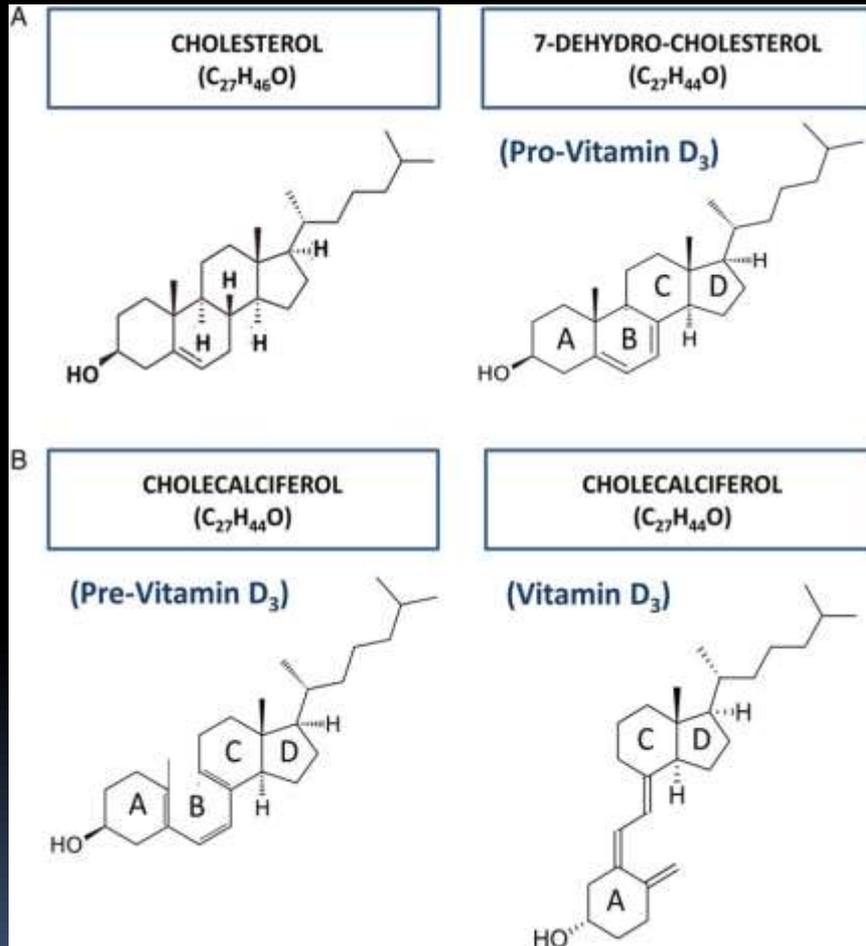




Санкт-Петербург – 13.02.2020.  
Домашенко О.М.

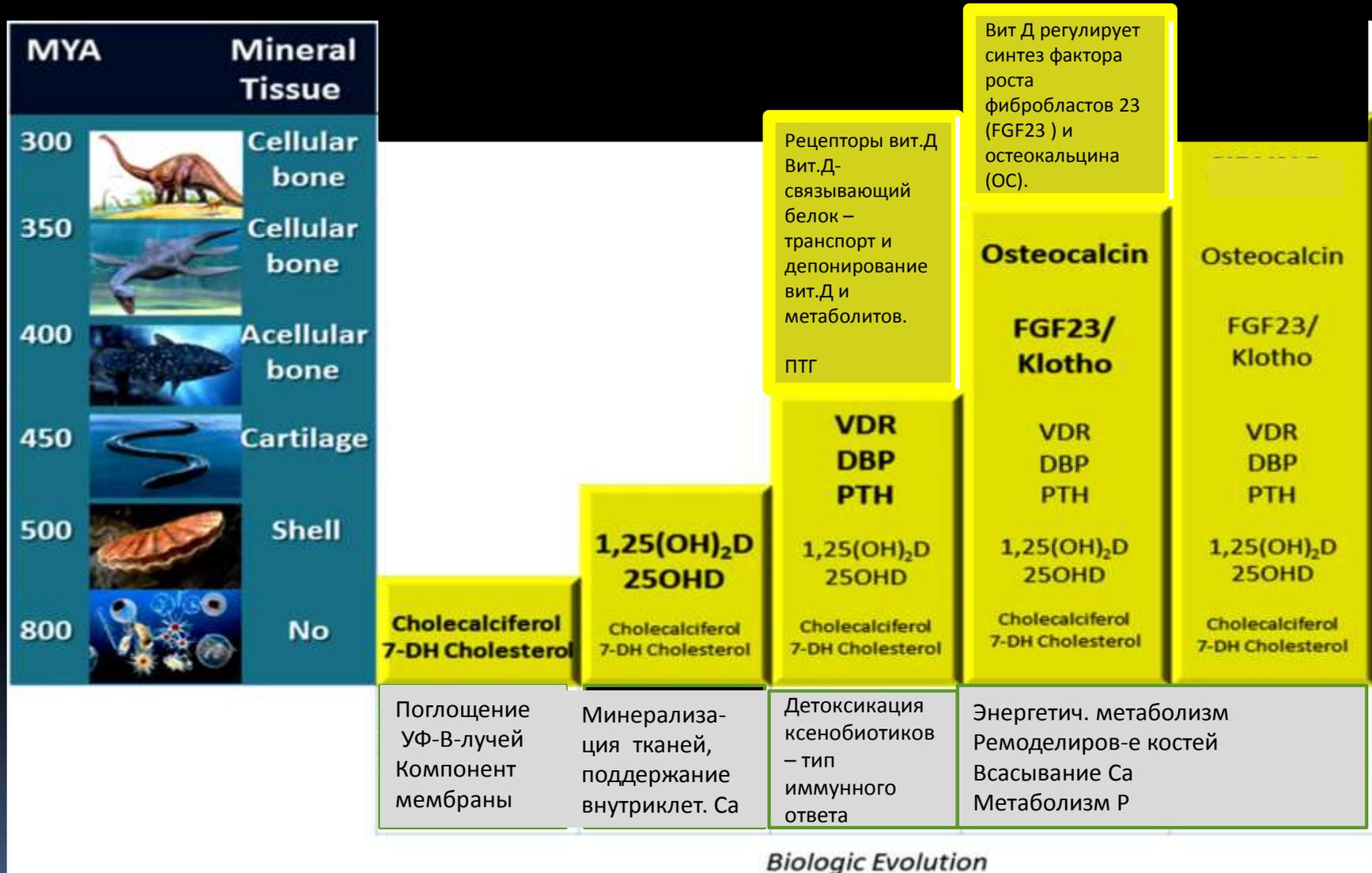
# ВИТАМИН Д – ОСНОВА ТЕРАПИИ МКН-ХБП.

# Витамин Д в эволюции.



- (A) 7-дегидрохолестерол, или провитамин D<sub>3</sub>, делит синтетический путь с холестерином, от которого он отличается отсутствием двух атомов водорода.
- (B). После поглощения УФ-В-лучей в кольцо провитамина D<sub>3</sub> открывается, таким образом становясь пре-витамином D<sub>3</sub>. Новая молекула нестабильна и склонна к превращению в витамин D<sub>3</sub>, просто вращаясь вокруг простой связи C6-C7.
- Согласно гипотезе провитамин D<sub>3</sub> как и холестерол, был компонентом клеточной мембраны, защищающим клетку от УФ радиации.

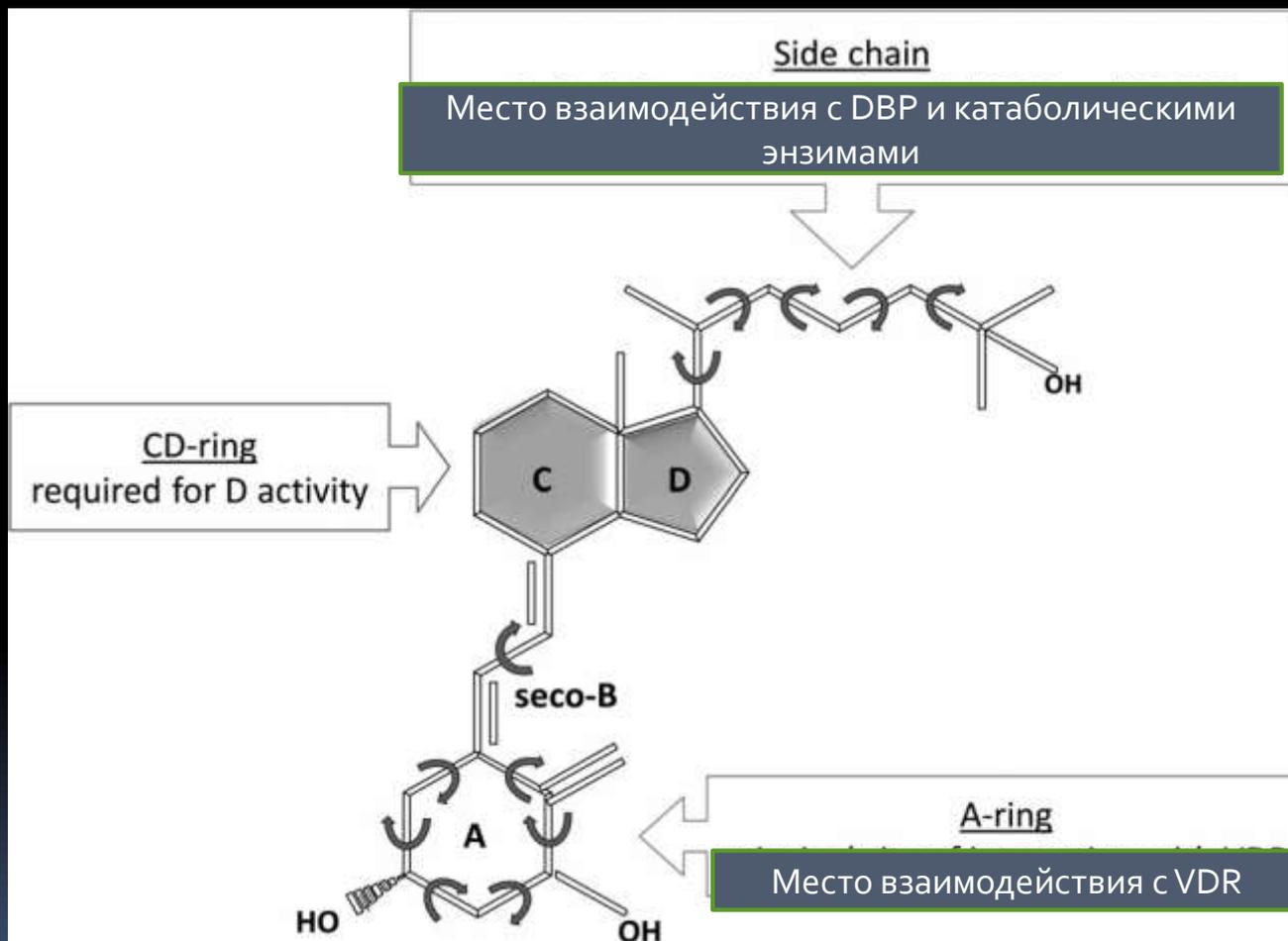
# Развитие системы витамина D наряду с эволюцией видов.



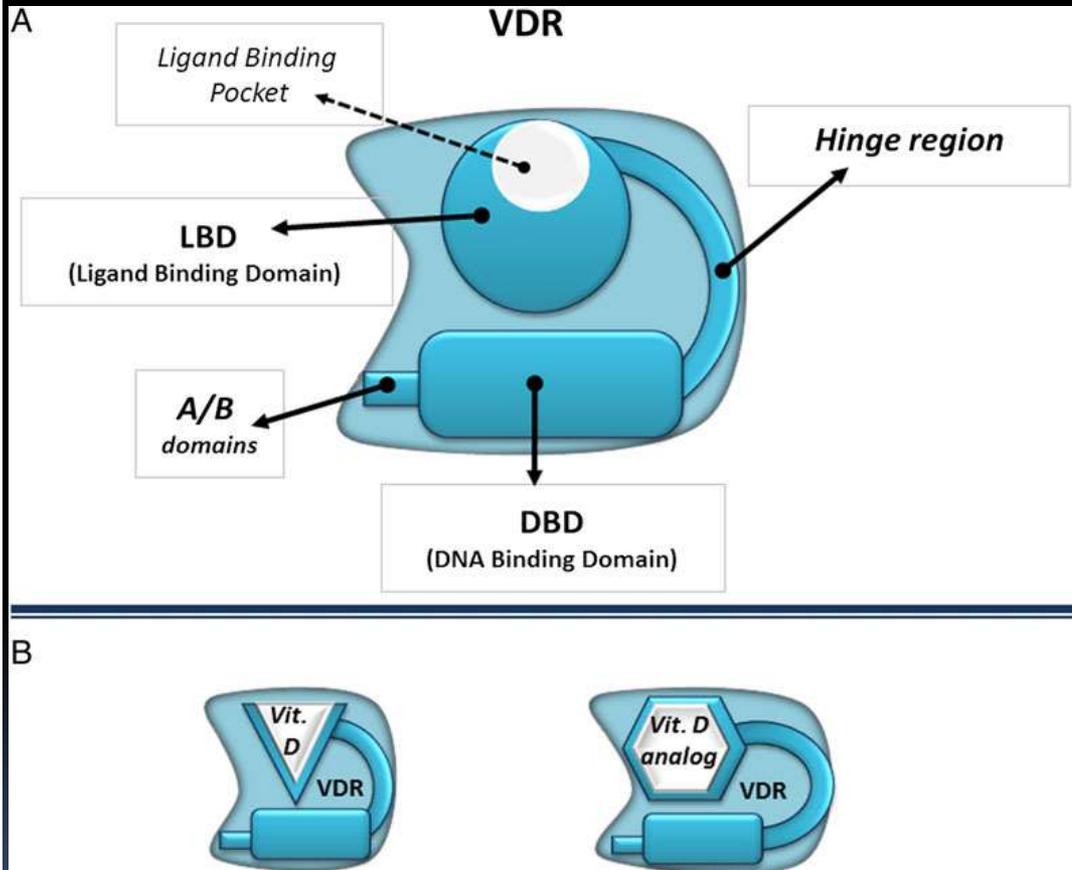
# Рецепторы к витамину Д

Система	Клетки-мишени
Эндокринная	Клетки ПЩЖ, С-клетки ЩЖ, В-клетки поджелудочной ж-зы
Сердечно-сосудистая	Кардиомиоциты, гладкомышечные клетки сосудов
Скелетно-мышечная	Остеобласты, хондроциты, поперечно-полосатые м-цы
Желудочно-кишечный тракт	Пищевод, желудок, кишечник
Печень	Паренхиматозные клетки печени
Почки	Подоциты, клетки ЮГА (ренин), клетки канальцев.
Репродуктивная	Яички, яичники, матка.
Иммунная	Т-клетки, В-клетки, костный мозг, тимус
Дыхательная	Альвеолярные клетки
Дерма	Кератиноциты, клетки волосяных фолликулов.
Центральная нервная система	Нейроны

# Биохимический динамизм молекулы витамина Д и его рецептора.



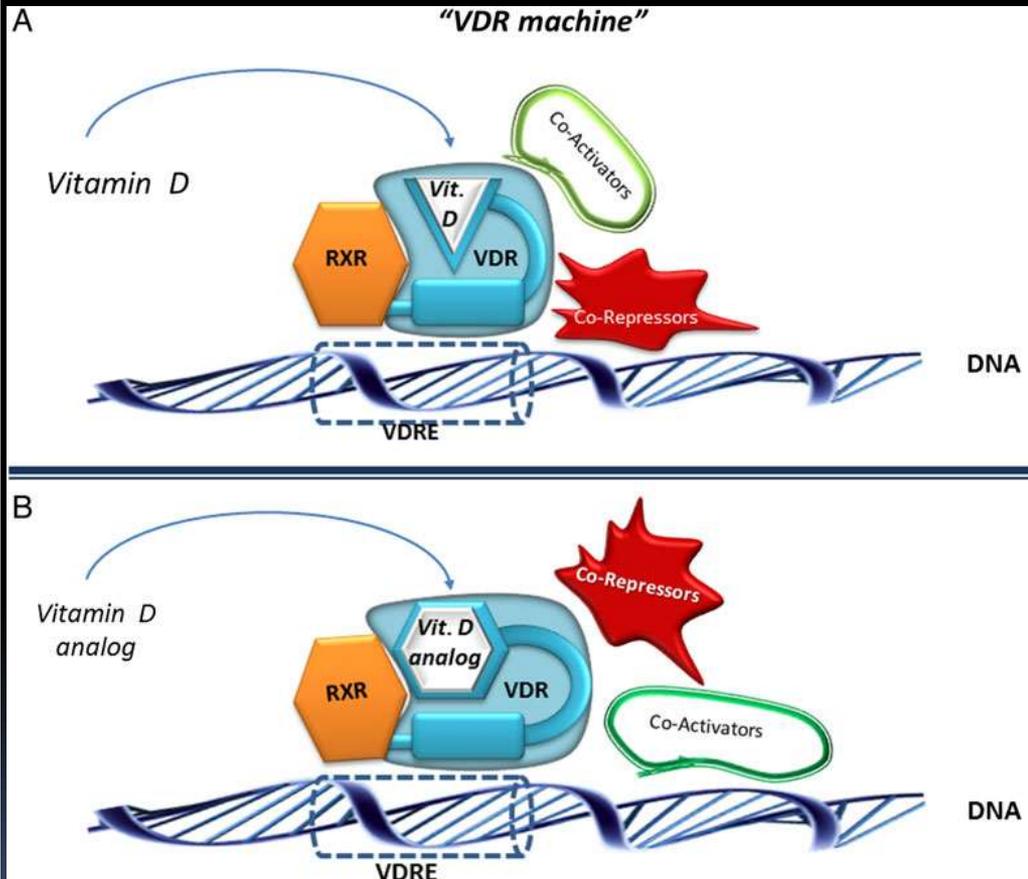
# Схема рецептора витамина Д.



- VDR – разновидность ядерных рецепторов.
- Витамин Д связываясь с рецептором активирует его для взаимодействия с ретиноидным X-рецептором (RXR) в результате образуется кофакторный комплекс VDR /RXR , который связывается с промоторной областью генов-мишеней.

Домен конформационно адаптируется к лиганду

# Взаимодействие рецептора витамина Д с витамином Д и аналогом вит. Д.



- VDR экспрессируется в клетках разных тканей, репрессорные или активаторные белковые комплексы могут отличаться и иметь различную аффинность к активированному рецептору, увеличивая таким образом вариабельность ответа .
- Эта особенность используется в фармакологии для производства синтетических аналогов витамина Д с более селективными свойствами.

# Витамин D

- Термин витамин D относится к любому соединению с биологической активностью 1,25-дигидроксивитамина D и включает как витамин D<sub>3</sub> (Холекальциферол, характерный для животных) так и эргокальциферол (витамин D<sub>2</sub>, характерный для растительной жизни).
- Витамины D:
  - Витамин D<sub>2</sub> – эргокальциферол;
  - Витамин D<sub>3</sub> – холекальциферол;
  - Витамин D<sub>4</sub> – дегидрохолестерин;
  - Витамин D<sub>5</sub> – ситокальциферол;
  - Витамин D<sub>6</sub> – стигмакальциферол
- Витамин D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub>, D<sub>6</sub> – крайне низкая биологическая активность.

# Препараты витамина D

**Table 1 | Vitamin D nomenclature**

Term	Sterol	Comment
Vitamin D	Cholecalciferol	D <sub>3</sub>
	Ergocalciferol	D <sub>2</sub>
25 Vit D	Calcidiol (25(OH)D <sub>3</sub> )	D <sub>3</sub>
	Ercalcidiol (25(OH)D <sub>2</sub> )	D <sub>2</sub>
VDRa	Calcitriol (1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> )	D <sub>3</sub> ; natural hormone
	Alfacalcidol (1(OH)D <sub>3</sub> )	D <sub>3</sub> ; synthetic prohormone <sup>a</sup>
	Doxercalciferol (1(OH)D <sub>2</sub> )	D <sub>2</sub> ; synthetic prohormone
	Paricalcitol (19nor,1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>2</sub> )	D <sub>2</sub> ; synthetic analog
	Maxacalcitol (22oxa,1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> )	D <sub>3</sub> ; synthetic analog

Abbreviations: VDRa, vitamin D receptor agonist; 25 Vit D, 25-hydroxyvitamin D.

<sup>a</sup>Prohormone requires 25-hydroxylation by the liver to become an active analog.

# Препараты витамина Д представленные в России.

## ▪ Холекальциферол :

- аквадетрим
- вигантол,
- Дз-капелька
- дэтриферол.

## ▪ Альфакальцидол:

- АльфаДзТева,
- альфадол,
- оксидевит.

## ▪ Кальцитриол:

- рокальтрол,
- остеотриол.

## ▪ Парикальцитол:

- земплар.

# Эволюция изучения витамина Д.



К. Функ

- Казимир Функ (1912) определил различные заболевания, связанные с недостатком в пище водорастворимых и жирорастворимых веществ, которые он назвал «Vital-amines» или «Витамины».



Э. Мелланби

- Эдвард Мелланби (1919) показал, что полусинтетическая овсяная диета, лишенная некоего антирахитического фактора, может вызвать рахит у собак и что его можно вылечить, введя масло печени трески.

# Эволюция изучения витамина Д.



Э. Макколум



А. Виндаус

- Макколум 1922 показал, что антирахитическое вещество в масле трески отличалось от витамина А, и назвал его витамином D.
- Гарриет Чик (Chick et al., 1922) и Гарри Стинбок (Steenbock and Black, 1924), независимо исследовали двойную роль питания и воздействия солнечного света в профилактике рахита.
- 5 февраля 1928 года, немецкий химик Адольф Виндаус получил Нобелевскую премию по химии «за работы по изучению строения стероидов и их связи с витаминной группой». Он впервые в мире синтезировал кальциферол.

# Эволюция применения витамина Д – профилактика рахита.

- 1924 год. Стинбок и Блэйк показали, что облучение определенных пищевых продуктов (например, растительных масел или дрожжей) повышает активность витамина D в них.
- Стинбок и Университет Висконсена получили патент на обогащение молока витамином Д с антирахитической целью.
- В США, Канаде и Европе набирало обороты обогащение продуктов витамином Д (маргарин, молоко, хлеб, даже пиво). В годы второй мировой войны –обогатненное сухое молоко использовалось в объединенных войсках Великобритании, после войны продолжалось повсеместное обогащение витамином Д продуктов до эпидемии «гиперкальциемии» в 1953 году.

# Ренальная остеодистрофия. Предпосылки к изучению и пониманию патогенеза МКН-ХБП.

- 1943 год. Лиу и Чу (Liu SH. Chu HI) первыми предложили термин «*ренальная остеодистрофия*» объединив поражение костей и почечную недостаточность единым патогенезом.

Liu SH. Chu HI: Studies of calcium and phosphorus metabolism with special reference to pathogenesis and effects of dihydrotachysterol (AT-100) and iron. *Medicine* 1943;2:103-161.

- 1948 год. Олбрайт и Райфенштейн суммировали клинические характеристики заболевания костей при хронической почечной недостаточности:

(а) почечная недостаточность,

(б) задержка фосфора,

(в) склонность к низкому уровню кальция в сыворотке

(д) гиперплазия околощитовидных желез.

Однако, по их мнению, причиной заболевания костей был ацидоз, а не гиперпаратиреоз. В дополнение к щелочной терапии они предложили использовать большое количество витамина D в суточной дозе 50.000 МЕ перорально с солью кальция для обеспечения высокого усвоения кальция.

Albright F. Reifenslein EC Jr: The Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease: Selected Studies. Baltimore. Williams & Wilkins. 1948. pp 115-121.

# Нативный витамин D в терапии ренальной остеодистрофии.

- Форман (Fourman) с соавторами в конце 1960-х подвергли критике идею Олбрайт и Райфенштейна об ацидозе, как пусковом факторе остеодистрофии почек.
- Были проведены исследования, в которых витамин D в больших дозах 150 000-500 000 IU в день улучшает состояние костей. Начальная доза, которую они рекомендовали, составляла 100 000 ME.
- Снижающаяся щелочная фосфатаза была предложена маркером костного ответа на терапию.
- «Через год можно ожидать улучшение состояния костей, а затем потребность в витамине D может внезапно уменьшиться и может возникнуть риск гиперкальциемии.»

Fourman P. Royer P. Level MJ: Calcium Metabolism and the Bone, ed 2. Oxford. Blackwell. 1968. pp 415-430.

# Эволюция изучения и применения витамина Д. 25-ОНD3 и 1,25ОНD3.

- Гектор ДеЛука в 1968 г. обнаружил первый из этапов активации витамина Д в печени до промежуточного соединения 25-гидроксивитамин D<sub>3</sub> (25-ОНD<sub>3</sub>)
- 25-ОНD<sub>3</sub> – основная циркулирующая форма в крови.

Blunt et al., 1968

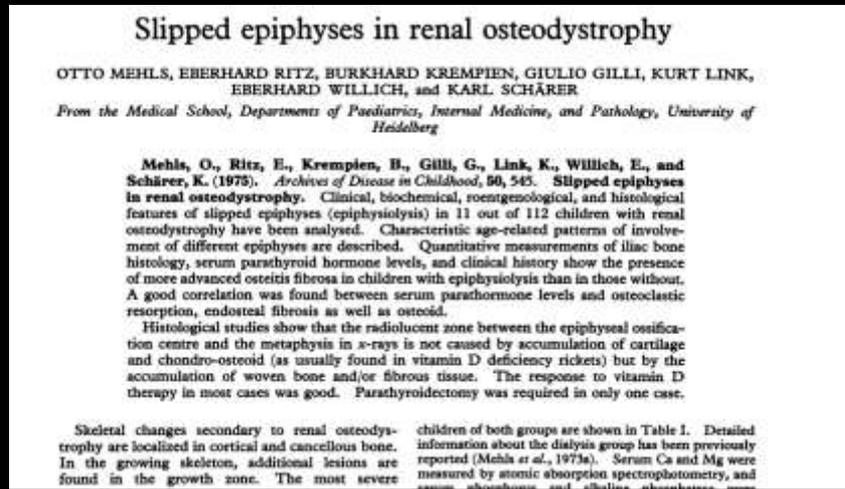
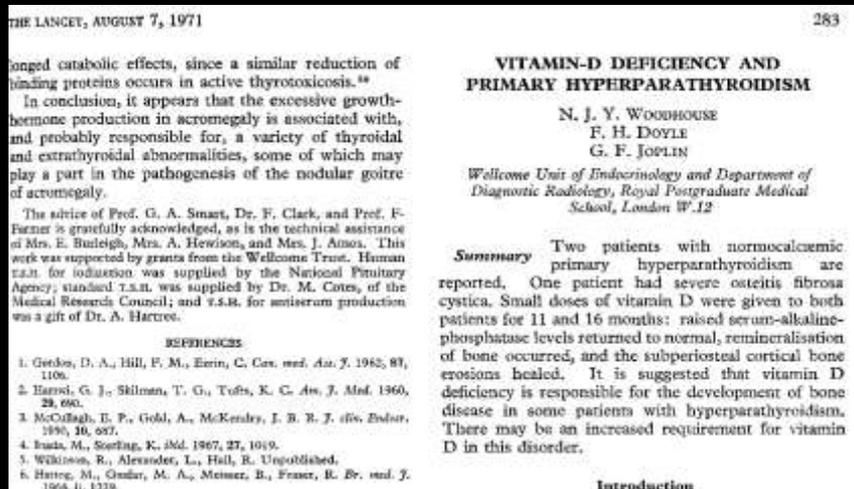
- Второй этап активации происходит главным образом в почках. Синтезируется 1,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub> (известный как кальцитриол). Несколько групп ученых в начале 1970-х работали над открытием и идентификацией кальцитриола: группы Кодичека, Энтони Нормана, Марка Хаусслера, в том числе ДеЛука.

Holick et al., 1971. Fraser and Kodicek, 1970. Myrtle et al., 1970

- Тогда же начали активно изучать как генетические, так и приобретенные состояния, приводящие к нарушению активации витамина Д.

Fraser et al., 1973

# Начало 1970-х – лечение почечной остеодистрофии и первичного гиперпаратиреоза витамином Д.



- 1971 год. Описаны два случая остеодистрофии у пациентов с первичным гиперпаратиреозом.
- Лечение витамином Д в течении 11-16 месяцев улучшало костную минерализацию и снижало щелочную фосфатазу.
- Было выдвинуто предположение о роли дефицита витамина Д в остеодистрофии при гиперпаратиреозе.

- 1975 год – проанализированы случаи ренальной остеодистрофии детей с ХПН. корреляция была обнаружена между сывороточными уровнями паратгормона и остеокластической резорбцией, эндостальным фиброзом.
- Терапия витамином Д<sub>3</sub> давала хорошие результаты.

# История применения активного витамина Д в нефрологии.

- С середины 1970-х многочисленные исследования альфакальцидола и кальцитриола у больных с ренальной остеодистрофией, особенно у пациентов на хроническом гемодиализе.
- По данным на 1981 год в Японии из 7297 диализных пациентов, вошедших в исследование, 81,9% получали терапию витамином Д<sub>3</sub> со средними дозами 0,25-0,75 мкг/д кальцитриола или до 1 мкг/сут альфакальцидола.

# На подавление ПТГ влияет непосредственно витамин Д.

- До середины 1980-х считалось, что витамин Д способен подавлять секрецию ПТГ только на фоне высоких показателей Са крови. Целевым Са считался верхний предел нормы.
- Слатопольский (Slatopolsky E) с соавторами в 1984 году обнаружили прямое подавляющее влияние внутривенного введения  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  на ПТГ у пациентов с хронической почечной недостаточностью без заметного влияния на уровень кальция в сыворотке крови.
- С тех пор так называемая пульс-терапия стала методом выбора вторичного гиперпаратиреоза у пациентов с хронической почечной недостаточностью.

# Синтетические аналоги витамина Д.

- С 1998 года парикальцитол (19-нор-1,25-дигидроксивитамин D<sub>2</sub>) одобрен для лечения гиперпаратиреоза на фоне хронической почечной недостаточности.
- Препарат имеет больший эффект на снижение ПТГ и меньший гиперкальциемический и гиперфосфатемический эффекты нежели кальцитриол.

# История изучения FGF-23.

- 2000 г - Yamashita T. с соавторами выделили ДНК мыши кодирующий очередной из семейства FGF белок и определили аминокислотную последовательность этого белка. Это был 23-й по счету описанный белок семейства FGF, получивший название по своему номеру. МРНК FGF-23 экспрессировалась в мозге и тимусе мыши, при этом в головном мозге – преимущественно в таламусе. Ожидалось, что FGF-23 является уникальным FGF, который играет роль в функции вентролатерального ядра таламуса.

Yamashita T, Yoshioka M, et Al. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ; 277: 494–498

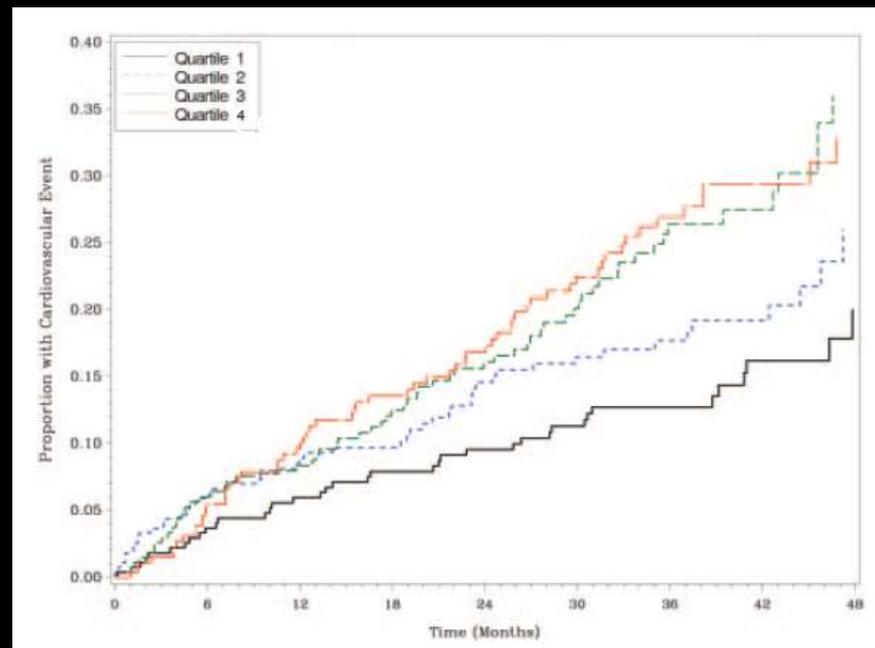
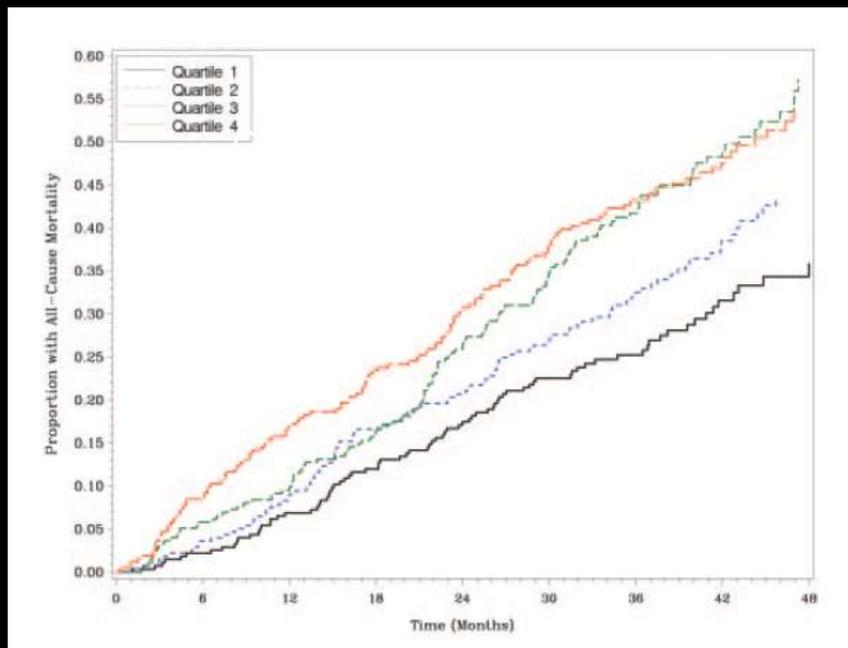
- Примерно в то же время ген FGF23 у человека был идентифицирован как ген, ответственный за аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит (ADHR) у людей .

Kenneth E. White, Wayne E. Evans, et al *Nat Genet* 2000 ; 26 : 345–348

- FGF23 был определен как гуморальный фактор, секретируемый опухолью, вызывающими гипофосфатемию и остеомалацию (тumor-индуцированная остеомалация - ТЮ). Когда клетки яичника китайского хомяка экспрессирующие FGF23, были подкожно имплантированы мышам наблюдалась гипофосфатемия, повышение почечного клиренса P, высокий уровень ЩФ, низкий уровень 1,25-дигидроксивитамина D, деформация кости и нарушение прироста массы тела. Роль этого белка в минерально-костном обмене стала очевидна.

Shimada T, Mizutani S, Muto T et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98: 6500–6505

# Ассоциация уровня FGF-23 с летальностью и сердечно-сосудистыми осложнениями



Содержание FGF-23 определено у 1099 больных с прогрессирующей ХБП. Больные разделены на 4 квантили по уровню FGF-23:  $\leq 216$  RU/ml, 217-380 RU/ml, 381-945 RU/ml и  $> 946$  RU/ml. Больные наблюдались в течение 2.9 года.

Уровень FGF-23 был выражено и независимо связан с общей летальностью, сердечно-сосудистыми осложнениями и началом хронического диализа.

# История изучения Klotho.

- Ген Klotho идентифицирован в 1997 году.

Kuro-o M, Matsumura Y et al. Nature 1997;390:45-51.

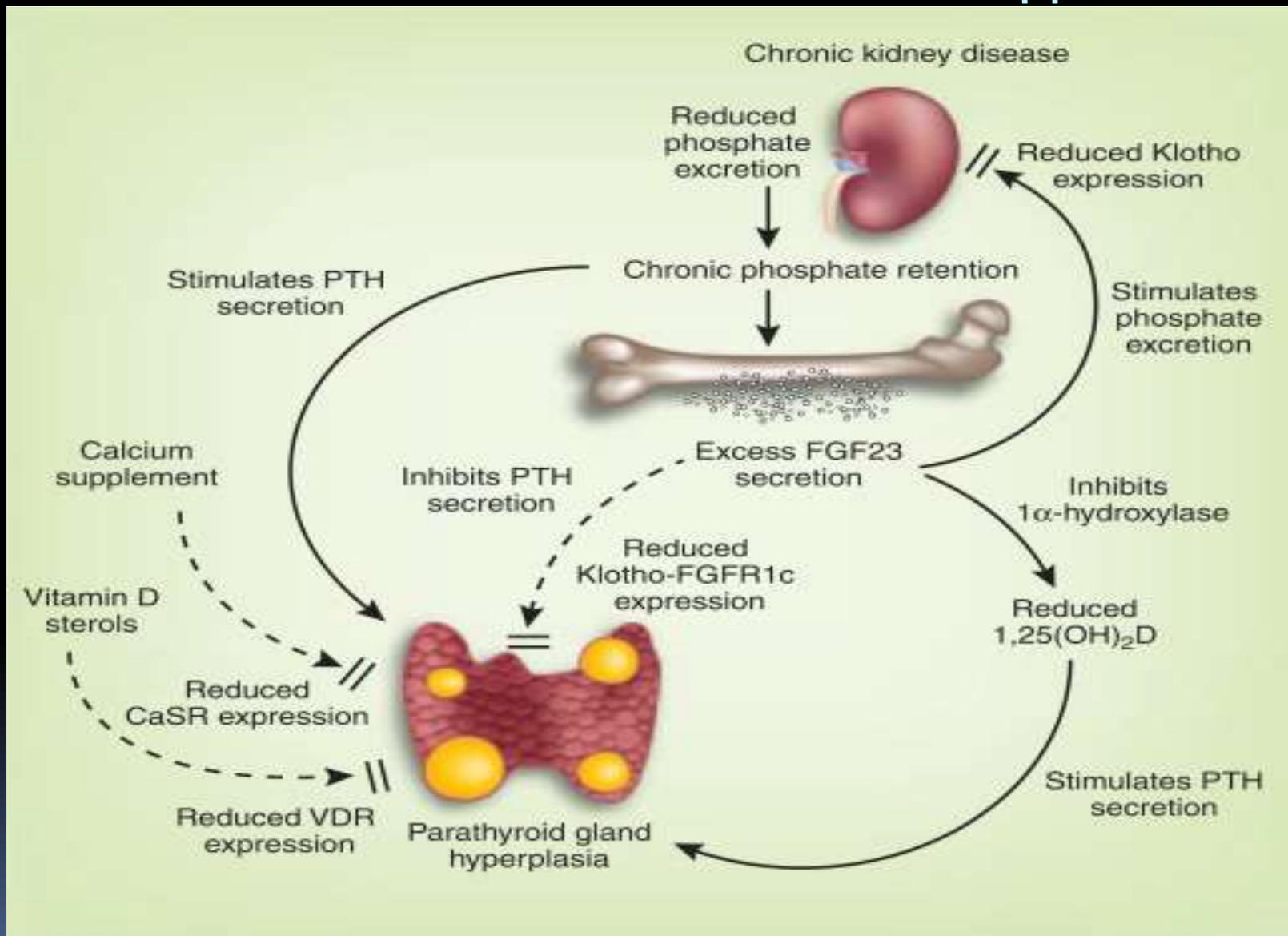
- Было выявлено, что фенотип гипоморфных или нокаутных мышей Klotho имеет поразительное сходство с пациентами с ХБП, мыши имеют эктопическую кальцификацию мягких тканей, гиперфосфатемию и высокий уровень FGF23 в плазме, что инициировало многочисленные исследования Klotho в нефрологии

Hu MC, Shi M, Zhang J et al. J Am Soc Nephrol 2011;22:124-136.

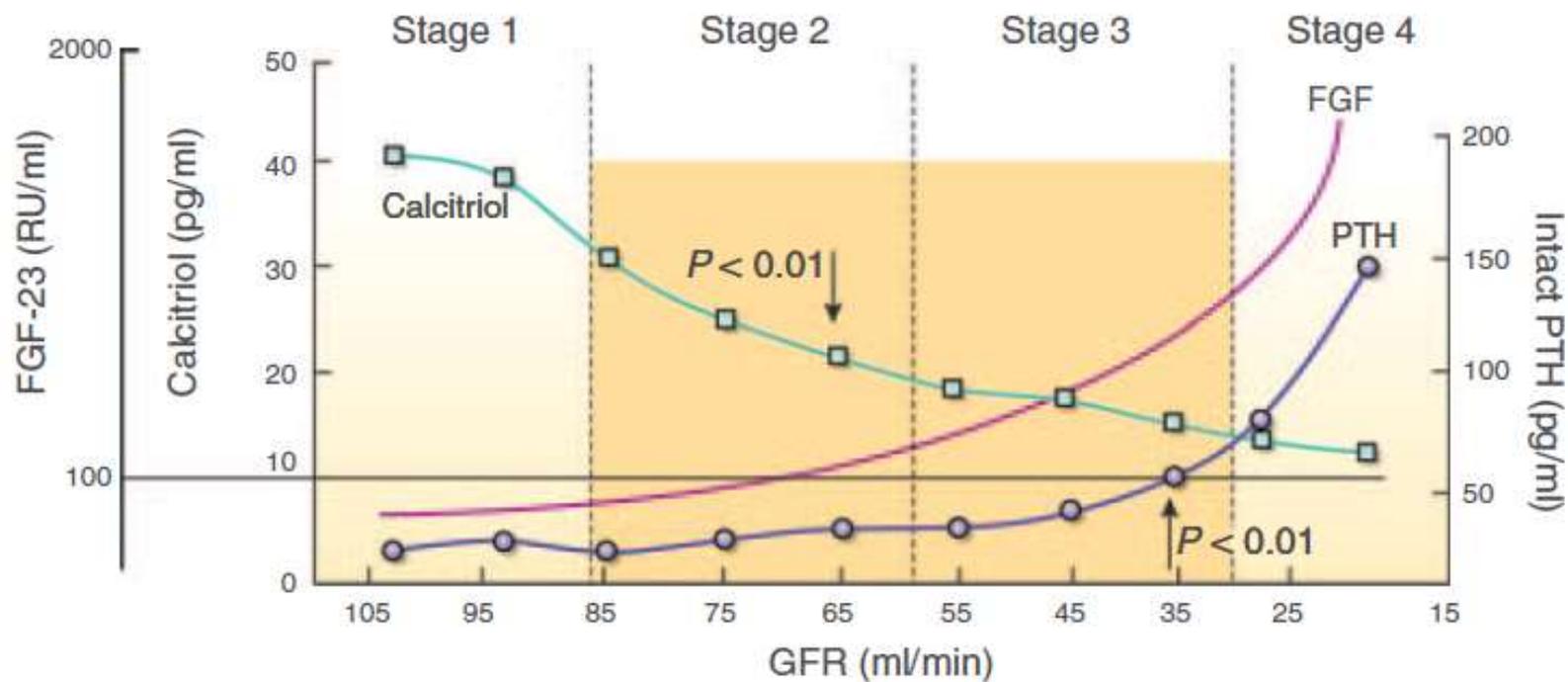
- Klotho - трансмембранный белок, экспрессируется в почках, особенно извитых дистальных и проксимальных канальцах.
- В дополнение к мембранному Klotho, его секретлируемая форма высвобождается во внеклеточный компартмент и присутствует в жидкостях организма (кровь, спинномозговая жидкость и моча). **Фосфатурические эффекты Клото опосредованы FGF-23, а активация рецепторов витамина Д играет решающую роль в экспрессии Клото.**

Forster RE, Jurutka PW, Biochem Biophys Res Commun 2011;414:557-562.

# Роль FGF23 в снижении синтеза ДЗ и ВГПТ.



# Динамика изменений уровня кальцитриола, PTH и FGF-23 при ХБП



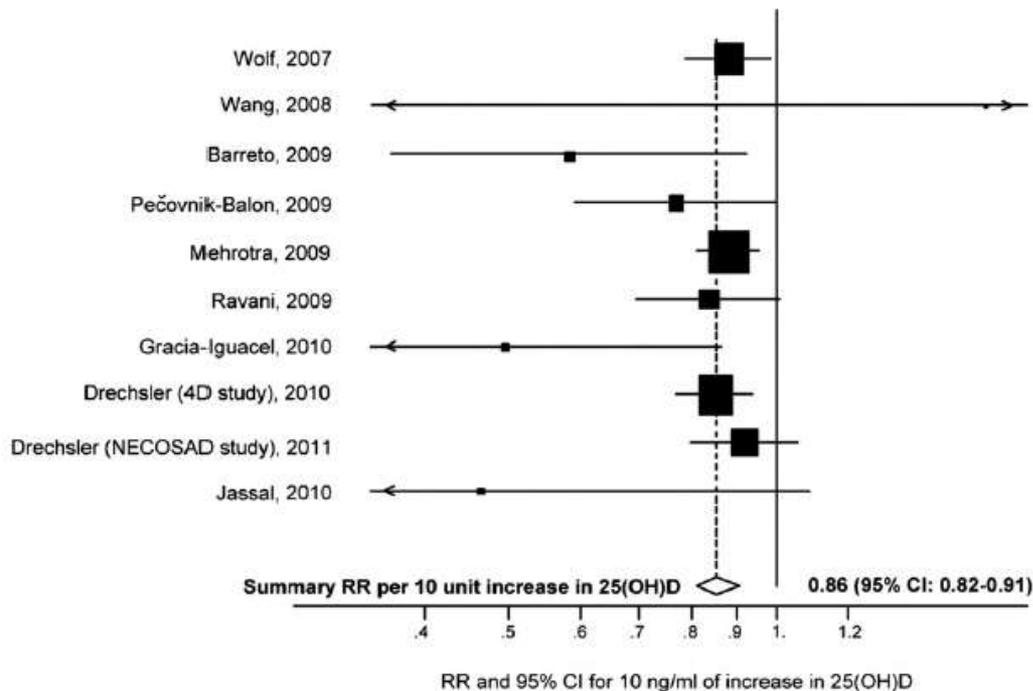
# KDIGO: ХБП-МКН: Многофакторное прогрессирующее заболевание



ХБП-МКН – это состояние, характеризующееся наличием не менее, чем одного из следующих признаков:

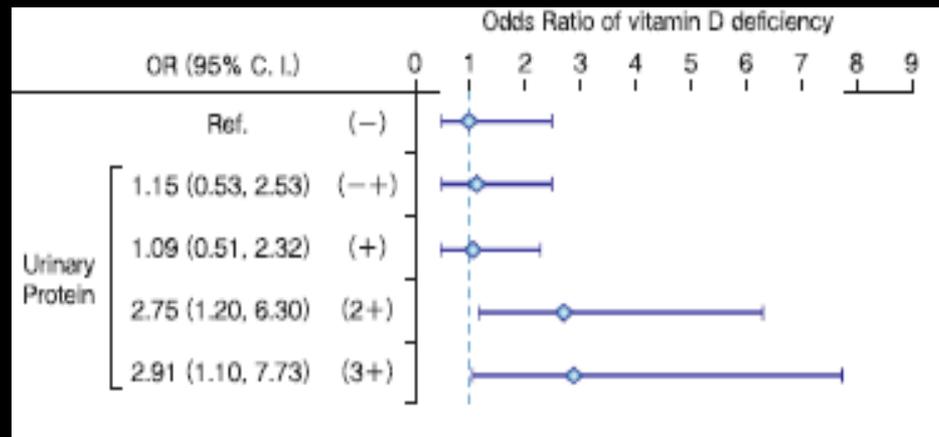
1. Изменение лабораторных показателей (Ca, P, ПТГ или витамин D)
2. Поражение костей (оборот, минерализация, объем, линейный рост, плотность)
3. Кальцификация мягких тканей и/или сосудов

# Анализ риска смерти и уровня сывороточного 25-ОНD<sub>3</sub> у больных с ХБП.



Риск смерти у больных с ХБП снижается при большем сывороточном 25-ОНD<sub>3</sub>.

# Факторы риска низкого статуса витамина Д при ХБП.

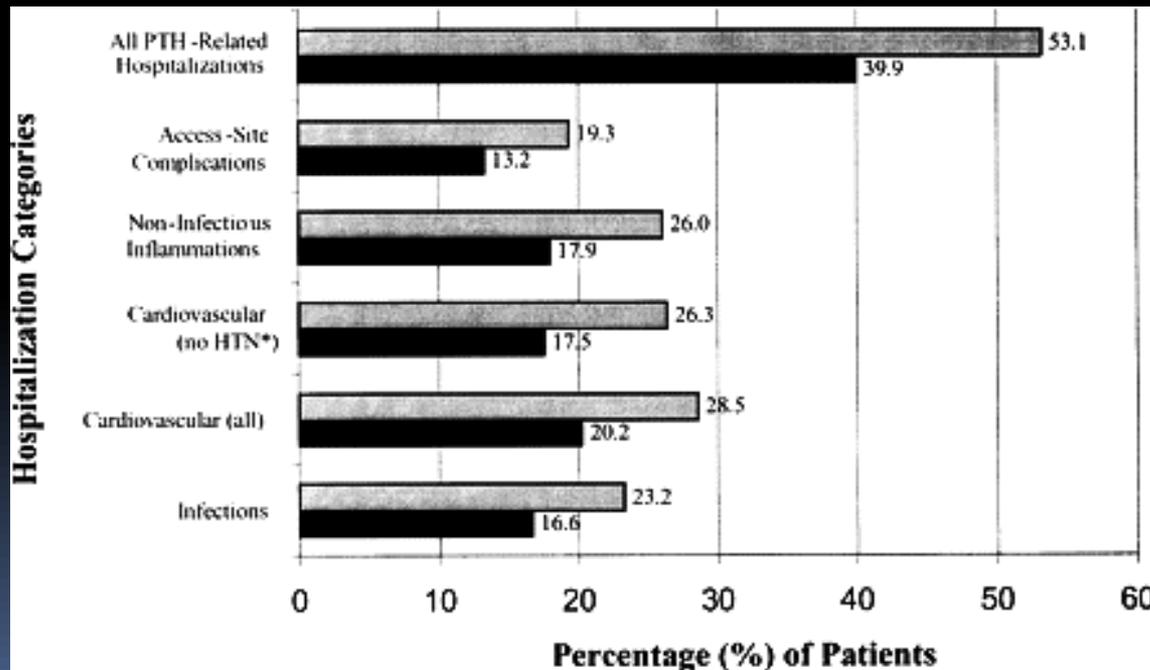


В дополнение к женскому полу и высоким уровням ПТГ, умеренная или высокая протеинурия (2+ или выше) и диабет - факторы риска низкого статуса витамина Д. D-связывающий белок теряется вместе с витамином D при нарушении функции подоцитов .

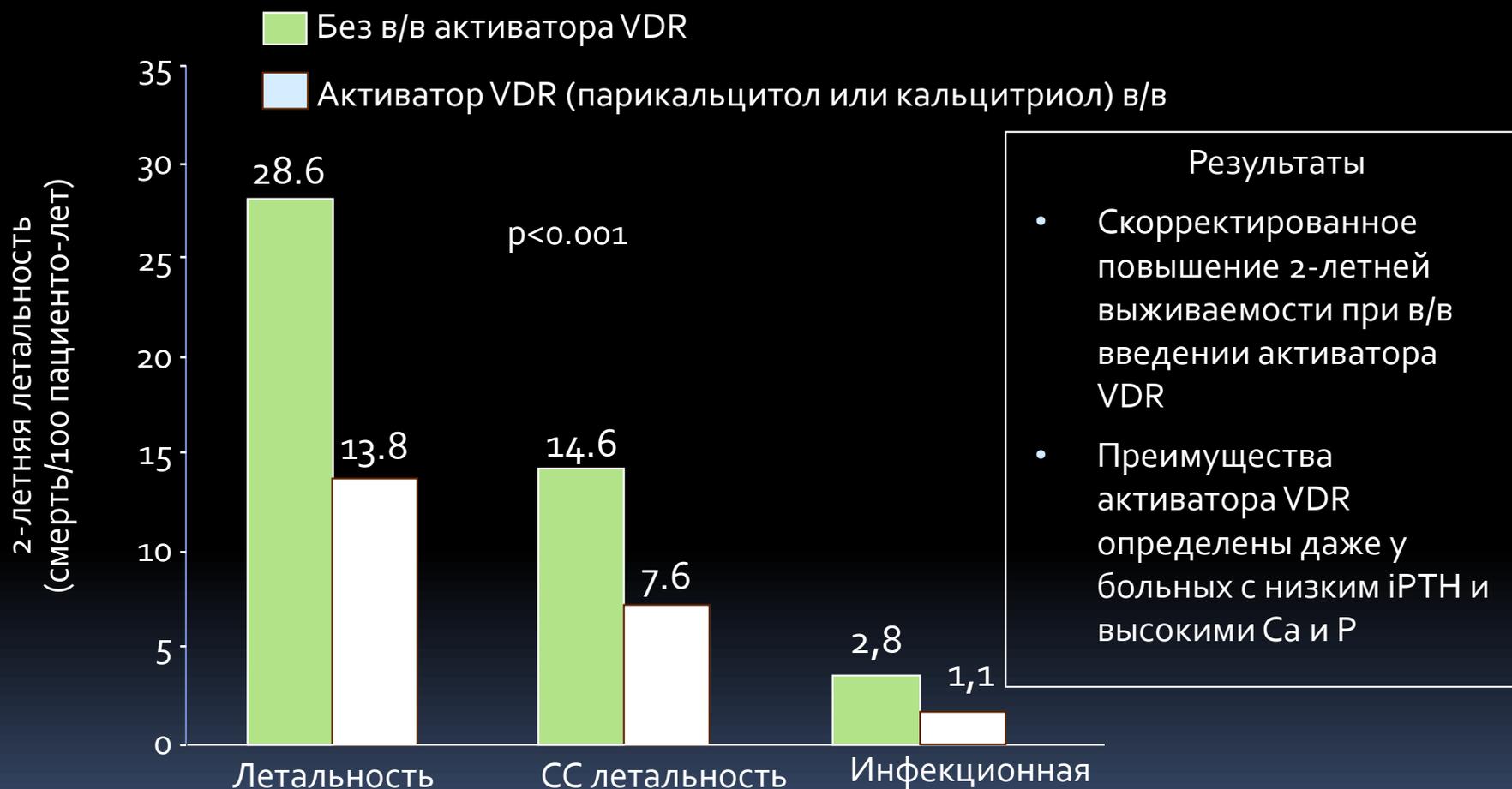
У диабетиков с протеинурией (даже с микроальбуминурией) нарушается функция мегалина, который необходим для реабсорбции витамина D проксимальными канальцами.

# Терапия VDRA. Риски госпитализаций по разным причинам.

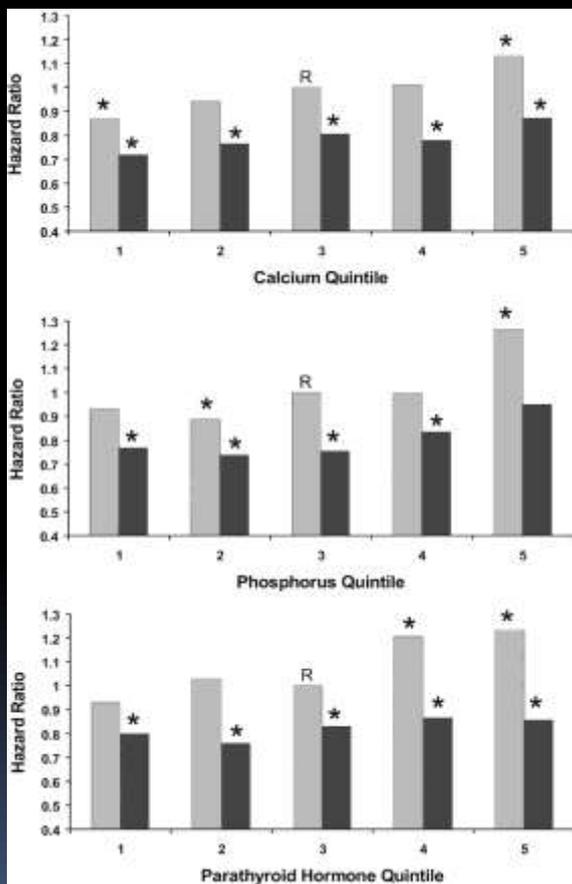
- 1999-2001 г – ретроспективное исследование 35 месяцев 11444 пациента (6832 – кальцитриол в/в, 4611 парикальцитол в/в).
- Риск госпитализации по всем причинам (-14%,  $P < 0,0001$ ), меньшее количество госпитализаций в год (-0,642;  $P < 0,001$ ) и меньшее количество дней в году (-6,84;  $P < 0,001$ ).



# Преимущество выживаемости больных на диализе на терапии активаторами VDR.



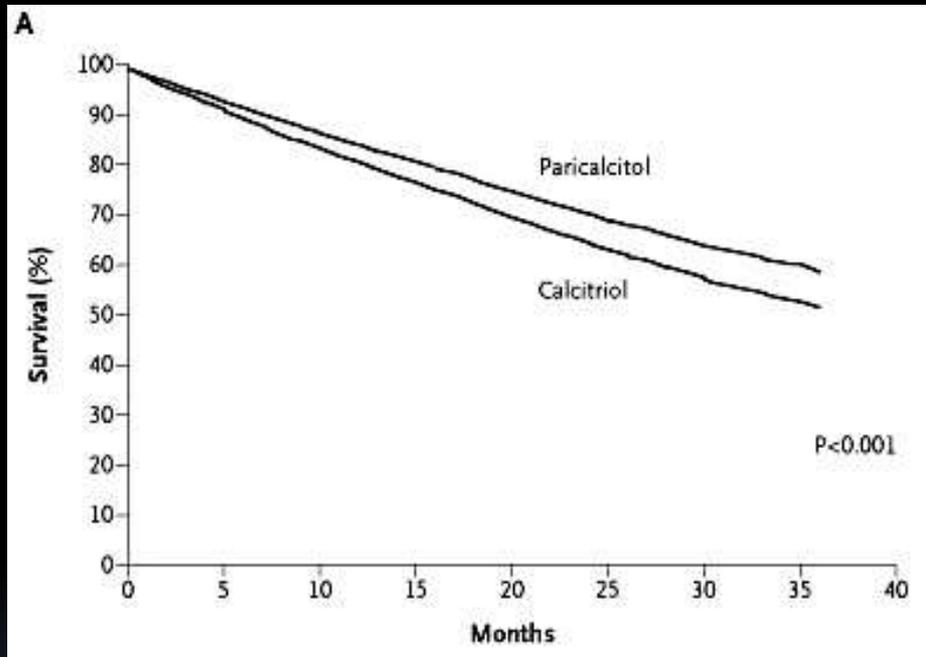
# Преимущество выживаемости больных на диализе на терапии в/в активаторами VDR (вне зависимости от уровней Са, Р, ПТГ)



- Повышенный уровень кальция, фосфора и интактного ПТГ в сыворотке крови ассоциировался с увеличением смертности, но в каждом квинтиле риск смертности среди пациентов, получавших инъекционные VDRA, был ниже.

2-х годичное проспективное исследование в центрах Фрезениус США

# Влияние парикальцитола на выживаемость (сравнение с кальцитриолом).

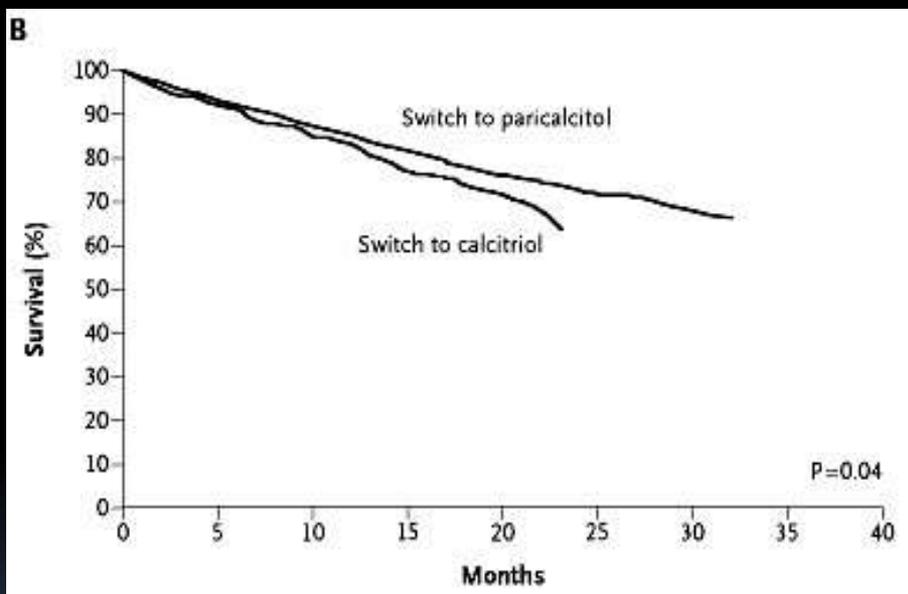


Анализ Каплана-Майера выживаемость в зависимости от типа терапии витамина D

- 67 399 пациентов США 36 месяцев наблюдения.
- Парикальцитол - 3417 случаев смерти (0,180 на человеко-год)
- Кальцитриол - 6805 случаев смерти (0,223 на человеко-год) ( $P < 0,001$ ).
- Различия в выживаемости были очевидны в течение 12 месяцев и продолжали увеличиваться со временем ( $p < 0,001$ )
- Частота смерти по конкретным причинам кальцитриол / парикальцитол, соответственно составляла 0,128 / 0,106 на человеко-год от сердечно-сосудистых заболеваний, 0,021 / 0,016 на человеко-год от инфекции и 0,075 / 0,057 на человеко-год от других причин.

# При смене терапии с парикальцитола на кальцитриол и наоборот выживаемость меняется.

Анализ Каплан-Майера выживаемость в зависимости от типа терапии витамина D



- Группа пациентов, после смены терапии с кальцитриола на парикальцитол показала лучшую выживаемость в течение 2х лет (73% против 64%,  $P < 0,04$ ) в сравнении с группой, поменявшей терапию на кальцитриол с парикальцитола.

# Влияние высоких доз витамина D и гипервитаминоза D на развитие внекостной кальцификации.

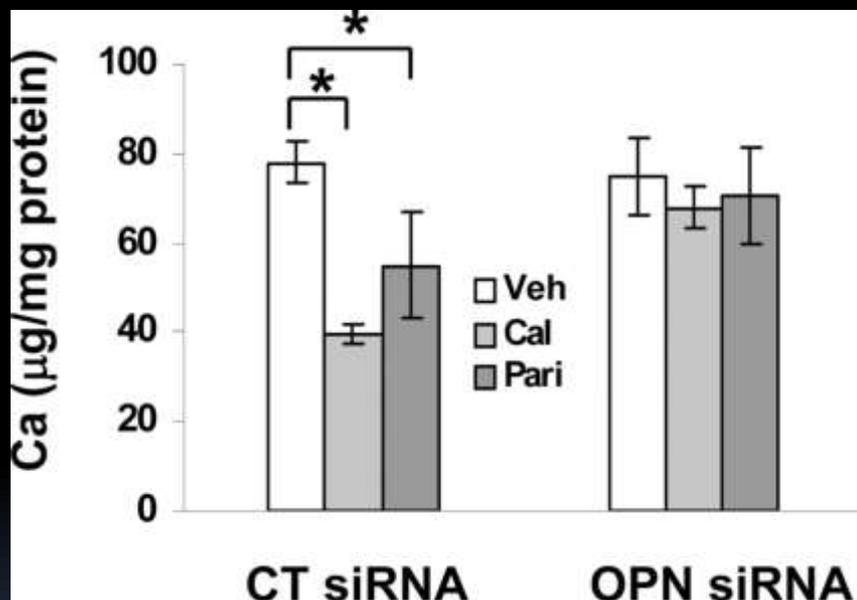
- Гипервитаминоз D приводит к эктопической кальцификации у людей.

Wolisi GO, Moe SM. *Semin Dial.* 2005;18:307–314.  
Kerr DN. *Cardiovasc Res.* 1997;36:293–297.

- В экспериментальных моделях высокие уровни витамина D у неуремических или уремических животных вызывают кальцификацию сосудов. Эти эффекты обусловлены повышенными уровнями в первую очередь P, и так же Ca.

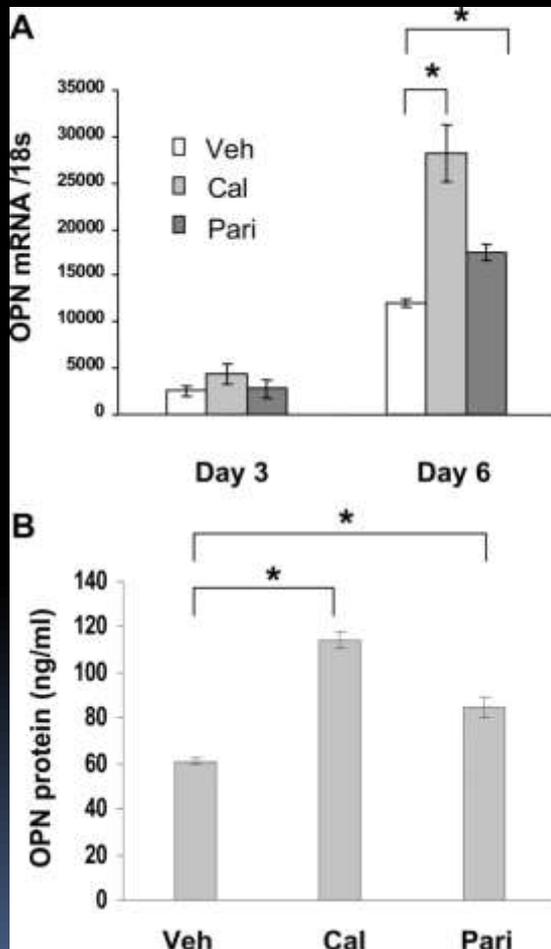
Mizobuchi M, Finch JL, et al. *Kidney Int.* 2007;72:709–715.  
Bas A, Lopez I, Perez J, et al. *J Bone Miner Res.* 2006;21:484–490

# VDR и сосудистая кальцификация. Экспериментальные модели.



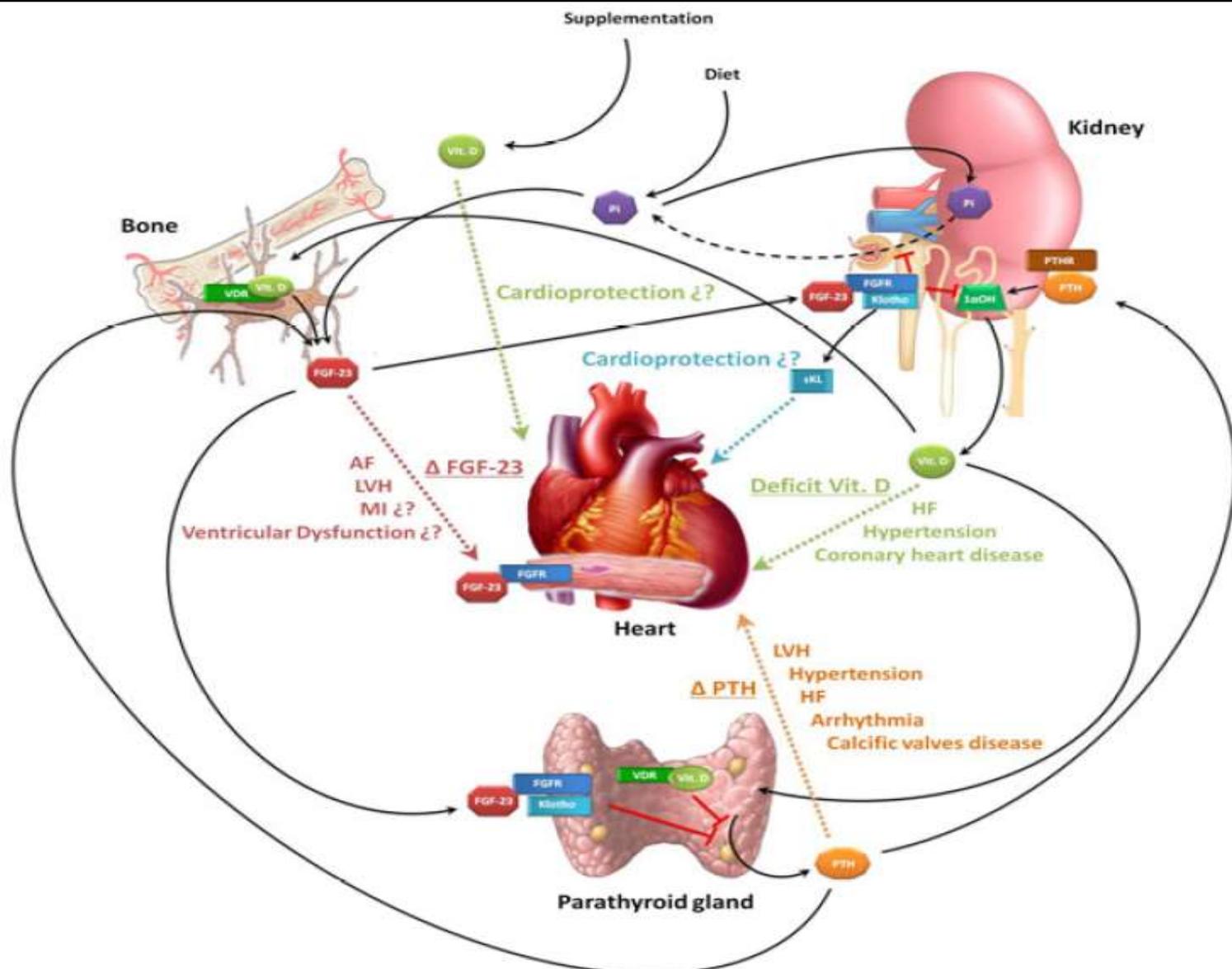
- Снижение секреции макрофагами остеопонтина (OPN) не позволяет реализоваться VDR-опосредованному торможению кальцификации в культуре гладкомышечных сосудистых клеток.
- Макрофагальная секреция остеопонтина – ключевой фактор реализации ингибирования кальцификации витамином Д и синтетическими активаторами VDR.

# VDRA и сосудистая кальцификация. Экспериментальные модели.



- Кальцитриол и парикальцитол ингибируют экспрессию BMP2, причем ингибирование > 70% наблюдается после 6 дней лечения.
- Уровни мРНК TNF- $\alpha$  также снижались при обработке VDRA.
- VDRA индуцируют экспрессию остеопонтина (OPN) в макрофагах.

# ПТГ, витамин D, FGF-23 – кlotho – влияние на сердечно-сосудистую систему.



# Заключение.

- Таким образом синдром МКН-ХБП представляет собой нечто большее, чем изменения лабораторных показателей (Са, Р, ПТГ или витамин D), поражение костей (оборот, минерализация, объем, линейный рост, плотность) и кальцификация мягких тканей и/или сосудов.
- В основе изменений, приводящих как к костной патологии, так и к патологии сердечно-сосудистой системы, лежат нарушения тонких механизмов гуморальной регуляции, в которой участвует большое количество рецепторов, лигандов, кофакторов, прогормонов, часть из которых вероятно неизвестна или не исследована.
- Витамину D и его производным принадлежит одна из ключевых ролей в регуляции этих процессов. Дальнейшее исследование этих процессов дает ключ к пониманию «плеотропных» эффектов как витамина D, так и его аналогов.
- Так же понимание этих процессов даст возможность более направленной и индивидуализированной терапии МКН-ХБП, с ожидаемо лучшими эффектами для пациентов, как в отношении заболеваемости и качества жизни на ЗПТ, так и в отношении замедления прогрессирования снижения почечной функции у додиализных пациентов.