ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Цыгин А.Н.

Москва-2016

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 5

ВВЕДЕНИЕ 6

ГЛАВА 1 (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) 11

1.1 Современные представления о регуляции обмена фосфора 11

1.2 Гипофосфатемические состояния у детей 18

1.2.1 Фактор роста фибробластов 23 при аутосомно-доминантном гипофосфатемическом рахите 21

1.2.1 Фактор роста фибробластов 23 при Х-сцепленном гипофосфатемическом рахите 22

1.2.3 Фактор роста фибробластов 23 при аутосомно-рецессивном гипофосфатемическом рахите 23

1.2.4 Фактор роста фибробластов 23 при гипофосфатемическом рахите с гиперпаратиреозом 25

1.2.5 Обмен фосфора при гипофосфатемическом рахите с гиперкальциурией 25

1.2.6 Клиническая картина гипофосфатемических рахитов 27

1.2.7 Лечение гипофосфатемии у детей 28

1.3 Обмен фосфора при синдроме Фанкони 31

1.4 Современные представления о минеральном обмене при нефротическом синдроме с вторичным стероидным остеопорозом 34

1.5 Минеральные нарушения при хронической болезни почек 35

ГЛАВА 2 (МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ) 41

2.1 Объем и дизайн исследования 41

2.1.1 Гипофосфатемический рахит 43
2.1.2 Синдром Фанкони 45
2.1.3 Хроническая болезнь почек 3-5 стадии 46
2.1.4 Дети с нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом . 48

2.2 Методы исследования 49

2.3 Статистическая обработка результатов 52

ГЛАВА 3 ПОКАЗАТЕЛИ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК 3-5 СТАДИИ 54

3.1 Характеристика больных с хронической болезнью почек 3-5 стадии с использованием общепринятых биохимических маркеров минерального обмена 54

3.2 Уровень iFGF-23 в крови у детей в группе сравнения 57

3.3 Уровень iFGF-23 в крови у детей с ХБП 3-5 стадии 58

ГЛАВА 4 ПОКАЗАТЕЛИ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА ПРИ НЕФРОПАТИЯХ С СОХРАННОЙ ФУНКЦИЕЙ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ 65

4.1 Биохимическая характеристика обследованных больных 65

4.2 Уровень iFGF-23 в крови у детей при нефропатиях с сохранной функцией почек 71
4.2.1 iFGF-23 у детей с гипофосфатемическим рахитом (n=15) 72
4.2.2 iFGF-23 у детей с синдромом Фанкони (n=9) 79
4.2.3 iFGF-23 у детей нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом (n=10) 81

ГЛАВА 5 (ЗАКЛЮЧЕНИЕ) 84

ВЫВОДЫ 94

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 96

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 96

Список сокращений

$1,25(OH)_2D_3$ — 1α, 25-дигидроксихолекальциферол

ГД — гемодиализ

ГФР — гипофосфатемический рахит

ЗПТ — заместительная почечная терапия

МКБ-ХБП — минеральная костная болезнь при хронической болезни почек

ПД — перитонеальный диализ

ПТГ – паратиреоидный гормон

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ФЭ – фракционная экскреция

ХБП – хроническая болезнь почек

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЩЖ – щитовидная железа

cFGF-23 — С-терминальный остаток фактора роста фибробластов 23

FGF-23 – фактор роста фибробластов 23

iFGF-23 — интактный фактор роста фибробластов 23

Введение

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 [140].

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 фосфортеряющих состояниях почечного генеза. Уровень FGF-23, а также генов, регулирующих его экспрессию, был исследован при данной патологии на животных моделях [15], 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 [38, 133]. В данных исследованиях уровень FGF-23 достоверно отличался при разных типах нарушений фосфорного обмена [38]. 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 [6, 71]. 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 [17, 93]. 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 Х-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.

Глава 1 (обзор литературы)

1.1 Современные представления о регуляции обмена фосфора

Фосфор – неотъемлемый элемент каждой живой клетки, необходимый для ряда метаболических процессов, и являющийся необходимым компонентом для синтеза гидроксиапатита – основного вещества минеральной части костной ткани [22]. Длительная нехватка фосфора в организме может приводить к нарушению минерализации костной ткани (с формированием остеомаляции или рахита), нарушению функции клеток крови, нарушению состава клеточной мембраны (с формированием рабдомиолиза), нарушением насосной функции сердца. У детей в связи изменением скорости роста костей и ремоделированием костной ткани потребности в фосфоре и кальции могут меняться. В условиях дефицита фосфора страдает формирование минеральной части костной ткани – гидроксиапатита, что приводит к избыточному формированию неминерализованного костного матрикса, что является основным признаком остеомаляции.

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. Источником фосфора для организма служит пища. К богатым фосфором продуктам относятся бобовые, мясные и рыбные продукты питания. В среднем с пищей поступает 20 мг/кг/сутки фосфора (около 1500 мг у взрослого человека). Главным образом абсорбция фосфора происходит в тонкой кишке (примерно 16 мг/кг или 1100 мг у взрослого человека), при этом часть фосфора выделяется обратно в просвет кишки с секретом поджелудочной железы (около

3 мг/кг мг или 200 мг у взрослого человека), около 7 мг/кг теряется со стулом [25]. Содержащийся фосфор в пище может взаимодействовать с поливалентными катионами (кальций, магний, алюминий), что значительно снижает его абсорбцию.

По современным представлениям регуляция обмена фосфора осуществляется взаимодействием паратгормона (ПТГ), кальцитриола и группы пептидов фосфатонинов [25, 89, 99]. Главную роль в регуляции сывороточной концентрации фосфора играют ПТГ и фосфатонины. Присутствие в кровотоке фосфатонинов угнетает процесс реабсорбции фосфора в почечных канальцах, что приводит к повышению экскреции фосфатов с мочой. К фосфатонинам относят несколько веществ: фактор роста фибробластов 23 (FGF-23), секретируемый завитой связанный белок 4 (sFRP4), матричный внеклеточный фосфогликопротеин (MEPE).

Сам термин «фосфатонин» употреблялся в литературе с 1994 года для описания веществ (тогда еще не идентифицированных), которые приводят к фосфатурии у больных с опухоль ассоциированной остеомаляцией [98]. Позднее в 2000 году группа ученых из Японии выделила вещество из сыворотки больного с опухоль ассоциированной остеомаляцией — фактор роста фибробластов 23 [140].

Практически весь фосфор в процессе клубочковой фильтрации попадает в пространство Боумена, в дальнейшем большая его часть (80-97%) реабсорбируется в канальцах. Функционально проксимальный каналец можно разделить на три сегмента, в каждом из них отличается концентрация натрий-фосфорных котранспортеров (Na/Pi), а также отличается их состав. Наибольшая часть каналов расположена в самом начале проксимального канальца [25]. Движущей силой переноса является градиент концентрации натрия между цитоплазмой клетки и просветом канальца, достигающийся функционированием натрий-калиевой АТФ-азы на базолатеральной мембране

клеток проксимального канальца. Реабсорбция напрямую от количества переносчиков на мембране [69].

Описано три типа фосфорных ионных каналов: SLC17, SLC20 и SLC34 [15, 128], однако у человека главным образом работает семейство каналов SLC34 (тип 2). Каналы семейства SLC17 (тип 1) были описаны на клеточной модели (клетки гладкой шпорцевой лягушки), однако не было убедительных данных за функционирование данных каналов в почечном канальце *in vivo*. В свою очередь в отношении семейства SLC20 (тип 3) было доказано, что каналы Pit-1 и Pit-2 экспрессируются и функционируют в проксимальном канальце у крыс и мышей, но участие их в реабсорбции фосфора у человека так же не доказано [15, 130]. В семействе SLC34 выделяют 3 подтипа (NaPi-IIa, NaPi-IIb, и NaPi-IIc). В почечном канальце функционируют изоформы IIa и IIc, изоформа IIb экпрессируется в клетках тонкой кишки и других тканей (легких, яичек). На животных моделях было продемонстрировано, что деятельность каналов NaPi-IIa регулируется количеством поступающего фосфора с пищей, уровнем паратгормона сыворотки и концентрацией фосфатонинов. Несмотря на то, что у человека присутствует NaPi-IIa, их роль в физиологии регуляции фосфора обсуждается. Каналы NaPi-IIc, у мышей не показали своей значимости в исследованиях, однако позже было доказано, что у людей львиная доля реабсорбции фосфатов осуществляется именно через эти каналы [46, 130]. Доказательством значимости функционирования того или иного транспортера фосфора является выявление группы больных, имеющих мутацию гена, кодирующего данный ионный канал и имеющих значимое нарушение реабсорбции фосфора. Группа исследователей обнаружила крупные делеции гена *SLC34A3*, кодирующего канал NaPi-IIc, у больных с наследственным гипофосфатемическим рахитом с гиперкальциемией [15, 21].

Поскольку потребление фосфора с пищей значительно варьирует в зависимости от диеты, организму требуется очень гибкая система регуляции

реабсорбции, позволяющая контролировать уровень фосфора крови в узком коридоре, причем у детей на разных этапах жизни требуется разный уровень фосфора крови. Так у детей первых лет жизни нормальный уровень фосфора крови значительно выше, чем у взрослых [33]. На уровень транспорта фосфатов в почке влияет множество гормонов, фосфатонинов и метаболических факторов, все они приводят к уменьшению или увеличению количества функционирующих транспортеров на люминальной мембране клеток проксимального канальца почки [94]. Из всех факторов, влияющих на гомеостаз фосфора, к настоящему времени наиболее изученными являются паратгормон и 1α,25дигидроксихолекальциферол ($1,25(OH)_2D_3$). Помимо этих двух гормонов в ответ на изменение концентрации фосфора крови косвенно изменяется выработка и других факторов, как, например соматотропин или инсулиноподобный фактор роста 1. Так же влияние на процессы транспорта осуществляют «фосфатонины» (FGF-23 и sFRP-4), присутствие которых в кровотоке приводит к отрицательному балансу фосфора, как непосредственно за счет снижения экспрессии переносчиков в клетках проксимального канальца, так и опосредовано через блокаду синтеза активного метаболита витамина D.

Паратгормон и $1,25(OH)_2D_3$ относят к так называемым «кальцийтропным» гормонам, так как их основной функцией в организме является поддержание уровня кальция сыворотки [25]. Так синтез и выработка ПТГ напрямую регулируется при участии кальций-чувствительных рецепторов паращитовидной железы, что продемонстрировано у здоровых людей. Происходит увеличение продукции ПТГ в ответ на снижение концентрации ионизированного кальция в крови. У больных с хронической почечной недостаточностью было показано, что высокий уровень фосфора крови увеличивает синтез паратгормона [47]. Паратгормон снижает уровень фосфора крови путем стимуляции поглощения NaPi-IIa и NaPi-IIc клетками проксимального канальца [69]. При этом ПТГ не всегда приводит к снижению

фосфора крови, поскольку одновременно он стимулирует выработку $1,25(OH)_2D_3$. Кальцитриол увеличивает экспрессию NaPi-IIb в тонкой кишке, что приводит к увеличению абсорбции фосфатов из пищи. На данный момент не существует убедительных доказательств прямого воздействия витамина D на транспорт фосфатов в почке. Однако известно, что по принципу обратной связи холекальциферол снижает синтез ПТГ и стимулирует выработку FGF-23 [25].

Фактор роста фибробластов 23 является 251-аминокислотным пептидом, продуцирующимся остеоцитами и остеобластами. Перед секрецией в кровоток от молекулы отщепляется 24-аминокислотный сигнальный домен, и в кровоток попадает уже «активный» фактор [64]. В кровотоке интактный фактор роста фибробластов (iFGF-23) подвергается второй ферментной реакции, в результате которой образуется два неактивных компонента, С-терминальный и N-терминальный остатки. Непосредственно сам фермент на данный момент еще не идентифицирован, однако выявлены гены вовлеченные в регуляцию расщепления активного фактора, как, например, *PHEX* [102]. Мутацию данного гена, приводящую к увеличению содержания FGF-23 в крови, находят при Х-сцепленном гипофосфатемическом рахите [15, 64].

Стимулами к продукции и секреции FGF-23 являются $1,25(OH)_2D_3$ и гиперфосфатемия [64, 104, 133]. Исследования показали, что высокое содержание фосфора в пище значимо повышает уровень FGF-23 [43]. Присутствие в кровотоке высокого уровня iFGF-23 приводит к значительному снижению реабсорбции фосфора на уровне проксимального канальца. Под действием FGF-23 происходит снижение плотности содержания специфических переносчиков NaPiIIa и NaPiIIc на поверхности щеточной каемки клеток почечного канальца. Фактор роста фибробластов 23 оказывает действие путем активации рецептора (FGFR1, FGFR3 и/или FGFR4) в присутствии кофактора Klotho [2]. Белок Klotho, на мембране клетки является ко-рецептором для FGF-23, его экспрессия приводит к многократному повышению аффинности iFGF-23

по отношению к FGFR [2, 29]. Мутации, приводящие к увеличению содержания Klotho на мембране клеток проксимального канальца у мышей приводили к развитию фосфатурии [29].

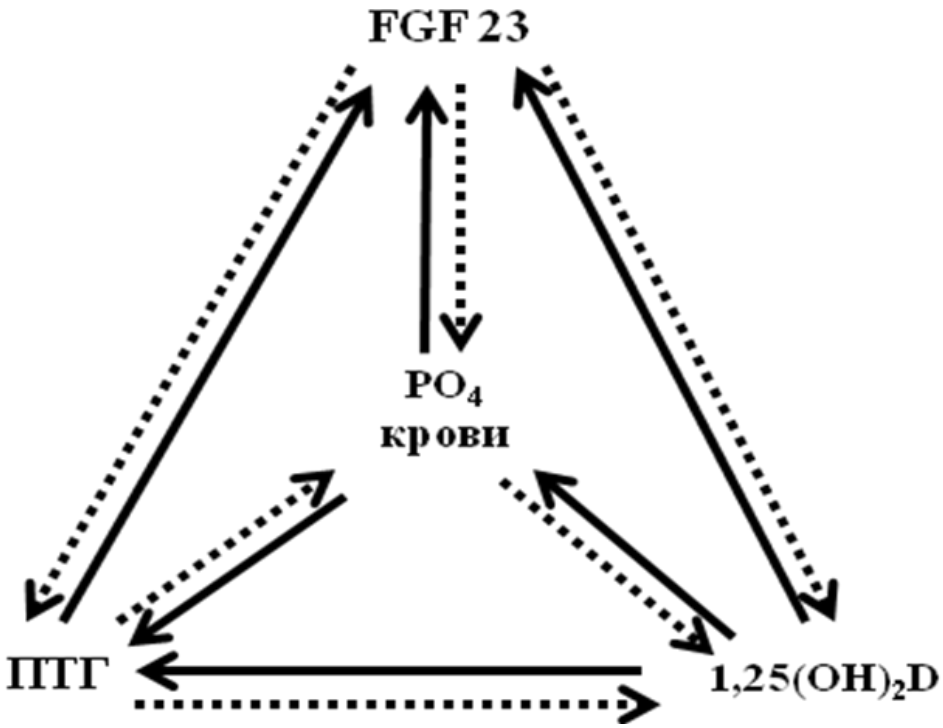


*Рисунок 1.1. Отрицательные обратные связи в регуляции уровня фосфора сыворотки крови.**

**Сплошными линиями обозначена стимуляция продукции или увеличение сывороточного уровня. Прерывистыми линиями обозначено ингибирующее влияние или снижение уровня в сыворотке крови. На схеме не обозначено влияние уровня кальция сыворотки крови на ПТГ и 1,25(OH)2D. (Seiji Fukumoto, 2014)*

Экспрессия Klotho обнаружена не только в клетках проксимального канальца нефрона, но и в дистальном канальце, где отсутствуют транспортеры фосфатов. Так же во многих органах обнаружена экспрессия FGF-23, например, в яичках, яичниках, головном мозге [67].

Помимо снижения реабсорбции фосфора в нефроне, FGF-23 воздействует и на абсорбцию фосфора в тонкой кишке, где он так же снижает плотность содержания транспортеров на поверхности клетки (NaPiIIb) путем угнетения транскрипции генов, кодирующих данный ионный канал [49]. Это приводит к снижению абсорбции фосфатов из пищи. На данный момент еще детально не изучено, по каким механизмам комплекс «FGF-23 - Klotho» блокирует абсорбцию фосфора в тонкой кишке.

Вторым важным эффектом FGF-23 на уровне почки (в клетках проксимального канальца) является блокада фермента 1α-гидроксилазы (CYP27B1), отвечающего за гидроксилирование 25-(OH) холекальциферола и синтез кальцитриола [81 ,110]. Таким образом осуществляется обратная связь в регуляции синтеза кальцитриола (Рисунок 1.1).

В свою очередь $1,25(OH)_2D_3$ стимулирует синтез FGF-23 [81, 138]. На животной модели продемонстрировано, что введение $1,25(OH)_2D$ мышам приводило к значимому увеличению уровня FGF-23 крови [75].

Высокий уровень FGF-23 приводит к угнетению функции паращитовидных желез через возбуждение рецептора FGF (FGFR) и Klotho, что подтверждается наличием большого количества рецепторов к FGF-23 и Klotho в ткани паращитовидной железы, а также экспериментальными моделями на животных [49, 123]. В свою очередь повышение паратгормона в крови стимулирует экспрессию FGF-23 в остеоцитах [138].

В последние несколько лет появилось много публикаций о влиянии дефицита железа на уровень FGF-23 [137, 138]. Изначально было выявлено повышение уровня FGF-23 у больных железодефицитной анемией [36].

Позже были установлено, что внутривенное введение препаратов железа (в том числе полимальтозных комплексов) значимо снижает деградацию FGF-23, что приводит к повышению его уровня в крови [86, 97, 106, 115, 138]. Однако механизмы данных взаимодействий пока изучены недостаточно.

Все вышеизложенное относится к регуляции обмена фосфора у здорового человека. При ряде заболеваний процессы регуляции могут нарушаться, что приводит не только к изменению сывороточного уровня фосфора, но и патологическим изменениям в различных органах и системах. Кальцитриол, ПТГ и FGF-23 оказывают виляние на множество органов-мишеней. В данном обзоре сконцентрируем внимание на роли FGF-23, как на наиболее малоизученном и перспективном факторе, регулирующем обмен фосфора.

1.2 Гипофосфатемические состояния у детей

Большое количество новых знаний об обмене фосфора принесло изучение наследственных нарушений обмена фосфора, и в первую очередь гипофосфатемических рахитов, проявляющиеся в детском возрасте [54].

Как было описано выше, существует несколько типов натрий-фосфорных каналов, и большая часть их экспрессирована на поверхности клеток проксимального канальца. Роль того или иного канала в физиологии часто оценивается в эксперименте с лабораторными животными, когда выводится линия мышей с мутантным ионным каналом [87]. Однако результаты подобных исследований не всегда могут быть применены к людям. Существует различие в функционировании ионных каналов в проксимальном канальце у мышей и у человека. У мышей функционирует в основном канал NaPi-IIa [60], в то время как роль этого котранспортера в реабсорбции фосфора у людей невелика. Доказательством этому служит отсутствие фосфатурии и гипофосфатемии у людей с выявленными мутациями в гене, кодирующем данный канал [130]. Данный факт требует детального рассмотрения наследственных гипофосфатемических состояний и особенностей регуляции обмена фосфора при них.

В последние годы в литературе используется новая патогенетическая классификация гипофосфатемических состояний [33]. Выделяют

наследственные и приобретенные формы. Среди генетических состояний выделяют:

- FGF-23 опосредованные рахиты
- Нарушения активности 1,25$(OH)_2$D (мутации α-гидроксилазы (*CYP27B1*) или рецептора витамина D VDR)
- Дефект функции проксимального канальца нефрона (синдрома Де Тони-Дебре-Фанкони, болезнь Дента, ренальный тубулярный ацидоз)
- Другие

Среди приобретенных форм также выделяется группа FGF-23-опосредованных состояний (опухоль ассоциированная остеомаляция), дефицит фосфора или витамина D и действие лекарственных средств [3, 5, 32, 138].

В настоящем обзоре мы рассмотрим формы, сопровождающиеся снижением общего фосфора крови и изолированным нарушением почечного транспорта фосфора, а именно гипофосфатемические рахиты. Традиционно в нашей стране данная группа заболеваний обозначается как фосфат-диабет или витамин-D-резистентный рахит. Данная терминология не отражает истинной картины заболевания и разнородности данной группы. Признаком, объединяющим фосфортеряющие состояния, является гипофосфатемия.

Нормальный уровень фосфора крови у подростков и взрослых находится в пределах 0,97 – 1,8 ммоль/л. У детей нормальный уровень фосфора меняется с возрастом, данные о нормативах представлены в **таблице 1.1** [27, 33].

Длительно существующая гипофосфатемия может приводить к развитию тяжелого рахита. В основе проявлений данного рахита и остеомаляции лежит задержка эндохондральной минерализации вследствие нарушения синтеза гидроксиапатита, обусловленного дефицитом фосфора [25]. Длительный дефицит фосфора в данной группе заболеваний вызван избыточными потерями фосфатов с мочой вследствие нарушения процесса реабсорбции в проксимальном канальце [124].

Таблица 1.1. Допустимый уровень фосфора крови у детей [27, 33]	
Возраст	Неорганический фосфат крови (ммоль/л)
0-3 мес	1.62-2.40
4-6 мес	1.78-2.21
6-12 мес	1.38-2.15
1-2 лет	1.32-1.93
3-4 лет	1.02-1.92
5-6 лет	1.13-1.73
7-8 лет	1.06-1.80
9-10 лет	1.13-1.70
11-12 лет	1.04-1.79
13-15 лет	0.97-1.80

В основе наследственных гипофосфатемических рахитов лежат мутации разных генов, ответственных за синтез «фосфатонинов», рецепторов к ним, ионных каналов и других регуляторов обмена фосфора. В зависимости от того, какой ген поврежден, изменяется и клиника заболевания. Список дефектных белков и связанных с ними заболеваний представлен в **таблице 1.2** [15].

Таблица 1.2. Наследственные гипофосфатемические рахиты [15]	
Дефектный белок	Заболевание
PHEX	Х-сцепленный доминантный гипофосфатемический рахит (XLH)
DMP1	Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит (ARH)
FGF-23	Аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит (ADHR)
KLOTHO	Гипофосфатемический рахит с гиперпаратиреозом
SLC34A3	Гипофосфатемический рахит с гиперкальциурией (HHRH)

1.2.1 Фактор роста фибробластов 23 при аутосомно-доминантном гипофосфатемическом рахите

Открытие фактора роста фибробластов и изучение его структуры и функции внесло ясность в патогенез гипофосфатемических состояний. Вскоре после появления публикации об открытии нового фосфатурического фактора – FGF-23 [140], было установлено, что именно он является причиной фосфатурии при аутосомно-доминантном гипофосфатемическом рахите [11]. Менее, чем двумя годами позже, группой ученых из Токио были идентифицированы мутации, ответственные за развитие аутосомно-доминантного гипофосфатемического рахита в гене *FGF-23* [11132].

Было обнаружено, что мутации, приводящие к усилению функции («gain of function») локализуются в маленьком участке, кодирующем только четырехаминокислотную последовательность [111]. Этот участок является локусом, в котором должно происходить ферментное расщепление фактора роста фибробластов на два неактивных компонента, С-терминальный и N-терминальный. Мутации приводят к тому, что FGF-23 становится устойчивым к

протеолизу, что вызывает повышение концентрации его активной формы (iFGF-23) в кровотоке.

Аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит является крайне редким заболеванием, с частотой менее 1 на 1000000 населения. К настоящему моменту описано менее 100 случаев данного заболевания.

1.2.1 Фактор роста фибробластов 23 при Х-сцепленном гипофосфатемическом рахите

Х-сцепленный гипофосфатемический рахит – так же редкое заболевание, но являющееся наиболее распространенным среди наследственных рахитов. Его частота в популяции 1 на 20 000 человек [32, 56]. Данное состояние так же называют Х-сцепленным доминантным, так как поражаются в равной степени мальчики и девочки.

В основе патогенеза лежит блокада реабсорбции фосфора в проксимальном канальце и, как следствие, гипофосфатемия. Х-сцепленная гипофосфатемия относится к так называемым FGF-23 опосредованным заболеваниям. Как было отмечено выше, после секреции FGF-23 происходит его инактивация путем протеолиза и образования двух неактивных остатков. Причиной Х-сцепленного гипосфосфатемического рахита является мутация гена *PHEX*, кодирующего белок PHEX (Homology to Endopeptidases located on the X chromosome).

К сегодняшнему дню описано более 350 патогенных мутаций в гене *PHEX*, в том числе мутации *de novo* [32]. Данный белок является ферментом и участвует в инактивации фактора роста фибробластов 23. В первых исследованиях, посвященных PHEX были получены результаты, что это и есть фермент, расщепляющий FGF-23. Однако позже было доказано, что FGF-23 не является непосредственным субстратом для PHEX и на данный момент еще не известно, каким именно образом данный фермент участвует в расщеплении молекулы FGF-23 на N и С-терминальные остатки [24, 31]. Конечным итогом

является повышение уровня интактной формы FGF-23 в крови за счет уменьшения его протеолиза. Так же у этих больных отмечается умеренное снижение уровня $1,25(OH)_2D_3$, так как в присутствии фактора роста фибробластов происходит блокада α-гидроксилазы.

1.2.3 Фактор роста фибробластов 23 при аутосомно-рецессивном гипофосфатемическом рахите

Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит – наиболее редкое и наименее изученное состояние из всех, описанных в нашем обзоре. Заболевание было описано в нескольких семьях с аутосомно-рецессивным наследованием гипофосфатемии. К 2004 году было описано всего около 10 больных [42].

У данных больных были выявлены гомозиготные мутации гена, кодирующего DMP1 (dentin matrix protein 1). Дальнейшие исследования показали, что существует 3 типа аутосомно-рецессивного гипофосфатемического рахита, и ассоциированный с мутацией *DMP1* – лишь первый из них. Клиническое течение заболевания мало отличается от других форм гипофосфатемических рахитов: деформации нижних конечностей, «утиная» походка, низкорослость, боли в костях и мышцах. Однако аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит протекает тяжелее, и выраженность симптомов зависит от тяжести гипофосфатемии [79]. Патогенез аутосомно-рецессивного гипофосфатемического рахита 1 типа на сегодняшний день изучен недостаточно. Известно, что ген *DMP1* в значительной степени экспрессирован в остеоцитах. В исследовании на животных моделях мыши группы *Dmp1-null* развивали гипофосфатемию вследствие почечных потерь фосфора при нормальном уровне кальция и паратгормона крови и высоком уровне FGF-23. Дальнейшие исследования показали, что DMP1 является регулятором минерализации костной ткани и является мощным ингибитором

синтеза FGF-23 в костной ткани [41, 42], однако механизмы взаимодействия DMP1 и FGF-23 требуют дальнейшего исследования.

Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит 2 типа вызван мутацией гена, кодирующего эктонуклеотидную пирофосфатазу/фосфодиэстеразу (*ENPP1*) [73]. Данный ген участвует в процессах минерализации костной ткани и в продукции неорганического пирофосфата – метаболита-ингибитора минерализации. Есть предположение, что *ENPP1* участвует в регуляции клеточной дифференцировки остеобластов [88]. При мутациях этого гена отмечается нарушение дифференцировки остеобластов и избыточная экспрессия FGF-23 в них. В исследовании на животных моделях у мышей с гомозиготной мутацией *ENPP1* (*Enpp1-/-*) отмечалось повышение содержание интактного FGF-23 в кровотоке, гипофосфатемия, гипокальциемия, кальцификация аорты и нефрокальциноз [76].

Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит 3 типа является вариантом синдрома Рейна (Raine's), вызываемого мутациями в генах *FAM20c* или *DMP4*. Обычно синдром Рейна заканчивается летальным исходом на первом году жизни [42]. У детей имеются множественные пороки развития. Однако не все мутации *FAM20c* ассоциированы с неблагоприятным исходом в раннем детстве. Описан случай, синдрома Рейна, проявлявшийся гипофосфатемией, остеосклерозом, аномалиями строения зубов и эктопическими кальцинатами в головном мозге. У этого больного была выявлена компаунд гетерозиготная мутация *FAM20c* [100]. На животных моделях было продемонстрировано, что мыши линии *Fam20c-null* развивали гипофосфатемию, ассоциированную с повышенным уровнем FGF-23, а также выраженные аномалии строения зубов и остеосклероз. Детальное изучение структуры и функции FAM20c выявило, что это цитоплазматический фермент, отвечающий за фосфорилирование некоторых белков, в том числе и DMP1.

Таким образом отсутствие функции этого белка приводит к отсутствию функции DMP1, описанного при 1 типе аутосомно-рецессивного гипофосфатемического рахита [132].

1.2.4 Фактор роста фибробластов 23 при гипофосфатемическом рахите с гиперпаратиреозом

С момента открытия фактора роста фибробластов оставался отрытым вопрос, каким образом FGF-23 оказывает действие только в некоторых органах-мишенях при наличии рецепторов к FGF в других органах и тканях. Ответом послужило открытие специфического кофактора FGF-23 – Klotho, необходимого для активации рецепторов. FGF-23 способен активировать рецептор FGFR1 только в присутствии Klotho. Именно эти рецепторы задействованы в передаче сигнала в клетках проксимального канальца нефрона. [15, 125]. Позже был описан клинический случай, ассоциированный с транслокацией, вызывающей увеличение сывороточного уровня α-Klotho. Клинически отмечалась картина гипофосфатемического рахита, однако обращал на себя необычный для данной группы заболеваний гиперпаратиреоз [31, 29]. В то же время был описан прямо противоположный клинический случай, ассоциированный с гомозиготной миссенс-мутацией гена *KL*, кодирующего Klotho. В клиническом примере описана девочка с множественными кальцинатами в сосудах и мягких тканях, значимой гиперфосфатемией гиперкальциемией и гиперпаратиреозом [56]. Упомянутые случаи указывают на значимость ко-фактора Klotho в передаче сигнала FGF-23 и его участии в процессах обмена фосфора.

1.2.5 Обмен фосфора при гипофосфатемическом рахите с гиперкальциурией

Гипофосфатемический рахит с гиперкальциурией встречается с частотой менее 1:1000000. Особенностью данного заболевания является

гиперкальциурия и отсутствие снижения уровня $1,25(OH)_2D$ в крови, характерные для других гипофосфатемических рахитов. У больных с данной формой гипофосфатемического рахита были выявлены мутации гена *SLC32A3*, кодирующего специфический ионный канал NaPiIIc [61]. При данном заболевании отмечается выраженная гипофосфатемия при нормальном уровне $1,25(OH)_2D$ [20]. Уровень общего FGF-23 и ПТГ в работе Ichikawa S et al выявляен либо нормальный, либо низкий у всех пациентов [57].

Из всех описанных в нашем обзоре гипофосфаемических рахитов этот единственный, который не имеет в патогенезе развития фосфатурии высокого FGF-23. Обнаружение мутации при данной патологии позволило больше узнать о физиологии реабсорбции фосфора у человека.

Первым открытым и изученным у животных натрий-фосфорным котранспортером был NaPiIIa. У мышей этот канал является основным для реабсорбции фосфора. В то же время канал NaPiIIc у мышей не показал значимости, то есть при создании модели с мутантными генами *SLC34A1* и *SLC34A3* гипофосфатемия отмечалась у мышей с мутацией первого гена (кодирующего канал NaPiIIa) [46, 130]. Обнаружение у группы людей с гипофосфатемическим рахитом с гиперкальциурией мутации *SLC34A1* послужило доказательством значимости функционирования каналов NaPiIIc у человека в отличии от других животных.

Таким образом все описанные формы гипофосфатемических рахитов имеют общие моменты в патогенезе. Так при всех отмечается значимая фосфатурия за счет дефекта реабсорбции на уровне проксимального почечного канальца, при этом при всех формах, кроме гипофосфатемического рахита с гиперкальциурией, сам натрий-фосфорный котранспортер и клетка проксимального канальца не страдают, а имеется дефект регуляции. Большая часть описанных состояний в патогенезе имеют повышение активности FGF-23 в сыворотке крови.

1.2.6 Клиническая картина гипофосфатемических рахитов

Клинически течение гипофосфатемических рахитов сходно. Выделяют два основных синдрома в картине всех наследственных гипофосфатемий: это рахит и остеомаляция. В детском возрасте оба эти синдрома неразрывно связаны, в то время как у взрослых отмечается только остеомаляция и ее осложнения. В подавляющем большинстве случаев дебют происходит в раннем детском возрасте. Как правило, первым и основным признаком гипофосфатемического рахита является деформация ног (вальгусная или варусная), которая появляется сразу после того, как ребенок начинает вставать и ходить. В дальнейшем деформации прогрессируют, дети отстают в росте. Помимо этого, отмечается деформация метафизов трубчатых костей, обусловленная гиперплазией неминерализованного остеоида, характерной для всех рахитов. Деформации ног значительно затрудняют передвижения, они нарушают походку, нередко больные жалуются на боль в костях [103]. Ранняя постановка диагноза наследственных гипофосфатемических рахитов редка, так как при появлении первых деформаций у детей, как правило, ставится диагноз витамин D-дефицитного рахита и проводится соответствующее лечение, обычно малоэффективное [5].

При обследовании этих детей в биохимическом анализе крови чаще всего выявляется гипофосфатемия и нормальный или незначительно сниженный уровень витамина D, нормальный уровень общего кальция, так же обычно выявляется повышенный уровень общей щелочной фосфатазы крови, однако повышение не столь значительное, как при витамин D-дефицитном рахите, уровень паратгормона у детей, не получающих терапии, чаще всего, в пределах референсных значений [31]. При выполнении рентгенологических исследований картина не имеет какой-то специфичности: описывается снижение минерализации костей, деформации трубчатых костей, неровные контуры зон роста, расширение метафизарных зон. Так же у большинства

больных отмечаются изменения зубов, выражающиеся в их хрупкости, ранней потере, большей подверженности кариесу. Многие дети с некомпенсированной гипофосфатемией жалуются на мышечную слабость [19].

С возрастом и прекращением роста деформации перестают прогрессировать, но остеомаляция сохраняется. Кроме того, у больных с гипофосфатемическими рахитами описана энтезопатия – кальцификация связок и сухожилий [31, 74].

1.2.7 Лечение гипофосфатемии у детей

До недавнего времени гипофосфатемические рахиты обозначались как витамин D резистентные рахиты или фосфат-диабет [1, 8]. В лечении традиционно в отечественной литературе рекомендуется высокодозная терапия витамином D (до 50 000 МЕ в сутки) и его активными метаболитами (альфакальцидол, кальцитриол). В некоторых источниках упоминается смесь Олбрайта [1], раствор Жоли [9] и раствор неорганических фосфатов [5] в качестве дотации фосфора, однако на практике в аптечной сети эти препараты отсутствуют. Препараты одно- и двузамещенного фосфата натрия широко применяются в мире. Существует сразу несколько лекарственных форм. На сегодняшний день в Российской Федерации зарегистрирован один препарат, являющийся смесью неорганических фосфатов. Однако он зарегистрирован как слабительное средство, так что его использование с целью восполнения потерь фосфора не предусмотрено инструкцией.

Лечение гипофосфатемических рахитов сходно. В мировой и отечественной литературе как правило указаны рекомендации по лечению гипофосфатемических рахитов на примере Х-сцепленного гипофосфатемического рахита, как наиболее распространенной формы из всех [5, 8, 31].

Консервативная терапия гипофосфатемических рахитов включает 2 основных компонента: восполнение потерь фосфатов и дотация витамина D.

Большинство источников упоминает в качестве препарата витамина D кальцитриол, как основной препарат выбора, но допускается и использование альфакальцидола. Доза кальцитриола варьирует в разных источниках от 10 до 80 нг/кг/сутки, альфакальцидола – 25-50 нг/кг/сутки [5, 20, 31, 134]. Все источники сходятся на том, что превышать дозу 3-3,5 мкг кальцитриола и 2 мкг альфакальцидола нецелесообразно, так как это не улучшает прогнозы, но значительно повышает риск развития такого серьезного осложнения, как нефрокальциноз [31].

Метаболиты витамина D показаны при всех формах гипофосфатемических рахитов, кроме одной – гипофосфатемического рахита с гиперкальциурией. Так как при данной форме отсутствует дефект синтеза $1.25(OH)_2D_3$, и дотация кальцитриола или альфакальцидола приводят быстрому развитию такого осложнения как нефрокальциноз [57].

Неорганические фосфаты даются из расчета в разных источниках от 30 до 180 мг/кг/сутки, но большинство последних рекомендаций ограничиваются 20-40 мг/кг/сутки [31] и до 80 мг/кг/сутки в периоды активного роста ребенка [5]. Расчет дозы в данном случае производится по элементарному фосфору, а не по фосфату. Также фосфаты следует разделять на несколько приемов, в разных источниках кратность варьирует от 4 до 6 приемов в связи с коротким периодом полувыведения препарата [5, 31]. Также прием препаратов фосфора следует отделить от приема пищи и препаратов кальция, так как взаимодействие фосфатов с кальцием может значительно снизить абсорбцию в кишке [5].

В терапии гипофосфатемических рахитов при возмещении потерь фосфора не следует стремиться к нормальным возрастным значениям уровня фосфора крови. Целевым значением концентрации неорганических фосфатов крови является 1-1,2 ммоль/л для детей всех возрастов [5, 14, 31]. Причин для того, чтобы не допускать избыточного потребления фосфора несколько. Первая

из них – это низкая эффективность: у многих больных даже на фоне приема дозы фосфора выше 100 мг/кг массы тела не удается достичь нормализации уровня фосфора крови. Вторая причина – это плохая переносимость препаратов фосфора. У многих больных при попытке повышения дозы появляются жалобы на боли в животе, тошноту и диарею. На третьем месте стоит такое важное осложнение как гиперпаратиреоз, который может развиться при длительном избыточном приеме фосфора [14].

В большинстве современных клинических рекомендаций в качестве основной медикаментозной терапии упоминается только заместительная терапия фосфатами и активные метаболиты витамина D [5, 14, 31].

В одной работе продемонстрирована эффективность применения памидроната (препарат группы бисфосфонатов) в отношении гипофосфатемии и остеопении у ребенка с синдромом Лоу [55]. Однако безопасность применения данного препарата у детей дискутабельна.

Существует работа (Alon U.S. et al) посвященная применению кальцимиметиков с целью профилактики гиперпаратиреоза у детей с Х-сцепленным гипофосфатемическим рахитом, в которой было показано, что совместное назначение препаратов фосфора с цинакальцетом (не разрешен к применению у детей в России) приводит к снижению уровня ПТГ в коротком промежутке времени. Следует уточнить, что в данном исследовании в группу наблюдения вошло лишь 8 пациентов и период наблюдения составил 4 часа [13]. Таким образом в данной работе не было проведено оценки отдаленных результатов.

Что касается хирургического лечения деформаций, то среди авторов не существует единого мнения о сроках, начала коррекции. Часто у детей на фоне медикаментозной терапии происходит спонтанная частичная или полная коррекция деформаций. Это снижает потребность в многоэтапных сложных операциях. Чаще всего рекомендуется коррекция деформаций после закрытия

зон роста [5, 14, 31, 127], однако это касается вмешательств с выполнением остеотомий. В настоящее время часто применяются такие малоинвазивные вмешательства как, эпифизеодез, выполняющиеся в более раннем возрасте до закрытия зон роста [31, 90]. В данном случае односторонняя фиксация зоны роста приводит к постепенной коррекции деформации кости по мере линейного роста.

Выполнение оперативных вмешательств вне терапии метаболитами витамина D и фосфатов и на фоне сохраняющейся гипофосфатемии приводит к рецидивам деформаций и множеству послеоперационных осложнений [127].

Контроль эффективности терапии основывается в первую очередь на клинических данных: улучшении деформаций, уменьшении боли, увеличении скорости линейного роста. Так же важным моментом является контроль осложнений проводимой терапии (уровень паратгормона крови, кальциурии, ультразвуковых признаков нефрокальциноза) [31, 127, 134].

Существует множество работ, свидетельствующих как в пользу назначения препаратов гормона роста детям с гипофосфатемическими рахитами, так и против назначения [16, 30, 52, 80, 108, 136]. К настоящему моменту в библиотеке Cochrane опубликовано только одно исследование, касающееся применения синтетических аналогов гормона роста при Х-сцепленном гипофосфатемическом рахите. Доказательств того, что гормон роста эффективен при данной патологии не получено [142].

1.3 Обмен фосфора при синдроме Фанкони

У детей почечные потери фосфатов могут быть не только как изолированный дефицит реабсорбции фосфора, но и в рамках генерализованной дисфункции проксимальных канальцев, - синдроме Фанкони (Де Тони – Дебре – Фанкони) [5]. У детей с синдромом Фанкони отмечается почечная потеря фосфора, глюкозы, бикарбоната, аминокислот, карнитина, натрия и калия с развитием гипофосфатемического рахита, метаболического

ацидоза, полиурии, гипокалиемии. Выделяют первичный и вторичный синдром Фанкони. Первичный синдром Фанкони является крайне-редким заболеванием, и частота его неизвестна. Чаще синдром Фанкони является проявлением других болезней. Наиболее частой причиной у детей является нефропатический цистиноз, который встречается с частотой 1 на 200000 [5, 37]. Среди прочих причин развития дисфункции почечного канальца можно привести тирозинемию, галактоземию, болезнь Вильсона, синдром Лоу. Помимо наследственных заболеваний синдром Фанкони может быть вызван отравлением тяжелыми металлами, приемом вальпроевой кислоты, тубулоинтерстициальным нефритом [25].

Транспорт электролитов, глюкозы и аминокислот в проксимальном канальце осуществляется благодаря натриевым котранспортерам. Движущей силой является натрий-калиевая АТФ-аза на базолатеральной мембране клетки, которая осуществляет перенос натрия во внеклеточное пространство, благодаря чему образуется градиент концентрации натрия между просветом канальца и цитоплазмой [139]. На люминальной мембране существуют специфические котранспортеры для реабсорбции натрия вместе с фосфором, карнитином, аминокислотами, глюкозой. Кроме того, при синдроме Фанкони страдает еще одна функция проксимального почечного канальца – гидроксилирование холекальциферола, что приводит к дефициту активной формы витамина D.

При синдроме Фанкони страдает реабсорбция натрия, в связи с чем дети страдают полиурией, которая влечет за собой полидипсию и эпизоды дегидратации. Клинически синдром Фанкони, помимо полидипсии и полиурии, проявляется отставанием в физическом развитии, рахитом, резистентным к обычным дозам витамина D [37, 135]. У взрослых пациентов, так же, как при гипофосфатемических рахитах, развивается остеомаляция [37]. Лабораторно отмечается аминоацидурия, глюкозурия, фосфатурия, низкомолекулярная протеинурия, высокая экскреция бикарбоната [135]. В анализах крови обычно

выявляется гипокалиемия, гипокальциемия, гипофосфатемия низкий уровень карнитина, метаболический ацидоз [5, 37]. В литературе описаны единичные случаи формирования Барттер-подобного фенотипа с развитием метаболического алкалоза за счет вторичного гиперальдостероинизма на фоне высоких потерь натрия [39, 92].

Работ, посвященных состоянию минерального обмена при синдроме Фанкони крайне мало. Нам удалось найти только одну работу, в которой прицельно исследовано состояние минерального обмена при синдроме Фанкони, однако исследование проведено на взрослых пациентах. В данной работе у всех 8 пациентов с синдромом Фанкони выявлен низкий уровень iFGF-23 [38].

Костные деформации при синдроме Фанкони развиваются по двум причинам: вследствие гипофосфатемии, по тому же принципу, что и при гипофосфатемических рахитах, а также вследствие метаболического ацидоза [5]. При длительно сохраняющемся ацидозе минеральная часть кости, гидроксиапатит, начинает выполнять функцию буферной системы. При взаимодействии гидроксиапатита с протонами водорода образуется бикарбонат, что может частично компенсировать ацидоз, но приводит к деминерализации костной ткани [25, 72].

Терапия синдрома Фанкони у детей заключается в восполнении почечных потерь фосфата, бикарбоната, калия, карнитина, дотации активных метаболитов витамна D (кальцитриол или альфакальцидол) [5, 33, 135] и лечении основного заболевания (в случае вторичного синдрома Фанкони). Дети требуют назначения высоких доз фосфатов, от 30-40 до 70-80 мг/кг/сутки [5, 135], бикарбоната (в виде натрия 5% раствора соды или цитрата натрия) в дозе 10-15 ммоль/кг/сутки, калия в виде 4% раствора калия хлорида 4-10 ммоль/кг/сутки [5] и карнитина [33, 37], а также потребления в большом количестве воды.

1.4 Современные представления о минеральном обмене при нефротическом синдроме с вторичным стероидным остеопорозом

Осложнения длительной высокодозной стероидной терапии является актуальной проблемой в детской нефрологии. Преднизолон является первой линией терапии при дебюте нефротического синдрома у детей [5, 53]. Одним из многих тяжелых проявлений стероидной токсичности является стероидный остеопороз. Глюкокортикоидные гормоны приводят к угнетению функции остеобластов и остеоцитов, а также их апоптозу [26, 91]. Таким образом на фоне терапии стероидами снижается минерализация костной ткани, что в дальнейшем может осложниться переломами костей.

Работы, посвященные остеопорозу у детей и взрослых с нефротическим синдромом за последние 10 лет, носят преимущественно практическую направленность. То есть рассматриваются способы раннего выявления снижения минеральной плотности костной ткани [10] и способы профилактики развития остеопороза [121].

Основным методом исследования в диагностике стероидного остеопороза является рентгеновская остеоденситометрия [53], однако есть упоминания о развитии компрессионных переломов у детей с нефротическим синдромом несмотря на нормальную минеральную плотность костной ткани [105].

Терапия вторичного остеопороза при нефротическом синдроме у детей заключается в дотации активных метаболитов витамина D (альфакальцидола) и дотации кальция [5, 53], при этом основным методом лечения и профилактики является полная отмена или максимальное снижение дозы принимаемых стероидов [26]. Так же появляются единичные работы о целесообразности применения бисфосфонатов в терапии осложнений стероидной терапии нефротического синдрома у взрослых [121]. Подобных работ у детей на сегодняшний день по нашим данным нет.

Несмотря на большое количество публикаций, посвященных диагностике и лечению вторичного стероидного остеопороза, нет исчерпывающих данных о состоянии обмена фосфора при данном состоянии. В частности, нет работ, описывающих минеральный обмен при нефротическом синдроме со стероидным остеопорозом, включавшее бы измерение уровня FGF-23. Нам удалось найти только одну работу, в которой измерен уровень iFGF-23 у 1 взрослого больного с синдромом Кушинга [38].

На наш взгляд исследование уровня FGF-23 у детей с нефротическим синдромом с вторичным остеопорозом является актуальным.

1.5 Минеральные нарушения при хронической болезни почек

Нарушения минерального и костного обмена – широко распространенные осложнения хронической болезни почек (ХБП) у взрослых и детей. В 2006 году были приняты новый термин для определения данного состояния – минеральная костная болезнь при хронической болезни почек (МКБ-ХБП) [106], и новая классификация почечных остеодистрофий, основанная на изменениях костной ткани по данным биопсии гребня подвздошной кости [85].

Еще в конце XX века было доказано, что наличие «почечной остеодистрофии» значительно повышает смертность от сердечно-сосудистых осложнений на гемодиализе и перитонеальном диализе у взрослых [23, 51, 84, 106, 143]. Наличие связи переломов трубчатых костей и сердечно-сосудистой смертности потребовало дальнейшего исследования и в конечном итоге пересмотра представлений о минеральных нарушениях при почечной недостаточности. Было отмечено, что многие показатели минерального обмена (уровень фосфора, кальция, паратгормона) являются прогностически важными маркерами для выживаемости больных с терминальной почечной недостаточностью [112, 117]. Так же у этих больных нередко отмечается внекостная (сосудистая) кальцификация, костные деформации вследствие

остеомаляции и переломы, что так же снижает качество жизни и ее продолжительность. Первые изменения минерального обмена появляются у больных еще на ранних стадиях ХБП, что требует ранней диагностики и начала терапии [3]. У детей помимо описанных выше проявлений минеральных и костных нарушений существует еще один важный признак – задержка роста [18, 66, 109, 120, 124, 129].

Традиционно использовавшийся термин «почечная остеодистрофия» сохраняет свою актуальность, но, в соответствии с новой классификацией, применяется только в описании патологии самой кости при ХБП. Классификация почечной остеодистрофии основана на таком понятии, как «костный обмен» (англ. «bone turnover»). Выделяют состояния с высоким и низким обменом, адинамическую костную болезнь и смешанную форму [6]. Все эти понятия основываются на данных биопсии гребня подвздошной кости. Поскольку проведение биопсии кости имеет ограниченные показания и сопровождается определенными трудностями, особенно у детей, исследуются биохимические и рентгенологические маркеры состояния костной ткани [4]. Биохимическими маркерами костной резорбции и костеобразования являются кальций, фосфор, щелочная фосфатаза и паратгормон. За последние годы проведено несколько исследований у детей с целью оценки прогностической важности этих показателей, однако их результаты оказались во многом противоречивыми. Так по результатам одного из них выявлено, что гиперпаратиреоз и снижение сывороточного уровня кальция ассоциированы с дефектом минерализации костной ткани и не имеют четкой связи с уровнем костного обмена [19, 62]. В другой работе показано, что гиперпаратиреоз ассоциирован со снижением объема костной ткани и повышает риск переломов в 4 раза [34]. Это потребовало дальнейшего изучения и поиска новых маркеров МКБ-ХБП.

Исследования у взрослых пациентов показали, что наиболее ранним маркером минеральных нарушений при снижении скорости клубочковой фильтрации является повышение фактора роста фибробластов 23 в сыворотке крови [50, 95, 138]. Было показано, что со снижением СКФ возрастает концентрация FGF-23 в крови, достигая максимума при ХБП 5 стадии [28].

Часто уровень FGF-23 измеряется вместе с уровнем его кофактора – Klotho, который снижается пропорционально СКФ [131]. В то же время в большинстве случаев повышение паратгормона крови выявляется только в 3 стадии ХБП [50, 95, 101, 113].

Исследования, проведенные у детей немногочисленны, однако получены сходные результаты: так же отмечается нарастание уровня FGF-23 по мере прогрессирования ХБП [114, 115, 126].

Благодаря повышению FGF-23 и увеличению вследствие этого фракционной экскреции фосфора с мочой, концентрация фосфора крови длительно остается в нормальных пределах. Однако, как было описано выше, FGF-23 блокирует синтез 1,25 $(OH)_2D_3$, что приводит в конечном итоге к сниженной абсорбции кальция в тонкой кишке и гипокальциемии. Снижение уровня кальцитриола и кальция крови являются мощным стимулом к синтезу и секреции ПТГ, несмотря на ингибирующее действие FGF-23 через Klotho-ассоциированный механизм [48, 50, 95, 137]. Кроме того, при развитии гиперплазии паращитовидных желез развивается относительная резистентность ПЩЖ к действию FGF-23, так как снижается экспрессия Klotho в ткани железы [48, 67, 141]. Некоторые исследователи полагают, что параллельное снижение количества рецепторов FGFR1c и Klotho и повышение концентрации кальцийчувствительных рецепторов может быть непосредственно вовлечено в патогенез вторичного гиперпаратиреоза [67, 141].

В свою очередь высокий уровень ПТГ при вторичном гиперпаратиреозе стимулирует выработку FGF-23. В 2014 T. Meir et al опубликовали результаты

исследования на мышах, свидетельствующие о том, что ПТГ осуществляет стимулирующее влияние на транскрипцию FGF-23 через активацию ядерных рецепторов Nurr1 в остеоцитах [82]. Однако пока нет данных, подтверждающих актуальность данного механизма в отношении человека [68].

Нет единого мнения о том, что является пусковым механизмом первоначального повышения уровня FGF-23 в крови, поскольку множество факторов вовлечены в патологические процессы. Повышение может быть объяснено сниженным почечным клиренсом FGF-23, компенсаторным повышением выработки в ответ на повышенную нагрузку фосфором (при снижении экскреции с мочой), повышением секреции в ответ на терапию активными метаболитами витамина D и снижением синтеза в почке Klotho [35].

В последние годы уделяется много внимания ассоциации уровня FGF-23 с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений [17, 45, 83, 85, 96]. В 2014 году опубликованы результаты первого исследования у детей, получающих гемодиализ, которое показало наличие ассоциации высоких концентраций FGF-23 и сывороточного фосфора с кальцификацией коронарных артерий. Особенностью данного исследования является то, что было прослежено не только наличие кальцификации коронарных артерий у детей, но и ее прогрессирование при высоких значениях FGF-23 [118, 119].

Ранее было доказано влияние уровня FGF-23 на развитие гипертрофии миокарда левого желудочка, как еще одного фактора риска сердечно-сосудистых осложнений, это было изучено на экспериментальной животной модели [40]. Однако пока нет доказательств подобного влияния FGF-23 на миокард левого желудочка у людей.

В исследованиях на животных было показано, что снижение активности FGF-23 в крови может замедлить развитие кальцификации сосудов и гипертрофии левого желудочка [59].

По современным рекомендациям по ведению МКБ-ХБП с целью снижения сывороточного уровня фосфора применяются фосфат-биндеры, а также ограничивается потребление фосфора с пищей, причем показанием к началу терапии является развитие вторичного гиперпаратиреоза [7]. Исследование Isakowa T. et al показало, что при ограничении потребления фосфора с пищей, а также применение фосфат-биндеров у больных с ХБП снижает уровень FGF-23 в крови [59].

К сегодняшнему дню по данным литературы продемонстрировано значение фактора роста фибробластов 23 в качестве маркера прогрессирования хронической болезни почек и риска сердечно-сосудистых осложнений. В многочисленных исследованиях доказано повышение уровня FGF-23 по мере снижения СКФ, однако все эти данные получены при изучении животных моделей и взрослых пациентов. Работ, посвященных определению FGF-23 у детей с хронической болезнью почек на сегодняшний день крайне мало.

Важно отметить, что в большинстве работ у взрослых и детей, описанных в настоящем обзоре, исследован общий уровень FGF-23 крови, то есть и полной молекулы, и С-терминального остатка. На сегодняшний день существует два вида коммерческих наборов для иммуноферментного определения фактора роста фибробластов 23: для определения только полной активной молекулы (интактной) FGF-23 (iFGF-23) и С-терминального остатка (обозначается cFGF-23), который позволяет определить уровень С-терминального остатка и полной молекулы [116].

Недостаточно данных об уровне FGF-23 в крови у детей со снижением скорости клубочковой фильтрации и его возможной связи с общепринятыми в практике показателями фосфорно-кальциевого обмена, что требует проведения исследований в данной области.

Так же в литературе мало данных о связи FGF-23 с осложнениями стероидного остеопороза. В единственной доступной работе I. Endo и S.

Fukumoto продемонстрировали низкий уровень FGF-23 у небольшой группы взрослых больных с синдромом Кушинга [38].

Несмотря на наличие множества исследований, доказывающих вовлечение FGF-23 в патогенез фосфатурии при гипофосфатемических рахитах, пока нет исчерпывающих данных об уровне FGF-23 в крови у детей с гипофосфатемическим рахитом. Также нет данных о возможной связи уровня FGF-23 с тяжестью течения гипофосфатемических рахитов. Существует несколько опубликованных работ, в которых измерение FGF-23 в крови рассматривается как потенциальный диагностический маркер Х-сцепленного гипофосфатемического рахита. Следует отметить, что эти исследования проведены у взрослых пациентов, и сравнение уровня FGF-23 проводилось только между больными с ГФР и здоровыми добровольцами, без исследований FGF-23 при других гипофосфатемических состояниях [38, 58]. Нет данных об участии фактора роста фибробластов 23 в развитии минеральных нарушений у детей с фосфортеряющими состояниями в рамках других тубулопатий (как например, синдром де Тони-Дебре-Фанкони).

Таким образом, в литературе нет данных о сравнительном исследовании уровня iFGF-23 в крови у детей с различными нефропатиями, сопровождающимися нарушениями обмена фосфора при несомненной актуальности подобных работ. Данный факт обусловил необходимость проведения настоящей работы.

Глава 2 (Материалы и методы)

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.).

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России.

Все родители пациентов, участвующих в исследовании, подписывали информированное согласие на включение в исследование и обработку персональных данных.

2.1 Объем и дизайн исследования

В исследование было включено 87 детей, у всех был измерен уровень интактного (активного) фактора роста фибробластов 23 в сыворотке крови. Дети были в возрасте от 7 месяцев до 17 лет 10 месяцев. Среди детей, включенных в исследование 56 девочек и 31 мальчик.

Группа сравнения составила 18 здоровых детей в возрасте от 3 лет 3 месяцев до 17 лет 9 месяцев, 12 девочек и 6 мальчиков. У детей в данной группе измерен только уровень фактора роста фибробластов 23. На основании результатов рассчитаны референсные значения, использованные для оценки уровня FGF-23 в других группах.

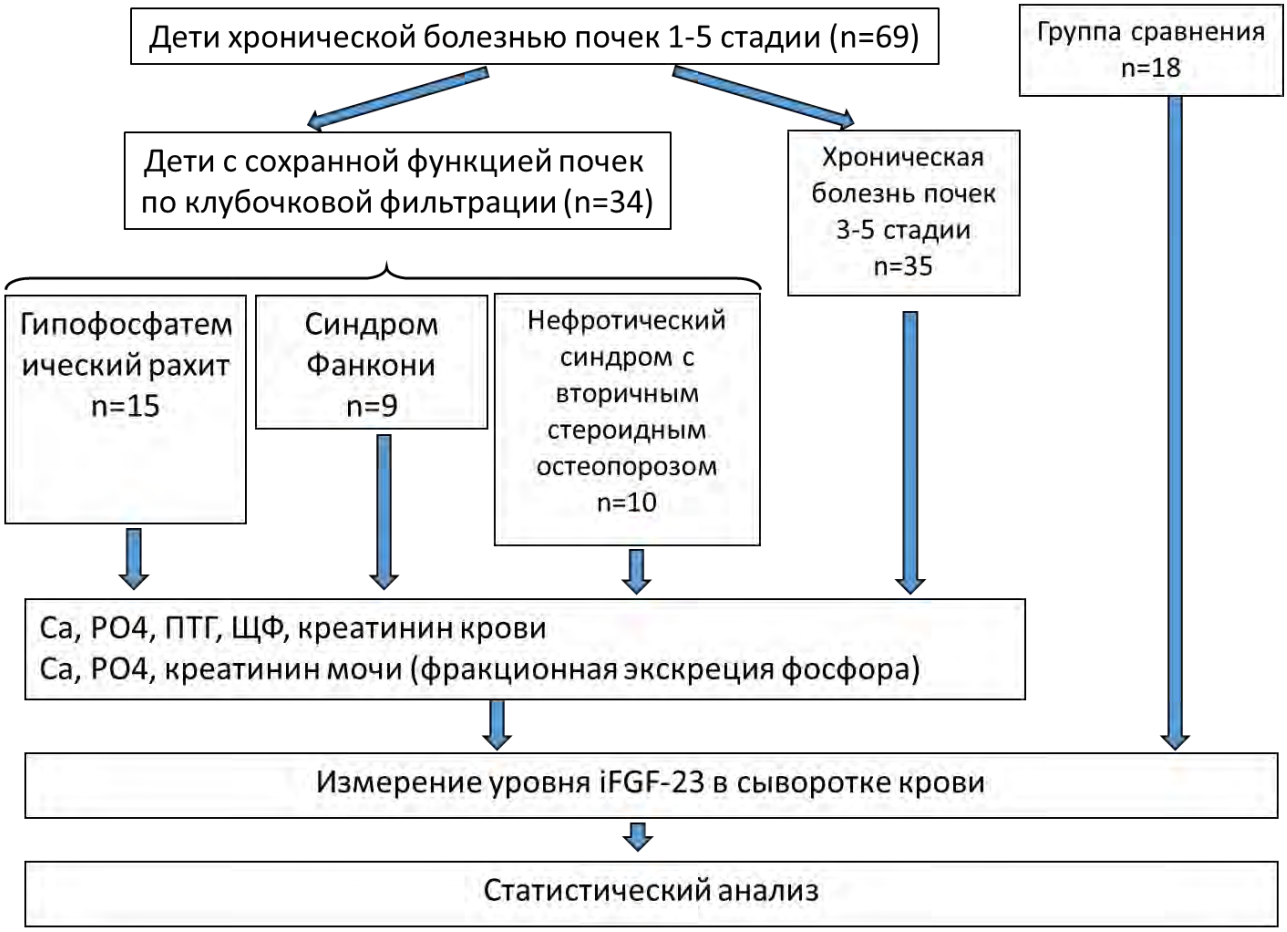


Рисунок 2.1 Дизайн исследования

У детей, страдающих нефропатиями, исследованы биохимические показатели обмена фосфорного обмена: уровень фосфора, кальция, паратгормона и креатинина сыворотки крови. Так же 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. У всех детей измерен уровень креатинина сыворотки и рассчитана скорость клубочковой фильтрации по формуле Шварца [107].

Сформировано 4 группы: Дети с гипофосфатемическим рахитом, дети с синдромом Фанкони, дети с остеопорозом на фоне стероидной терапии и дети с хронической болезнью почек 3-5 стадии.

Распределение по группам производилось в соответствии с клиническим диагнозом и расчетной скоростью клубочковой фильтрации по формуле

Шварца. Данные о распределении по возрасту и полу в группах представлены в **таблице 2.1**.

Таблица 2.1. Распределение детей по полу и возрасту

		ГФР	Синдром Фанкони	ХБП 3-5 ст	Остеопороз	Группа сравнения
n		15	9	35	10	18
Пол	Девочка	15	5	15	8	12
	Мальчик	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
	Стандартное отклонение	3,52	3,63	5,24	2,99	4,26

Группы оказались несопоставимыми по полу и возрасту, что может быть обусловлено малым размером групп вследствие редкости болезней в группах ГФР и синдром Фанкони.

2.1.1 Гипофосфатемический рахит

В группу детей с гипофосфатемическим рахитом вошло 15 девочек в возрасте от 3 лет 9 мес до 17 лет 7 мес (М 10,21±3,52 лет). Диагноз был поставлен на основании клинических данных и сведений о наследственности, у двух девочек диагноз Х-сцепленного гипофосфатемического рахита подтвержден генетически (мутации в гене *PHEX*).

На момент исследования все дети получали терапию фосфатами, 5 пациентов получали фосфатный буфер, и 10 принимали фосфаты в

таблетированной форме (Reducto Spezial™). Длительность заместительной терапии фосфатами составляла от 1 до 114 месяцев (Me 29,0 мес, 6,0; 48,0). Суточная доза препаратов фосфора находилась в пределе от 16,21 до 103,33 мг/кг (M 51,89±24,04 мг/кг).

Так же все исследованные дети получали терапию альфакальцидолом в дозе от 11,6 до 119 нг/кг/сутки (M 49,76±33,32 нг/кг).

Клинически отмечалось отставание в росте, варусные или вальгусные деформации нижних конечностей. Физическое развитие 13 девочек (86,7%) было расценено как низкое в соответствии с оценкой роста стоя, из них 11 имели рост ниже 3 перцентиля. Подробно данные о росте обследованных детей представлены на **рисунке 2.2.** У трех из 15 девочек отмечались жалобы на боли в костях. 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 (среднее 6 лет 10 мес., стандартное отклонение 2,63 года). У 10 из 11 оперированных девочек имели отмечались рецидивы деформаций. У 2 детей наблюдалась выраженная положительная динамика деформаций нижних конечностей 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.

Всем детям до включения в исследование проводилась рентгенография кистей с оценкой костного возраста. У 10 (66,7%) девочек костный возраст соответствовал календарному, у 5 (33,3) — отставал более, чем на 2 года. Рентгеновская денситометрия поясничного отдела позвоночника проведена у 14 детей и оценена по Z-score в пересчете на костный возраст. Остеопения (Z-score < -2,0) отмечена только в 1 случае.

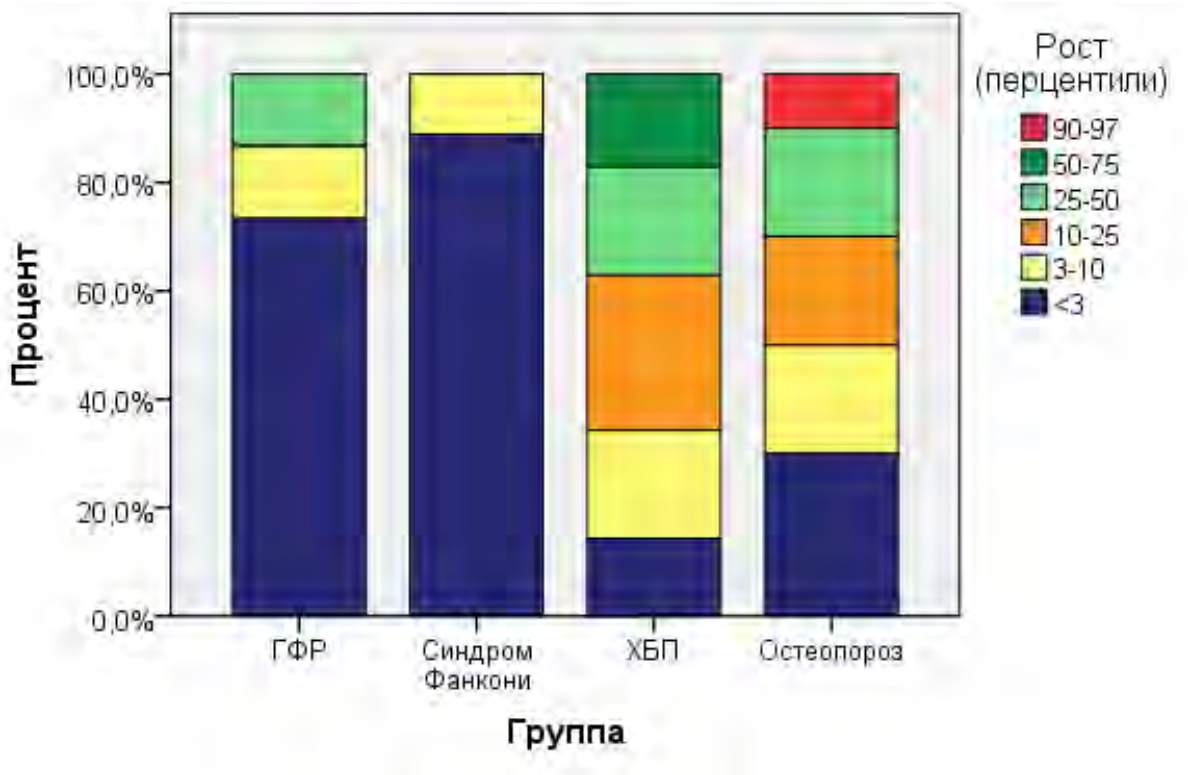


Рисунок 2.2. Показатели физического развития обследованных детей.

2.1.2 Синдром Фанкони

В исследование включено 9 детей с синдромом Фанкони в возрасте от 1 года 4 месяцев до 11 лет 11 месяцев (M 9,31±3,63 лет), среди них 5 девочек и 4 мальчика.

В группу включено 7 детей с диагнозом нефропатический цистиноз (все дети имели молекулярно-генетическое подтверждение), 1 ребенок с синдромом Лоу и 1 ребенок с синдромом Фанкони в рамках длительно не леченого дистального ренального тубулярного ацидоза.

Все дети на момент включения в исследование получали терапию фосфатами, 6 пациентов получали фосфатный буфер, и 3 принимали фосфаты в таблетированной форме (Reducto Spezial™). Длительность заместительной терапии фосфатами составляла от 1 до 60 месяцев (Me 16,0, 6,0: 29,0). Суточная

доза препаратов фосфора в пересчете на килограмм веса находилась в пределе от 13,40 до 95,23 мг/кг (M 50,08±28,50 мг/кг).

Физическое развитие всех 9 детей расценено как низкое, из них 8 имели рост стоя ниже 3 перцентиля. По данным рентгенографии кистей у 7 костный возраст соответствовал календарному, у 2 — отставал более, чем на 2 года. Рентгеновская денситометрия с оценкой Z-score не проведена у 6 детей в связи с отсутствием референсных значений для детей младше 5 лет. Из 3 исследованных детей у 1 отмечалась остеопения (Z-score -4,5), у двоих выявлена нормальная минеральная плотность костной ткани (Z-score -0,8 и -0,9).

2.1.3 Хроническая болезнь почек 3-5 стадии

Включено 35 детей с хронической болезнью почек 3-5 стадии, среди них 16 девочек и 19 мальчиков в возрасте от 7 месяцев до 17 лет 11 месяцев (M 9,31± 5,24 лет). Среди исследованных детей 18 были в додиализных стадиях 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.), данные представлены в **таблице 2.2**.

Таблица 2.2 Характеристика больных в группе "ХБП" (n=35)

СКФ по формуле Шварца (мл/мин)	Минимум	4
	Максимум	56
	Среднее	22
	Стандартное отклонение	15
Стадия ХБП	3	10
	4	9
	5	16
Диализ	Всего ЗПТ	16
	ПД	7
	ГД	9

Причиной развития почечной недостаточности у детей являлись гломерулярные болезни (преимущественно Фокально-сегментарный гломерулосклероз), врожденные аномалии мочевыделительной системы (CACUT от англ. Congenital Abnormalities of Kidney and Urinary Tract), перенесенный гемолитико-уремический синдром, кистозные заболевания почек (аутосомно-рецессивный и аутосомно-доминантный поликистоз почек). В раздел «другие» отнесен один ребенок с почечной недостаточностью в рамках прогрессирования нефропатического цистиноза и один ребенок, оперированный по поводу злокачественного новообразования почки. Распределение больных по диагнозам, приведшим к прогрессированию ХБП представлены на диаграмме **(рисунок 2.3)**.

Физическое развитие у 22 (62,9%) детей было расценено как низкое и ниже среднего, из них 7 имели рост 3-10 перцентиль, и 5 — ниже 3 перцентиля. Рентгенография кистей до включения в исследование было проведено у 10 больных, у 7 из них костный возраст соответствовал календарному, у 3 — отставал более, чем на 2 года. Рентгеновская денситометрия поясничного отдела позвоночника проведена у 7 пациентов, остеопения (Z-score < -2,0) выявлена у 2 пациентов.

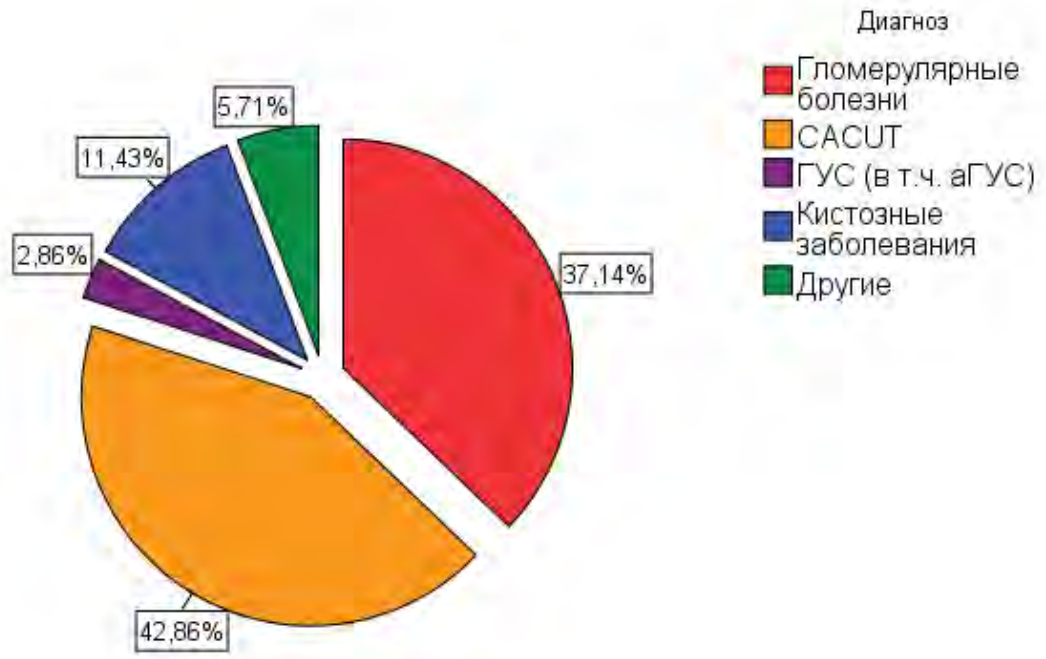


Рисунок 2.3. Диаграмма распределения больных по причинам развития ХБП.

2.1.4 Дети с нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом

В группу детей с нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом включено 10 детей (8 девочек и 2 мальчика) в возрасте от 8 лет 8 месяцев до 17 лет (M 11,79±2,99 лет). Охвачены дети, страдающие нефротическим синдромом, стероидзависимым и стероидрезистентным вариантом, 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 пероральной 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.

Критериями включения послужило снижение минеральной плотности костной ткани по данным рентгеновской остеоденситометрии поясничного отдела позвоночника и/или наличие компрессионных переломов тел позвонков. У всех включенных детей отмечались в анамнезе переломы тел позвонков (от 1 до 5, среднее 3, стандартное отклонение 2). Критерий Z-score находился в пределах от -3,5 до -1,0 (среднее -2,3 стандартное отклонение 0,8). Остеопения по данным денситометрии отмечена 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±8,35).

Отставание в физическом развитии зафиксировано у 7 детей, из них у 2 рост находился в пределах 10-25 перцентиля, у 2 — 3-10 перцентиля и 3 — ниже 3 перцентиля.

2.2 Методы исследования

Всем детям проводились клинико-лабораторное и функциональное обследование, общепринятое при исследовании минерального обмена в рутинной практике:

1. Сбор анамнестических данных. На начальном этапе проводилась тщательная оценка жалоб, сбор анамнеза заболевания и физикальное обследование ребенка с оценкой физического развития. При сборе анамнеза обращали внимание на наследственность, особенности раннего развития ребенка, сопутствующие заболевания, продолжительность заболевания, возраст диагностики врожденных заболеваний, эффективность проводимого раннее лечения, в том числе оперативного лечения деформаций конечностей.

2. Забор крови производился из периферической вены с помощью одноразовых вакуумных систем. Все показатели, за исключением iFGF-23, были исследованы в течение первых суток от момента забора. После

центрифугирования крови на аппарате Hettich Rotanta 460 (Германия) часть сыворотки отбиралась и замораживалась для последующего измерения iFGF-23. Образцы сыворотки хранились при температуре -70 С° в кельвинаторе Snijders scientific (Нидерланды).

3. В крови и моче определяли креатинин энзиматическим методом, фосфор - фосфо-молибдатным фотометрическим методом, кальций - ионоселективным методом непрямой потенциометрии, общую щелочную фосфатазу крови — фотометрическим методом на приборе Beckman Coulter UniCel Dx 800 (США).

4. Паратиреоидный гормон крови — иммуноферментным хемилюминисцентным методом на аппарате Abbott Architect i1000 SR (США).

5. Кальций-креатининовый коэффициент, фосфорно-креатининовый коэффициент, оценивались согласно нормативам, приведенным в **таблице 2.3**.

Фракционная экскреция фосфора рассчитывалась по стандартной формуле:

$$ФЭ_{PO4} = \frac{PO4_u \cdot Cr_p}{PO4_p \cdot Cr_u}$$

где $PO4_u$ – концентрация фосфата в моче, Cr_u - концентрация креатинина в моче, $PO4_p$ — концентрация фосфата в плазме крови, Cr_p — концентрация креатинина в плазме крови. Верхней границей референсных значений принято 15% [78]. Фактически значение фракционной экскреции вещества означает отношение потери вещества с мочой к количеству профильтровавшегося вещества, выраженное в процентах.

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). Оценка оптической плотности образцов производилась на микропланшетном ридере «Tecan Infinite 200 pro» (Швейцария) с использованием программного обеспечения «Tecan Magelan 6» (Швейцария). Тип анализа для интерпретации и стандартизации полученных данных– Мак-кварт.

Таблица 2.3. Экскреция солей в разовой порции мочи по отношению к экскреции креатинина и фракционная экскреция у здоровых детей [5, 33, 78]

Возраст	**6–12 мес.**	**1-3 лет**	**3-5 лет**	**5–7 лет**	**7-10 лет**	**10-14 лет**	**14–17 лет**
кальций/креатинин ммоль/ммоль	0,10-2,2	0,07-1,4	0,06-1,1	0,04-0,8	0,04-0,7	0,04-0,6	0,04-0,6
фосфор/креатинин ммоль/ммоль	1,4-18	1,2-12	1,2-8	1,2-5,0	1,2-3,6	0,8-3,2	0,8-2,7
Фракционная экскреция фосфата	<15%						

Принцип метода ELISA основан на качественном и количественном определении искомого антигена посредством его последовательного связывания ("сэндвич") со специфичными к нему антителами.

Стандарты и изучаемые образцы добавлялись к антителам, фиксированным в лунках 96-ти луночного планшета. После первой инкубации и аспирации содержимого в лунках непрореагировавшие компоненты удалялись промыванием с буферным раствором. Затем, на иммобилизованный комплекс АТ-АГ последовательно наслаивался моноклональные антитела к определяемому антигену (Human FGF-23 Standards), поликлональные антитела с энзимом к моноклональной порции "сэндвича" («Detection Antibody»).

Инкубация и отмывание "лишних" антител повторяются. После этого в лунки вносится субстратный раствор (тетраметилбензидин), который прореагировав с энзимом, дает характерное окрашивание. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации iFGF-23 в изучаемом образце. Количественно окрашивание оценивается по оптической плотности образцов с помощью микропланшетного ридера. На основании оптической плотности стандартов строится калибровочная кривая, по которой определяется концентрация iFGF-23 в исследуемых образцах.

2.3 Статистическая обработка результатов

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. Количественные показатели с нормальным распределением представлены в виде средних величин и стандартных квадратических отклонений: M±σ. Количественные показатели с распределением отличным от нормального представлены в виде медиан и интерквантильных размахов: Me (25-й; 75-й процентиль). 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≤0,001 – равной 99,9%.

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

3.1 Характеристика больных с хронической болезнью почек 3-5 стадии с использованием общепринятых биохимических маркеров минерального обмена

С целью выявления нарушений минерального обмена у детей с ХБП 3-5 проведено исследование биохимических показателей, общепринято исследуемых при нарушениях обмена кальция и фосфора. Уровни биохимических показателей оценены в соответствии с возрастными нормативами для детей. Полученные нами данные позволили оценить наличие грубых нарушений минерального обмена, таких как гипокальциемия, гиперфосфатемия, гиперпаратиреоз, характерные для ХБП поздних стадий. В дальнейшем у детей измерен уровень iFGF-23 крови и проведен анализ данного показателя в соотношении с стадией ХБП и наличием других нарушений минерального обмена.

Результаты общепринятых биохимических показателей минерального обмена у детей с ХБП 3-5 стадии представлены в **таблице 3.1**.

3.1.1 Уровень фосфора крови (n=34)

У обследованных детей отмечена большая вариабельность уровня фосфора сыворотки (0,83-4,34 ммоль/л). Распределение не отличалось от нормального. Средний уровень составил 1,9 ± 0,69 ммоль/л. При анализе уровня фосфора крови относительно референсных значений [27] для каждого обследованного больного, гипофосфатемия констатирована у 1 ребенка (2.9%) с ХБП 3-5 стадии. Следует отметить, что пациент с гипофосфатемией находится на программном гемодиализе, и забор крови осуществлен после очередного

сеанса. Гиперфосфатемия зафиксирована у 14 (41,2%) детей: у 1 ребенка с ХБП 3, у 4 детей с ХБП 4 ст. и у 9 детей с ХБП 5 ст. Среди детей с ХБП 15 (42,86%) получали на момент включения фосфат-биндеры, в том числе ребенок с зафиксированной по нашим данным гипофосфатемией.

Таблица 3.1. Показатели минерального обмена при ХБП 3-5 стадии		
Фосфор сыворотки (ммоль/л)	n Мин-макс M±σ	34 0,83-4,34 1,90±0,69
Ca (ммоль/л)	n Мин-макс M±σ Ст.откл	35 1,99-2,9 2,30 0,21
ЩФ ЕД/л	n Мин-макс M±σ	34 38-712 241±149
ПТГ пг/мл	n Мин-макс Me (25; 75)	35 4,19-2500 206,7 (116,0; 422,0)
ФЭ PO4 (%)	n Мин-макс Me (25; 75)	10 11,1-68,6 15,9 (11,4; 24,6)

3.1.2 Уровень кальция крови (n=35)

Распределение уровня кальция в группе не отличалось от нормального. Средний уровень общего кальция сыворотки составил 2,3 ± 0,21 ммоль/л, минимум 1,99 ммоль/л, максимум 2,9 ммоль/л.

Анализ уровня кальция относительно референсных значений для каждого пациента выявил гипокальциемию у 6 (17,14 %) детей с ХБП 3-5 стадии: у 1 ребенка с ХБП 3 ст (2,0 ммоль/л), у двоих с ХБП 4 ст (2,06-2,08 ммоль/л) и у 3 детей с ХБП 5 стадии (2,0 ммоль/л).

3.1.3 Уровень общей щелочной фосфатазы крови (n=34)

Распределение уровня ЩФ не отличалось от нормального. При ХБП 3-5 стадии фиксировался уровень ЩФ от 38 до 712 ЕД/л, (М 241,09±148,54 ЕД/л). Низкий уровень щелочной фосфатазы крови относительно возрастных

нормативов зафиксирован у 5 детей (14,3%) с ХБП 3-5 стадии. Следует отметить, что все дети с низким уровнем ЩФ крови находились в додиализной стадии ХБП (3 ребенка в 3 стадии ХБП и 2 ребенка – в 4 стадии). Высокий уровень щелочной фосфатазы констатирован у 4 детей (11,8%) с ХБП, при этом все дети находились в 5 стадии ХБП, 2 из них получали ГД и 2 ПД. Связи уровня ЩФ крови с показателями физического развития детей не выявлено.

3.1.4 Уровень паратиреоидного гормона крови (n=35)

Паратгормон крови находился в пределах от 4,19 пг/мл до 2500 пг/мл (Me 206,7, 116,0; 422,0 пг/мл). Распределение отличалось от нормального, поэтому при дальнейшем анализе уровня ПТГ использовались непараметрические методы статистики.

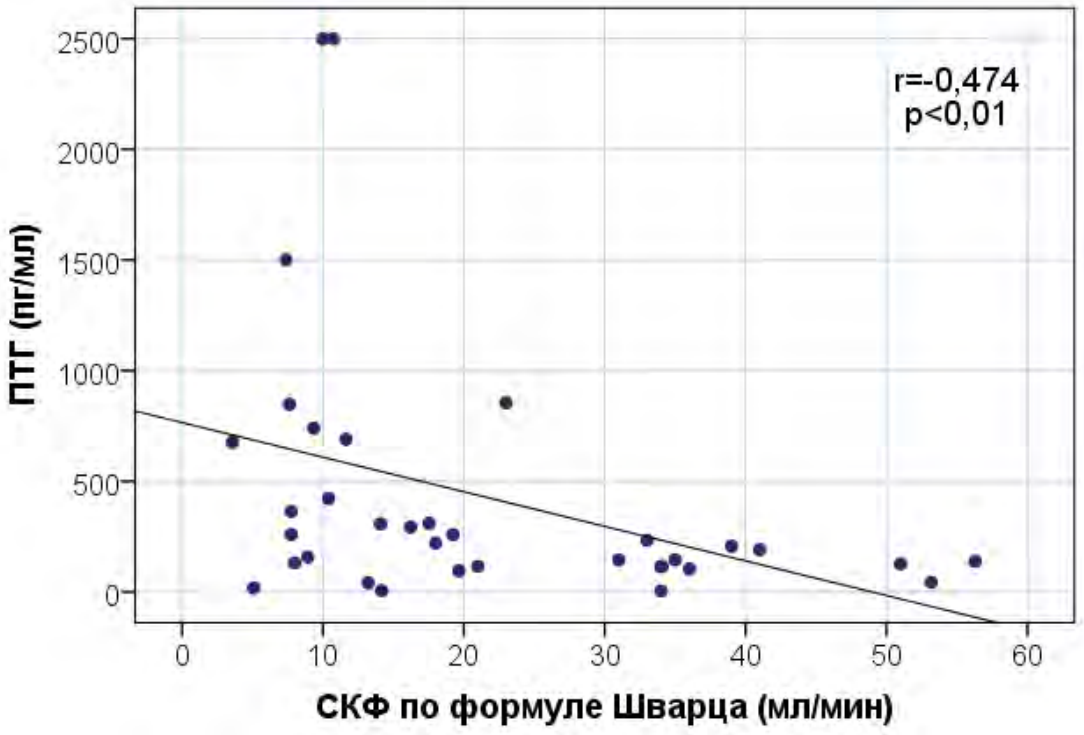


Рисунок 3.1. Диаграмма рассеяния уровня ПТГ крови и СКФ по формуле Шварца. Указан коэффициент корреляции Спирмена при p<0,01.

При ХБП 3-5 стадии низкий уровень ПТГ отмечен у 2 детей (5,7%), нормальный — у 3 (8,6%), высокий — у 30 (85,7%). У 20 детей (47,1%) ПТГ

находился в пределах 66-325 пг/мл. Отмечена слабая отрицательная корреляционная связь уровня ПТГ крови с расчетной СКФ по формуле Шварца (r=-0,474, p <0,01) (**рисунок 3.1**).

3.1.5 Фракционная экскреция фосфора при ХБП 3-5 стадии (n=10)

ФЭ измерена у 10 из 35 больных в группе ХБП, при этом все дети имели 3 или 4 стадию ХБП. Данная особенность обусловлена наличием анурии и невозможностью измерения ФЭ у детей с ХБП 5 стадии. У детей с ХБП зафиксированы как высокие, так и низкие значения ФЭ фосфора в пределах от 11,1% до 68,6% (Me 15,9, 11,4; 24,6%). Распределение ФЭ отличалось от нормального. Фосфатурия (ФЭ >15%) зафиксирована у 6 детей (60% n=10) с ХБП 3-5 стадии.

3.1.6 Соотношение кальций/креатинин во второй утренней порции мочи (n=10)

Уровень кальциурии по соотношению кальция и креатинина во второй утренней порции мочи измерена у 10 из 35 детей. Показатель кальций/креатинин находился в пределах от 0,03 до 0,58 ммоль/ммоль. Для всех обследованных детей с ХБП 3-5 стадии экскреция кальция с мочой находилась в пределах референсных значений. В связи с большим разбросом возрастных нормативов, анализ кальциурии как количественного показателя не проводился.

3.2 Уровень iFGF-23 в крови у детей в группе сравнения

При обработке результатов исследования iFGF-23 из статистического анализа были исключены значения iFGF-23 ниже 5 пг/мл, что являлось границей определения для данного набора.

В группе сравнения у 6 (33,33%) из 18 обследованных уровень оказался ниже границы определения, у остальных (n=12) находился в пределах от 5,91 до 54,37 (M 22,92±20,11 пг/мл). За верхнюю границу нормальных значений принята граница 95 процентиля — 54,3 пг/мл. Данные представлены в **таблице 3.2.**

Таблица 3.2. Уровень iFGF-23 в группе сравнения (пг/мл)	
n	12
Среднее	22,92
Ст. откл.	20,11
Медиана	8,70
Минимум	5,91
Максимум	54,37
25 процентиль	6,76
75 процентиль	45,19

3.3 Уровень iFGF-23 в крови у детей с ХБП 3-5 стадии

У больных с ХБП 3-5 стадии уровень iFGF-23 находился в пределе от 20,15 до 1153,96 пг/мл (М 613,71 ± 1016,60 пг/мл.

Ни у одного из обследованных детей в данной группе уровень iFGF-23 не был ниже границы определения (5 пг/мл). Нормальный уровень iFGF-23 выявлен у 2 (5,7%) детей, у остальных 33 (94,3%) выявлен высокий iFGF-23. Уровень iFGF-23, не превышающий референсных значений, выявлен только у 2 (20%) детей с ХБП 3 стадии, причем у обоих детей расчетная СКФ по формуле Шварца превышала 50 мл/мин.

При сравнении средних отмечено достоверное отличие в уровне iFGF-23 от группы сравнения ($p \leq 0,001$) (**рис 3.2**).

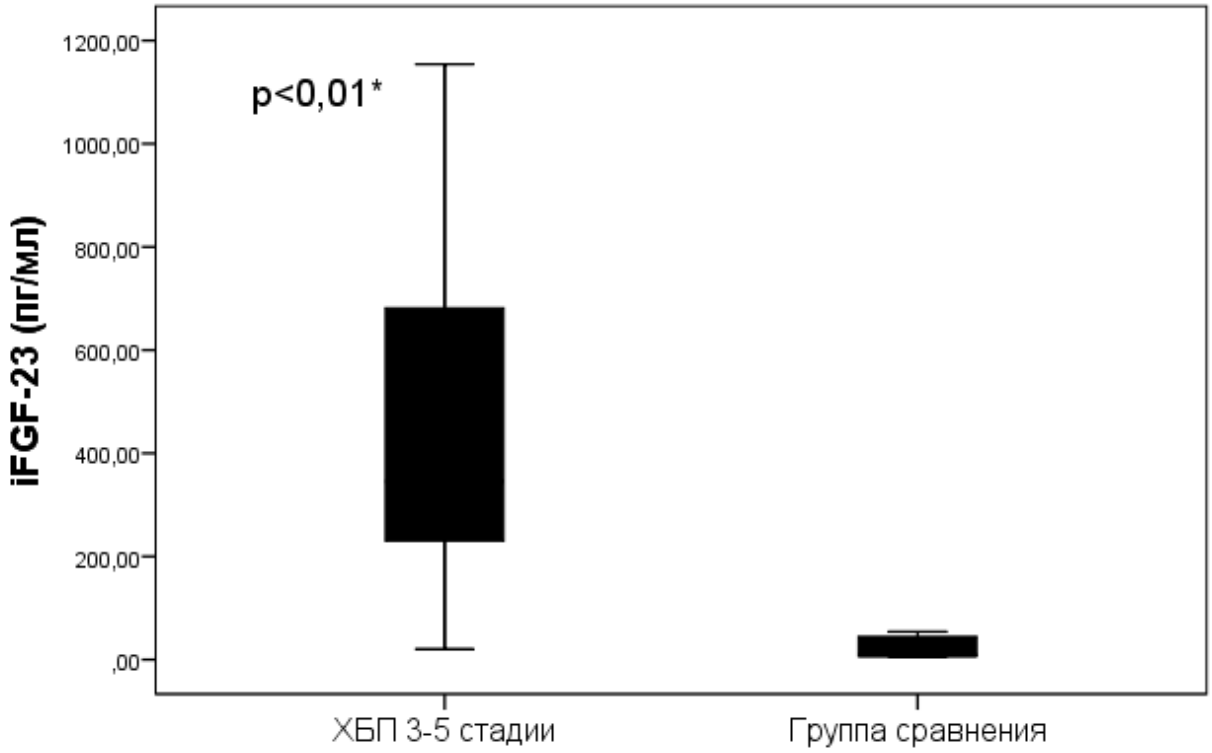


Рисунок 3.2. Уровень iFGF-23 у детей со сниженной СКФ и в группе сравнения

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

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 3.3**).

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. Причиной развития ХБП в обоих случаях являлись негломерулярные болезни: в одном случае ХБП являлась следствием перенесенного ГУС, во втором — врожденная аномалия мочевыделительной системы.

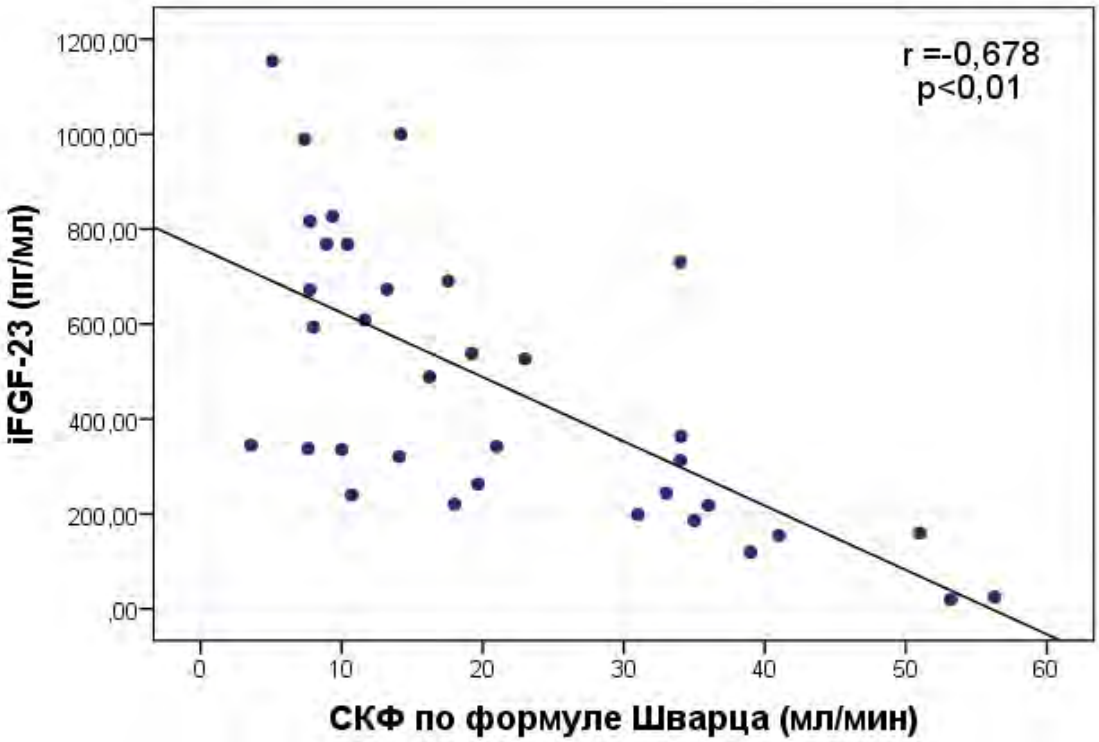


Рисунок 3.3. Диаграмма рассеяния iFGF-23 и СКФ по формуле Шварца при ХБП 3-5 стадии. Указан коэффициент корреляции Спирмена при уровне значимости p<0,01.

Проведен анализ уровня iFGF-23 при разных стадиях ХБП. Наименьший уровень iFGF-23 выявлен при ХБП 3 стадии 163,77 ± 91,33 пг/мл. При ХБП 4 стадии средний уровень iFGF-23 составил 453,24 ± 189,04 пг/мл. При ХБП 5 стадии выявлен наиболее высокий уровень iFGF-23 646,21 ± 269,55 пг/мл (**таблица 3.2).**

Значения iFGF-23 ниже 54 пг/мл (не превышающие границу 95 перцентиля группы сравнения) зафиксированы у 2 детей (20%) с ХБП 3 стадии. Сравнение среднего уровня iFGF-23 у детей с ХБП 3 стадии и в группе сравнения, выявило достоверные отличия (p<0,01) (рисунок **3.4**). Учитывая малый размер групп, дополнительно сравнены медианы для данных групп. Медианы в группе ХБП 3 стадии (172,81 пг/мл) и в группе сравнения также показало значимое различие (p=0,005).

Таблица 3.3. 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
σ	91,33	189,04	269,55	283,11	274,17
Медиана	**172,81**	**426,37***	**672,00**ǂ**	672,54	608,50
25 процентиль	95,98	282,84	341,20	387,53	340,30
75 процентиль	224,52	649,60	821,50	768,23	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

ǂ – p≤0,001 в сравнении с ХБП 3 стадии

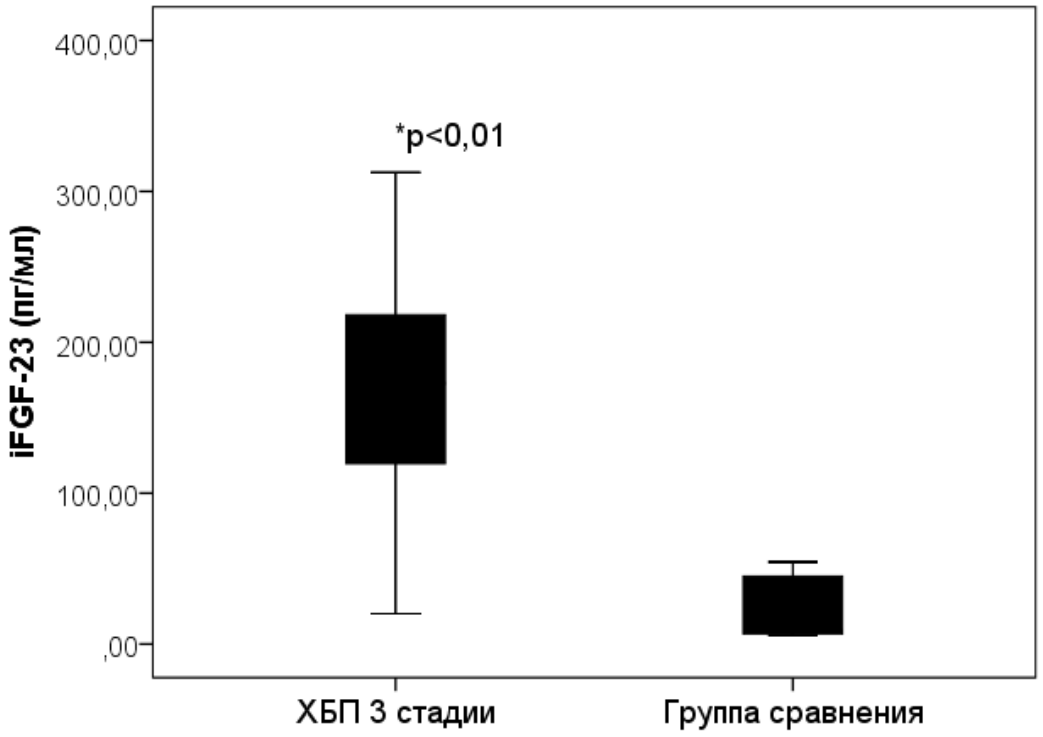


Рисунок 3.4. Уровень iFGF-23 при ХБП 3 стадии и в группе сравнения

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

Выявлены значимые различия в уровне iFGF-23 у детей с разными стадиями ХБП. Так средний уровень iFGF-23 в группе ХБП 4 и ХБП 5 был достоверно выше, чем при ХБП 3 p<0,01 (**рисунок 3.5**).

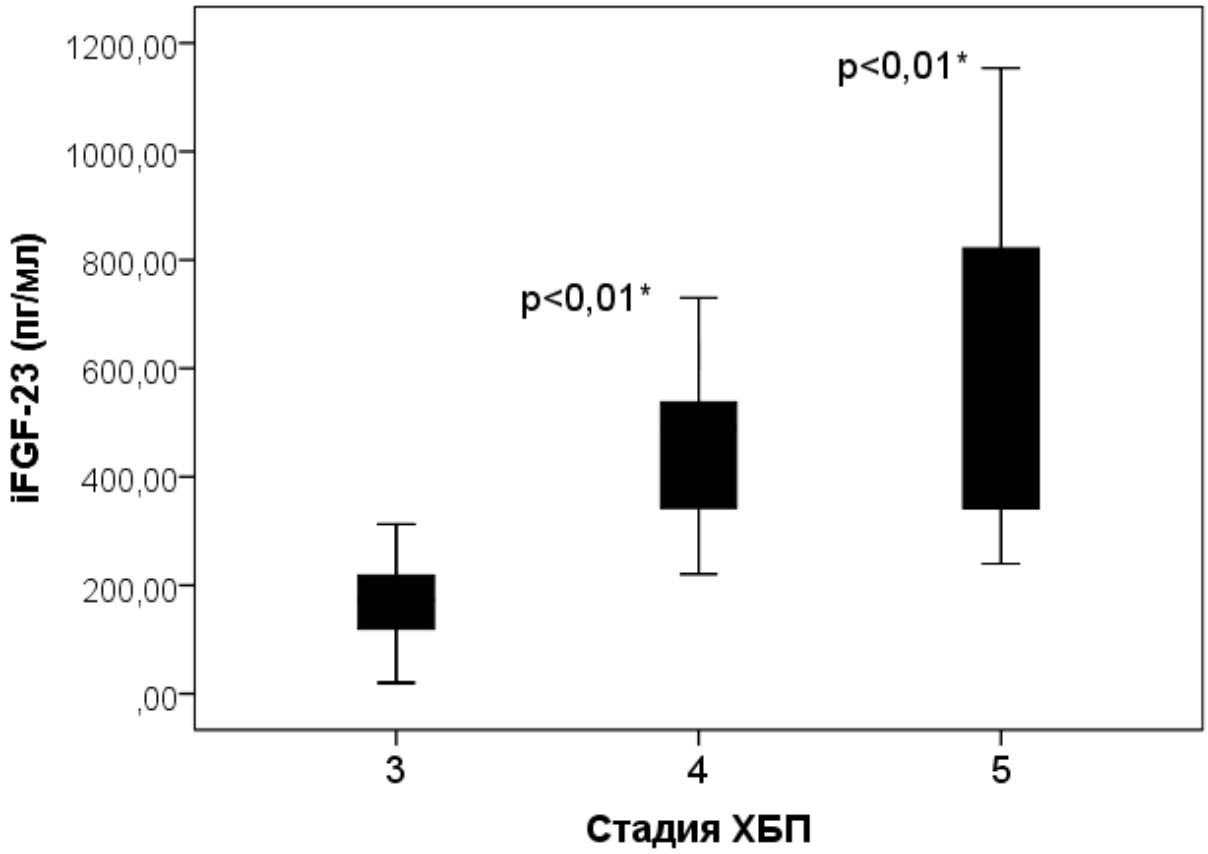


Рисунок 3.5. Уровень iFGF-23 при разных стадиях ХБП

** отличие от ХБП 3 стадии p <0,01*

Достоверных отличий в уровне iFGF-23 между 4 и 5 стадиями ХБП не получено.

Учитывая малое количество больных в группах, дополнительно проведен дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, который показал значимое различие в уровне iFGF-23 при ХБП разной стадии (p≤0,001). Попарное сравнение медиан так же показало отличие уровня iFGF-23 при 3 стадии ХБП от 4 стадии

(p<0,05) и 5 стадии (p≤0,001). Значимых отличий между 4 (Me 426,37 пг/мл) и 5 (Me 672,00 пг/мл) стадиями ХБП не выявлено (p=0,34).

Сравнение средних не выявило достоверных отличий в уровне iFGF-23 между детьми, получающими разные виды ЗПТ: при ГД и ПД (p>0,97). Сравнение медиан для детей на ПД и ГД так же не показал значимых различий (p=0,85).

Проведен корреляционный анализ исследованных показателей минерального обмена и уровня iFGF-23 крови. Значимых корреляций не выявлено ни при анализе группы ХБП, ни при анализе по подгруппам.

Проанализировано наличие у детей высокого уровня iFGF-23, ПТГ, и гиперфосфатемии. Данные представлены в таблицах сопряженности (**Таблицы 3.4 и 3.5**)

Таблица 3.4 Таблица сопряженности изменения уровня iFGF-23 и гиперфосфатемии

		Уровень фосфора крови		Итого
		Нормальный	Гиперфосфатемия	
iFGF-23	≤ 54,37 пг/мл	2	0	2
	Высокий	18	14	32
Итого		20	14	34

Таблица 3.5 Таблица сопряженности изменения уровня iFGF-23 и гиперпаратиреоза

		Уровень ПТГ крови		Итого
		≤ 65 пг/мл	≥66 пг/мл	
iFGF-23	≤ 54,37 пг/мл	2	0	2
	Высокий	4	29	33
Итого		6	29	35

Выявлено несколько детей с высоким уровнем iFGF-23 крови, однако еще не имеющих гиперфосфатемии или гиперпаратиреоза. Во всех наблюдениях в нашей работе повышение уровня iFGF-23 крови предшествовало гиперпаратиреозу и гиперфосфатемии.

Таким образом, у детей с хронической болезнью почек 3-5 стадии выявлены значимые отклонения показателей минерального обмена в виде гиперфосфатемии у 41,2% детей, гипокальциемии у 17,14% детей, гиперпаратиреоза у 85,7% детей. При этом наиболее тяжелые нарушения выявлены у детей с ХБП 4 и 5 стадии. Выявлено, что для детей с ХБП 3-5 стадии характерно повышение уровня iFGF-23, причем отмечена достоверная отрицательная корреляция между уровнем iFGF-23 крови и расчетной скоростью клубочковой фильтрации. Кроме того, нам удалось продемонстрировать, что повышение уровня iFGF-23 крови у детей предшествует появлению таких тяжелых проявлений МКБ-ХБП как гиперфосфатемия и гиперпаратиреоз.

Полученные нами данные свидетельствуют о целесообразности применения iFGF-23 в качестве раннего маркера минеральных нарушений при хронической болезни почек у детей.

Глава 4 Показатели минерального обмена при нефропатиях с сохранной функцией почек у детей

В настоящей главе рассмотрено состояние минерального обмена у детей с нефропатиями с сохранной функцией почек по клубочковой фильтрации. Описано состояние минерального обмена при таких заболеваниях как гипофосфатемический рахит, синдром Фанкони и нефротический синдром с вторичным стероидным остеопорозом. У детей исследован уровень iFGF-23 крови и соотнесен с общепринятыми биохимическими маркерами нарушения фосфорного обмена при данной патологии. Основной целью было поставлено выявление роли iFGF-23 в развитии минеральных нарушений при данных состояниях.

4.1 Биохимическая характеристика обследованных больных

У детей с гипофосфатемическим рахитом, синдромом Фанкони, а также нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом исследованы общепринятые биохимические показатели, характеризующие минеральный обмен, такие как уровень фосфора, кальция, общей щелочной фосфатазы, паратиреоидного гормона, а также исследован уровень креатинина и фосфора во второй утренней порции мочи с расчетом фракционной экскреции фосфора. Данные биохимических маркеров минерального обмена в группах представлены в **таблице 4.1**.

4.1.1. Уровень фосфора крови

В группах детей с гипофосфатемическим рахитом и синдромом Фанкони получены низкие значения уровня фосфора крови 0,92±0,12 ммоль/л и 0,82±0,2 ммоль/л соответственно и не имели достоверных отличий между собой.

При анализе уровня фосфора крови относительно референсных значений [27] для каждого обследованного больного, гипофосфатемия отмечена у 13 больных (86,7%) с ГФР, 4 больных (44,4%) с синдромом Фанкони. На момент взятия образцов крови все дети в группах ГФР и синдром Фанкони получали заместительную терапию фосфатами. Гиперфосфатемия не зафиксирована ни у одного из обследованных больных. У всех детей с остеопорозом фосфор крови находился в пределах референсных значений. Проведен корреляционный анализ уровня фосфора крови с дозой потребляемого фосфора (выраженного в мг/кг массы тела), который не выявил достоверной связи ($p>0,18$) ни у детей с ГФР, ни с синдромом Фанкони.

4.1.2 Уровень общего кальция крови

Уровень общего кальция крови не имел достоверных отличий при сравнении групп. Гипокальциемия зафиксирована у 1 ребенка с ГФР (1,74 ммоль/л), у 1 ребенка с синдромом Фанкони (1,98 ммоль/л) и у 1 ребенка с остеопорозом (1,95 ммоль/л).

4.1.3 Уровень общей щелочной фосфатазы крови

Уровень ЩФ крови измерен у 68 пациентов. Средний уровень 275,53 ± 171,63 ЕД/л. Распределение во всех группах не отличалось от нормального, поэтому при анализе уровня ЩФ использованы параметрические методы статистики. В группе ГФР уровень ЩФ находился в пределах от 80 до 575 ЕД/л (среднее 381,07 ± 128,51 ЕД/л). В группе детей с синдромом Фанкони выявлен уровень ЩФ от 239 до 727 ЕД/л (среднее 433,89 ± 54,94 ЕД/л). В группе детей нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом зафиксирован наименьший уровень ЩФ: от 31 до 197 ЕД/л (средний 91,8 ± 53,97 ЕД/л). Низкий уровень щелочной фосфатазы крови относительно возрастных нормативов зафиксирован у 5 детей (50%) с вторичным стероидным остеопорозом. Высокий уровень щелочной фосфатазы установлен у 5 детей (33,3%) с ГФР и 5 детей (55,6%) с синдромом Фанкони. Наиболее

низкое значение ЩФ в группе ГФР (80 ЕД/л) соответствует возрастным нормативам (зафиксирован у девочки 17 лет 7 месяцев).

Таблица 4.1. 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
	Среднее	0,92	0,82	1,90 */**	1,41
	σ	0,12	0,2	0,69	0,20
Ca (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
	Среднее	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
	Среднее	381 ***/ǂ	434 ***/ǂ	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
	Me	64,0 ǂǂ	133,3	206,7	18,2 ǂǂ
	25-75й процентиль	54,7-110,8	31,1-241,6	116,0-422,0	10,1-51,0
ФЭ PO4 (%)	n	15	9	10	10
	Мин-макс	17,5-62,4	29,8-90,4	11,1-68,6	2,7-16,0
	Me	26,1 ǂ	45,3 ǂ/***	15,9	5,6
	25-75 й процентиль	20,4-30,2	39,5-58,4	11,4-24,6	4,4-9,04

Ca – 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
ǂ - p<0,01 в сравнении с остеопорозом
ǂǂ - p<0,01 в сравнении с ХБП

Проведен однофакторный дисперсионный анализ уровня ЩФ сыворотки в разных группах, значимых различий дисперсии не выявлено (p=0,154). Поскольку распределение соответствовало нормальному, средний уровень ЩФ во всех исследованных группах сравнен попарно с помощью теста Стьюдента. Установлена достоверная разница в уровне общей щелочной фосфатазы крови между группами (**рисунок 4.1**). Уровень ЩФ крови при остеопорозе был ниже, чем при ГФР (p<0,01), синдроме Фанкони (p<0,01) и ХБП 3-5 стадии (p<0,05). В то же время уровень ЩФ при ГФР и синдроме Фанкони был достоверно выше, чем при ХБП 3-5 стадии (p<0,05).

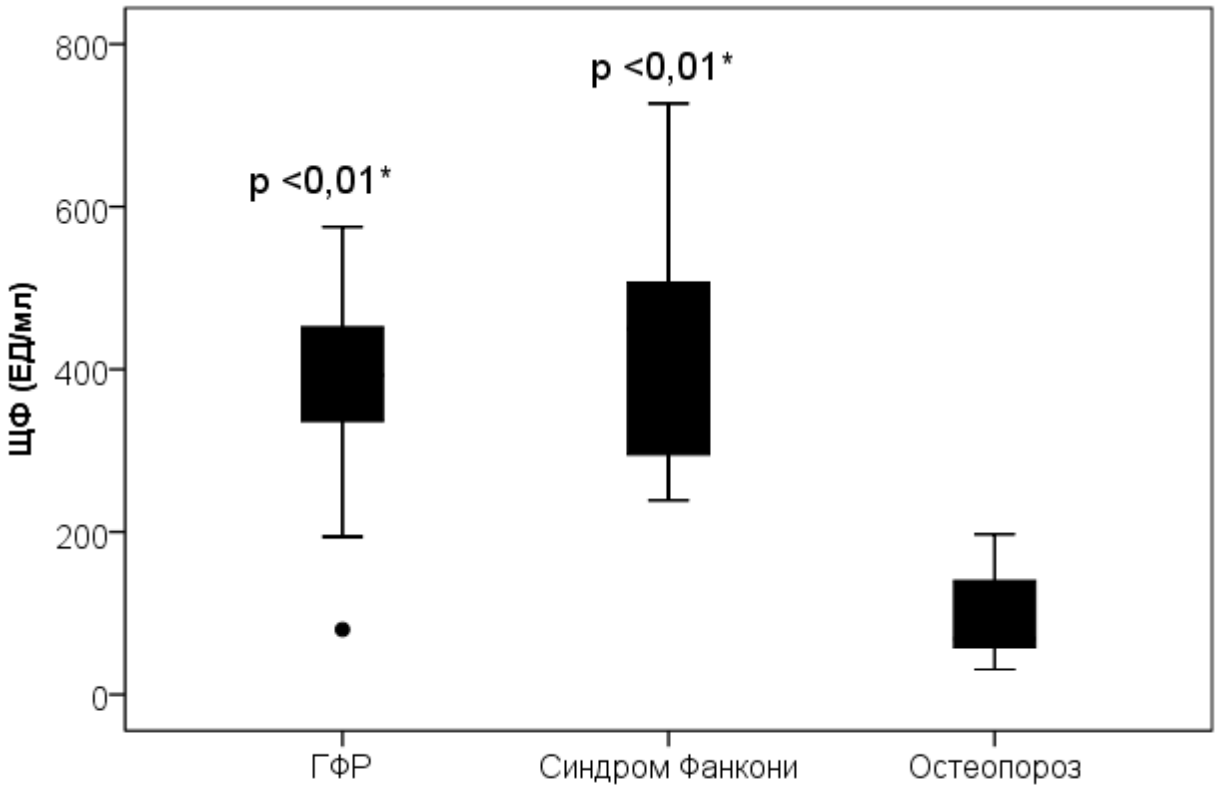


Рисунок 4.1 Уровень ЩФ в крови у детей

** отличие от группы детей с вторичным стероидным остеопорозом*

4.1.4 Уровень паратгормона крови

Уровень ПТГ в группе ГФР у 8 детей (53,3%) находился в пределах референсных значений (10-65 пг/мл), у 5 (33,3%)— в пределах 66-130 пг/мл и у

2 — выше 131 пг/мл (максимальное значение 149,2 пг/мл). При синдроме Фанкони у 1 ребенка выявлен уровень ПТГ ниже референсных значений, у 2 детей в пределах референсных значений и у 4 — выше 65 пг/мл. При стероидном остеопорозе у 2 детей отмечен низкий уровень ПТГ у 4 — нормальный, и у 1 ребенка превышающий референсные значения. Распределение уровня ПТГ в группах отличалось от нормального. Однофакторный дисперсионный анализ показал значимое различие дисперсий. Сравнение медиан показало, что уровень ПТГ при ХБП 3-5 стадии (см главу III) выше, чем при ГФР ($p<0,01$), и остеопорозе ($p<0,05$). Значимых попарных различий медиан в других группах не получено.

4.1.5 Фракционная экскреция фосфора крови

Распределение ФЭ фосфора отличалось от нормального во всех группах, кроме детей с синдромом Фанкони.

Фракционная экскреция фосфора, превышающая15%, зафиксирована у 15 детей (100 %) в группе ГФР, у 9 детей (100%) с синдромом Фанкони и у 1 ребенка с остеопорозом. У 9 детей с остеопорозом зафиксирована нормальная ФЭ фосфора. Медианы и границы 25 и 75 процентиля представлены в **таблице 4.1**.

В связи с малым объемом групп и отличающимся от нормального распределением признака, для сравнения медиан в нескольких группах применен однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, который показал значимые различия между группами ($p\leq0,001$). В анализ так же были включены дети с ХБП 3-5 стадии. При попарном сравнении ФЭ у детей с остеопорозом была достоверно ниже, чем при ГФР ($p=0,01$) и при синдроме Фанкони ($p<0,01$) (**рисунок 4.2**). Значимых отличий между ГФР и синдромом Фанкони не выявлено. Выявлено достоверное отличие ФЭ при ХБП и синдроме Фанкони ($p<0,05$).

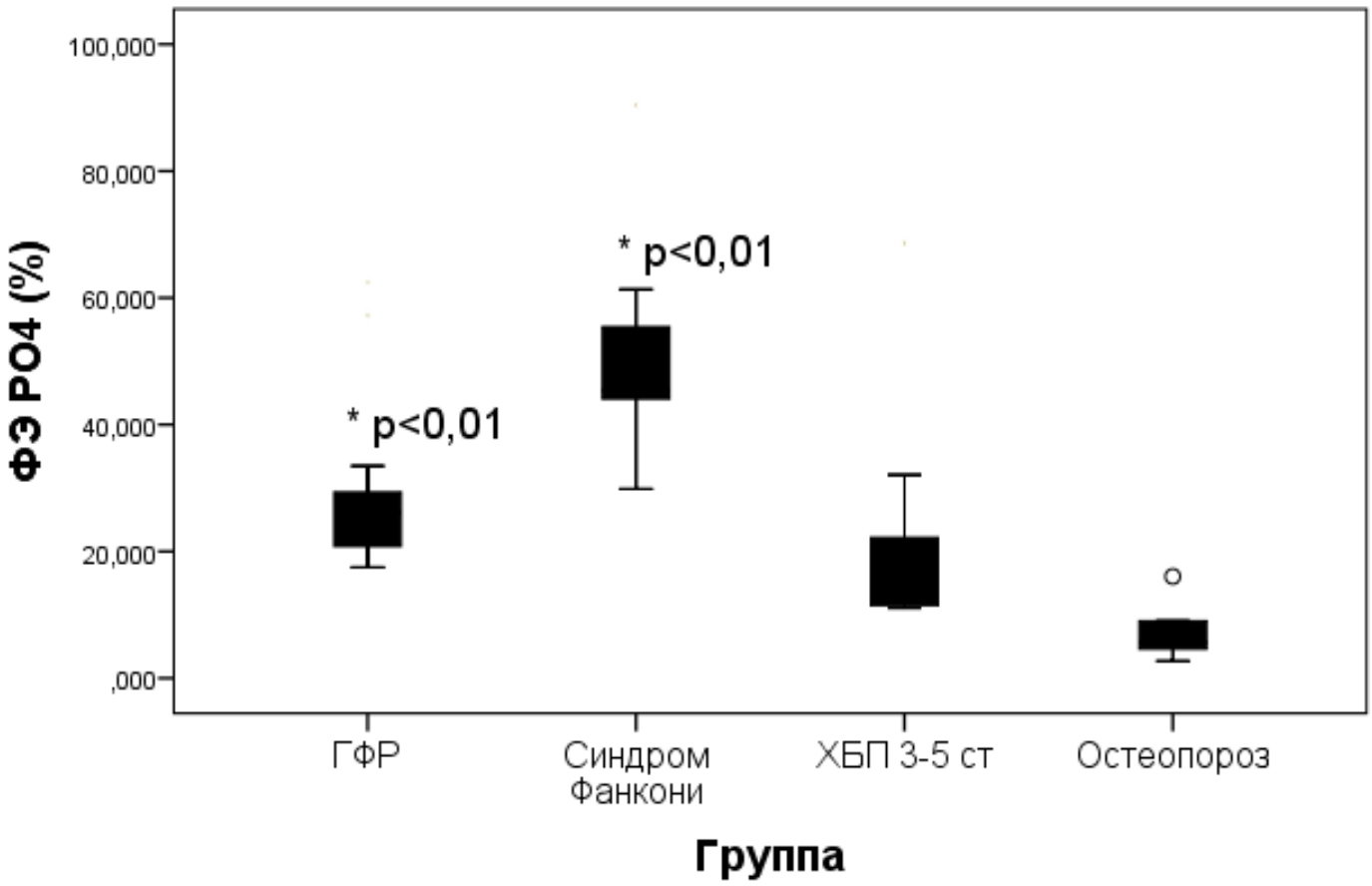


Рисунок 4.2 Уровень ФЭ фосфора у детей

** отличие от группы детей с остеопорозом*

4.1.6 Соотношение кальция и креатинина во второй утренней порции мочи

Кальциурия (измерена по отношению кальция и креатинина во второй утренней порции мочи) зафиксирована у детей с синдромом Фанкони в 5 случаях (55,6%) и у 3 детей (33,3%) с остеопорозом. У детей с ГФР выявлена нормальная экскреция кальция. В связи с большим разбросом возрастных нормативов, анализ кальциурии как количественного показателя не проводился.

4.2 Уровень iFGF-23 в крови у детей при нефропатиях с сохранной функцией почек

Распределение признака не отличалось от нормального во всех исследованных группах, при ГФР, синдроме Фанкони и при вторичном стероидном остеопорозе. В группе сравнения распределение также не отличалось от нормального. Проведен однофакторный дисперсионный анализ, который показал достоверные различия в уровне iFGF-23 между группами ($p < 0,01$). Данные об уровне iFGF-23 представлены в **таблице 4.2.**

Таблица 4.2. Уровень iFGF-23 у больных с различной патологией и группы сравнения (пг/мл)

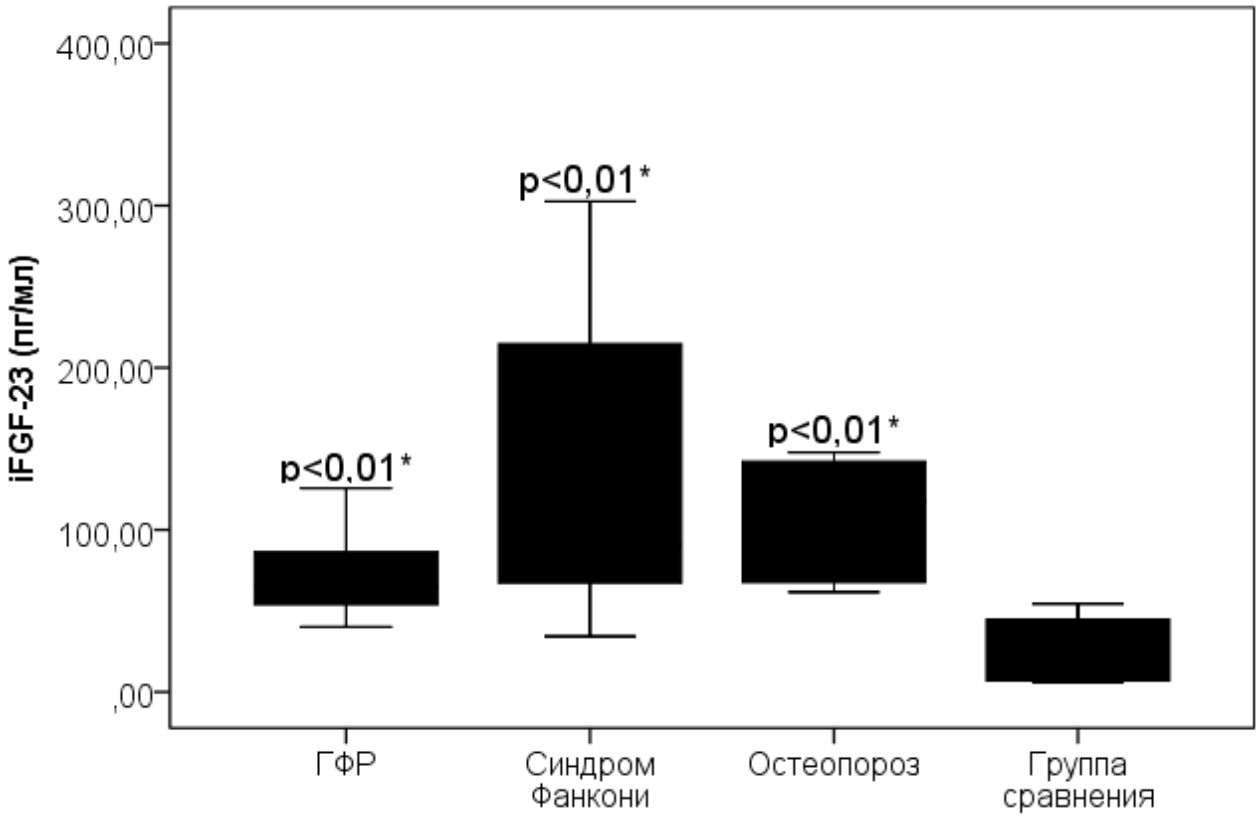
	ГФР	Синдром Фанкони	Остеопороз	ХБП	Группа сравнения
Среднее	**73,11****	**141,56****	**106,65****	**613,71****	22,92
Ст. откл.	26,76	101,85	39,63	1016,60	20,11
Минимум	40,08	34,27	61,64	20,15	5,91
Максимум	125,71	302,64	147,74	6230,77	54,37
Медиана	64,50	90,16	117,61	345,00	8,70
25-процентиль	52,37	54,42	65,60	220,66	6,76
75-процентиль	96,00	219,45	144,34	690,57	45,19
**отличие от группы сравнения при $p<0,01$					

В связи с малым объемом групп 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), стероидным остеопорозом (p≤0,001) и ХБП 3-5 стадии (p≤0,001). Также попарное сравнение выявило различие в уровне iFGF-23 между ГФР и ХБП 3-5 стадии (p≤0,001).

4.2.1 iFGF-23 у детей с гипофосфатемическим рахитом (n=15)

У детей с ГФР уровень iFGF-23 находился в пределах от 40,8 пг/мл до 125,7 пг/мл (M 73,11 ± 26,76 пг/мл). Значений ниже уровня определения не получено. У 4 (26,7%) обследованных детей с ГФР уровень iFGF-23 оказался в пределах референсных значений, причем у этих детей экскреция фосфора с мочой по данным ФЭ не превышала 20%. При сравнении средних отмечено



достоверное отличие в уровне iFGF-23 от группы сравнения (p <0,05) (**рисунок 4.3**).

Рисунок 4.3. Уровень iFGF-23 у детей с нормальной функцией почек

** отличие от группы сравнения*

При проведении корреляционного анализа прослежена связь умеренной силы (r=0,481) между уровнем iFGF-23 и фракционной экскрецией фосфора, p<0,05 (**рисунок4.4**).

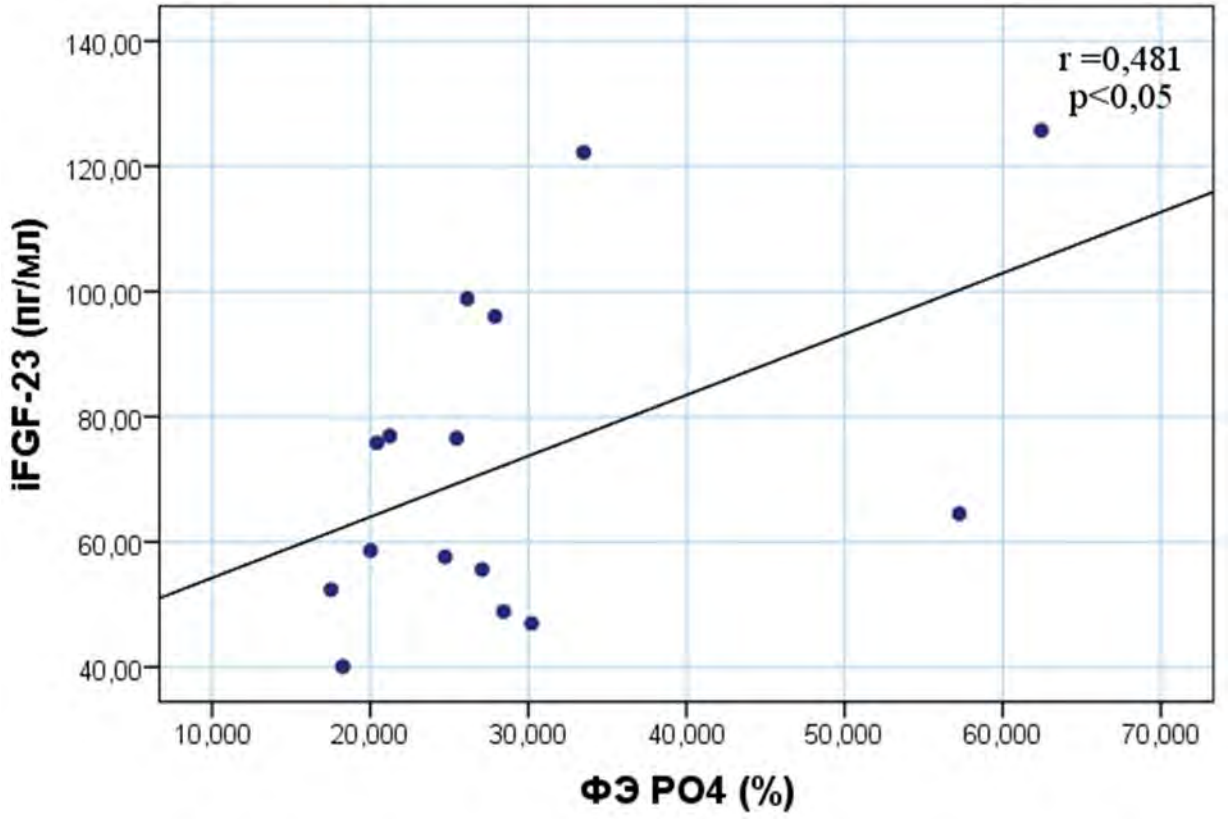


Рисунок 4.4 Диаграмма рассеяния фракционной экскреции фосфора и уровня iFGF-23 крови при гипофосфатемическом рахите. Указан коэффициент корреляции Спирмена при уровне значимости p<0,05.

Корреляционной анализ не показал достоверной связи с уровнем iFGF-23 с другими исследованными биохимическими показателями (уровнем кальция, фосфора, ПТГ, ЩФ крови, кальциурии).

Проведен корреляционный анализ уровня iFGF-23 крови и дозы получаемых метаболитов витамина D (альфакальцидола). В связи с большим разбросом по росту и весу в группе, доза альфакальциола была выражена в

нанограммах на килограмм веса. Выявлена положительная корреляция средней силы r=0,539, p<0,05 **(рисунок 4.5**.)

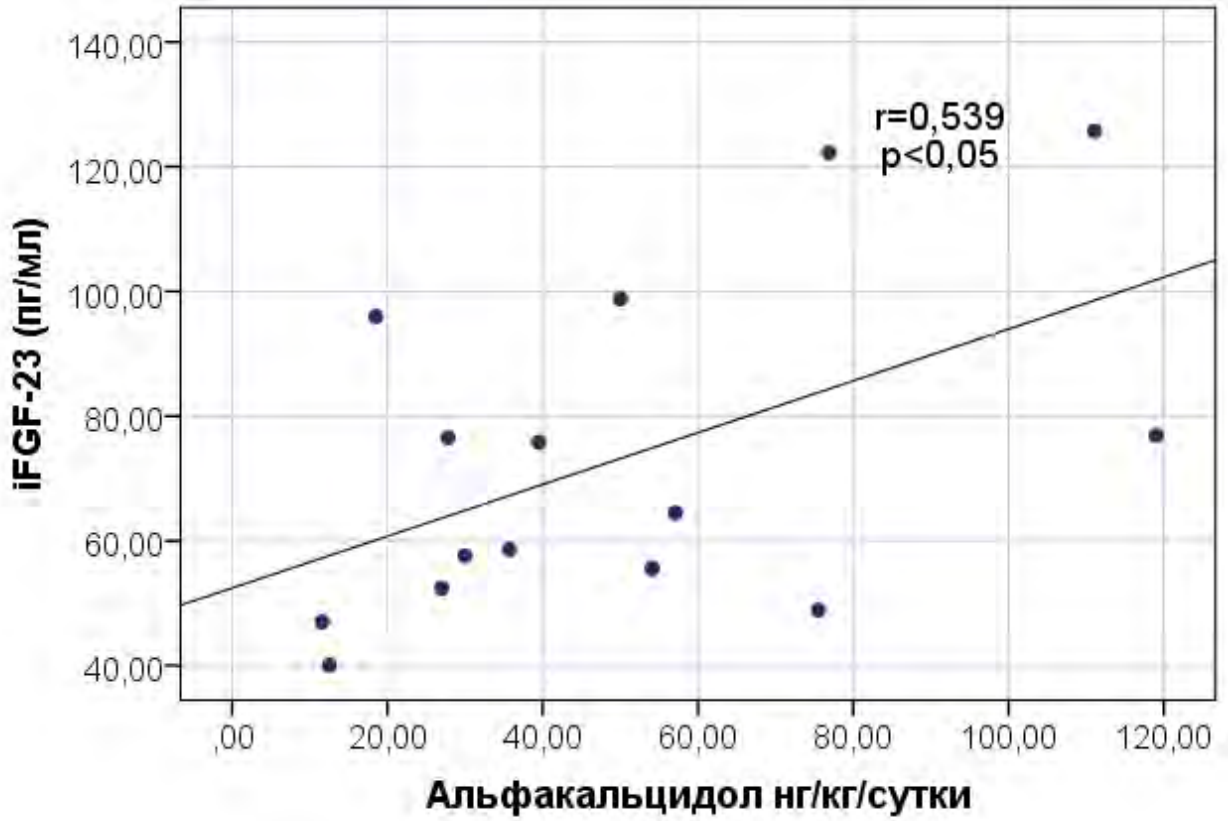


Рисунок 4.5 Диаграмма уровня iFGF-23 крови и дозы альфакальцидола в пересчете на вес при гипофосфатемическом рахите. Указан коэффициент корреляции Спирмена при уровне значимости p<0,05.

Анализ связи уровня iFGF-23 с дозой потребляемого фосфора и длительностью заместительной терапии фосфором, не показал значимых корреляций.

Связи уровня iFGF-23 со степенью задержки роста или костного возраста так же не выявлено.

Отмечено, что дети, имеющие высокие уровни iFGF-23, имели наиболее тяжелую клиническую картину.

Клинический пример 1: *Девочка В. 9 лет 7 мес, поступила в отделение нефрологии НИИ педиатрии НЦЗД с диагнозом Гипофосфатемический рахит,*

Х-сцепленный вариант (Мутация PHEX p.Lys/320stop). Варусная деформация нижних конечностей.

Наследственность по заболеваниям почек не отягощена. С начала самостоятельной ходьбы (с 1,5 лет) у девочки началось формирование варусной деформации нижних конечностей, "утиной" походки. Так же по данным медицинской документации отмечались выраженные лобные бугры. До 5 лет наблюдалась по месту жительства, лечения не получала. В возрасте 6 лет госпитализирована в ортопедический стационар, где выявлена гипофосфатемия до 0,5 ммоль/л. В оперативном лечении отказано, рекомендована консультация нефролога. В дальнейшем наблюдалась в НИИ Педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева, установлен дигноз гипофосфатемический рахит, начато лечение альфакальцидолом 1 мкг/сутки, рекомендован фосфатный буфер (не получала в связи с отсутствием препарата). С 6,5 лет начат прием препаратов фосфора, приведенных из-за рубежа (Reducto spezial) в дозе 30 мг/кг/сутки. На фоне терапии уровень фосфора крови 0,7-0,9 ммоль/л. В возрасте 7 лет диагноз подтвержден: выявлена мутация гена PHEX p.Lys/320stop. В возрасте 7 лет, несмотря на ранний возраст и сохраняющуюся гипофосфатемию, в несколько этапов проведено оперативное лечение деформаций обеих нижних конечностей (4 остеотомии). В дальнейшем у девочки отмечается рецидив деформаций. Переломов в анамнезе не было. В возрасте 9 лет впервые поступила в нефрологическое отделение НЦЗД. При поступлении отмечалось выраженное отставание в физическом развитии (рост ниже 3 перцентиля), варусные деформации голеней, бедер, многоплоскостная деформация плечевых костей, развернутая апертура грудной клетки, нарушение походки по типу «утиной». Костный возраст девочки отставал на 1,7 года, остеопении по данным рентгеновской денситометрии не отмечено (Z-score -1,3). В биохимическом анализе крови отмечена изолированная гипофосфатемия 0,81 ммоль/л при нормальном уровне

общего кальция крови (2,37 ммоль/л), общей щелочной фосфатазы (380 ЕД/л) и сохранной функции почек по клубочковой фильтрации (креатинин 38 мкмоль/л, СКФ по формуле Шварца 126 мл/мин). Биохимическое исследование мочи показало повышенную экскрецию фосфора (ФЭ 33,5%). Так же выявлен пограничо высокий уровень ПТГ крови (79,1 пг/мл). Уровень iFGF-23 крови данной пациентки в 2 раза превышал референсные значения (122,2 пг/мл). Девочке была увеличена доза фосфатов до 60 мг/кг/сутки и альфакальцидола до 76 нг/кг/сутки, на этом фоне отмечено увеличение уровня фосфора до 0,95 ммоль/л.

Данный клинический пример демонстрирует тяжелое течение Х-сцепленного гипофосфатемического рахита, обусловленного мутацией гена *PHEX* и, как следствие, высоким уровнем iFGF-23 крови. Так же представленный случай демонстрирует неправильную тактику ведения таких пациентов, когда оперативное лечение начато в раннем возрасте и без должной коррекции гипофосфатемии, интервал между началом заместительной терапии фосфатами и первым оперативным вмешательством составил всего 6 месяцев, что привело к рецидиву костных деформаций. У данной пациентки продолжена заместительная терапия препаратами фосфора и альфакальцидолом, рекомендована повторная госпитализация для оценки динамики деформаций через 1 год.

Клинический пример 2: *Девочка Д. 8 лет 11 месяцев, наблюдается в отделении нефрологии НЦЗД с возраста 1 год 10 месяцев с диагнозом Х-сцепленый доминантный гипофосфатемический рахит. Наследственность отягощена: у матери гипофосфатемический рахит. У девочки с возраста 1 года 1 месяца с начала ходьбы появилась прогрессирующая варусная деформация нижних конечностей, отставание в росте. По месту жительства получала терапию холекальциферолом 1500 МЕ/сутки без эффекта. В возрасте 1 год 10 месяцев впервые поступила в НЦЗД. При*

обследовании выявлена выраженная варусная деформация нижних конечностей, отставание в росте (76 см), гипофосфатемия 0,76 ммоль/л, фракционная экскреция фосфора 23%. Протеинурии, глюкозурии, метаболического ацидоза не выявлено. Девочке поставлен диагноз и начата терапия альфакальцидолом в начальной дозе 0,75 мкг/сутки и фосфатным буфером в начальной дозе 22 мг/кг/сутки. В дальнейшем фосфатная смесь увеличена до 44 мг/кг/сут. На фоне терапии у девочки сохранялась гипофосфатемия до 0,84 ммоль/л, однако за первый год наблюдения уже отмечалась положительная динамика в отношении деформаций конечностей, прибавки в росте. В возрасте 3 года фосфатный буфер заменен на таблетированную форму фосфатов (Reducto-spezial) в дозе 50-110 мг/кг/сут, альфакальцидол заменен на кальцитриол в дозе 3,0 мкг/сут. В последующие 6 лет наблюдения у девочки уровень фосфора находился в пределах 0,91-1,11 ммоль/л. Наблюдается положительная динамика в отношении варусной деформации нижних конечностей, за 7 лет – выросла на 54 см.

На момент включения в исследование девочка получала фосфаты 68 мг/кг/сутки, альфакальцидол 2 мкг/сутки (заменен в связи с отсутствием кальцитриола). При физикальном обследовании у девочки не выявлено деформаций нижних конечностей. По лабораторным данным отмечена умеренная гипофосфатемия 1,0 ммоль/л, сохраняющаяся фосфатурия (ФЭ 57%), умеренный гиперпаратиреоз (149 пг/мл), признаков гиперкальциурии и нефрокальциноза не выявлено. Уровень iFGF-23 составил 64,5 пг/мл (при норме ниже 54 пг/мл). Девочка отстает в физическом развитии (рост 3 перцентиль), отставания в костном возрасте и остеопении не выявлено (Z-score 1,0) Терапия фосфатами продолжена, однако, учитывая гиперпаратиреоз, доза снижена до 50 мг/кг/суки, альфакальцидол продолжен в дозе 2 мкг/сутки.

Данный клинический пример демонстрирует эффективность рано начатой консервативной терапии препаратами фосфора и метаболитами

витамина D. У девочки отсутствует потребность в проведении многоэтапных хирургических вмешательств. Так же у девочки выявлен гиперпаратиреоз, который можно отнести к побочным действиям проводимой терапии препаратами фосфора, что потребовало уменьшения дозы потребляемых фосфатов. В описанном случае выявлен высокий уровень iFGF-23 крови, приводящий к значительным потерям фосфора с мочой и высокой потребности в препаратах фосфора.

Относительные различия в тяжести течения описанных случаев сложно оценить в связи с разной тактикой терапии и поздней диагностикой заболевания в первом случае. Однако следует отметить, что у девочки с более высоким уровнем iFGF-23 крови (пример 1) в анамнезе фиксировалась тяжелая гипофосфатемия до 0,5 ммоль/л.

4.2.2 iFGF-23 у детей с синдромом Фанкони (n=9)

У детей с синдромом Фанкони (n=7) уровень iFGF-23 находился в пределах от 34,27 пг/мл до 302,64 пг/мл (M 141,56 ± 101,85 пг/мл).

Двое детей исключены из анализа в связи с уровнем iFGF-23 ниже границы определения. Оба исключенных из анализа детей страдали нефропатическим цистинозом. У 1 ребенка выявлен нормальный уровень iFGF-23, у 6 — высокий. При сравнении средних отмечено достоверное отличие в уровне iFGF-23 от группы сравнения (p <0,05) (**рисунок 4.6**).

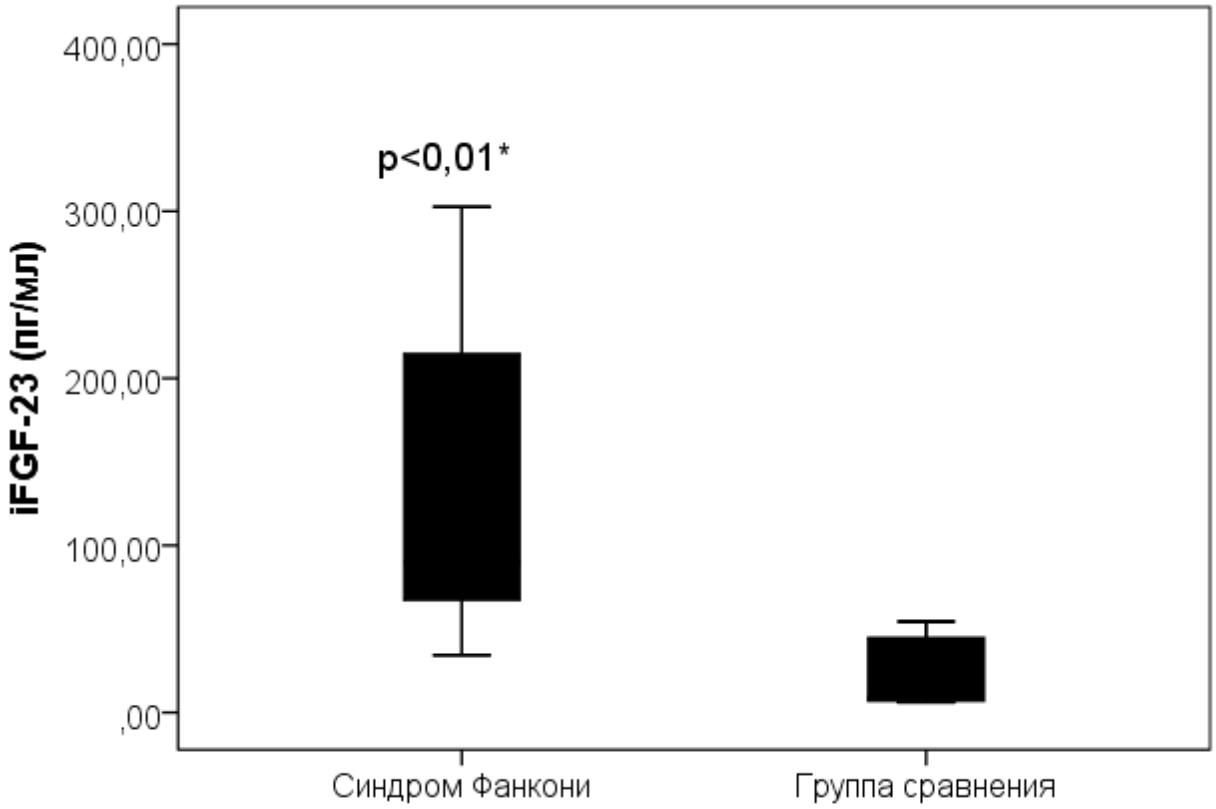


Рисунок 4.6. Уровень iFGF-23 у детей с синдромом Фанкони и в группе сравнения
** отличие от группы сравнения*

У ребенка с дистальным ренальным тубулярным ацидозом выявлен нормальный уровень iFGF-23 (34,27 пг/мл), у ребенка с синдромом Лоу – высокий (90,16 пг/мл).

У детей с синдромом Фанкони не было выявлено статистической связи уровня iFGF-23 с ФЭ фосфора, и дети имели высокую экскрецию фосфора даже при уровне iFGF-23 ниже границы определения.

Была найдена корреляционная связь между уровнем фосфора крови и уровнем iFGF-23 (r=0,857 p <0,05) (**рисунок 4.7**). Этот феномен может быть объяснен высоким потреблением фосфатов, однако в связи с малой выборкой подтверждения данной гипотезе не найдено.

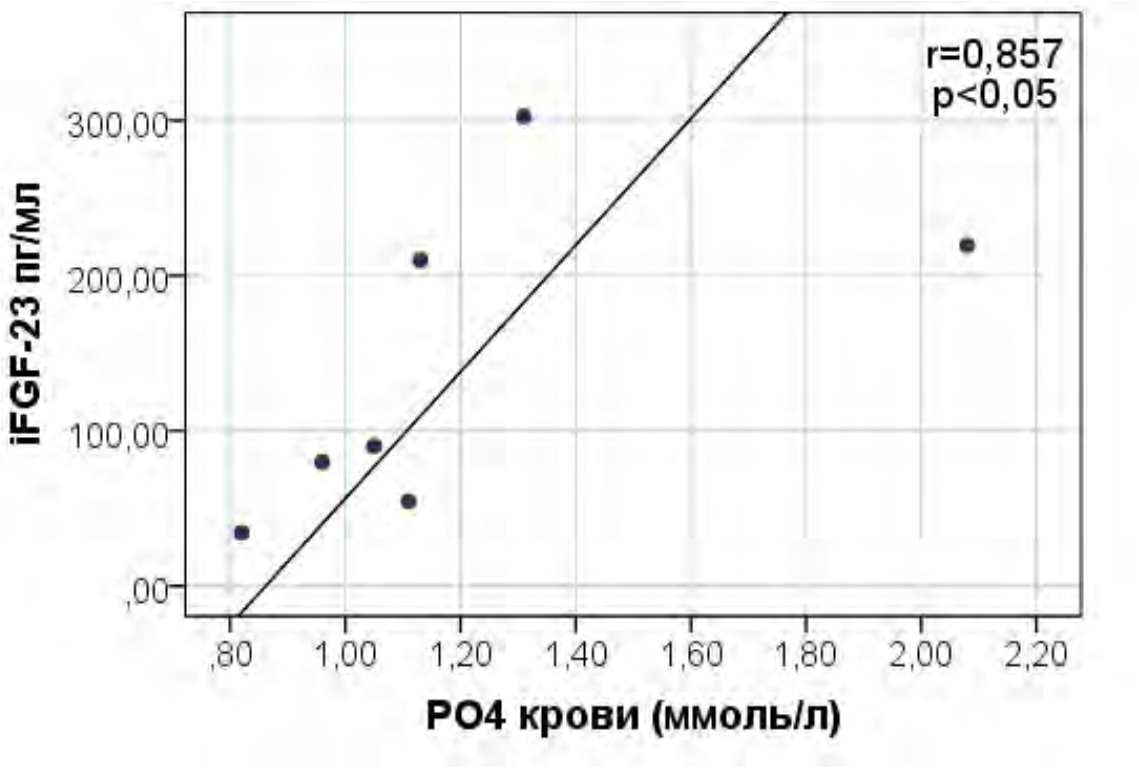


Рисунок 4.7 Диаграмма рассеяния уровня iFGF-23 и уровня фосфора крови при синдроме Фанкони. Указан коэффициент корреляции Спирмена при уровне значимости p <0,05

Корреляций между уровнем iFGF-23 и дозой или длительностью заместительной терапии препаратами фосфора не найдено. Связи уровня iFGF-23 с общепринято исследуемыми биохимическими показателями не найдено.

Поскольку все дети, включенные в данную группу, имели выраженное отставание в росте (3 перцентиль и ниже), анализ связи уровня iFGF-23 с показателем роста не проводился.

4.2.3 iFGF-23 у детей нефротическим синдромом с вторичным стероидным остеопорозом (n=10)

У детей со стероидным остеопорозом выявлен как высокий уровень iFGF-23, так и низкий. У 3 детей iFGF-23 был ниже границы определения. Концентрация iFGF-23 у остальных 7 детей находилась в пределах от 61,64 пг/мл до147,74 пг/мл (M 106,65 ± 39,63 пг/мл). Среднее значение уровня iFGF-23 у детей с остеопорозом достоверно отличалось ($p < 0,01$) от такового у здоровых детей (**рисунок 4.8**).

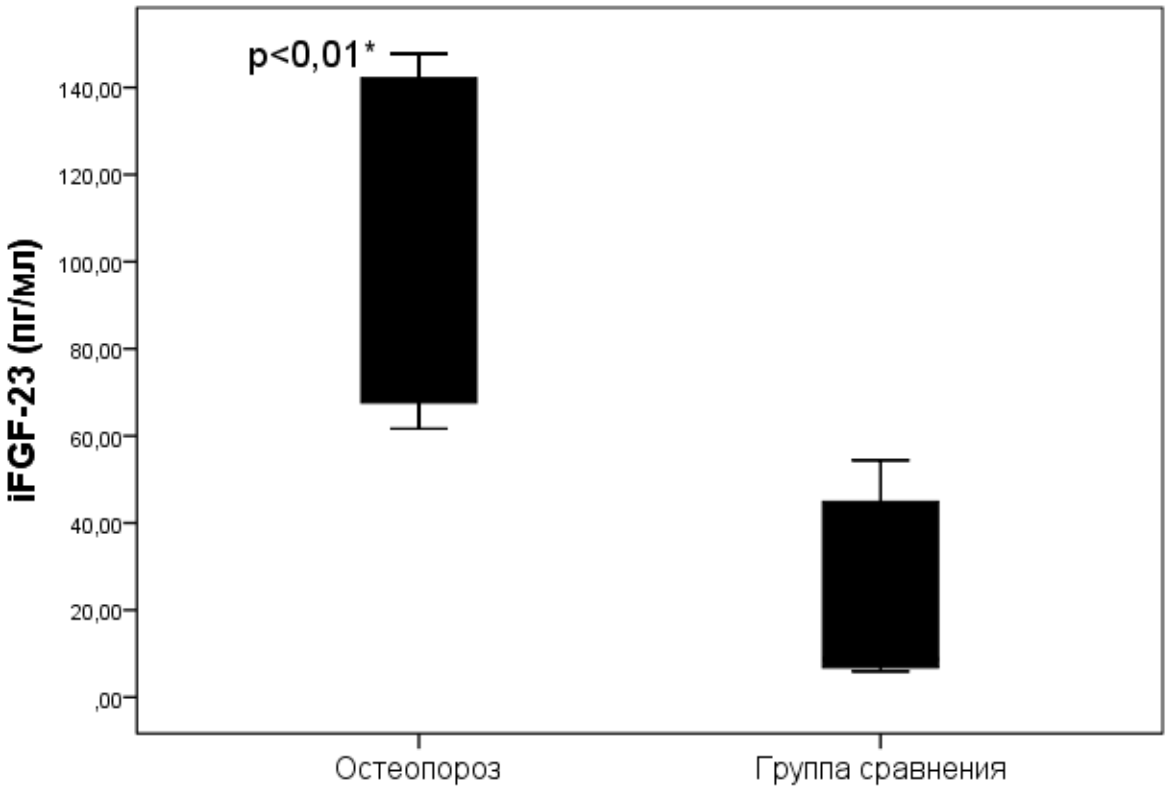


Рисунок 4.8. Уровень iFGF-23 у детей с синдромом Фанкони и в группе сравнения
** отличие от группы сравнения*

При детальном рассмотрении у всех детей с iFGF-23 ниже уровня определения отмечалось снижение уровня общей ЩФ крови, однако медианы уровня ЩФ для детей с низким и высоким iFGF-23 не отличались (p=0,14).

Так же важной особенностью является то, что у детей с остеопорозом, несмотря на высокий уровень iFGF-23 имелся нормальный уровень фосфора крови и фракционная экскреция фосфора с мочой.

Корреляционный анализ не показал значимых связей уровня iFGF-23 ни с одним из исследованных биохимических показателей минерального обмена. Связи с рентгенологическими показателями (с отставанием в костном возрасте и показателем Z-score) не получено. Так же проведен корреляционный анализ с целью выявления связи между уровнем iFGF-23 и дозой активных метаболитов витамина D (альфакальцидола), который также не показал значимых связей.

Таким образом, был выявлен высокий уровень iFGF-23 при всех исследованных нарушениях минерального обмена у детей, как при гипофосфатемическом рахите, так и при синдроме Фанкони и при вторичном стероидном остеопорозе. Важным фактом является то, что только при гипофосфатемическом рахите выявлена достоверная связь уровня iFGF-23 с фракционной экскрецией фосфора. При синдроме Фанкони и при стероидном остеопорозе такой связи не выявлено. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении FGF-23 в патогенез минеральных нарушений у детей с нефропатиями. При этом роль в развитии минеральных нарушений при разной патологии отлична, так при гипофосфатемическом рахите iFGF-23 является основным фосфатурическим фактором, в то время как при синдроме Фанкони не выявлено подобных связей, и роль FGF-23 требует дальнейшего изучения.

Глава 5 (Заключение)

Нарушение гомеостаза фосфора описано при болезнях почек с различным патогенезом. При этом нарушения обмена фосфора могут проявляться как снижением, так и повышением его содержания в крови. Еще 15 лет назад механизмы, приводящие к нарушениям в минеральном обмене при некоторых состояниях, как например при Х-сцепленном гипофосфатемическом рахите, были во многом непонятны [122]. Открытие фосфатонинов, и в первую очередь FGF-23, пролило свет на понимание регуляции обмена фосфора и патогенеза фосфатурии при гипофосфатемических рахитах [11, 15, 20, 22, 38, 94, 111]. В свете данных открытий, изучение FGF-23 при нефропатиях, сопровождающихся минеральными нарушениями, является актуальной проблемой.

Через некоторое время после открытия FGF-23 был предложен группой ученых в качестве диагностического маркера Х-сцепленного гипофосфатемического рахита [38, 58]. В настоящее время недостаточно сведений об участии FGF-23 в патогенезе нарушений минерального обмена при другой патологии, как, например, синдроме Фанкони.

Несмотря на прорыв в понимании патогенеза ГРФ, на сегодняшний день терапия гипофосфатемических состояний представляет определенные трудности. По сути вся терапия, которая проводится детям с ГФР, является симптоматической и заключается в восполнении потерь фосфатов и дотации активных метаболитов витамина D.

Следует отметить, что группа японских авторов уже опубликовала сообщение о применении моноклональных антител к FGF-23, у больного с еще одним FGF-23-опосредованном заболевании, опухоль-ассоциированной остеомаляцией [63]. Однако данная методика не готова к практическому применению у детей с ГРФ. На сегодняшний день недостаточно сведений о связи уровня FGF-23 с общепринято исследуемыми показателями

минерального обмена у детей с ГФР на фоне терапии фосфатами и витамином D.

В литературе в последнее десятилетие чаще всего FGF-23 упоминается в рамках изучения хронической болезни почек у взрослых. Выявлено что FGF-23 значительно повышается при прогрессировании ХБП, достигая максимума у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. Однако столько внимания данному фактору оказывается не как фосфатонину, а как фактору риска летального исхода в результате сердечно-сосудистых осложнений, обусловленных кальцификацией сосудов и гипертрофии миокарда левого желудочка [83, 86]. У детей данная проблема пока изучена недостаточно.

Так же в литературе практически отсутствуют данные о связи FGF-23 с осложнениями стероидного остеопороза. В единственной доступной работе I. Endo и S. Fukumoto продемонстрировали низкий уровень FGF-23 у одного взрослого больного с синдромом Кушинга [38].

На основании вышеизложенного была **сформулирована цель исследования**: установить роль фактора роста фибробластов в патогенезе нефропатий, сопровождающихся нарушением обмена фосфатов у детей, и выявить взаимосвязь с общепринято исследуемыми показателями минерального обмена.

В настоящее обсервационное исследование включено 87 детей, наблюдающихся в НИИ педиатрии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России и в ДГКБ св. Владимира в период с 2013 по 2015 год.

Все исследованные нозологии в группах «ГФР» и «синдром Фанкони» относятся к редким болезням, что обусловило малый объем выборки, так частота встречаемости нефропатиеского цистиноза, основной причины синдрома Фанкони у детей, 1:200000. При сравнении размера выборок в зарубежных статьях на смежные темы выявлено, что 15 детей с

гипофосфатемическим рахитом – сравнимая по объему группа даже для мультицентровых исследований [30, 31, 38]. Вопрос о включении в исследование рассматривался по отношению ко всем детям, наблюдавшимися в НИИ Педиатрии Научного Центра Здоровья Детей в 2014 и 2015 годах.

В группе сравнения у 6 из 18 детей получены значения iFGF-23 ниже границы определения, средний уровень составил 22,92 ± 20,11 пг/мл. Рассчитанная на основании наших данных верхняя граница нормальных значений (95 процентиль) составила 54,3 пг/мл. Полученные нами данные соответствуют данным зарубежных исследований [58].

В нашей работе получен достоверно более высокий уровень iFGF-23 в крови больных ГФР относительно группы сравнения ($p < 0,01$). В данной группе подобный результат уровня iFGF-23 соответствовал ожидаемым. Полученные значения iFGF-23 (среднее 73,11 ± 26,76 пг/мл) сравнимы с данными у взрослых больных в зарубежных работах [38, 58], которые так же выявили повышенный уровень iFGF-23 в крови у большинства пациентов, при этом не фиксировалось результатов ниже границы определения, и минимальное значение было 38 пг/мл (в нашем исследовании минимальный iFGF-23 при ГФР составил 40 пг/мл).

В настоящем исследовании, как и у наших зарубежных коллег [38], выявлено несколько больных с ГФР, у которых уровень iFGF-23 не превышал референсных значений. Все эти больные имели умерено 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 ($r=0,481$, $p < 0,05$).

Можно предположить, что существует временная вариабельность уровня iFGF-23 в крови у детей с ГФР. При этом нормальный уровень iFGF-23 крови сопровождался снижением фракционной экскреции фосфора до верхне-

нормальных значений. Эти изменения свидетельствует о том, что подавление продукции или инактивация iFGF-23 является перспективным направлением в терапии гипофосфатемических рахитов.

Следует обратить внимание на то, что в нашем исследовании выявлена положительная корреляционная связь между уровнем iFGF-23 и дозой принимаемого альфакальцидола ($r=0,539$, $p<0,05$). Наши данные не противоречат результатам исследований в области нормальной физиологии, в которых $1,25(OH)_2D_3$ рассматривается как фактор, стимулирующий выработку FGF-23 [64, 104, 133]. 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.

Нам не удалось продемонстрировать связь уровня iFGF-23 с продолжительностью и дозой заместительной терапии фосфатами, хотя можно было предполагать наличие такой связи. Поиск влияния приема фосфатов на уровень iFGF-23 крови должен стать целью дальнейших исследований с включением в группу пациентов с впервые диагностированным гипофосфатемическим рахитом до начала терапии.

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 выше 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. Полученные нами данные соответствуют

как отечественным, так и международным рекомендациям по терапии ГФР [5, 7, 31].

Продемонстрированные в нашей работе клинические примеры детей с ГФР ярко демонстрируют необоснованность раннего оперативного лечения вне терапии препаратами фосфора, что так же соответствует существующим клиническим рекомендациям по лечению гипофосфатемических рахитов [5, 31]. Кроме того, в нашей работе выявлено, что у большинства детей лечение гипофосфатемического рахита не соответствует международным и отечественным рекомендациям, то есть имело место раннее оперативное лечение костных деформаций, которое зачастую предшествовало началу заместительной терапии фосфатами. Это свидетельствует о необходимости более широкого внедрения рекомендаций по ведению детей с гипофосфатемическим рахитом в практику детского нефролога и педиатра.

На наш взгляд, измерение уровня iFGF-23 в сыворотке крови является перспективным маркером минерального обмена в диагностике гипофосфатемических состояний у детей. Наше исследование ярко демонстрирует, что наличие повышенного уровня iFGF-23 в крови в сочетании с гипофосфатемией является признаком не только гипофосфатемических рахитов, но и других тубулярных нарушений.

Так у детей с синдромом Фанкони на фоне терапии препаратами фосфора выявлен высокий уровень iFGF-23, несмотря на сохраняющуюся гипофосфатемию. Таким образом для диагностики гипофосфатемического рахита требуется комплексная оценка всех показателей.

Следует отметить, что в одной работе [38] 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), в то время как в нашей работе возраст пациентов не

превышал 12 лет, и все получали терапию фосфатами не менее 1 месяца. Так же в нашей работе все дети с синдромом Фанкони на момент проведения исследования получали терапию альфакальциолом, который стимулирует iFGF-23.

Можно предполагать, что именно оральная нагрузка фосфатами у этих пациентов приводит к повышению iFGF-23 в крови. Сопоставление полученных в нашей работе данных с результатами исследований Ferrari S.L. и соавторов [43] 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. Однако подтверждение данной гипотезы не входило в задачи нашего исследования.

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

Продолжением нашей работы должно стать изучение механизмов повышений уровня iFGF-23 при синдроме Фанкони, происходит ли повышение продукции FGF-23 или блокада его протеолиза. Можно предполагать, что терапия фосфатами является основной причиной высокого iFGF-23 в крови при синдроме Фанкони. Это не противоречит данным исследований в области нормальной физиологии [43]. Об этом косвенно свидетельствует найденная в нашей работе достоверная корреляционная связь уровня iFGF-23 с уровнем фосфора крови (несмотря на сохраняющуюся гипофосфатемию).

Для подтверждения или опровержения данной гипотезы необходимо дополнительное исследование, включающее одновременное определение уровня iFGF-23 и cFGF-23 в сыворотке крови до назначения препаратов фосфора и после начала терапии, что подразумевает включение в подобное исследование только впервые диагностированный синдром Фанкони.

Отсутствие корреляционной связи между уровнем iFGF-23 и фракционной экскреции 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.

Полученные данные в результате анализа уровня iFGF-23 при синдроме Фанкони свидетельствуют о том, что он может принимать участие в патогенезе минеральных и костных нарушений, однако не в качестве первичного фактора развития фосфатурии. Вопрос о роли iFGF-23 при синдроме Фанкони остается открытым.

У детей с хронической болезнью почек 3-5 стадии выявлен высокий уровень FGF-23. Дети с ХБП 3 стадии еще не имели значимых изменений общепринято исследуемых показателей минерального обмена, таких как ПТГ и уровень фосфора крови. При этом даже при ХБП 3 стадии уровень FGF-23 достоверно отличался от группы сравнения ($p < 0,05$). В группе детей с ХБП 3-5 стадии получены данные, полностью соответствующие последним исследованиям проведенных на взрослых пациентах: фактор роста фибробластов 23 значительно повышается по мере снижения СКФ и прогрессирования ХБП. Можно утверждать, что FGF-23, как и у взрослых больных, в числе прочих факторов ответственен за развитие «ренальной остеодистрофии» у детей. В подавляющем большинстве опубликованных работ у больных с ХБП измерен уровень общего FGF-23 [6, 17, 35, 65, 95, 116, 118, 123, 131, 133], включающего как iFGF-23, так и cFGF-23. Особенностью же

нашей работы является измерение именно iFGF-23, то есть активной формы в крови у больных.

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. Повышение уровня FGF-23 было первым признаком нарушения минерального обмена у этих детей. В настоящем исследовании показано, что повышение уровня FGF-23 в крови является наиболее ранним маркером развития МКБ-ХБП у детей. Полученные нами данные приоритетны для отечественной детской нефрологии и согласуются и результатами исследований, проведенных у взрослых пациентов [6, 93, 133].

Выявленные нами изменения уровня FGF-23 позволяют сделать вывод, что в детском возрасте FGF-23 так же, как и у взрослых пациентов, является ранним прогностическим маркером МКБ-ХБП. Измерение уровня FGF-23 крови должно быть включено в диагностические протоколы детей со снижением функции почек. Необходимо раннее назначение терапии альфакальцидолом или кальцитриолом и ограничение потребления фосфора на основании повышенного уровня FGF-23 крови еще до появления вторичного гиперпаратиреоза и гиперфосфатемии.

Исследования более ранних лет, проведенные еще до открытия FGF-23 показали целесообразность раннего начала терапии фосфат-биндерами и метаболитами витамина D [12, 77]. Применение фосфат-биндеров у больных с ХБП 3-5 стадии приводило к снижению уровня FGF-23 крови, в том числе на ранних стадиях [59].

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 [38]. 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 этом у 2 пациентов данный показатель был ниже границы определения, как в случае у японских коллег. 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.

Можно также предполагать, что высокие значения iFGF-23 в крови детей с остеопорозом обусловлены стимуляцией синтеза FGF23 альфакальцидолом, который получали все дети на момент включения в исследование. Однако мы не наблюдали корреляционной связи с дозой альфакальцидола. Примечательно, что 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 происходит снижение экспрессии Klotho в клетках проксимального канальца, однако данный вопрос не вошел в дизайн нашего исследования, и 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.

Таким образом, FGF-23 принимает участие в патогенезе минеральных нарушений при различных нефропатиях. У детей с Х-сцепленным гипофосфатемическим рахитом iFGF-23 является основным фосфатурическим фактором. Требуется дальнейшее изучение участия FGF-23 в патогенезе минеральных нарушений при синдроме Фанкони и при стероидном

остеопорозе. Необходимо включение измерения уровня iFGF-23 в крови в диагностические протоколы детей с нарушениями обмена фосфора для комплексной оценки состояния минерального обмена. Терапия МКБ-ХБП должна начинаться на ранних стадиях ХБП на основании повышения уровня iFGF-23 крови, еще до изменения других маркеров минеральных нарушений.

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. Фактор роста фибробластов 23 может быть рекомендован к включению в стандартный диагностический протокол для оптимизации раннего выявления и контроля прогностических неблагоприятных форм хронической болезни почек в детском возрасте.

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 Х-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 литературы

1. Детские болезни: Учебник /Под. ред. А.А. Баранова, М. ГЭОТАР-МЕД, 2002; 596-597.

2. Добронравов В.А., Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho, Нефрология, 2011. – Т. 15, № 4. – С. 11-20

3. Ермоленко В. М., Волгина Г. В., Добронравов В. А., Рожинская Л. Я., Смирнов А. В., Томилина Н. А., Шостка Г. Д., Анашкин В. А., Андрусев А. М., Волков М. М., Герасимчук Р. П., Земченков А. Ю., Дюбанова Г. А., Строков А. Г., Шило В. Ю., Национальные рекомендации по минеральным и костным нарушениям при хронической болезни почек, Нефрология и диализ, 2011; Т.13 №1 с 33-51

4. Коровина Н. А., Свинцицкая В. И., Варианты остеопений при тубулоинтерстициальных заболеваниях почек у детей. Педиатрия.,2010. - № 6. – С. 12-16

5. Лойманн Э., Цыгин А.Н., Саркисян А.А., Детская нефрология: практическое руководство, ЛитТера, 2011; с. 220-236

6. Милованов Ю. С., Милованова Л. Ю., Козловская Л. В., Формы ренальной остеодистрофии. Клиническая нефрология, 2011 № 3 С. 43 – 52

7. Нефрология: национальное руководство / под ред. Н.А. Мухина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009.С. 93-108.

8. Нефрология: руководство / под ред. Е.М. Шилова. – 2-е изд., испр. И доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа. 2010. С. 547-589.

9. Папаян К.А., Савенкова Н.Д., Левиашвили Ж.Г., Левиашвили Н.Г., Окуло-церебро-ренальный синдром Лоу у детей, Российский вестник перинатологии и педиатрии, 1998, №4, С.39-43

10. Aceto G., D'Addato O., Messina G., Carbone V., Cavallo L., Brunetti G., Faienza M.F. Bone health in children and adolescents with steroid-sensitive nephrotic syndrome assessed by DXA and QUS. Pediatr Nephrol. 2014 Nov; 29(11): 2147-55.

11. ADHR-Consortium., Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. Nat Genet. 2000;26: 345–8

12. Alfrey AC: Effect of dietary phosphate restriction on renal function and deterioration. Am J Clin Nutr 47: 153–156, 1988

13. Alon U.S., Levy-Olomucki R., Moore W.V., Stubbs J., Liu S., Quarles L.D., Calcimimetics as an adjuvant treatment for familial hypophosphatemic rickets., Clin J Am Soc Nephrol. 2008 May;3(3):658-64

14. Amanzadeh J., Reilly RF Jr, Hypophosphatemia: an evidence-based approach to its clinical consequences and management, Nat Clin Pract Nephrol, 2006 Mar;2(3):136-48

15. Amatschek S., Haller M., Oberbauer R., Renal phosphate handling in human – what can we learn from hereditary hypophosphataemias? Eur J Clin Invest. 2010 40(6): 552-60

16. Ariceta G., Langman C.B., Growth in X-linked hypophosphatemic rickets., Eur J Pediatr. 2007; 166:303–309

17. Bacchetta J., Dubourg L., Harambat J., Ranchin B., Abou-Jaoude P., Arnaud S., Carlier M.C., Richard M., Cochat P., The influence of glomerular filtration

rate and age on fibroblast growth factor 23 serum levels in pediatric chronic kidney disease. J Clin Endocrinol Metab. 2010 Apr;95(4):1741-8

18. Bacchetta J., Harambat J., Cochat P., Salusky I.B., Wesseling-Perry K., The consequences of chronic kidney disease on bone metabolism and growth in children, Nephrol Dial Transplant. 2012 27: 3063–3071

19. Bakkaloglu S.A., Wesseling-Perry K, Pereira RC, Gales B, Wang HJ, Elashoff RM, Salusky IB., Value of the new bone classification system for pediatric patients with chronic kidney disease, Clin J Am Soc Nephrol., 2010 Oct;5(10):1860-6

20. Bastepe M, Jüppner H., Inherited hypophosphatemic disorders in children and the evolving mechanisms of phosphate regulation. Rev Endocr Metab Disord, 2008 Jun;9(2):171-80

21. Bergwitz C., Roslin N.M., Tieder M., Loredo-Osti J.C., Bastepe M., Abu-Zahra H. et al., SLC34A3 mutations in patients with hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria predict a key role for the sodium-phosphate cotransporter NaPi-IIc in maintaining phosphate homeostasis. Am J Hum Genet. 2006;78:179–92.

22. Berndt TJ, Schiavi S, Kumar R, “Phosphatonins” and the regulation of phosphorus homeostasis, Am J Physiol Renal Physiol, 2005 289:F1170–F1182

23. Block G.A., Hulbert-Shearon T.E., Levin N.W., Port F.K., Association of serum phosphorus and calcium X phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. Am J Kidney Dis. 1998; 31:607–617

24. Bowe A.E., Finnegan R., Jan de Beur S.M., Cho J., Levine M.A., Kumar R. et al., FGF-23 inhibits renal tubular phosphate transport and is a PHEX substrate. Biochem Biophys Res Commun. 2001;284: 977–81

25. Brenner & Rector's the kidney / [edited by] Maarten W. Taal [et al.]. - 9th ed. Taal, p. 239-246

26. Briot K., Roux C. Glucocorticoid-induced osteoporosis. RMD Open 2015;1: e000014. doi:10.1136/rmdopen-2014000014

27. Brodehl J., Assessment and interpretation of the tubular threshold for phosphate in infants and children, Pediatr Nephrol 1994; 8: 645,

28. Brossard J.H., Lepage R., Cardinal H. et al, Influence of glomerular filtration rate on non-(1-84) parathyroid hormone detected by intact PTH assays. Clin. Chem. 2000 46. P. 697–703

29. Brownstein C.A., Adler F., Nelson-Williams C., Iijima J., Li P, Imura A. et al., A translocation causing increased alpha-klotho level results in hypophosphatemic rickets and hyperparathyroidism. Proc Natl Acad Sci. USA 2008;105:3455–60

30. Cameron F.J., Sochett E.B., Daneman A., Kooh S.W., A trial of growth hormone therapy in well-controlled hypophosphataemic rickets., Clin Endocrinol., 1999;50:577–582

31. Carpenter T.O., Imel У.A., Holm I.A., Jan de Beur S.M., Insogna K.L., A CLINICIAN'S GUIDE TO X-LINKED HYPOPHOSPHATEMIA, J Bone Miner Res. 2011 July 26(7): 1381–1388

32. Cheon C.K., Lee H.S., Kim S.Y., Kwak M.J., Kim G.H., Yoo H.W., A novel de novo mutation within PHEX gene in a young girl with hypophosphatemic

rickets and review of literature. Ann Pediatr Endocrinol Metab., 2014 Mar;19(1):36-41

33. Comprehensive pediatric nephrology [edited by] Denis F. Geary, Franz Schaefer. — 1st ed. 2008; p 427-429

34. Denburg M.R., Tsampalieros A.K., de Boer I.H., Shults J., Kalkwarf H.J., Zemel B.S., Foerster D., Stokes D., Leonard M.B., Mineral metabolism and cortical volumetric bone mineral density in childhood chronic kidney disease. J Clin Endocrinol Metab., 2013 May; 98(5):1930-8

35. Diniz H., Frazão J.M., The role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease-mineral and bone disorder. Nefrologia. 2013 Nov 13;33(6):835-44

36. Durham B.H., Joseph F., Bailey L.M., Fraser W.D., The association of circulating ferritin with serum concentrations of fibroblast growth factor-23 measured by three commercial assays. Ann Clin Biochem. 2007 44(5): 463–6

37. Elmonem M.A., Veys K.R., Soliman N.A., van Dyck M., van den Heuvel L.P., Levtchenko E. Cystinosis: a review. Orphanet J Rare Dis. 2016 Apr 22; 11:47.

38. Endo I., Fukumoto S., Ozono K., Namba N., Tanaka H., Inoue D., Minagawa M., Sugimoto T., Yamauchi M., Michigami T., Matsumoto T., Clinical usefulness of measurement of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in hypophosphatemic patients: proposal of diagnostic criteria using FGF23 measurement. Bone 2008 Jun;42(6):1235-9

39. Ertan P., Evrengul H., Ozen S., Emre S. A patient with cystinosis presenting like bartter syndrome and review of literature. Iran J Pediatr. 2012 Dec;22(4):543-6.

40. Faul C., Amaral A.P., Oskouei B., Hu M.C., Sloan A., Isakova T., Gutiérrez O.M., Aguillon-Prada R., Lincoln J., Hare J.M., Mundel P., Morales A., Scialla J., Fischer M., Soliman E.Z., Chen J., Go A.S., Rosas S.E., Nessel L., Townsend R.R., Feldman H.I., St John Sutton M., Ojo A., Gadegbeku C., Di Marco G.S., Reuter S., Kentrup D., Tiemann K., Brand M., Hill J.A., Moe O.W., Kuro-O M., Kusek J.W., Keane M.G., Wolf M., FGF23 induces left ventricular hypertrophy. J Clin Invest. 2011 Nov;121(11):4393-408

41. Feng J.Q., Ward L.M., Liu S., Lu Y., Xie Y., Yuan B., et al., Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. Nat Genet. 2006; 38:1310–1315

42. Feng J.Q., Clinkenbeardb E.L., Yuanc B., Whiteb K.E., Drezner M.K., Osteocyte regulation of phosphate homeostasis and bone mineralization underlies the pathophysiology of the heritable disorders of rickets and osteomalacia. Bone. 2013 June 54(2): 213–221

43. Ferrari S.L., Bonjour J.P., Rizzoli R., Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. J Clin Endocrinol Metab. 2005 90:1519–1524

44. Finch J.L., Tokumoto M., Nakamura H., Yao W., Shahnazari M., Lane N., Slatopolsky E., Effect of paricalcitol and cinacalcet on serum phosphate, FGF-23, and bone in rats with chronic kidney disease,Am J Physiol Renal Physiol. 2010 Jun; 298(6): F1315-22

45. Fliser D., Kollerits B., Neyer U., Ankerst D.P., Lhotta K., Lingenhel A., Ritz E., Kronenberg F., Kuen E., Konig P., Kraatz G., Mann J.F., Muller G.A., Kohler H., Riegler P., Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: The Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. J Am Soc Nephrol. 2007 18: 2600–2608

46. Forster I.C., Hernando N., Biber J., Murer H, Proximal tubular handling of phosphate: A molecular perspective, Kidney Int. 2006 70:1548–59

47. Fukumoto S., Phosphate metabolism and vitamin D, BoneKEy Reports,2014; Feb 5;3:497

48. Galitzer H., Ben-Dov I., Lavi-Moshayoff V., Naveh-Many T., Silver J., Fibroblast growth factor 23 acts on the parathyroid to decrease parathyroid hormone secretion. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2008 17: 363–367

49. Gattineni J., Baum M., Regulation of phosphate transport by fibroblast growth factor 23 (FGF23): implications for disorders of phosphate metabolism. Pediatr Nephrol. 2010 Apr; 25(4):591-601

50. Gutierrez O., Isakova T., Rhee E., Shah A., Holmes J., Collerone G., Jüppner H., Wolf M., Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. J Am Soc Nephrol. 2005 Jul;16(7):2205-15

51. Gutman R.A., Characteristics of long-term (14 years) survivors of maintenance dialysis. Nephron. 1983; 33(2):111-5

52. Haffner D., Wuhl E., Blum W.F., Schaefer F., Mehls O., Disproportionate growth following long-term growth hormone treatment in short children with X-linked hypophosphataemia. Eur J Pediatr.1995;154: 610–613

53. Hahn D., Hodson E.M., Willis N.S., Craig J.C. Corticosteroid therapy for nephrotic syndrome in children. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Mar 18;(3): CD001533.

54. Holm I.A., Econs, M.J., Carpenter TO., Familial hypophosphatemia and related disorders. In: Glorieux, FH.; Juppner, H. Pettifor, JM., editors.

Pediatric Bone: Biology & Diseases. Academic Press; San Diego, CA, USA. 2003. p 603-31

55. Hou J.W. Amelioration of hypophosphatemic rickets and osteoporosis with pamidronate and growth hormone in Lowe syndrome. J Formos Med Assoc. 2009 Sep 108(9):730-5

56. Ichikawa S., Imel E.A., Kreiter M.L., Yu X., Mackenzie D.S., Sorenson A.H. et al., A homozygous missense mutation in human KLOTHO causes severe tumoral calcinosis. J Clin Invest. 2007 Sep 4; 117(9): 2684–2691

57. Ichikawa S, Sorenson AH, Imel EA, Friedman NE, Gertner JM, Econs MJ. Intronic deletions in the SLC34A3 gene cause hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria. J Clin Endocrinol Metab 91: 4022–4027, 2006.

58. Igaki J.M., Yamada M., Yamazaki Y., Koto S., Izawa M., Ariyasu D., Suzuki E., Hasegawa H, Hasegawa Y. High iFGF23 level despite hypophosphatemia is one of the clinical indicators to make diagnosis of XLH. Endocr J. 2011 58(8): 647-55.

59. Isakova T., Gutiérrez O.M., Smith K., Epstein M., Keating L.K., Jüppner H., Wolf M., Pilot study of dietary phosphorus restriction and phosphorus binders to target fibroblast growth factor 23 in patients with chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2011 Feb;26(2):584-91

60. Iwaki T., Sandoval-Cooper M., Tenenhouse H., Castillino F. A missense mutation in the sodium phosphate co-transporter Slc32a1 impairs phosphate homeostasis. J Am Soc Nephrol. 2008 19: 1753-62

61. Jaureguiberry G., Carpenter T.O., Forman S., Jüppner H., Bergwitz C. A novel missense mutation in SLC34A3 that causes hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria in humans identifies threonine 137 as an important

determinant of sodium-phosphate cotransport in NaPi-IIc. Am J Physiol Renal Physiol. 2008 Aug;295(2): 371-9

62. Jorgetti V., Drüeke T.B., comment on "Value of the new bone classification system for pediatric patients with chronic kidney disease". Clin J Am Soc Nephrol. 2010 Oct;5(10):1730-1

63. Kinoshita Y., Fukumoto S. Anti-FGF23 antibody therapy for patients with tumor-induced osteomalacia. Clin Calcium. 2014 Aug;24(8):1217-22.

64. Kocełak P., Olszanecka-Glinianowicz M., Chudek J., Fibroblast growth factor 23 - structure, function and role in kidney diseases. Adv Clin Exp Med. 2012; 21(3), 391–401

65. Koizumi M., Komaba H., Nakanishi S., Fujimori A., Fukagawa M., Cinacalcet treatment and serum FGF23 levels in haemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. Nephrol Dial Transplant. 2012 Feb;27(2):784-90.

66. Kovesdy C.P., Quarles L.D., Fibroblast growth factor-23: what we know, what we don't know, and what we need to know.,Nephrol Dial Transplant. 2013 Sep;28(9):2228-36.

67. Kumata C., Mizobuchi M., Ogata H., Koiwa F., Nakazawa A., Kondo F., Kadokura Y., Kinugasa E., Akizawa T., Involvement of alpha-Klotho and fibroblast growth factor receptor in the development of secondary hyperparathyroidism. Am J Nephrol. 2010;31(3):230-8

68. Lanske B., Razzaque M.S.,Molecular interactions of FGF23 and PTH in phosphate regulation. Kidney Int. 2014 Dec 86(6):1072-4.

69. Lanzano L., Lei T., Okamura K., Giral H., Caldas Y., Masihzadeh O. et al., Differential modulation of the molecular dynamics of the type IIa and IIc

sodium phosphate cotransporters by parathyroid hormone, Am J Physiol Cell Physiol, 2011 850–C861

70. Lapointe J.Y., Tessier J., Paquette Y., Wallendorff B., Coady M.J., Pichette V. et al., NPT2a gene variation in calcium nephrolithiasis with renal phosphate leak. Kidney Int, 2006; 69: 2261–7.

71. Larsson T., Nisbeth U., Ljunggren O., Jüppner H., Jonsson K.B. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. Kidney Int. 2003, 64(6): 2272-2279.

72. Lemann J. Jr, Bushinsky D.A., Hamm L.L. Bone buffering of acid and base in humans. Am J Physiol Renal Physiol. 2003 Nov;285(5):F811-32.

73. Levy-Litan V., Hershkovitz E., Avizov L., Leventhal N., Bercovich D., Chalifa-Caspi V., Manor E., Buriakovsky S., Hadad Y., Goding J., Parvari R., Autosomal-recessive hypophosphatemic rickets is associated with an inactivation mutation in the ENPP1 gene. Am J Hum Genet. 2010; 86(2):273–8.

74. Liang G., Katz LD, Insogna KL, Carpenter TO, Macica CM., Survey of the enthesopathy of Xlinked hypophosphatemia and its characterization in Hyp mice,Calcif Tiss Int.,2009; 85:235–46.

75. Liu S., Tang W., Zhou J., Stubbs J.R., Luo Q., Pi M., Quarles L.D., Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. J Am Soc Nephrol. 2006 May;17(5):1305-15.

76. Mackenzie N.C., Zhu D., Milne E.M., van't Hof R., Martin A., Darryl Quarles L., Millan J.L., Farquharson C., MacRae V.E.., Altered bone development and

an increase in FGF-23 expression in Enpp1(−/−) mice. PLoS One. 2012; 7(2):e32177.

77. Maschio G, Tessitore N, D'Angelo A, Bonucci E, Lupo A, Valvo E, Loschiavo C, Fabris A, Morachiello P, Previato G, Fiaschi E: Early dietary phosphorus restriction and calcium supplementation in the prevention of renal osteodystrophy. Am J Clin Nutr 33: 1546–1554, 1980

78. Matos V., van Melle G., Boulat O. et al. Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinin, and magnesium/creatinin ratios in a healthy pediatric population. J. Pediatr. - 1997. - V. 131, N 2. - P. 252-257.

79. Makitie O., Pereira R.C., Kaitila I., Turan S., Bastepe M., Laine T., et al., Long-Term Clinical Outcome and Carrier Phenotype in Autosomal Recessive Hypophosphatemia Caused by a Novel DMP1 Mutation J Bone Miner Res. 2010; 25:2165–2174.

80. Makitie O., Toiviainen-Salo S., Marttinen E., Kaitila I., Sochett E., Sipila I., Metabolic control and growth during exclusive growth hormone treatment in X-linked hypophosphatemic rickets. Horm Res. 2008; 69:212–220.

81. Martin A., David V., Quarles L.D. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. Physiol Rev. 2012 Jan;92(1):131-55.

82. Meir T., Durlacher K., Pan Z., Amir G., Richards W.G., Silver J., Naveh-Many T., Parathyroid hormone activates the orphan nuclear receptor Nurr1 to induce FGF23 transcription. Kidney Int. 2014 Dec;86(6):1106-1115.

83. Memon F., El-Abbadi M., Nakatani T., Does Fgf23-klotho activity influence vascular and soft tissue calcification throught regulating phosphate homeostasis? Kidney International. 2008. 74 (5): 566-570.

84. Mittalhenkle A., Gillen D.L., Stehman-Breen C.O., Increased risk of mortality associated with hip fracture in the dialysis population. Am J Kidney Dis. 2004 Oct; 44(4):672-9.

85. Moe S., Dru¨eke T., Cunningham J., Goodman W., Martin K., Olgaard K., Ott S., Sprague S., Lameire N., Eknoyan G., Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO), Kidney Int. 2006 Jun 69(11):1945-53

86. Moe S.M., Drüeke TB, Block GA, KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease - Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD),KidneyIntSuppl,2009 76 (Suppl113):S1–130

87. Murer H., Hernando N., Forster I., Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorbtion: Molecular mechanisms. Physiol Rev 2000, 80:1373-1409

88. Nam H.K., Liu J, Li Y., Kragor A., Hatch N.E., Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase-1 (Enpp1) regulates osteoblast differentiation. J Biol Chem. 2011 Nov 11;286(45):39059-71

89. Neuman W., Bone material and calcification mechanisms. Fundamental and Clinical Bone Physiology, 1980 p. 83–107

90. Novais E., Stevens P.M., Hypophosphatemic rickets: the role of hemiepiphsiodesis. J Pediatr Orthop. 2006;26:238–244

91. O'Brien CA, Jia D, Plotkin LI, et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. Endocrinology 2004, 145:1835–41

92. O'Regan S., Mongeau J.G., Robitaille P. A patient with cystinosis presenting with the features of Bartter syndrome. Acta Paediatr Belg. 1980; 33:51–2

93. Oliveira R.B., Cancela A.L.E., Gracioli F.G. Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy? // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2010. – N 5. – P. 286291

94. Penido M.G., Alon U.S., Phosphate homeostasis and its role in bone health. Pediatr Nephrol. 2012 Nov;27(11):2039-48

95. Pereira R.C., Juppner H., Azucena-Serrano C.E., Yadin O., Salusky I.B., Wesseling-Perry K., Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease.,Bone. 2009 Dec; 45(6):1161-8.

96. Portale A.A., Wolf M., Jüppner H., Messinger S., Kumar J., Wesseling-Perry K., Schwartz G.J., Furth S.L., Warady B.A., Salusky I.B., Disordered FGF23 and mineral metabolism in children with CKD. Clin J Am Soc Nephrol. 2014 Feb;9(2):344-53.

97. Prats M., Font R., Garcia C., Cabre C., Jariod M., Vea A.M., Effect of ferric carboxymaltose on serum phosphate and C-terminal FGF23 levels in non-dialysis chronic kidney disease patients: post-hoc analysis of a prospective study. BMC Nephrol. 2013 14(1): 167

98. Qiang Cai, Inhibition of Renal Phosphate Transport by a Tumor Product in a Patient with Oncogenic Osteomalacia,New England Journal of Medicine. 1994 330(23): 1645-9

99. Quarles L.D., Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. J Clin Invest. 2008 Dec;118(12):3820-8. doi: 10.1172/JCI36479. Epub 2008 Dec 1.

100. Rafaelsen S.H., Raeder H., Fagerheim A.K., Knappskog P., Carpenter T.O., Johansson S., Bjerknes R., Exome sequencing reveals FAM20c mutations associated with fibroblast growth factor 23-related hypophosphatemia, dental anomalies, and ectopic calcification. J Bone Miner Res. 2013; 28(6): 1378–85.

101. Rix M., Andreassen H., Eskildsen P., Bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in patients with predialysis chronic renal failure, Kidney Int. 1999 №56. p. 1084–1093

102. Rowe P.S., Regulation of bone-renal mineral and energy metabolism: the PHEX, FGF23, DMP1, MEPE ASARM pathway.,Crit Rev Eukaryot Gene Expr.,2012;22(1):61-86.

103. Sahay M, Sahay R., Renal rickets-practical approach,Indian J Endocrinol Metab,2013 Oct; 17(Suppl1): S35–S44.

104. Saito T., Fukumoto S., Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) and Disorders of Phosphate Metabolism. Int J Pediatr Endocrinol. 2009;2009:496514

105. Sbrocchi A.M., Rauch F., Matzinger M., Feber J., Ward L.M. Vertebral fractures despite normal spine bone mineral density in a boy with nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol. 2011 Jan;26(1):139-42

106. Schouten B.J., Hunt P.J., Livesey J.H., Frampton C.M., Soule S.G., FGF23 elevation and hypophosphatemia after intravenous iron polymaltose: a prospective study. J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94(7):2332–7.

107. Schwartz G.J., Work D.F. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. J Am Soc Nephrol. 2009; Nov; 4(11): 1832-643

108. Seikaly M.G., Brown R., Baum M., The effect of recombinant human growth hormone in children with X-linked hypophosphatemia. Pediatrics. 1997; 100:879–884.

109. Sgambat K., Moudgil A., Optimization of bone health in children before and after renal transplantation: current perspectives and future directions. Front Pediatr. 2014 Feb 24;2:13.

110. Shimada T., Hasegawa H., Yamazaki Y., FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. J Bone Miner Res. 2004 Mar;19(3):429-35. Epub 2003 Dec 29.

111. Shimada T., Muto T., Urakawa I., Yoneya T., Yamazaki Y., Okawa K. et al., Mutant FGF-23 responsible for autosomal dominant hypophosphatemic rickets is resistant to proteolytic cleavage and causes hypophosphatemia in vivo. Endocrinology. 2002;143:3179–82

112. Shroff R., Phosphate is a vascular toxin. Pediatr Nephrol. 2013 Apr;28(4):583-93

113. Silver J., Naveh-Many T., FGF-23 and secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. Nat Rev Nephrol. 2013 Nov; 9(11):641-9.

114. Sinha M.D., Turner C., Dalton R.N., Rasmussen P., Waller S., Booth C.J., Goldsmith D.J., Investigating FGF-23 concentrations and its relationship with declining renal function in paediatric patients with pre-dialysis CKD Stages 3-5. Nephrol Dial Transplant. 2012 Dec;27(12):4361-8.

115. Siomou E., Stefanidis C.J., FGF-23 in children with CKD: a new player in the development of CKD–mineral and bone disorder. Nephrol Dial Transplant. 2012 27: 4259–4262

116. Smith E.R., Cai M.M., McMahon L.P., Holt S.G., Biological Variability of Plasma Intact and C-Terminal FGF23 Measurements J Clin Endocrinol Metab. 2012 Sep;97(9):3357-65.

117. Srivaths P.R.., Krishnamurthy R., Brunner L., Logan B., Bennett M., Ma Q, Van De Voorde R., Goldstein S.L., Cardiac calcifications are more prevalent in children receiving hemodialysis than peritoneal dialysis. Clin Nephrol. 2014 Apr;81(4):231-7.

118. Srivaths P.R., Goldstein S.L., Krishnamurthy R., Silverstein D.M., High serum phosphorus and FGF 23 levels are associated with progression of coronary calcifications. Pediatr Nephrol. 2014 Jan;29(1):103-9.

119. Srivaths P.R., Goldstein S.L., Silverstein D.M., Krishnamurthy R., Brewer E.D., Elevated FGF 23 and phosphorus are associated with coronary calcification in hemodialysis patients. Pediatr Nephrol. 2011 Jun;26(6):945-51.

120. Stefanidis C.J., Klaus G., Growth of prepubertal children on dialysis. Pediatr Nephrol. 2007 Sep;22(9):1251-9.

121. Takei T., Itabashi M., Tsukada M., Sugiura H., Moriyama T., Kojima C., Shiohira S., Shimizu A., Karasawa K., Amemiya N., Kawanishi K., Ogawa T., Uchida K., Tsuchiya K., Nitta K. Risedronate therapy for the prevention of steroid-induced osteoporosis in patients with minimal-change nephrotic syndrome. Intern Med. 2010, 49(19): 2065-70

122. Tenenhouse H.S. X-linked hypophosphatemia: a homologous disorder in human and mice. Nephrol Dial Transplant. 1999 14(2): 333-41

123. Tilman B Drüeke, Klotho, FGF23, and FGF receptors in chronic kidney disease: a yin–yang situation? Kidney International 2010 78, 1057–1060

124. Tiosano D., Hochberg Z., Hypophosphatemia: the common denominator of all rickets. J Bone Miner Metab. 2009;27(4):392-401

125. Urakawa I., Yamazaki Y., Shimada T., Iijima K., Hasegawa H., Okawa K. et al., Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. Nature. 2006; 444: 770–4.

126. van Husen M., Fischer A.K., Lehnhardt A. et al., Fibroblast growth factor 23 and bone metabolism in children with chronic kidney disease. Kidney Int. 2010; 78: 200–206.

127. Verge C.F., Lam A., Simpson J.M., Cowell C.T., Howard N.J., Silink M.. Effects of therapy in X-linked hypophosphatemic rickets. N Engl J Med. 1991; 325:1843–8.

128. Villa-Bellosta R., Sorribas V., Compensatory regulation of the sodium/phosphate cotransporters NaPi-IIc (SCL34A3) and Pit-2 (SLC20A2) during Pi deprivation and acidosis. Pflugers Arch. 2010 Feb;459(3):499-508.

129. Vimalachandra D., Hodson E.M., Willis N.S. et al., Growth hormone for children with chronic kidney disease. Cochrane Database Syst Rev 2006; 3: CD003264.

130. Wagner C.A., Biber J., Murer H., Of men and mice: who is in control of renal phosphate reabsorption? J Am Soc Nephrol. 2008 19: 1625–6

131. Wan M., Smith C., Shah V., Gullet A., Wells D., Rees L., Shroff R., Fibroblast growth factor 23 and soluble klotho in children with chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2013 Jan; 28(1):153-61.

132. Wang X., Wang S., Li C., Gao T., Liu Y., Rangiani A., Sun Y., Hao J., George A., Lu Y., Groppe J, Yuan B, Feng JQ, Qin C., Inactivation of a novel

FGF23 regulator, FAM20C, leads to hypophosphatemic rickets in mice. PLoS Genet. 2012; 8(5):e1002708.

133. Weber T.J. et al., Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis. J Bone Miner Res. 2003; 18(7):1227-1234.

134. White K.E., Hum J.M., Econs M.J., Hypophosphatemic rickets: revealing novel control points for phosphate homeostasis. Curr Osteoporos Rep. 2014 Sep;12(3):252-62.

135. Wilmer MJ, Schoeber JP, van den Heuvel L.P., Levtchenko E.N. Cystinosis: practical tools for diagnosis and treatment. Pediatr Nephrol. 2011;26: 205–15.

136. Wilson D.M., Lee P.D., Morris A.H., et al, Growth hormone therapy in hypophosphatemic rickets. Am J Dis Child. 1991; 145:1165–1170.

137. Wolf M., Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. J Am Soc Nephrol. 2010 Sep 21(9): 1427-35.

138. Wolf M., Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. Kidney International. 2012 82. P. 737-747

139. Wyss P.A., Boynton S.B., et al: Physiological basis for an animal model of the renal Fanconi syndrome: use of succinylacetone in the rat, Clin Sci (Lond) 83(1):81-87, 1992.

140. Yamashita T., Yoshioka M., Itoh N., Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. Biochem Biophys Res Commun. 2000 Oct 22;277(2):494-8

141. Yan J., Jingbo C., Wang D., Xie S., Yuan L., Zhong X., Hao L., A correlation between decreased parathyroid α-Klotho and fibroblast growth factor receptor 1 expression with pathological category and parathyroid gland volume in dialysis patients. Int Urol Nephrol. 2015 Apr;47(4):701-6.

142. Yang H.M., Mao M.l, Yang F., Wan C., Recombinant growth hormone therapy for X-linked hypophosphatemia in children.,Cochrane Database of Systematic Reviews,2005, Issue 1. Art. No.: CD004447.

143. Zimmerman S.W., Johnson C.A., O'Brien M., Long-term survivors on peritoneal dialysis.,Am J Kidney Dis. 1987 Sep; 10(3):241-9.