

© А.М.Есаян, И.Г.Каюков, А.Н.Нимгирова, Е.Е.Зуева, Т.В.Денисова, О.В.Галкина, 2012  
УДК 616.61-089.843:577.126

*А.М. Есаян<sup>1,2</sup>, И.Г. Каюков<sup>1</sup>, А.Н. Нимгирова<sup>1,2</sup>, Е.Е. Зуева<sup>3</sup>, Т.В. Денисова<sup>2</sup>,  
О.В. Галкина<sup>3</sup>*

## ФАКТОР РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ 23-ГО ТИПА У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА

*A.M. Esayan, I.G. Kayukov, A.N. Nimgirova, E.E. Zuyeva, T.V. Denisova,  
O.V. Galkina*

## FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 IN RENAL ALLOGRAFT RECIPIENTS

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра нефрологии и диализа, <sup>2</sup> СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница №31», Городской центр трансплантации почки, <sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, Россия

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** определить уровень сывороточного фактора роста фибробластов 23 типа (ФРФ23) у реципиентов почечного аллотрансплантата и оценить взаимосвязь уровня ФРФ23 с некоторыми клинико-лабораторными показателями в ранние и отдаленные сроки после аллотрансплантации трупной почки (АТПП). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование были включены 46 реципиентов почечного аллотрансплантата, из них 21 пациент со сроком послеоперационного периода на момент проведения исследования до 24 мес (группа 1) и 26 пациентов, у которых этот период превышал 24 мес (группа 2). Всем больным были выполнены: комплекс лабораторных исследований, ультразвуковое исследование почечного аллотрансплантата, определение уровня сывороточного ФРФ23 методом иммуноферментного анализа. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В первой группе выявлены статистически значимые корреляции между уровнем сывороточного ФРФ23 и клинико-лабораторными показателями. Уровень ФРФ23 прямо коррелировал с возрастом пациентов ( $r=0,472$ ;  $p=0,031$ ), длительностью заместительной почечной терапии (ЗПТ) до АТПП ( $r=0,474$ ;  $p=0,030$ ), уровнем систолического артериального давления (АДс) ( $r=0,482$ ;  $p=0,027$ ), скоростью оседания эритроцитов (СОЭ) ( $r=0,753$ ;  $p<0,0001$ ), креатинином ( $r=0,523$ ;  $p=0,015$ ), мочевиной ( $r=0,483$ ;  $p=0,026$ ), натрием ( $r=0,634$ ;  $p=0,002$ ), мочевой кислотой ( $r=0,712$ ;  $p<0,0001$ ), триглицеридами ( $r=0,476$ ;  $p=0,029$ ), глюкозой ( $r=0,494$ ;  $p=0,023$ ), щелочной фосфатазой сыворотки ( $r=0,506$ ;  $P=0,019$ ) и протеинурией ( $r=0,615$ ;  $P=0,003$ ). Высокие уровни ФРФ23 были отмечены у пациентов с более низкими значениями СКФ ( $r=-0,493$ ;  $p=0,023$ ). Отмечена обратная связь ФРФ23 с уровнем фосфора ( $r=-0,439$ ;  $p=0,046$ ). Во второй группе ФРФ23 достоверно нарастал по мере ухудшения функции аллотрансплантата: положительная корреляция с креатинином сыворотки ( $r=0,430$ ,  $p=0,031$ ) и обратная с СКФ ( $r=-0,542$ ,  $p=0,005$ ). Нарастание протеинурии было сопряжено с высоким уровнем ФРФ23 ( $r=0,637$ ,  $p=0,001$ ). Во второй группе сывороточный фосфор прямо коррелировал с ФРФ23 ( $r=0,413$ ,  $p=0,04$ ) (рис. 2). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В ранние сроки после АТПП отмечается снижение уровня ФРФ23 по мере нормализации показателей фосфорно-кальциевого гомеостаза, тогда как в дальнейшем, по мере прогрессирования нефропатии в трансплантате, нарушения фосфорно-кальциевого обмена нарастают, приводя к повышенному синтезу ФРФ23. Возможно, в будущем ФРФ 23 станет новой терапевтической мишенью для улучшения результатов в посттрансплантационном периоде.

### Ключевые слова:

### ABSTRACT

**AIM:** to estimate level of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in renal allograft recipients and to evaluate interaction between FGF23 level and some clinical laboratory factors in early and long date after cadaver renal allografting (CRA). **PATIENTS AND METHODS.** Research included 46 renal allograft recipients, where 21 patient's postoperative period was less than 24 months on the research period (group 1) and 26 patients with postoperative period more than 24 months (group 2). All patients were performed laboratory research complex, renal allograft ultrasound, serum FGF23 level detection by enzyme-linked immunoelectrodiffusion essay. **RESULTS.** In group 1 revealed statistically significant correlations between serum FGF23 level and clinical laboratory factors. FGF23 level directly correlate with age of patients ( $r=0,472$ ;  $P=0,031$ ), renal replacement therapy (RRT) duration before CRA ( $r=0,474$ ;  $P=0,030$ ), systolic blood pressure (BPs) level ( $r=0,482$ ;  $P=0,027$ ), erythrocyte sedimentation rate (ESR) ( $r=0,753$ ;  $P<0,0001$ ), creatinine ( $r=0,523$ ;  $P=0,015$ ), urea ( $r=0,483$ ;  $P=0,026$ ), sodium ( $r=0,634$ ;  $P=0,002$ ), uric acid ( $r=0,712$ ;  $P<0,0001$ ), triglycerides ( $r=0,476$ ;  $P=0,029$ ), glucose ( $r=0,494$ ;  $P=0,023$ ), serum alkaline phosphatase ( $r=0,506$ ;  $P=0,019$ ) and proteinuria ( $r=0,615$ ;  $P=0,003$ ). High levels of FGF23 were noticed in patients with lower GFR values ( $r=-0,493$ ;  $P=0,023$ ). FGF23 feedback with phosphor level was noticed ( $r=-0,439$ ;  $P=0,046$ ). In second group FGF23 authentically increased in proportion to allograft function deterioration: direct correlation with serum creatinine ( $r=0,430$ ;  $P=0,031$ ) and invert correlation with GFR ( $r=-0,542$ ,  $P=0,005$ ). Proteinuria augmentation was involved with high level of FGF23 ( $r=0,637$ ,  $P=0,001$ ). In second

Каюков И.Г. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 17, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, НИИ нефрологии. Тел. (812) 346-39-26, E-mail: kaukov@nephrolog.ru

group serum phosphor directly correlated with FGF23 ( $r=0,413$ ,  $P=0,04$ ) (fig. 2). **CONCLUSION.** In early periods after CRA noticed FGF23 level decreasing in proportion to phospho-calcium homeostasis factors normalization, when in the following in proportion to nephropathy progression in transplant, phospho-calcium metabolic imbalances increase, leading to increased FGF23 synthesis. Maybe in future FGF23 will become new therapeutic target for results improvement in postoperative period.

**Key words:** cadaver renal allografting, fibroblast growth factor 23, allograft nephropathy.

## ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки, несомненно, является наиболее предпочтительным методом лечения пациентов с терминальной почечной недостаточностью (ТПН), число которых прогрессивно растет во всем мире. Успешная пересадка почки позволяет достичь у пациента почечной функции, близкой к норме, исключает зависимость пациента от диализных методов лечения и существенно продлевает его жизнь [1]. За последние десятилетия благодаря успехам хирургических подходов, режимов иммуносупрессии, профилактики оппортунистической инфекции отмечается неуклонное повышение выживаемости как реципиента, так и почечного аллотрансплантата [2]. В результате этого кардиоваскулярная заболеваемость и смертность, а также потеря трансплантата на поздних стадиях, стали более значимыми факторами конечных исходов для трансплантированных больных, чем эпизоды отторжения трансплантата на ранних стадиях и инфекционные осложнения [3].

При хронической болезни почек (ХБП) характерным проявлением нарушения фосфорно-кальциевого обмена является повышенный уровень фактора роста фибробластов 23 (ФРФ23) – фосфатурического гормона впервые открытого около 12 лет назад. Нарастание уровня ФРФ23 позволяет поддерживать уровень фосфатов в сыворотке в пределах физиологических значений по мере прогрессирования ХБП, вплоть до достижения тХПН. Однако, несмотря на положительную роль в поддержании гомеостаза фосфатов в организме, повышенный уровень ФРФ23 строго ассоциируется с неблагоприятным кардиоваскулярным и почечным прогнозом [4–6]. В первую очередь это касается больных на программном диализе, у которых концентрация ФРФ23 в сыворотке крови в сотни раз превышает референтные значения [7].

После успешной аллотрансплантации почки у 90% пациентов развиваются гипофосфатемия и гиперкальциемия вследствие фосфатурического эффекта, сохраняющегося высокого уровня ФРФ23 [8]. Для обозначения такого состояния в последнее время используется термин «гиперфосфатонинизм» [8]. В последующем, по мере нормализации фосфорно-кальциевого гомеостаза, благо-

даря восстановлению почечной функции у большинства реципиентов почечного аллотрансплантата уровень ФРФ23 существенно снижается, приближаясь к нормальным значениям примерно через 12 мес. после аллотрансплантации трупной почки (АТТП) [9]. Тем не менее, далеко не всегда функциональные возможности трансплантированной почки эквивалентны таковым у здорового человека. Кроме того, со временем функция аллотрансплантата постепенно угасает, так как происходит естественное прогрессирование ХБП. Существенную лепту вносят эпизоды отторжения, препараты, постоянно принимаемые пациентами для целей иммуносупрессии [10]. Все это закономерно должно привести к повторному витку гемодинамических и метаболических нарушений, включая развитие гиперфосфатонинизма.

В связи с изложенным, целью нашей работы явилось исследование факторов, влияющих на уровень ФРФ-23 у пациентов на ранних и отдаленных сроках после аллотрансплантации.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

*Общая характеристика больных.* В исследование были включены 46 реципиентов почечного аллотрансплантата в Городском центре трансплантации почки на базе городской клинической больницы №31 Санкт-Петербурга. Всем пациентам была выполнена АТТП впервые. В число исследуемых вошли 23 мужчины и 23 женщины в возрасте от 18 до 57 лет. Длительность заместительной почечной терапии (ЗПТ) до операции составила от 5 до 192 мес. Число пациентов, получавших перитонеальный диализ, – 8, программный гемодиализ – 38.

В зависимости от сроков послеоперационного периода пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу составили 21 реципиент почечного аллотрансплантата, у которых послеоперационный период не превышал 24 мес (минимальный период после операции 11 мес), во вторую группу были включены 25 пациентов, у которых, соответственно, послеоперационный период превышал 24 мес (максимальный период 146 мес).

*Клинико-лабораторные исследования.* У пациентов выполнялся стандартный комплекс исследований, обязательно включавший в себя определе-

Таблица 1

**Клинико-лабораторные показатели в группах сравнения (M±σ)**

Показатели	Первая группа	Вторая группа	p
Возраст, лет	39±10,5	37±11,1	НД
Длительность ЗПТ до АТТП, мес.	59,7±61,7	43,3±38,8	НД
АДс, мм рт. ст.	126±7	124±6	НД
АДд, мм рт. ст.	80±5	78,8±7	НД
Hb, г/л	125±12,6	123,3±19,4	НД
S Cr, мкмоль/л	0,167±0,07	0,152±0,08	НД
рСКФ, мл/мин	43,47±19,25	45,84±17,76	НД
S Pi, ммоль/л	1,05±0,16	1,02±0,22	НД
Протеинурия, г/л	0,07±0,07	0,03±0,07	НД

Таблица 2

**Коэффициенты линейной корреляции Пирсона между сывороточным уровнем ФРФ23 и клинико-лабораторными показателями в первой группе (n=21). Представлены только значимые коэффициенты**

	Коэффициент линейной корреляции Пирсона	
	r	p
Возраст, лет	0,472	0,031
Длительность ЗПТ до АТТП, мес	0,474	0,030
АДс, мм рт. ст.	0,483	0,027
СОЭ, мм/ч	0,753	<0,0001
S Cr, ммоль/л	0,523	0,015
СКФ по MDRD, мл/мин	-0,493	0,023
S Ur, ммоль/л	0,483	0,026
S ТГЦ, ммоль/л	0,476	0,029
S Na, ммоль/л	0,634	0,002
S Pi, ммоль/л	-0,439	0,046
S Glu, ммоль/л	0,494	0,023
S ЩФ, ЕД/л	0,506	0,019
S мочевиная кислота, ммоль/л	0,712	<0,0001
Протеинурия, г/л	0,615	0,003

ние концентрации креатинина, мочевины, неорганического фосфора и общего кальция в сыворотке крови. На основании концентрации сывороточного креатинина у всех больных рассчитывалась скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по краткой формуле MDRD [11].

Регулярно выполнялись общий анализ мочи, клинический анализ крови, показатели липидограммы сыворотки крови. Также оценивалась протеинограмма сыворотки крови, при этом определялась концентрация сывороточного альбумина в абсолютном выражении (г/л), кроме того, у всех пациентов оценивали уровень мочевины, концентрацию сывороточного железа, функциональные показатели печени.

Все клинико-биохимические исследования проводились общепринятыми методами с использованием стандартных лабораторных автоанализаторов.

Уровни АД измерялись у пациентов во время их пребывания в стационаре и на ежемесячном амбулаторном приеме. Поскольку параметры АД достаточно лабильны, в расчет принимались величины систолического (АДс), диастолического (АДд) и среднего (САД) АД, измеренные при поступлении больного в лечебное учреждение для выполнения операции (АДс до ТП, АДд до ТП), через месяц после последней (АДс через месяц, АДд через месяц), а также через год. Кроме того, использовались уровни АД, измеренные в день забора крови на ФРФ23 (АДс и ФРФ23, АДд и ФРФ23).

Количественно *in vitro* определяли человеческий ФРФ23 методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием стандартного набора (Human FGF-23 ELISA Kit, «Millipore», США).

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Различия признавались достоверными при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту, длительности ЗПТ до АТТП, уровню АДс и АДд, креатинина сыворотки, фосфора, гемоглобина, СКФ, протеинурии (табл. 1).

Также отсутствовали статистически значимые отличия по уровню ФРФ23 в первой и второй группах, что неудивительно ввиду значительного разброса данных (от 1,0 до 72,5 пг/мл). Однако при проведении корреляционного статистического анализа были выявлены ряд закономерностей. В табл. 2 представлены статистически значимые корреляции между уровнем сывороточного ФРФ23 и клинико-лабораторными показателями в первой группе.

Уровень ФРФ23 прямо коррелировал с возрастом пациентов, длительностью ЗПТ до АТТП, уровнем АДс, СОЭ, креатинином, мочевиной, мочевой кислотой, натрием, триглицеридами, глюкозой, щелочной фосфатазой сыворотки, протеинурией. Высокие уровни ФРФ23 были отмечены у пациентов с более низкими значениями СКФ. Отмечена обратная связь ФРФ23 с уровнем фосфора (рис. 1).

Во второй группе ФРФ23 достоверно нарастал по мере ухудшения функции аллотрансплантата: положительная корреляция с креатинином сыворотки ( $r=0,430$ ,  $p=0,031$ ) и обратная с СКФ ( $r=-0,542$ ,  $p=0,005$ ). Нарастание протеинурии также было сопряжено с высоким уровнем ФРФ23 ( $r=0,637$ ,  $p=0,001$ ). В отличие от первой группы, во второй группе сывороточный фосфор уже прямо коррелировал с ФРФ23 ( $r=0,413$ ,  $p=0,04$ ) (рис. 2).

По данным ультразвукового исследования почечного аллотрансплантата была обнаружена статистически достоверная обратная корреляция между ФРФ23 и длиной почки во второй группе ( $r=-0,521$ ,  $p=0,008$ ), тогда как в первой группе такой зависимости мы не обнаружили.

### ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время пристальное внимание уделяется роли ФРФ23 в поддержании фосфорно-кальциевого гомеостаза. Концентрация фосфатурического гормона ФРФ23 в сыворотке крови повышается уже на ранних стадиях ХБП, задолго до развития гиперфосфатемии, являясь ранним предиктором нарушений метаболизма фосфата при ХБП [8].

После успешной АТПП у подавляющего большинства пациентов развивается гипофосфатемия и гиперкальциемия вследствие сохраняющегося высокого уровня ФРФ23, которое, как уже отмечалось выше, получило в последнее время обозначение «гиперфосфатонинизм» [7]. Однако постепенно, по мере восстановления фосфорно-кальциевого гомеостаза, благодаря наличию адекватной почечной функции у большинства реципиентов почечного аллотрансплантата уровень ФРФ23 существенно снижается. Тем не менее, далеко не всегда функциональные возможности трансплантированной почки эквивалентны таковым у здорового человека. Со временем функция аллотрансплантата постепенно угасает, так как происходит естественное прогрессирование ХБП.

Полученные нами результаты разнонаправленной зависимости между ФРФ23 и уровнем фосфатов на ранних сроках после АТПП и в более поздние сроки (через 2 года и более после операции) подтвердили наличие вышеописанного явления «гиперфосфатонинизма». Если в ранние сроки отмечается снижение уровня ФРФ23, по мере нормализации показателей фосфорно-кальциевого гомеостаза, то в дальнейшем, по мере прогрессирования нефропатии в трансплантате, нарушения фосфорно-кальциевого обмена нарастают, приводя к повышенному синтезу ФРФ23. Об этом свидетельствует уже прямая корреляция между уровнем фосфора и ФРФ23 во второй группе с более длительными сроками после АТПП (в отличие от первой группы). Негативная корреляция ФРФ23 с длиной почечного аллотрансплантата и прямая с выраженностью протеинурии также косвенно подтверждают наше предположение.

С.Р. Sanchez и соавт. [12] при гистоморфометрическом исследовании кости у детей-реципиентов

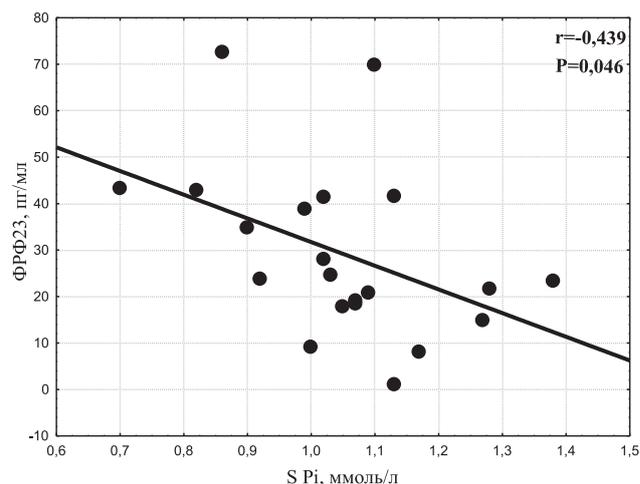


Рис. 1. Зависимость между уровнем ФРФ23 и фосфором неорганическим сыворотки в группе 1.

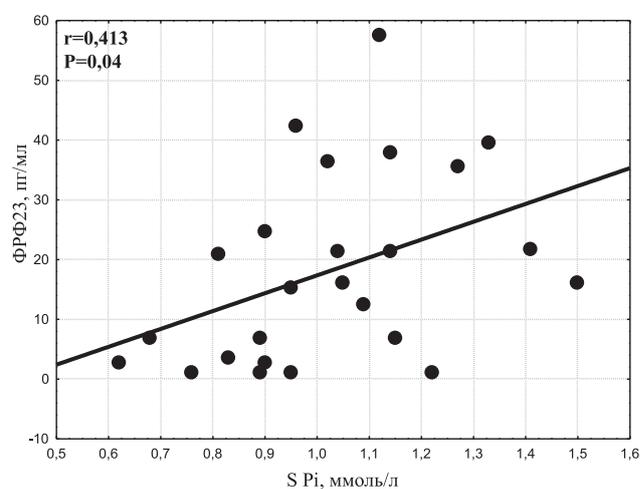


Рис. 2. Зависимость между уровнем ФРФ23 и фосфором неорганическим сыворотки в группе 2.

почечного аллотрансплантата выявили высокую распространенность дефектов минерализации.

Риск переломов среди реципиентов значительно выше, чем в общей популяции [13], распространенность переломов бедра у реципиентов также выше, чем у диализных пациентов [14].

Индукцированная ФРФ23 фосфатурия может привести к деминерализации костей, что, в сочетании с иммуносупрессивной терапией глюкокортикоидными препаратами, ФРФ23, опосредованным ингибированием синтеза 1,25-дигидроксивитамина D, приведет к развитию остеопороза и, как следствие, увеличению риска переломов [15]. Мы не ставили задачу изучения минеральной плотности костей у наших пациентов, однако прямая корреляция между уровнем ФРФ23 и сывороточной щелочной фосфатазой в первой группе пациентов позволяет косвенно подтвердить данную гипотезу.

Из полученных результатов следует, что, возможно, в будущем ФРФ23 станет новой терапевтической мишенью для улучшения результатов в посттрансплантационном периоде.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ранние сроки после АТПП отмечается снижение уровня ФРФ23 по мере нормализации показателей фосфорно-кальциевого гомеостаза, тогда как в дальнейшем, по мере прогрессирования нефропатии в трансплантате, нарушения фосфорно-кальциевого обмена нарастают, приводя к повышенному синтезу ФРФ23. Возможно, в будущем ФРФ 23 станет новой терапевтической мишенью для улучшения результатов в посттрансплантационном периоде.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL. et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999; 341: 1725-1730
2. Pascual M, Theruvath T, Kawai T. et al. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002; 346: 580-590
3. Howard RJ, Patton PR, Reed AI. Et al. The changing causes of graft loss and death after kidney transplantation. *Transplantation* 2002; 73: 1923-1928,
4. Mirza MA, Hansen T, Johansson L. et al. Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3125-3131
5. Mirza MA, Larsson A, Melhus H. et al. Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis* 2009; 207: 546-551
6. Levi M. Post-transplant hypophosphatemia. *Kidney Int* 2001; 59:2377- 2387
7. Heine GH, Seiler S, Fliser D. FGF-23: The Rise of a Novel Cardiovascular Risk Marker in CKD. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27(8):3072-3081
8. Gutierrez O, Isakova T, Rhee E. et al. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2205-2215
9. Evenepoel P, Meijers BKI, de Jonge H. et al. Recovery of Hyperphosphatemia and Renal Phosphorus Wasting One Year after Successful Renal Transplantation. *CJASN* 2008; 3 (6) 1829-1836
10. Howard RJ, Patton PR, Reed AI. et al. The changing causes of graft loss and death after kidney transplantation. *Transplantation* 2002; 73: 1923-1928.
11. Levey AS, Greene T, Beck GJ. et al. Dietary protein restriction and the progression of chronic renal disease: what have all of the results of the MDRD shown? Modification of Diet in Renal Disease Study group. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2426-2439
12. Sanchez CP, Salusky IB, Kuizon BD. et al. Bone disease in children and adolescents undergoing successful renal transplantation. *Kidney Int* 1998; 53: 1358-1364
13. Kidney Disease: Improving Global Outcome (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 2009; 113 Suppl: S1-S130
14. Ball AM, Gillen DL, Sherrard D et al. Risk of hip fracture among dialysis and renal transplant recipients. *JAMA* 2002; 288: 3014-3018
15. Ramezani M, Einollahi B, Asl MA. et al. Calcium and phosphorus metabolism disturbances after renal transplantation. *Transplant Proc* 2007; 39:1033-1035

Поступила в редакцию 24.09.2012 г.

Принята в печать 11.10.2012 г.