CKD stage				
	1	2	3	4	5
RBC lifespan, days	122±50	112±26	90±32*	88±28*	60±24*

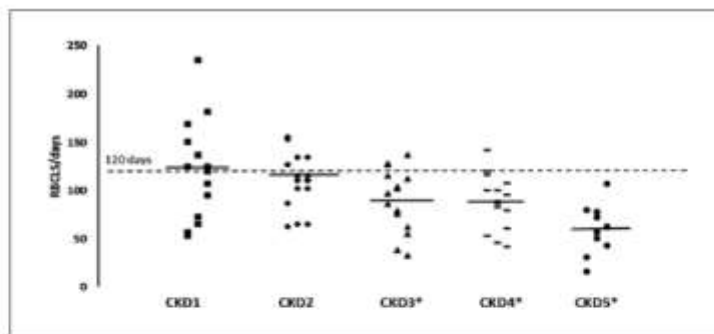


Fig. 1. RBC lifespan across CKD stages. * RBC lifespan is significantly shorter in stages 3, 4, and 5 than in stages 1 and 2 ($p < 0.05$). RBC, red blood cell; CKD, chronic kidney disease.

Table 1. Renal anemia indicator data by CKD stage group

Indicator	CKD stage				
	1	2	3	4	5
Hb, g/L	134±16	146±20	122±23*	99±20*	99±19*
RBC lifespan, days	122±50	112±26	90±32*	88±28*	60±24*
EPO, IU/L	9.0±4.1	7.7±4.9	11.1±5.7	10.6±4.5	7.2±4.7
Ret/ 10^6 μ L	0.07 (0.05–0.07)	0.06 (0.05–0.09)	0.07 (0.04–0.1)	0.05 (0.04–0.07)	0.04 (0.03–0.05)*
Ferritin, ng/mL	99 (60–178)	161 (109–329)	283 (143–448)	149 (79–378)	203 (115–390)
Folic acid, ng/mL	10.2 (8.7–16.1)	13.4 (8.5–15.5)	14.2 (10.3–18.4)	15.6 (14.2–18.2)	15.6 (14.9–18.4)
Vitamin B12, pg/mL	402 (364–541)	434 (415–503)	517 (394–837)	540 (438–723)	509 (404–965)

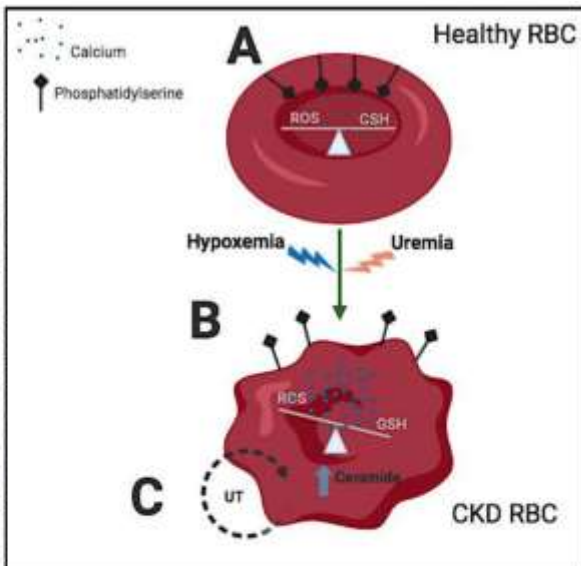
* Significantly shorter than CKD stage 1 ($p < 0.05$).

RBC lifespan, serum EPO, and (Hb) data are means \pm SD. Serum ferritin, folic acid, vitamin B12, and Ret data are medians (interquartile ranges).

Hb, hemoglobin; CKD, chronic kidney disease; RBC, red blood cell; EPO, erythropoietin; Ret, reticulocyte count.

Уремия и гипоксия – самостоятельные факторы индуцирующие эритроцитоз и окислительно-восстановительный дисбаланс в эритроцитах

Fig. 7. Disturbance of red blood cell (RBC) homeostasis by uremia and hypoxemia. (A) Under normal conditions, healthy RBC maintain a normal calcium influx and a physiological balance between reduced glutathione (GSH) and reactive oxygen species (ROS). Under these circumstances, phosphatidylserine (PS) is located at the inner leaf of the RBC cell membrane and not exposed to the extracellular milieu. (B) In CKD, uremic toxins (UT), such as indoxyl sulfate (IS) accumulate; in addition, a low hemoglobin oxygen saturation (hypoxemia) is observed in a number of patients. These conditions in CKD RBC, favor an increased calcium influx and consequently a rise in intracellular calcium concentration. With the cellular redox state-maintained, the amount of ROS generation increases and GSH recycling is impaired. When the redox balance is disturbed, high ROS levels can disrupt the normal cellular machinery, eventually triggering the translocation of PS to the RBC surface, a signal that initiates RBC death (eryptosis). (C) Undertaking further study are necessary to understand 1. levels of ceramide formation under uremic and hypoxemic conditions, and 2. the impact of blocking the transport of the uremic toxins into RBC via organic anion transporter 2 (OAT2) on cell homeostasis. Fig. created using BioRender (<https://app.biorender.com>).

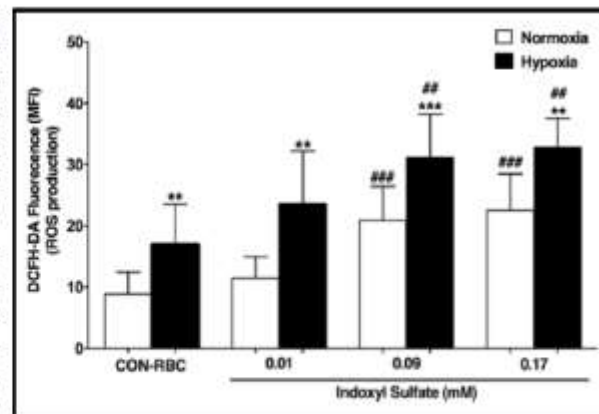


Нарушения гомеостаза эритроцитов на фоне уремии и гипоксии как результат повышения внутриклеточного кальция, повышения окислительной активности, снижения глутатиона с дальнейшей инициацией эриптоза

Повышение Активных форм кислорода в эритроцитах ка ответ на гипоксию и индоксил сульфат

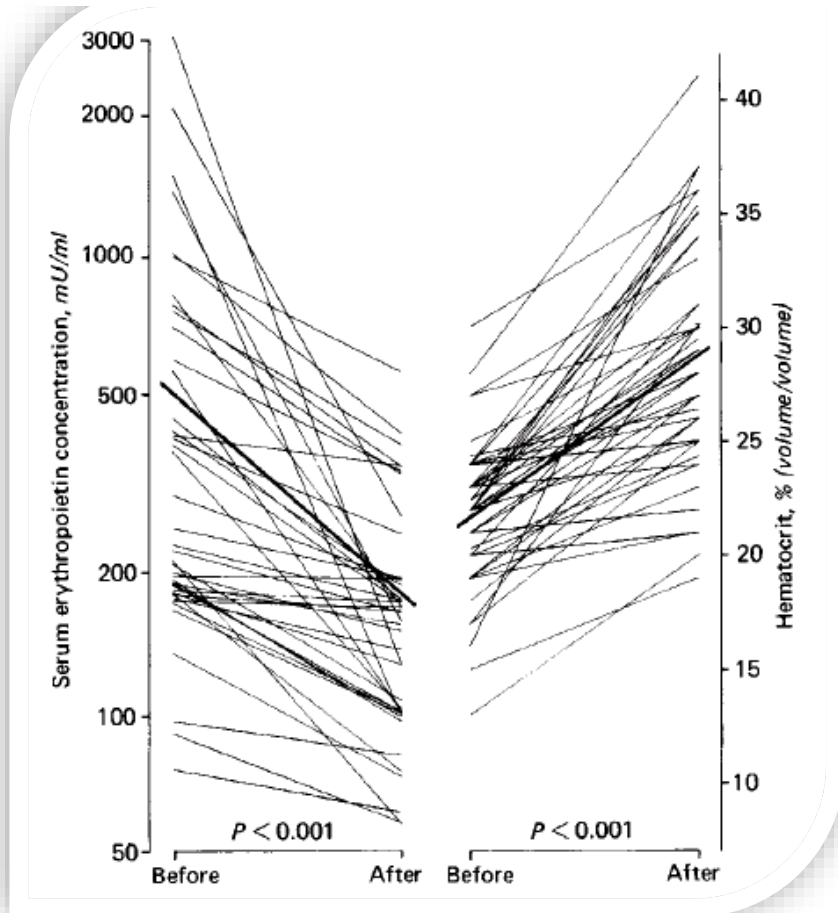
S. S. Tozoni and G. F. Dias Uremia and Hypoxia Independently Induce Eryptosis and Erythrocyte Redox Imbalance Cell Physiol Biochem 2019;53:794-804

Fig. 5. ROS production in response to IS and hypoxia. RBC obtained from healthy subjects (n=10) were treated with different concentrations of IS (0.01, 0.09, 0.17 mM) for 24h at 37°C in an incubator with controlled oxygen partial pressure under normoxic (21% O₂) (white bars) or hypoxic (5% O₂) (black bars) conditions. Control RBC (CON-RBC) were incubated with TRIS-Glc-BSA in normoxia and hypoxia. ROS production was analyzed by flow cytometry through DCFH-DA probe fluorescence and results were represented as Mean Fluorescence Intensity (MFI). **p<0.01; ***p<0.001 between normoxia versus hypoxia in the same group. ##p<0.01; ###p<0.001 between CON-RBC vs. IS concentration in the same group (normoxia vs. normoxia; hypoxia vs. hypoxia).



Начало ЗПТ приводит к увеличению гематокрита и снижению сывороточного ЭПО (1980г.)

Сывороточный эритропоэтин и гематокрит до и через 3-27 мес. после начала хронического гемодиализа

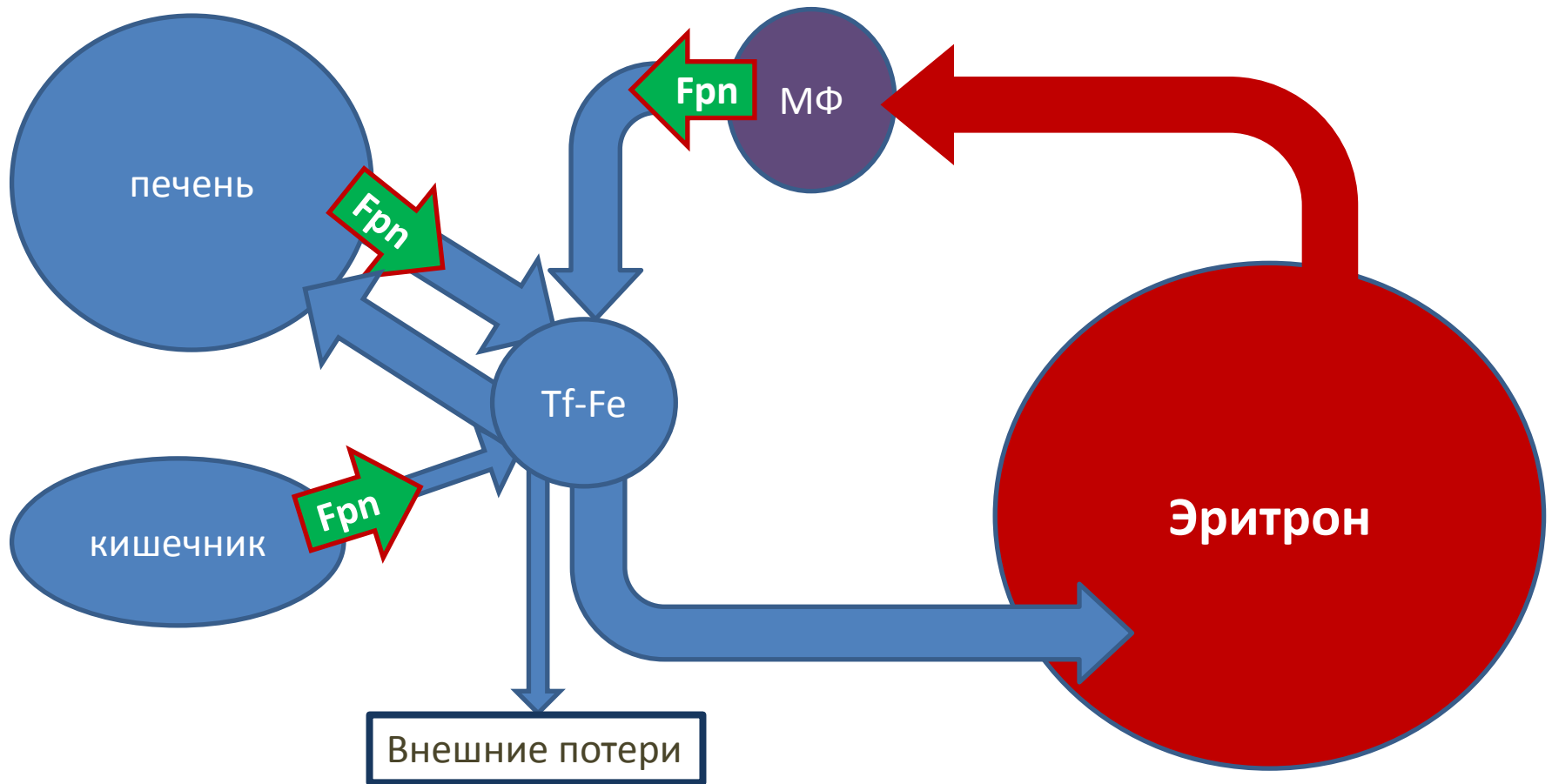


S_{EP} mU/ml			Hematocrit % (vol/vol)		
Before	After	Normal controls	Before	After	Normal controls (N = 59)
509	182	136	21.6	28.7	42.7
± 440	± 110	± 66	± 3.6	± 4.9	± 3.9
$\leftarrow P < 0.001 \rightarrow$	$\leftarrow P < 0.01 \rightarrow$		$\leftarrow P < 0.01 \rightarrow$	$\leftarrow P < 0.001 \rightarrow$	
	$\leftarrow P < 0.001 \rightarrow$			$\leftarrow P < 0.001 \rightarrow$	



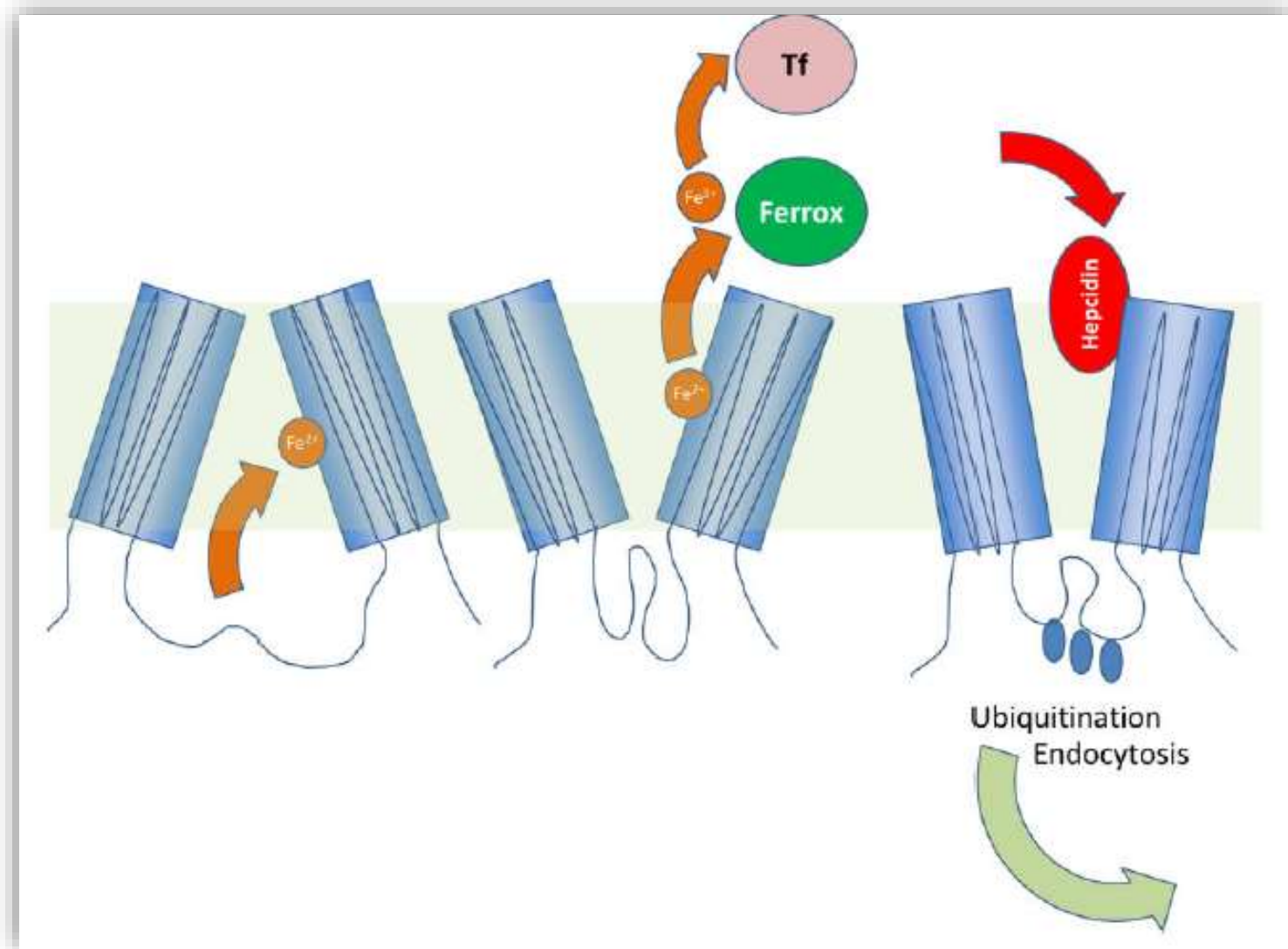
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ И АБСОЛЮТНЫЙ ДЕФИЦИТА ЖЕЛЕЗА

Схема кругооборота железа



- Ферропортин – очень важный белок

Ферропортин, трансферрин, гепсидин – модель перемещения железа



Гепсидин

- Открыт в 2000 г как антибактериальный пептид, вырабатываемый печенью
- Основная часть продуцируется гепатоцитами, окружающими портальные вены (поближе к железу поступающему с пищей) и купферовскими клетками (реакция на микробные агенты и разрушение эритроцитов)
- Кодирован геном Hepcidin Antimicrobial Peptide (HAMP)
- Мутации гена HAMP ассоциируются перегрузкой железом и гемохроматозом

Два основных пути стимуляции синтеза гепсидина

1. Дефицит железа (BMP6-HJV-SMAD)
2. Воспаление (IL-6- JAK2-STAT3)

Эритрофероновый путь торможения

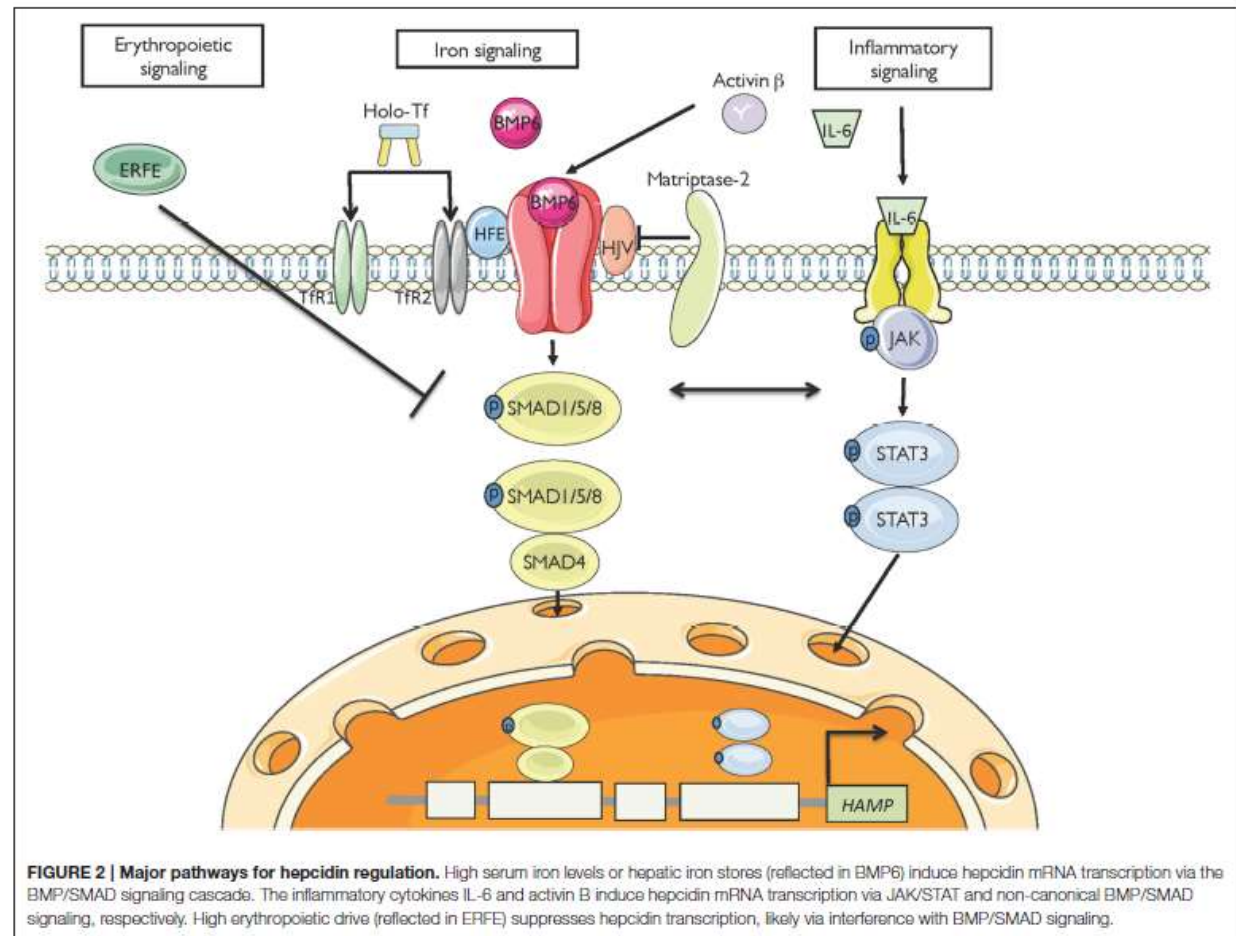
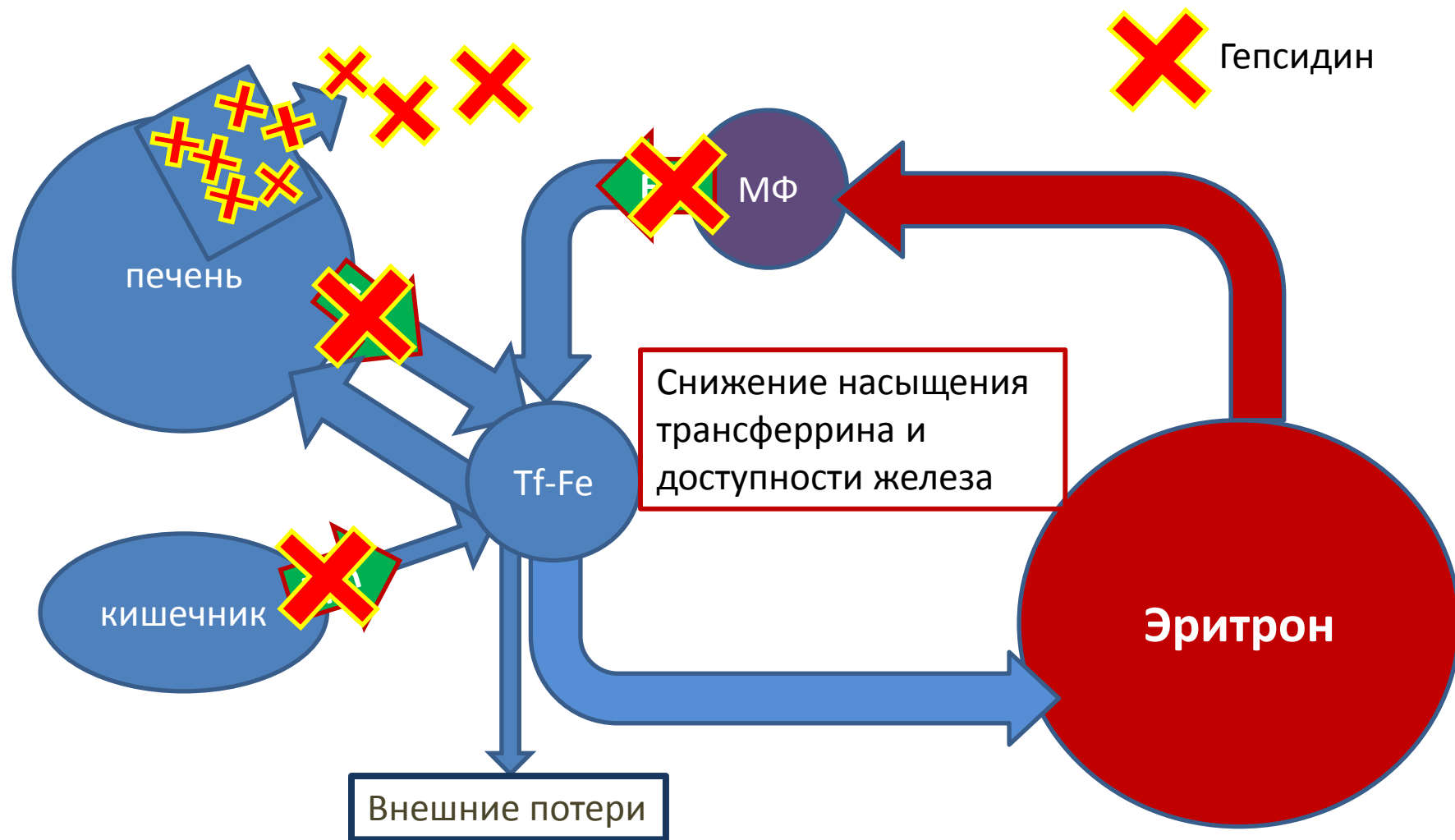
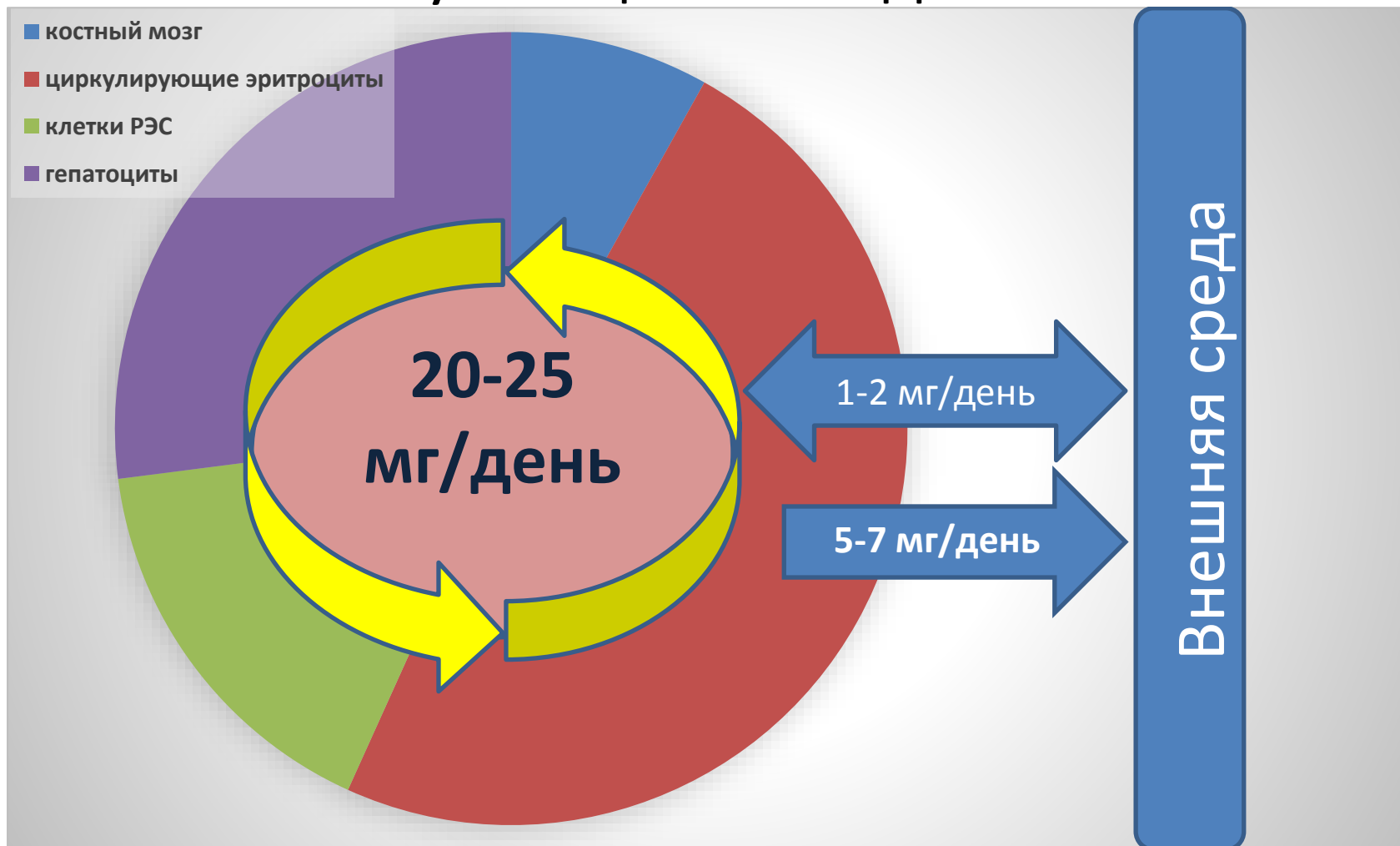


Схема кругооборота железа и гепсидин

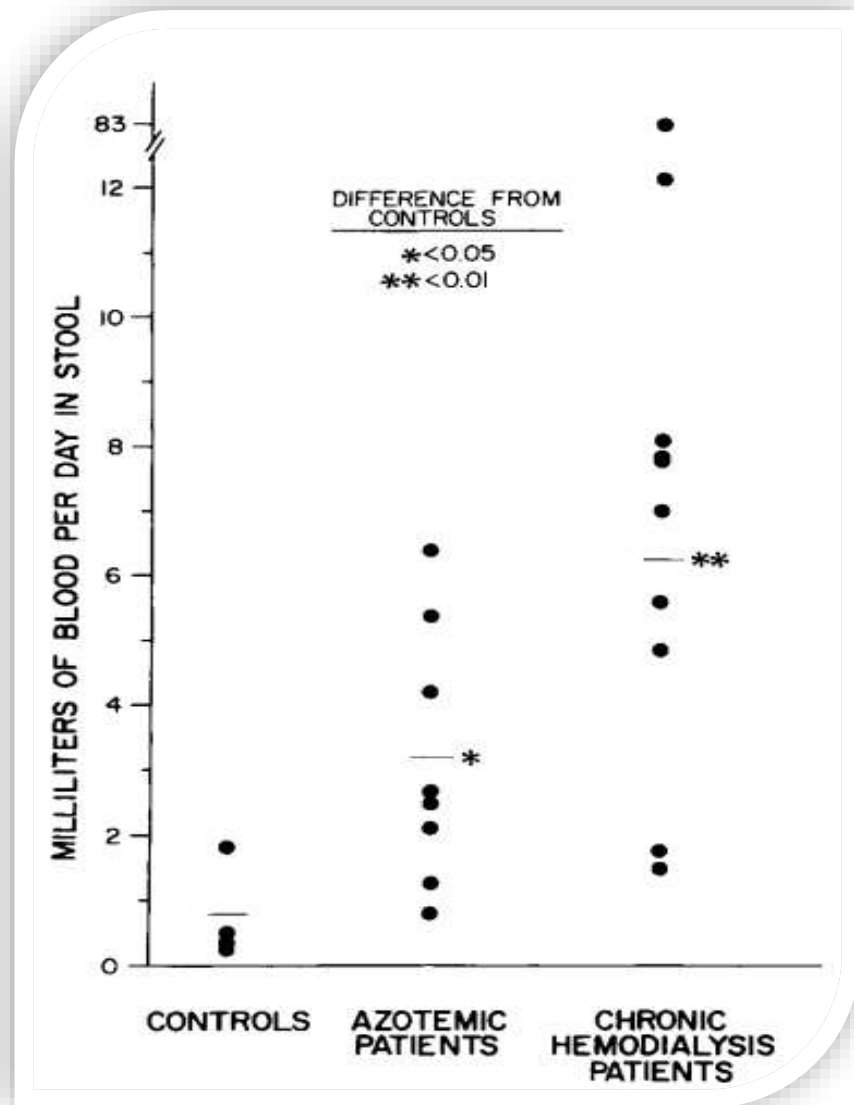


Кругооборот железа у пациента, получающего гемодиализ



Необходимость восполнения 1,5-2,5 г/год

Сравнение ежедневной кровопотери через ЖКТ (мл/день)



- Без азотемии - 0,83,
- Азотемия без диализа - 3,15
- ХГД - 6,27

Кровопотеря у пациента, получающего хронический гемодиализ должна приводить к необходимости восполнения 1,5 – 2,5 г/железа в год

Обусловленные диализной технологией (мембрана + магистраль)	165 мл/год
Оккультные ЖКТ (микро) кровотечения	2257 мл/год
Регулярные заборы крови для обследования	428 мл/год
Работа с двухпросветным катетером	2680 мл/год
Итого: пациент с АВФ	2850 мл/год
Итого: пациент с перманентным катетром	5530 мл/год

Забыты прочие потери около 2 мл на процедуру, что должно добавить еще 312 мл кровопотери в год

Table 1 Blood losses in hemodialysis patients [30]

Related to the dialytic technique (membrane + blood lines)	165 mL of blood/year
Occult gut (micro) bleeding	2257 mL of blood/year
Regular blood sampling for biological follow-up	428 mL of blood/year
Care of double-lumen catheters	2680 mL of blood/year
In summary (vignette)	
Patient with a native fistula	2680 mL of blood/year
Patient with a long-lasting double-lumen catheter	5320 mL of blood/year

Фосфор как причина снижения сатурации трансферрина

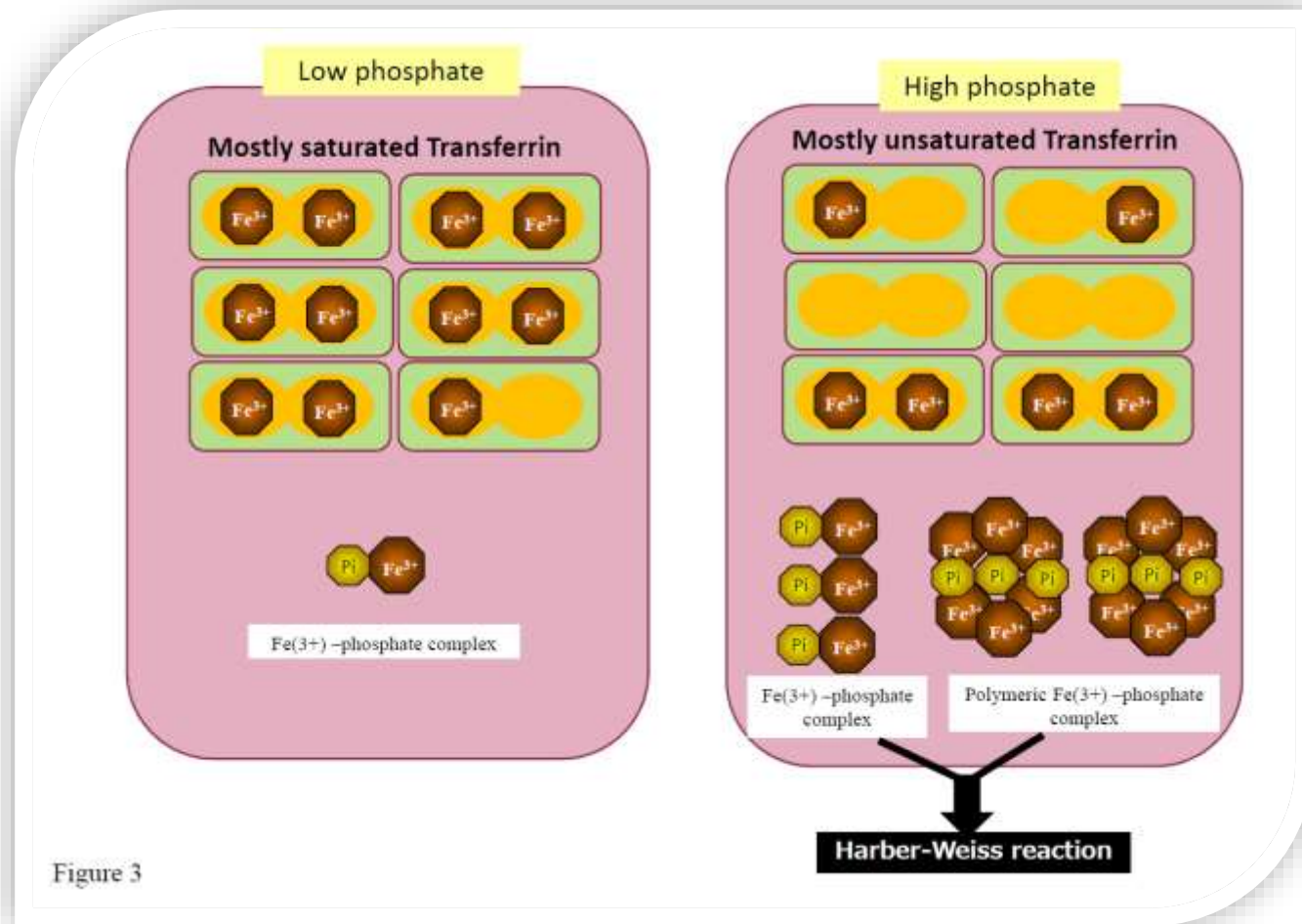


Figure 3

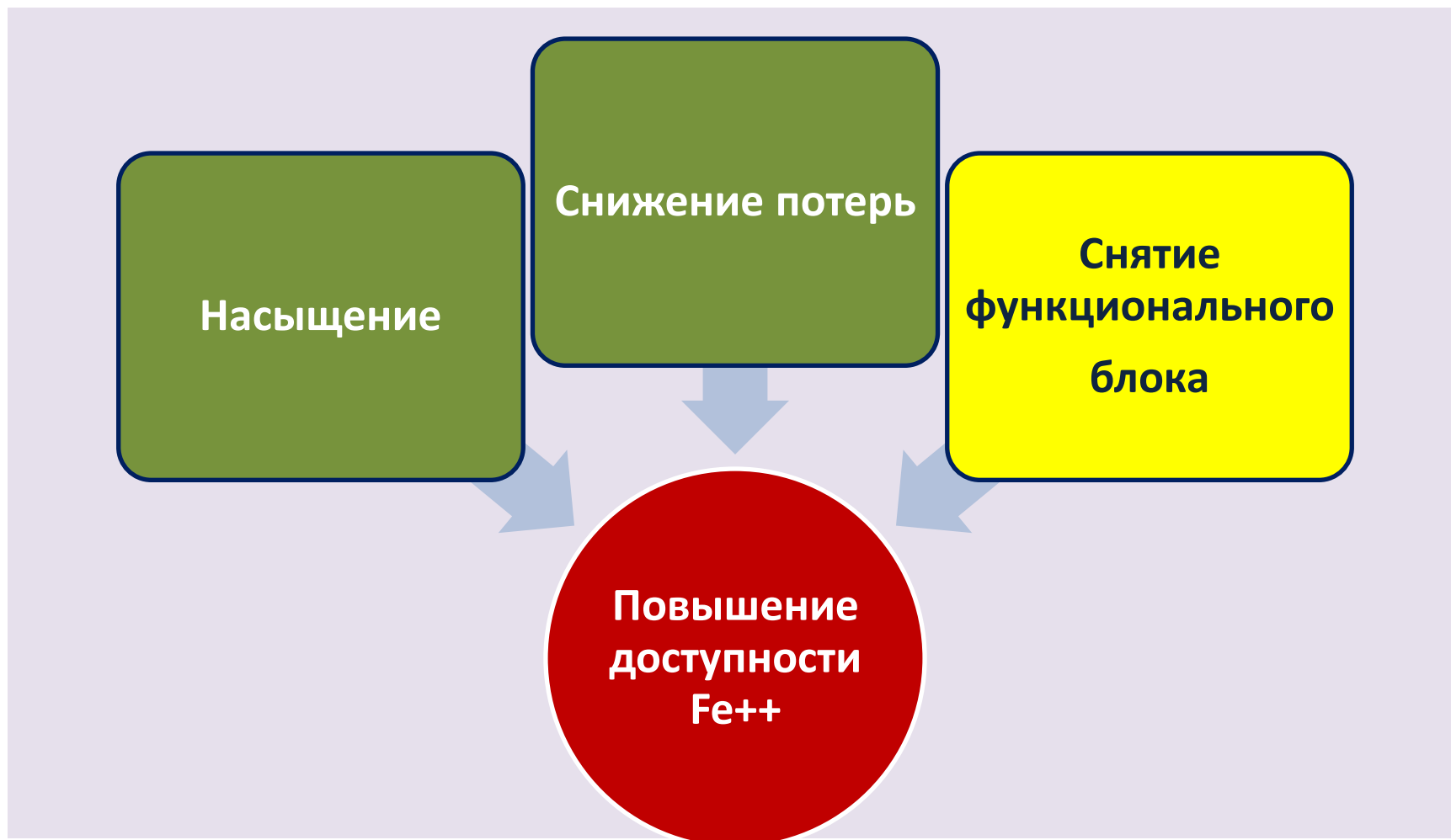
Задача

КАК ПРИ

- 1. Повышенной потере,*
- 2. Повышенной потребности*
- 3. Сниженной биодоступности*

ОБЕСПЕЧИТЬ ПАЦИЕНТА ЖЕЛЕЗОМ?

Пути ликвидации дефицита железа



A NEW CARBOHYDRATE-IRON HAEMATINIC FOR INTRAMUSCULAR USE

BY

D. F. CAPPELL, M.D., F.R.F.P.S.

H. E. HUTCHISON, M.D.

E. B. HENDRY, Ph.D., M.B., B.Sc., F.R.F.P.S.

AND

HUGH CONWAY, M.B., B.Sc., M.R.C.P.

(From the Departments of Pathology, Pathological Biochemistry, and Medicine, the University and Western Infirmary, Glasgow)

Details of Cases

Clinical Summary	Duration of Therapy (Days)	Total Iron Given (mg.)	% Hb		P.C.V. (%)		M.C.H.C. (%)	
			Before Therapy	After Therapy	Before Therapy	Therapy After	Before Therapy	After Therapy
1. F. 60. Achlorhydria. No haemorrhage	130	1,100	66	98	36.6	46.4	26.7	31.3
2. F. 39. No achlorhydria. Slight menorrhagia	71	1,200	61	88	30.2	42.4	29.9	30.8
3. M. 51. Achlorhydria. W.R. +. No haemorrhage	117	1,200	60	87	32.4	41.8	27.4	30.8
4. F. 66. Achlorhydria. No haemorrhage	97*	1,300	52	97	29.9	47.4	25.7	30.3
5. F. 42. Gastroctomy for ulcer in 1950. Menorrhagia	36	1,400	52	80	30.1	41.9	25.6	28.3
6. F. 65. Achlor-								

Summary

A preliminary account is given of the successful clinical trial, in 15 patients, of a newly elaborated proprietary dextran-iron haematinic ("imferon"). The agent proved non-irritating when given intramuscularly and was readily absorbed, giving serum iron levels of 600 μ g. within eighteen hours; absorption via the lymphatics was demonstrated histologically. The complex proved an effective haematinic, giving average haemoglobin regeneration rates of between 3.5 and 11.3% Hb per week over the first four weeks of treatment.

We wish to thank the Medical Director, Research Department, Benger's Ltd., for supplies of imferon.

REFERENCES

- Benstead, N., and Theobald, G. W. (1952). *British Medical Journal*, **1**, 407.
 Briscoe, C. C. (1952). *Amer. J. Obstet. Gynec.*, **63**, 99.
 Clegg, J. W., and King, E. J. (1942). *British Medical Journal*, **2**, 329.
 Goldberg, A., and Hutchison, H. E. (1953). *Glasg. med. J.*, **34**, 35.
 Govan, A. D. T., and Scott, J. M. (1949). *Lancet*, **1**, 14.
 Hawkins, C. F., Peeney, A. L. P., and Cooke, W. T. (1950). *Ibid.*, **2**, 387.
 Heller, V. G., and Paul, H. (1934). *J. Lab. clin. Med.*, **19**, 777.
 Hendry, E. B. (1949). *Edinb. med. J.*, **56**, 353.
 Hutchison, H. E. (1953). *Blood*, **8**, 236.
 Ramsey, A. S. (1950). *British Medical Journal*, **1**, 1109.

ANAEMIA OF PREGNANCY TREATED WITH INTRAMUSCULAR IRON

BY

J. M. SCOTT, M.D.

AND

A. D. TELFORD GOVAN, Ph.D., F.R.F.P.S.
M.R.C.P.Ed.

(From the Research Department, Glasgow Royal Maternity and Women's Hospital)

1954 г

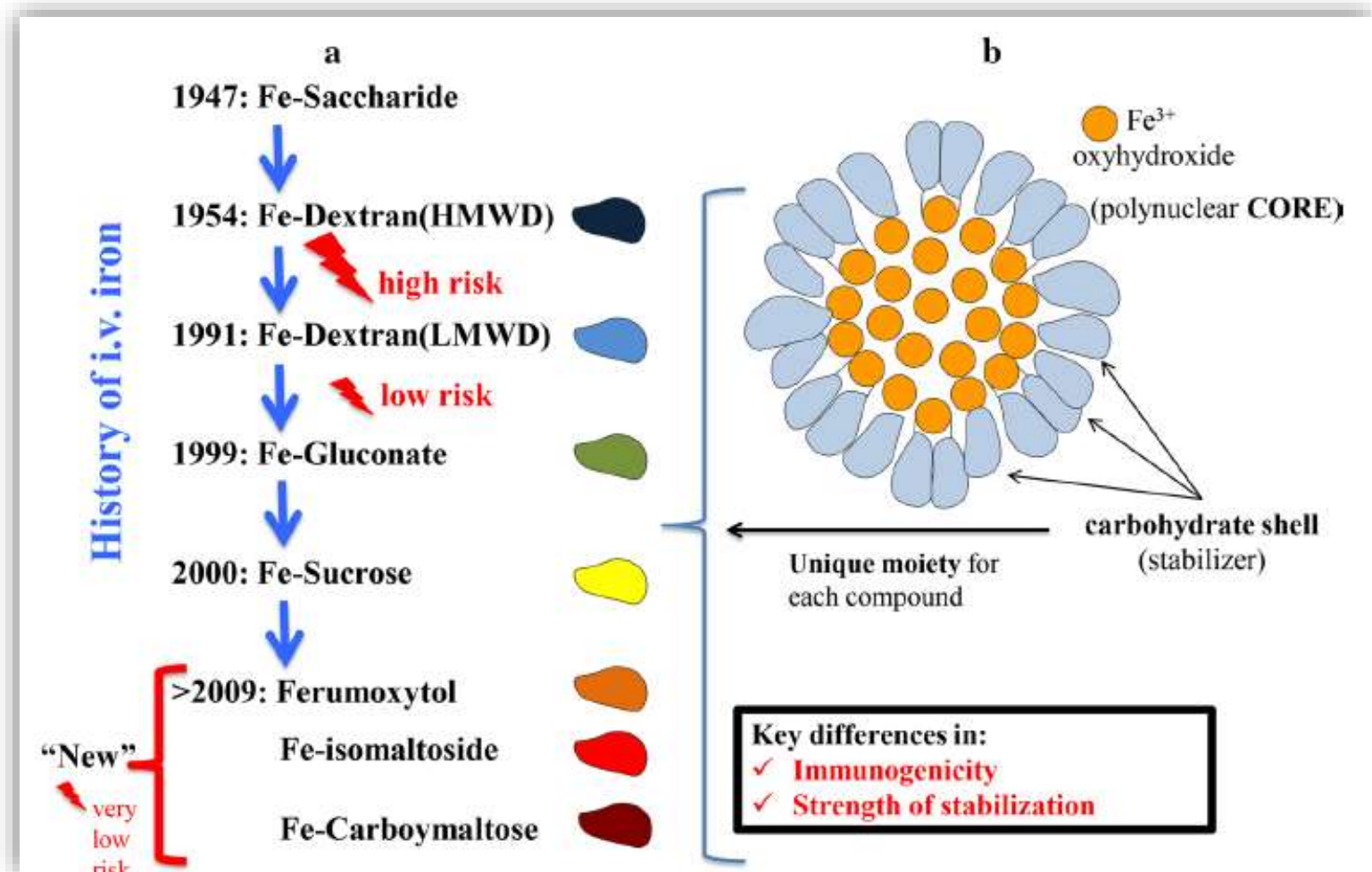
Начало клинического

использования

высокомолекулярного декстрана

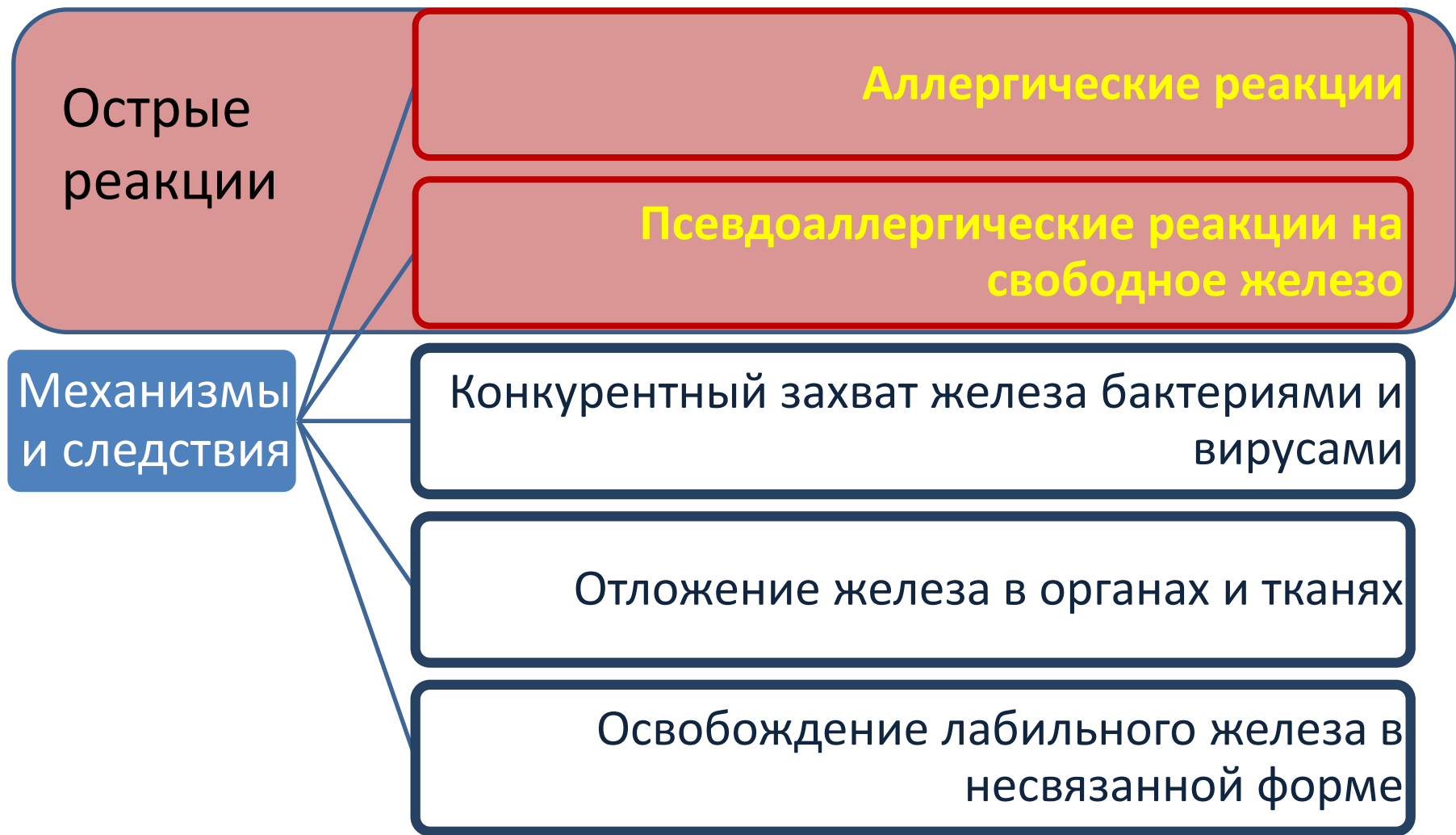
железа

Краткая история в/в препаратов железа – попытка воспроизвести молекулу близкую к молекуле ферритина



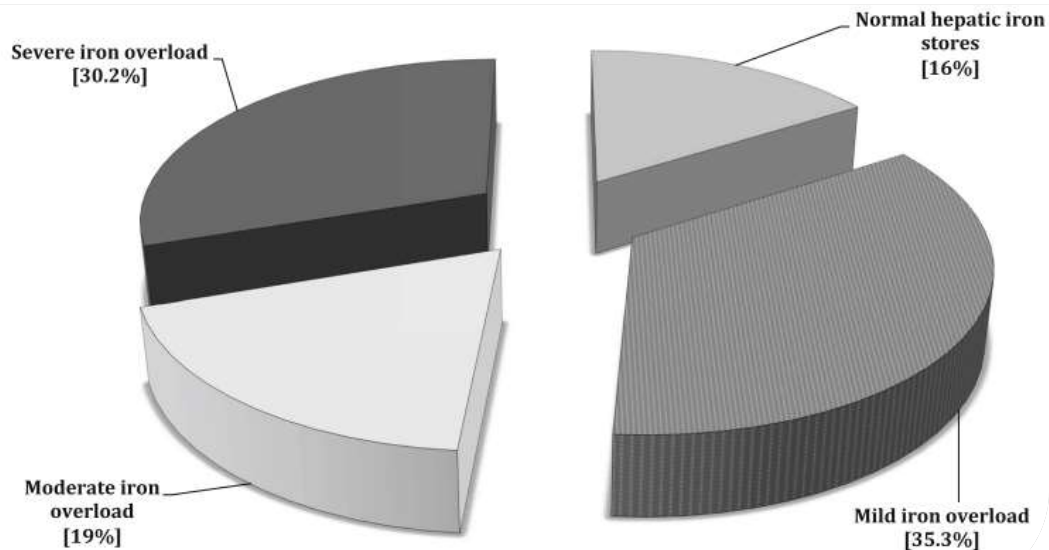
Наиболее важна разница в оболочке, которая окружает железное ядро и определяет силу которая удерживает железо и иммуногенность препарата

Механизмы рисков и следствия при парэнтеральном введении препаратов железа



Распределение больных получающих гемодиализ в зависимости от уровня запасов железа в печени (по данным МРТ)

Fig. 1 Results of a cross-sectional quantitative magnetic resonance imaging (MRI) study of 119 hemodialysis patients (according to [3] and [8])

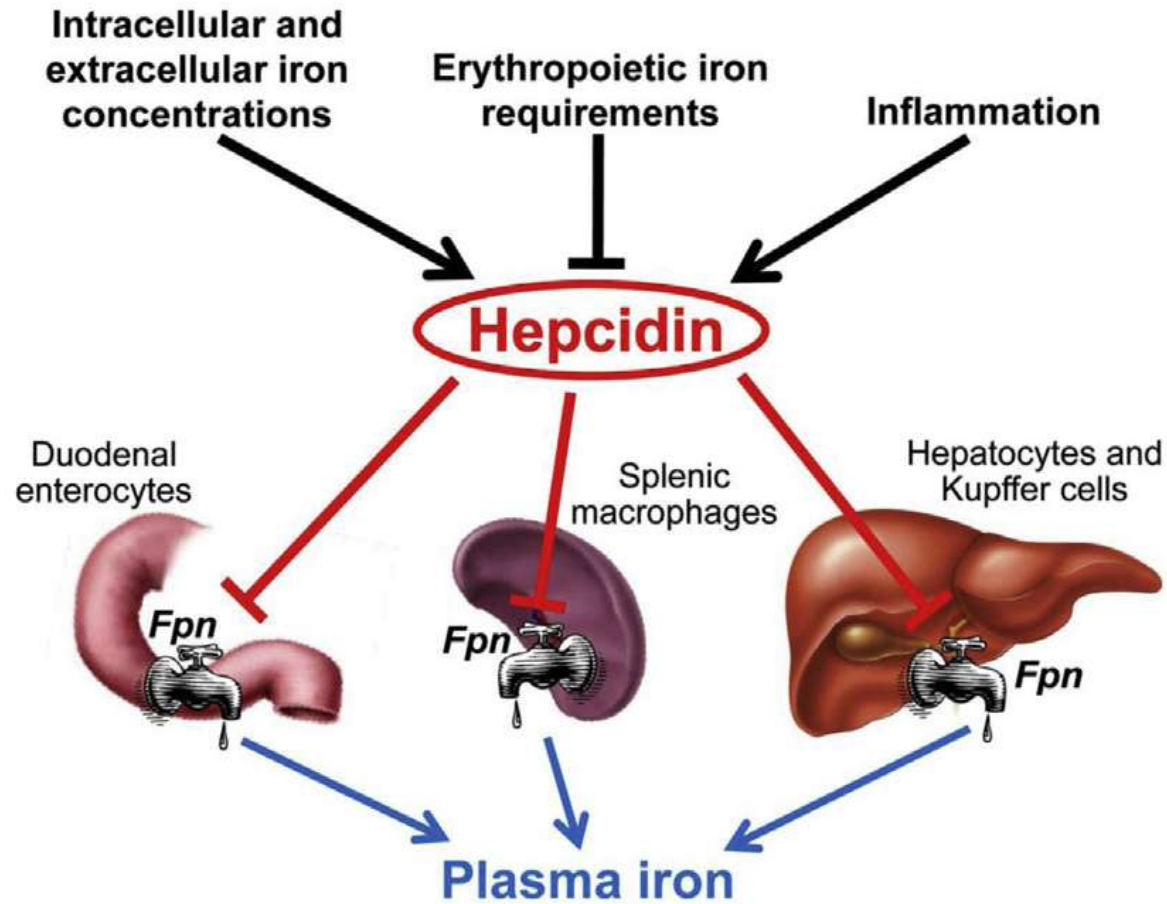


Высокая доля больных с признаками перегрузки железом печени свидетельствует о проблемах его доступности

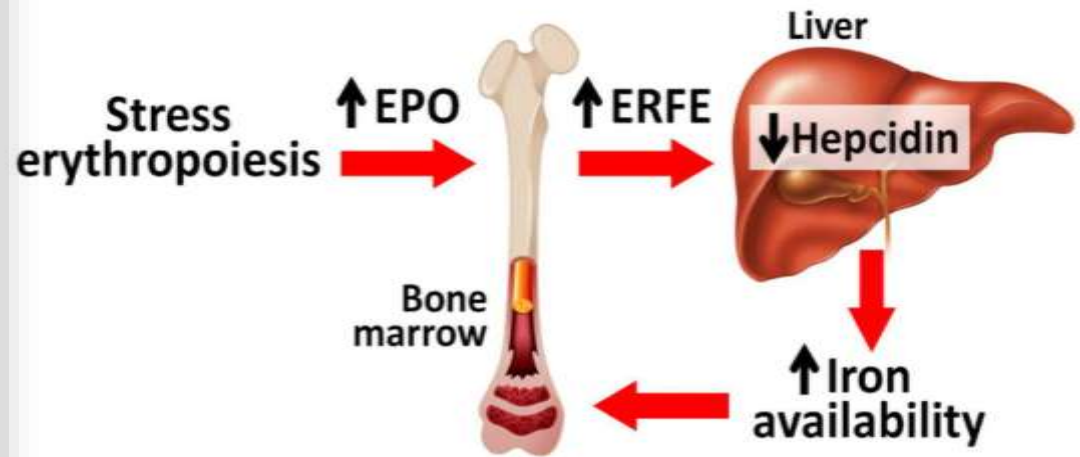
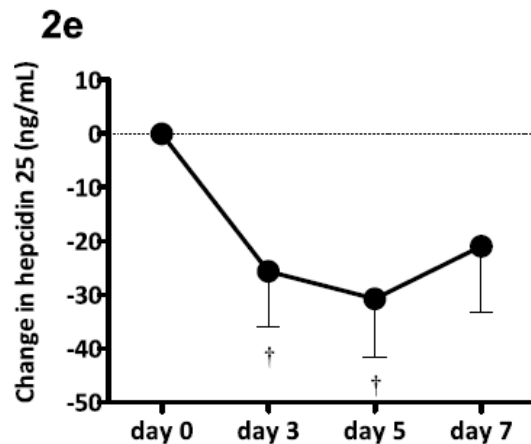
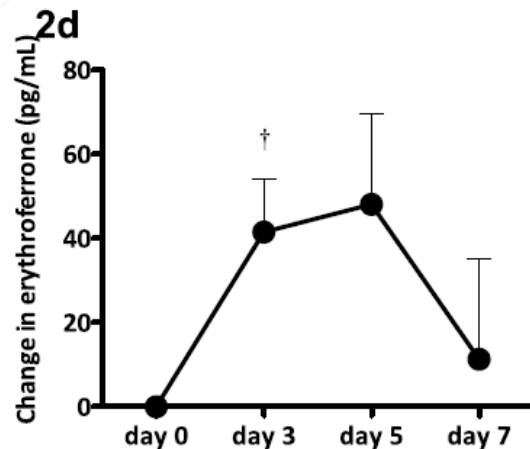
Способы доставки железа

Пероральный	Физиологический путь	Ограничения по объёму возмещения Легко блокируется гепсидином
в/венный	Высокие дозы, позволяющие восполнить значительные потери Основная часть сразу идет в макрофаги, где депонируется	Ограничения обусловлены 1. рисками выхода свободного железа (токсичность) 2. аллергическими реакциями Активация гепсидинового пути блокады
Через диализат	Дозированное поступление (задумано как доза, позволяющая насытить трансферрин) Вероятно не связано с гепсидиновым путём блокады Прямой путь к трансферрину	Ограничения по объёму поступления Как рассчитать

Снятие функционального блока



Эпоэтин-опосредованный механизм регуляции эритропоэза: ЭПО-эритроферрон-гепсидин-железо



Honda H, Kobayashi Y, Onuma S, Shibagaki K, Yuza T, Hirao K, et al. (2016) Associations among Erythroferrone and Biomarkers of Erythropoiesis and Iron Metabolism, and Treatment with Long-Term Erythropoiesis-Stimulating Agents in Patients on Hemodialysis. *PLoS ONE* 11 (3): e0151601.

Реакция гепсидина на терапию железом и пациентов на додиализных стадиях ХБП: анализ исследования FIND-CKD

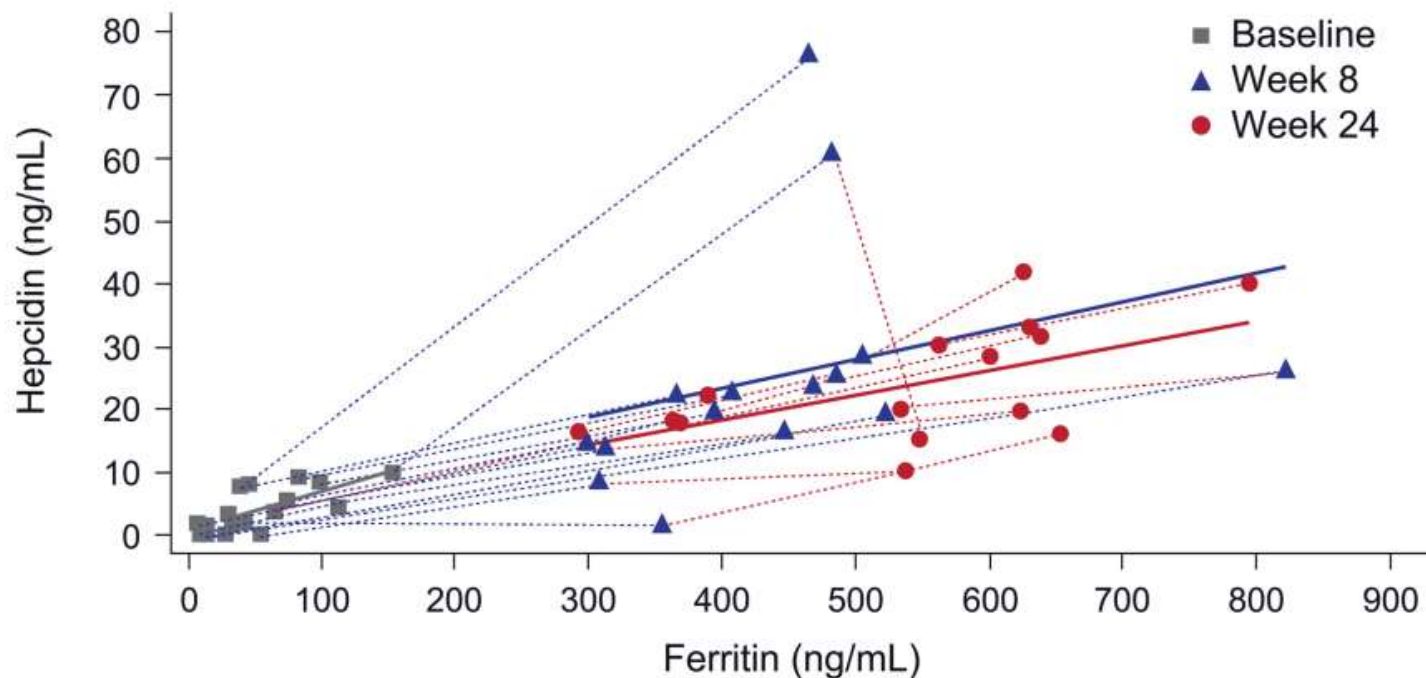


Fig 5. Correlation between hepcidin levels and ferritin level at baseline, week 8 and week 24 for patients in the high ferritin FCM group (n = 17). Only values with the same sample date, and obtained prior to the start of alternative anemia therapy, are included. Correlation between hepcidin levels and ferritin levels at baseline, week 8 and week 24. Only values with the same sample date, and obtained prior to the start of alternative anemia therapy, are included. A quadratic regression line is shown for each time point. Shaded areas represent the 95% confidence interval. The regression line is shown for each time point. The regression line is shown for each time point.

**Сила действия равна силе противодействия:
Чем больше повышаешь **ФЕРРИТИН** – тем
больше всем мешает **ГЕПСИДИН****

HIF как регулятор эритропоэза

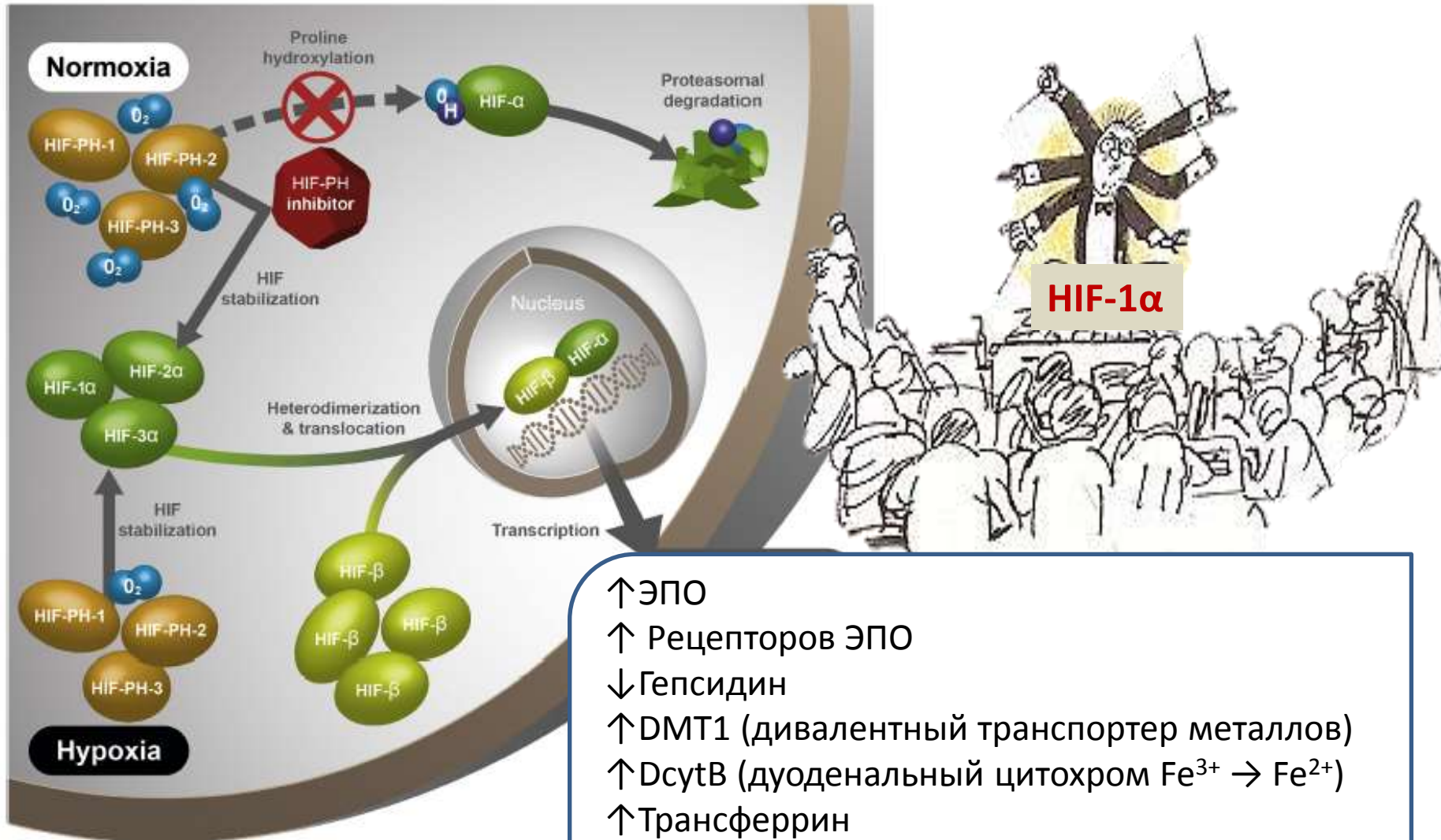


Figure 1. Hypoxia-inducible factor (HIF) pathway. Abbreviations: DcytB, duodenal 1; EPO, erythropoietin; PH, prolyl hydroxylase.

Активация HAMP на фоне дефицита Витамина D

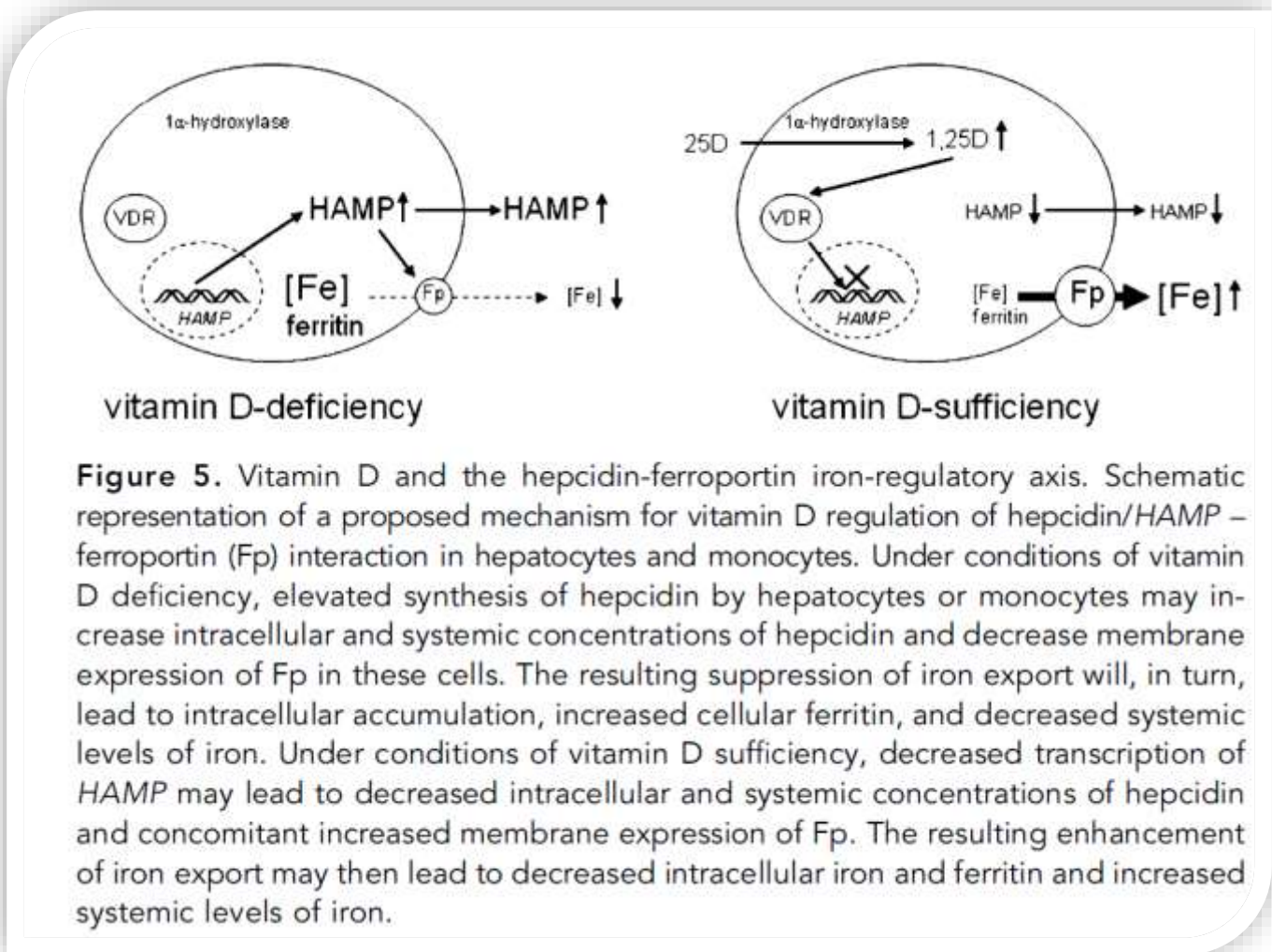


Figure 5. Vitamin D and the hepcidin-ferroportin iron-regulatory axis. Schematic representation of a proposed mechanism for vitamin D regulation of hepcidin/*HAMP* – ferroportin (Fp) interaction in hepatocytes and monocytes. Under conditions of vitamin D deficiency, elevated synthesis of hepcidin by hepatocytes or monocytes may increase intracellular and systemic concentrations of hepcidin and decrease membrane expression of Fp in these cells. The resulting suppression of iron export will, in turn, lead to intracellular accumulation, increased cellular ferritin, and decreased systemic levels of iron. Under conditions of vitamin D sufficiency, decreased transcription of *HAMP* may lead to decreased intracellular and systemic concentrations of hepcidin and concomitant increased membrane expression of Fp. The resulting enhancement of iron export may then lead to decreased intracellular iron and ferritin and increased systemic levels of iron.

Прочие новеллы регуляции обмена железа

- АТ к гепсидину
- Выключение гена НАМР
- Антагонисты триггеров и сигнальных путей запускаемых BMP6 и IL-6
- Блокаторы действия на ферропортин

Effect of atorvastatin on iron metabolism regulation in patients with chronic kidney disease – a randomized double blind crossover study

Anna Masajtis-Zagajewska & Michal Nowicki

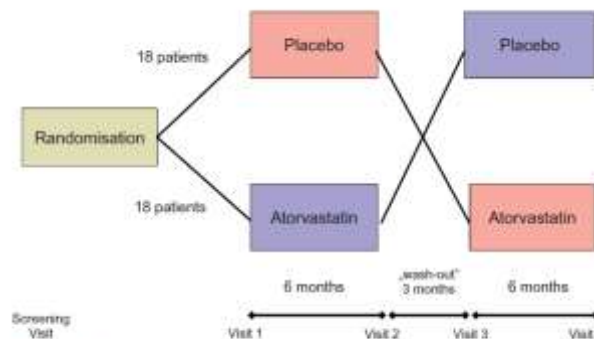
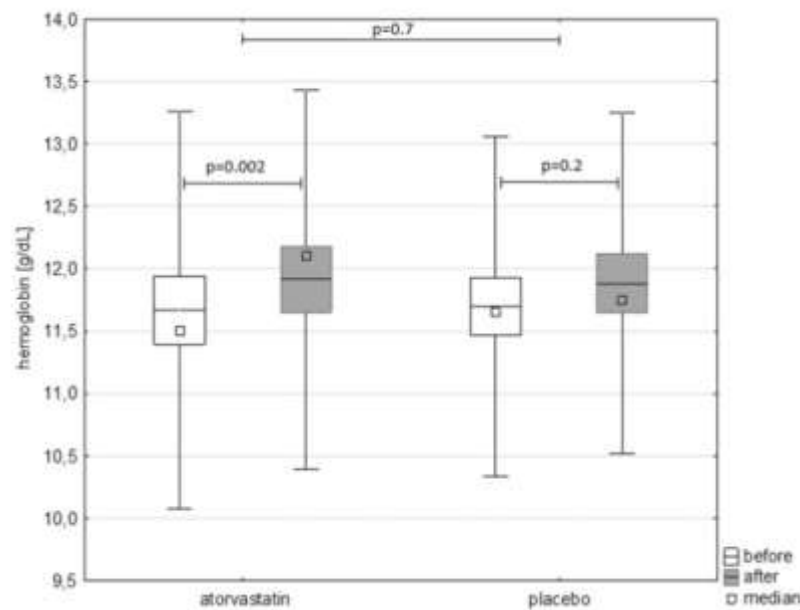
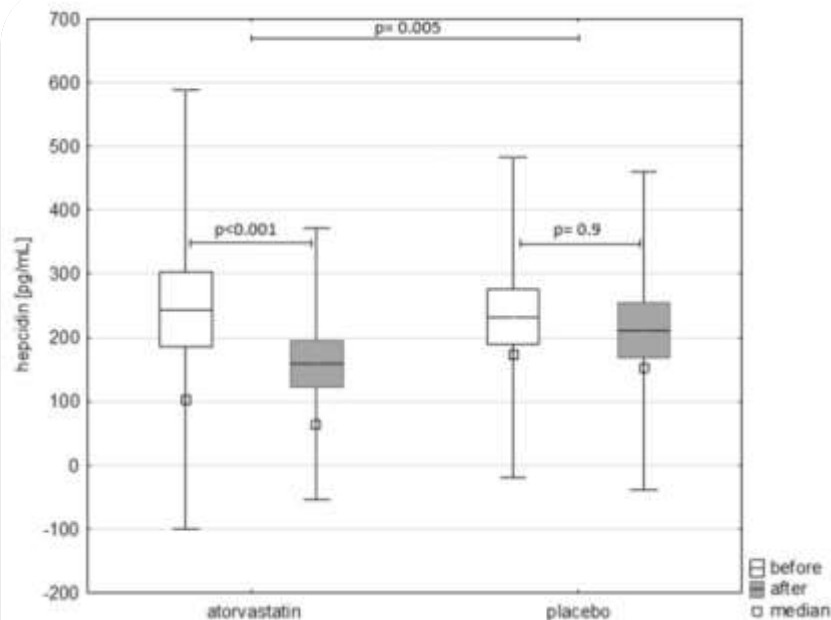


Figure 1. Study design.



Снижение гепсидина и повышение гемоглобина на фоне назначения аторвостатина



ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ И АБСОЛЮТНЫЙ ДЕФИЦИТ ЭРИТРОПОЭТИНА

Суточные колебания эндогенного уровня ЭПО у здоровых лиц

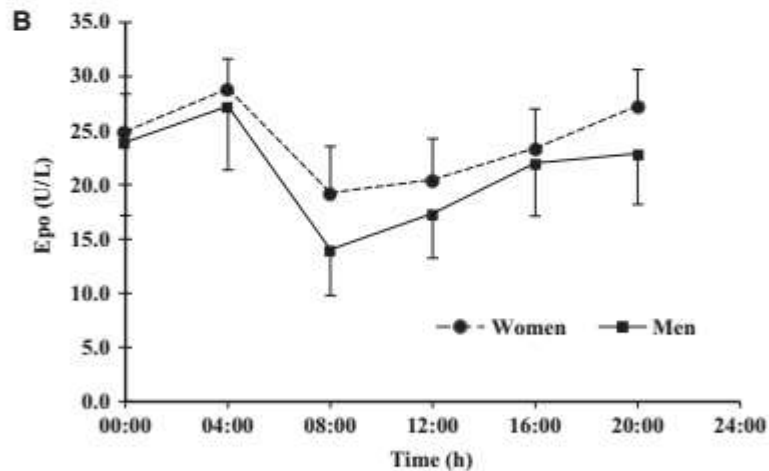
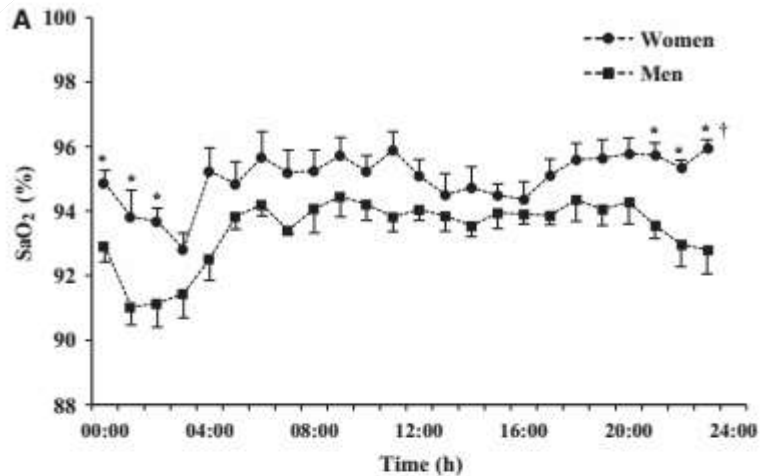
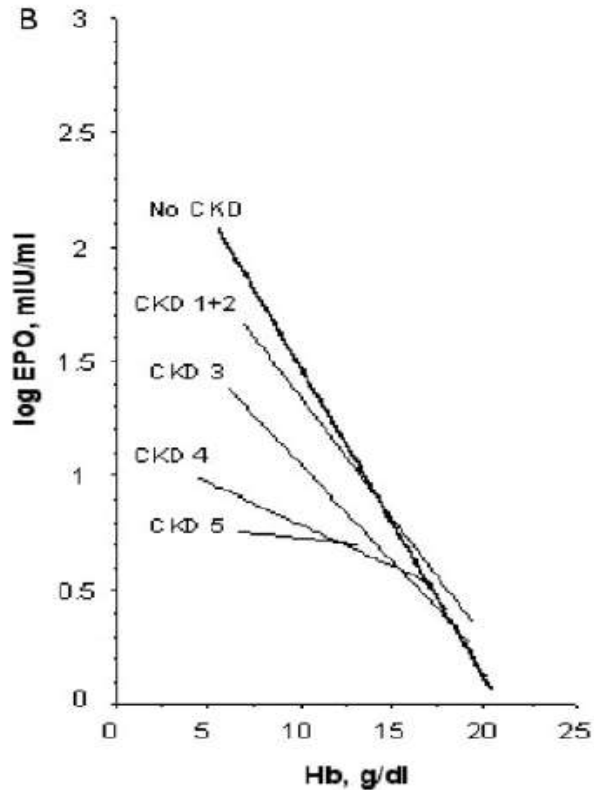


Figure 1. Diurnal changes of arterial oxygen saturation (SaO₂, A) and erythropoietin (Epo) concentration (B) in six men (squares) and nine women (filled circles). Means and SE. SaO₂ was only measured in five males and seven females. Asterisks indicate significant differences between sexes for single hours ($P < 0.05$ or better).

Уровень ЭПО механизмы регуляции

- Единственный физиологический регулятор - тканевое парциальное давление кислорода в тканях (pO_2), которое зависит от концентрации гемоглобина, артериального pO_2 и сродства гемоглобина к кислороду
- До тех пор, пока концентрация гемоглобина не станет ниже 105 г/л, концентрация эритропоэтина не выходит за диапазон нормальных значений.
- Выработка эритропоэтина регулируется на уровне транскрипции его гена. Какие-либо депо для ЭПО отсутствуют, он секретируется сразу после его синтеза
- pO_2 в мозговом слое почки мало зависит от кровотока, так как потребление почками кислорода изменяется параллельно кровотоку почки наиболее объективный сенсор тканевой гипоксии, отвечающий продукцией ЭПО
- Небольшие колебания концентрации в крови приводят к существенным изменениям скорости эритропоэза, а нормальный диапазон его концентраций довольно широк (4-26 МЕ/л).
- Секретируемый ЭПО утилизируется посредством эндоцитоза и разрушения в лизосомах после соединения со своими рецепторами

В результате прогрессирования нефросклероза и уремии адекватное повышение ЭПО в ответ на анемию исчезает

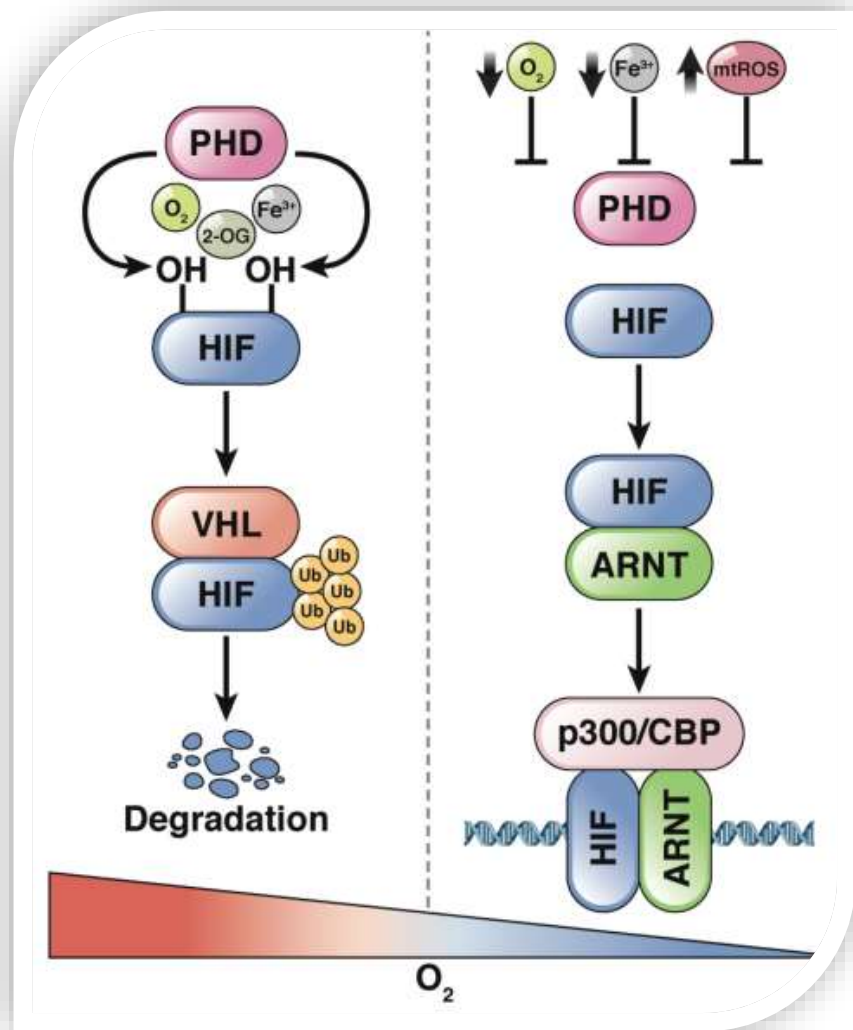


- Уровень ЭПО повышается при снижении Hb при ХБП 1-3 ст.
- При снижении клиренса креатинина ниже 30-40 мл/мин повышение ЭПО становится неадекватным
- При терминальной стадии ХПН определенное компенсаторное повышение ЭПО остается, однако амплитуда его снижена
- Уровень сывороточного ЭПО у пациентов с ХБП в 5 раз выше по сравнению со здоровыми лицами

S Fishbane et al. *Kidney International* (2010) 78, 646–649

Artunc F and Risler T. Serum erythropoietin concentrations and responses to anaemia in patients with or without chronic kidney disease *Nephrol Dial Transplant* (2007) 22: 2900–2908

Регуляция транскрипции гена ЭПО



Продукция ЭПО зависит от скорости транскрипции гена ЭПО на 7 хромосоме. В этот процесс вовлечено несколько факторов транскрипции.

Ингибиторы: GATA-2 и нуклеарный фактор gB (NF-gB), которые связаны с нарушением синтеза ЭПО при воспалительных заболеваниях.

Стимуляторы: Гипоксией индуцируемые транскрипционные факторы, (ГИФ) имеющие несколько нестабильных изоформ, подвергающиеся быстрому гидроксилированию под влиянием пролингидроксилаз. Гипоксия является главным регулятором позволяющим остановить процесс гидроксилирования, соответственно стабилизировать ГИФ, что и запускает процесс транскрипции ЭПО гена.



Почему Вы
глубокоуважаемая почка
недостаточно синтезируете
эритропоэтин?

1

Не могу и не хочу

2

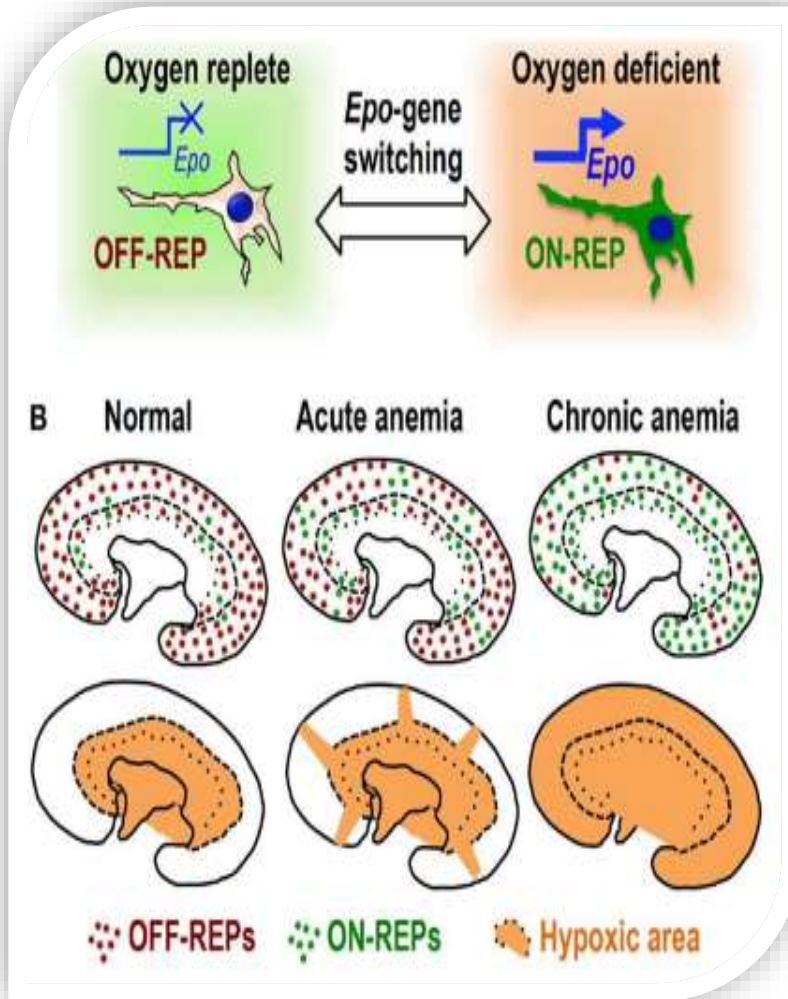
Хочу, но не могу

3

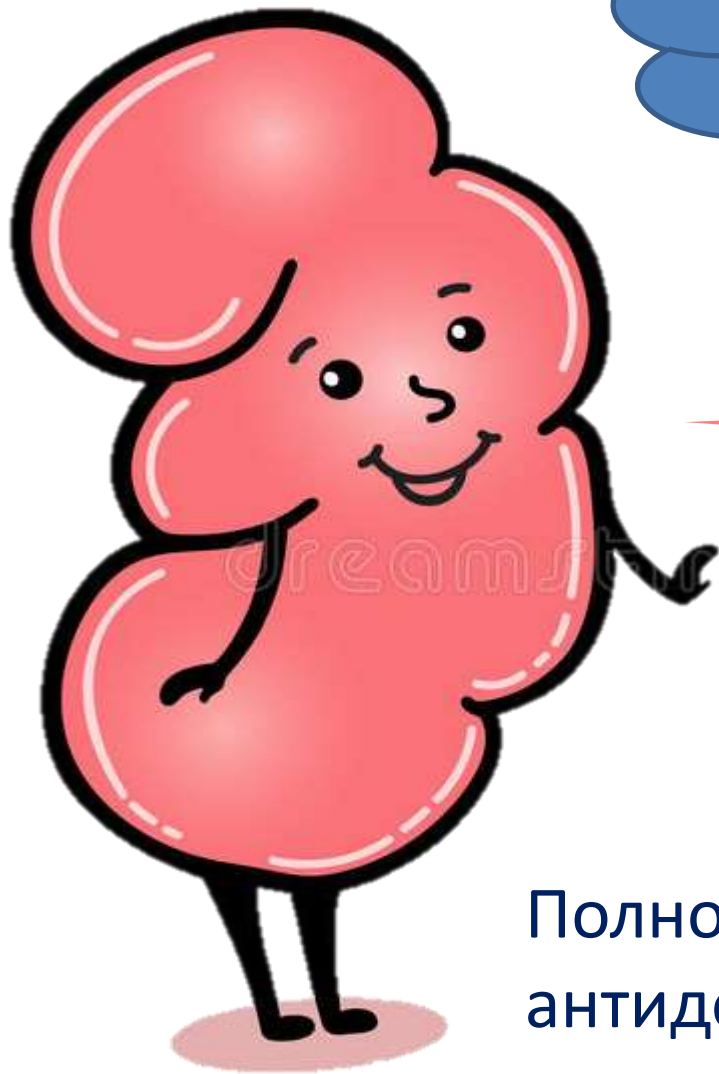
Могу, но не хочу

Выбери правильный ответ склерозированной почки.

ЭПО продуцирующие клетки и гипоксия



1. При нормальной оксигенации число ЭПО продуцирующих клеток невелико, по локализации они ограничены глубокими участками кортикального и частично наружными участками медуллярного слоя
2. При гипоксии их число возрастает экспоненциально, они распространяются от глубоких кортикальных участков до почечной капсулы
3. При нефросклерозе потребность в кислороде падает, поэтому чувствительность к кислородной емкости крови снижается
4. Стабилизация HIF-1 α позволяет активировать «спящие» ЭПО продуцирующие клетки в этих условиях

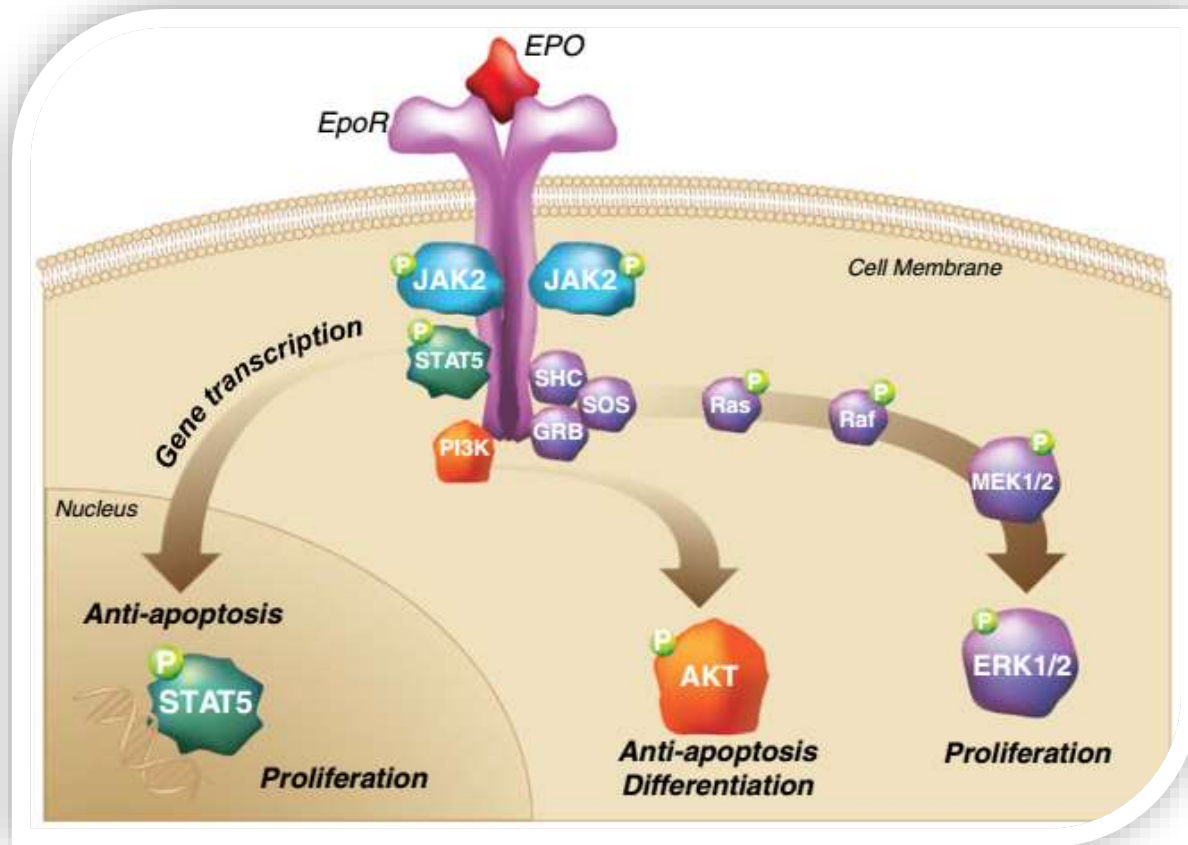


Почему Вы
глубокоуважаемая почка
недостаточно синтезируете
эритропоэтин?

Могу, но не хочу

Полное соответствие олимпийским
антидопинговым принципам

Активация рецептора к эритропоэтину

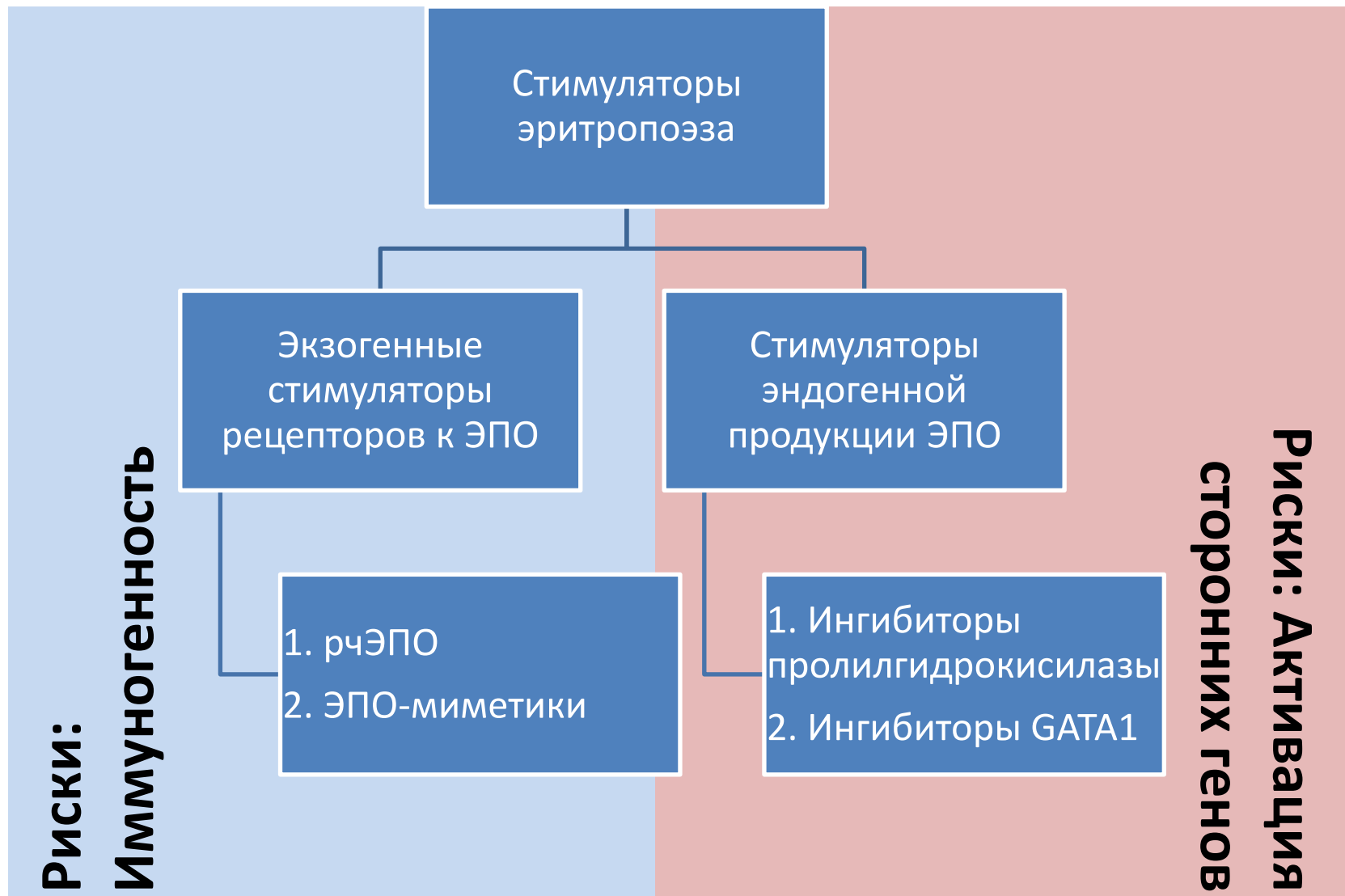


1. Антиапоптоз

2. Дифференцировка

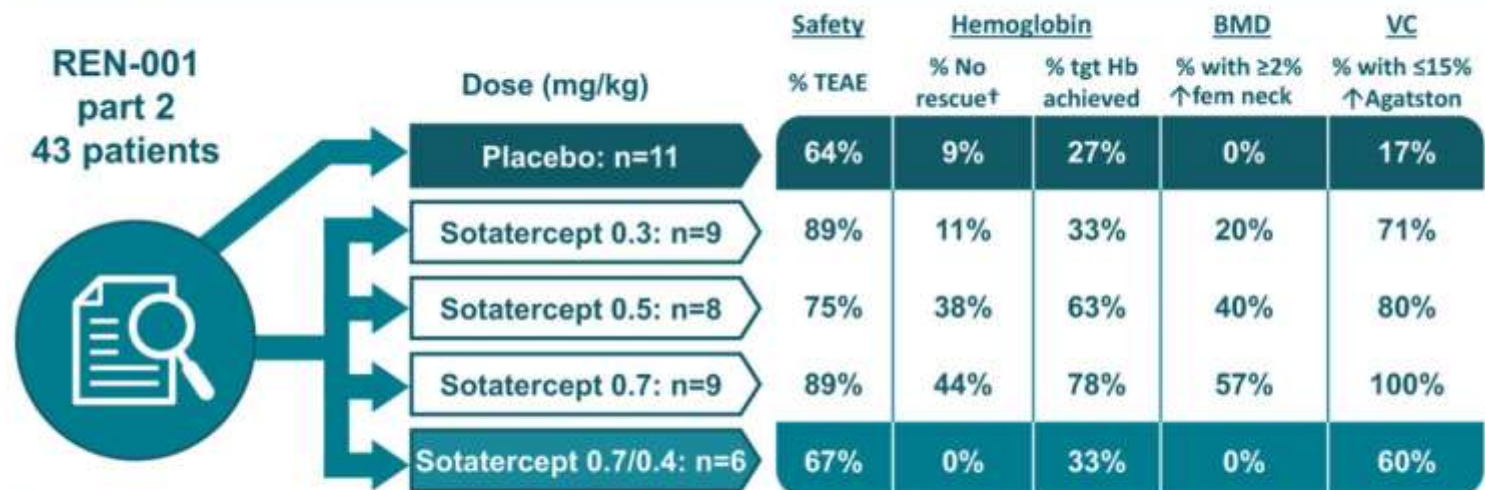
3. Пролиферация

Эпоэтиновые пути стимуляции эритропоэза



Сотатерцепт – гибридный белок рецептора активина IIА. Лигандная ловушка для белков семейства (TGFB) (трансформирующий фактор роста бета), участвующих на поздних стадиях эритропоза и регулирующих дифференцировку и созревание поздних предшественников эритроцитов.

Sotatercept safety and effects on hemoglobin, bone, and vascular calcification



Sotatercept = Activin receptor type IIA (ActRIIA)-IgG1 fusion protein trap.
 †Did not require an erythropoietin-stimulating agent for Hb <9 g/dL (5.59 mmol/L).
 BMD, bone mineral density; Hb, hemoglobin; TEAE, treatment-emergent adverse event;
 VC, vascular calcification

CONCLUSION:

Sotatercept exhibited a favorable safety profile and was associated with trends in dose-related slowing of VC. Less consistent trends in improved Hb concentration and BMD were observed.

KIREPORTS
KIREports.org

Coyne et al, Kidney Int Rep.

Вопрос:

С какой скоростью должно происходить обновление эритроцитов при снижении времени их жизни до 60 дней?

- Время жизни эритроцита составляет, в среднем, 120 дней.
- Обновление пула эритроцитов должно происходить со скоростью примерно 2,3 миллиона клеток за 1 секунду ([Goldwasser E., 1975](#)).



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ