

КУЗЯРОВА АНГЕЛИНА СЕРГЕЕВНА

**РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ МЫШЕЧНОГО КАТАБОЛИЗМА У
ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЗАМЕСТИТЕЛЬНУЮ
ПОЧЕЧНУЮ ТЕРАПИЮ**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Ставрополь – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Батюшин Михаил Михайлович

Официальные оппоненты:

Болотова Елена Валентиновна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапии №1 ФПК и ППС, профессор кафедры

Дзгоева Фатима Урузмаговна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра внутренних болезней № 5, профессор кафедры

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «17» декабря 2019 г. в 11.30 часов на заседании диссертационного совета Д 208.098.01 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (355017, Ставрополь, ул. Мира, 310).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Ставропольского государственного медицинского университета и на сайте www.stgmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Калмыкова Ангелина Станиславовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Распространенность хронической болезни почек (ХБП) составляет 13% взрослого населения и на сегодняшний день отмечается тенденция к ее постоянному росту (K/DOQI, 2000). В структуре ХБП весомую долю составляют пациенты с терминальной стадией почечной недостаточности, получающие заместительную почечную терапию (ЗПТ). По данным отчета Российского национального регистра за 2015г (Томилина Н.А и др., 2017), отмечается ежегодное увеличение данной когорты населения более чем на 11,5%, что превышает общемировую практику. Ведущим методом ЗПТ по-прежнему остается гемодиализ (ГД).

Однако выживаемость пациентов, получающих лечение ГД зависит от присоединения и прогрессирования сопутствующей патологии. Одной из которых является нарушение пищевого статуса, проявляющееся в виде белково-энергетической недостаточности (БЭН). По различным данным, вне зависимости от возраста, характера первичной почечной патологии, диализного «стажа» БЭН регистрируют у 20-70% больных на ГД (Ветчинникова О.Н., Пичугина И.С., 2015; Румянцев А.Ш., Вишневский К.А., 2015).

В свою очередь, нарушение нутритивного статуса данной когорты пациентов ассоциировано с развитием мышечной слабости, нарушением функции иммунной, кроветворной и других систем организма, что значительно ухудшает качество жизни и оказывает существенное влияние на прогноз диализных больных (Ветчинникова О.Н., Пичугина И.С., 2015).

Основной причиной развития нарушений белково-энергетического обмена является синдром гиперметаболизма-гиперкатаболизма, сопровождающийся повышенным распадом тканевых белков на фоне системного истощения энергетических резервов. Триггерную роль в нарушении метаболизма играют воспалительный процесс, инсулинорезистентность, алиментарные нарушения, активация эндогенных катаболических систем, приводящие к нарушению процессов синтеза и деградации протеинов (Mak R. et al., 2011; Wang X., Mitch W., 2014).

Регулирование баланса мышечного белка при уремии является сложным процессом и включает в себя несколько механизмов. Из них АТФ-зависимый убиквитин-протеосомный путь выделяется как основная причина повышенной деградации скелетных мышц при ХПН. Одними из основных регуляторов описанного катаболического каскада являются миостатин (MSTN) и протеинкиназа β (АКТ) (Thomas S., Mitch W., 2013).

Несмотря на клиническую значимость БЭН, на сегодняшний день нет четких рекомендаций по ее диагностике, а маркеры белкового истощения находятся на стадии изучения и внедрения в реальную клиническую практику (Pajek M. et al., 2018).

Избирательные структурные изменения и выраженная мышечная дисфункция при наличии нормальной физиологии скелетных мышц являются основными проявлениями БЭН и связанной с ней саркопенией у пациентов

на гемодиализе (Schardong J. et al., 2018). Поскольку по мере диализной терапии у больных, как правило, наблюдается уменьшение мышечной массы и увеличение количества жировой клетчатки, представляется целесообразным не только проведение лабораторных методов исследования, но и динамическое определение компонентного состава тела, включающее анализ антропометрических данных, комплексную оценку нутритивного статуса и результатов функциональных проб, а также использование биоимпедансометрического анализа как наиболее оптимального метода оценки компонентного состава тела.

Степень разработанности темы исследования. Проблема диагностики нарушений нутритивного статуса у пациентов, получающих терапию гемодиализом в последние годы привлекает большое внимание как отечественных (Ветчинникова О.Н., 2015; Смирнов А.В. и соавт., 2017) так и зарубежных авторов (Carrero J. et al., 2013; Koyun D. et al., 2018; Schardong J. et al., 2018). Особая роль отводится поиску универсальных лабораторных маркеров, способных отражать степень белково-энергетической недостаточности без использования трудоемких или дорогостоящих инструментальных методик (Wang, D. et al., 2014; Cohen S. et al., 2015; Pajek M. et al., 2018). Весомая ниша среди всего диагностического поиска отводится молекулам, участвующим в обмене мышечной ткани: миостатину (Zhang, L. et al., 2011), протеинкиназе- β (Sharma, M. et al., 2015), m-TOR (Гасанов М.З., 2018) и др., экспрессия которых была изменена в условиях уремии на животных моделях.

На сегодняшний день остается актуальной изучение динамики маркеров мышечного метаболизма у пациентов с хронической почечной недостаточностью, что является актуальным в отношении диагностики и перспектив дальнейшей терапии БЭН у диализных больных.

Таким образом, недостаточная научная разработанность описанной проблемы определила тему, цели и задачи данного исследования.

Цель исследования - оптимизация диагностики и профилактики развития белково-энергетической недостаточности на основе изучения регуляции мышечного метаболизма у больных с хронической болезнью почек, получающих терапию программным гемодиализом.

Задачи исследования:

1. Оценить распространенность и выраженность белково-энергетической недостаточности, определив ассоциированные с ней объективные параметры у пациентов, получающих гемодиализ.
2. Определить факторы риска снижения мышечной силы как клинического проявления белково-энергетической недостаточности у пациентов на программном гемодиализе.
3. Определить факторы, влияющие на экспрессию молекулярных маркеров мышечного метаболизма как предикторов белково-энергетической недостаточности и мышечной дисфункции у больных с терминальной почечной недостаточностью на гемодиализе.

4. Провести комплексную оценку миостатин-протеинкиназа- β -опосредованного пути в регуляции снижения мышечной функции у пациентов с нарушением нутритивного статуса на фоне хронической почечной недостаточности.

5. Оценить влияние особенностей пищевого рациона на развитие и прогрессирование белково-энергетической недостаточности у больных, находящихся на хроническом гемодиализе.

Научная новизна исследования. Впервые были одновременно исследованы уровни миостатина и протеинкиназы- β в качестве молекулярных маркеров мышечного метаболизма у пациентов с ХБП 5Д стадии, проанализировано их комплексное и изолированное влияние на развитие БЭН и ее проявлений. Впервые установлено отрицательное влияние на уровень АКТ уменьшения калорийности пищевого рациона в выходной день и потребления белка в день между процедурами гемодиализа, когда должны быть восполнены основные нутриционные резервы организма. В свою очередь, повышение уровня миостатина связано с избыточным калоражем в день проведения ГД.

Впервые определено, что прием кетоаналогов аминокислот, железосодержащих препаратов и активных метаболитов витамина Д связан с повышенным уровнем MSTN у больных с ХПН, что отражает участие нарушений фосфорно-кальциевого обмена, железодефицитной анемии в патогенезе БЭН.

На основании сывороточных уровней MSTN и АКТ нами предложен оригинальный индекс катаболизма мышечной ткани (ИКМТ), отражающий состояние мышечного обмена. Впервые показано, что рост ИКМТ в виде повышения MSTN и снижения АКТ, в большей степени, чем изолированное изменение этих параметров, отражает катаболическую направленность процессов мышечного метаболизма в условиях уремии, что способствует прогрессированию БЭН и развитию мышечной слабости.

Впервые определено, что высокие значения ИКМТ сопровождаются снижением сердечно-сосудистой выживаемости (критерий выживаемости в анализе Kaplan-Meier – хроническая сердечная недостаточность) и повышением риска развития БЭН у диализных пациентов.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Проведено комплексное изучение взаимосвязи клинико-лабораторных и инструментальных признаков с развитием БЭН и ее клинического проявления в виде снижения мышечной силы. Определены отрицательные корреляции антропометрических показателей массы тела, окружности мышц плеча и толщины кожной складки над трицепсом с развитием нарушения нутритивного статуса.

При развитии БЭН было продемонстрировано изменение компонентного состава тела по данным биоимпедансометрии в виде уменьшения жировой, безжировой, активной клеточной массы тела, показателей водных сред организма. Снижение мышечной силы ассоциировалось с увеличением жировой и снижением безжировой массы при биоимпедансометрии (БИМ).

При этом важная роль в развитии мышечной дисфункции на фоне других факторов риска (женский пол, возраст, увеличение массы тела, гиперхолистеринемия, гипоальбуминемия, снижение креатинина крови) принадлежит гиперэкспрессии MSTN.

Комплексное воздействие повышения MSTN и уменьшения АКТ, выраженное нами в виде ИКМТ, на нарастание нарушений нутритивного статуса позволяют использовать данный параметр в клинической практике. Оценка клинико-лабораторных показателей, влияющих на рост предложенного индекса у пациентов с ХБП 5Д стадии (С-реактивный белок, трансферрин, нормализованная скорость катаболизма белка, индекс массы тела) позволяет уточнить группу высокого риска развития и прогрессирования БЭН.

Таким образом, результаты анализа полученных данных, позволили усовершенствовать подход к диагностике БЭН у больных с ХПН, получающих терапию гемодиализом, что может быть использовано в реальной клинической практике. Проведенная оценка сывороточных концентраций MSTN и АКТ, а также спектр факторов, определяющих их уровень в нашем пилотном исследовании, дает перспективу для изучения теоретического потенциала данных маркеров на большей выборке.

Методология и методы исследования. Комплекс принципов и подходов исследовательской деятельности, на которых базировалось проведенное исследование, включал последовательное выполнение теоретического и эмпирического этапов. На первом этапе был осуществлен поиск и анализ литературных данных на тему участия маркеров мышечного катаболизма в патогенезе БЭН. Для дальнейшего исследования были выбраны миостатин и протеинкиназа- β - биологические молекулы, играющие наиболее значимую роль в процессах активации катаболизма мышечной ткани, в том числе у пациентов с терминальной ХПН. Основной задачей второго этапа являлось подтверждение выдвинутой научной гипотезы. Для решения поставленной задачи проводился анализ анамнестических, клинических, лабораторных данных, включающий помимо стандартных лабораторных исследований определение уровня сывороточных MSTN и АКТ; проведение антропометрии и инструментального исследования в виде динамометрии и биоимпедансного анализа. Протокол исследования одобрен локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием параметрических и непараметрических методов статистики, методов дисперсионного, корреляционного, регрессионного анализов, применение которых позволило сделать соответствующие выводы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. У пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих терапию программным гемодиализом, отмечается высокая распространенность белково-энергетической недостаточности, одним из

прогностически значимых проявлений которой является снижение мышечной силы. Общая оценка нутритивного статуса включает в себя использование клинических, антропометрических, инструментальных, а также лабораторных методов обследования, которые помимо рутинных анализов предполагают определение концентрации маркеров мышечного метаболизма.

2. У больных с хронической почечной недостаточностью нарушение баланса сывороточных концентраций миостатина и протеинкиназы- β приводит к активации катаболических процессов, что определяется особенностями рациона питания, наличием и прогрессированием сопутствующей патологии в виде вторичного гиперпаратиреоза, железодефицитной анемии. Повышение уровня миостатина в крови также взаимосвязано со снижением мышечной силы у пациентов на гемодиализе.

3. Комплексная оценка катаболической направленности вектора мышечного метаболизма с использованием индекса катаболизма мышечной ткани позволяет выявить факторы, влияющие на развитие белково-энергетической недостаточности, в частности: показатели системного воспалительного ответа, параметры функционального состояния периферической скелетной мускулатуры, особенности рациона диализных больных.

4. Определено влияние повышения индекса катаболизма мышечной ткани на выживаемость у пациентов с нутритивным дисбалансом при наличии сопутствующей патологии. Проведена оценка информативности разработанных подходов к диагностике белково-энергетической недостаточности. Предложены модели для прогнозирования риска развития белково-энергетической недостаточности и снижения мышечной силы как основного ее проявления, имеющего важное влияние на прогноз.

Степень достоверности результатов. Обследование достаточного количества пациентов с применением современных методов диагностики и лечения, а также использование наиболее адекватных способов медико-биологической статистики для обработки полученных данных позволяют судить о достоверности описанных результатов и выводов. Полученные в исследовании результаты соответствуют передовым представлениям по изучаемой проблематике и соотносятся с данными других авторов.

Практическое использование полученных результатов. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедрах внутренних болезней №1 и №2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, нашли практическое применение в работе нефрологического отделения клиники ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, центра амбулаторного диализа Фрезениус Медикал Кеа ООО «Гемодиализный центр Ростов».

Публикации и апробация результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 2 журнальные статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации и 1 статья в издании, индексируемом в Scopus.

Результаты диссертационного исследования представлены в материалах IV съезда нефрологов Юга России (Ростов-на-Дону, 2019); на III всероссийской конференции молодых терапевтов в номинации «Конкурс на лучшую научную работу» устное выступление по материалам работы заняло 2 место (Москва, 2019); в материалах III терапевтического форума «Мультидисциплинарный больной» (Москва, 2019); на всероссийском 13 терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2019); на XXII международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2019); на VI научно-практической конференции молодых ученых, посвященной проблемам внутренней патологии «Воробьевские чтения» (Ростов-на-Дону, 2019); на XIV всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием по актуальным вопросам внутренней патологии «Завадские чтения» (Ростов-на-Дону, 2019); на межрегиональной конференции терапевтов южного федерального округа «Инновационные технологии в терапии: от клинических исследований к практике» (Ростов-на-Дону, 2018).

Апробация диссертационной работы проведена на совместном заседании кафедры внутренних болезней № 2 и научно-координационного совета «Научно-организационные основы профилактики, диагностики и лечения основных заболеваний внутренних органов» ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 141 странице компьютерного текста, содержит 26 таблиц, 45 рисунков, имеет 4 приложения. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический список включает в себя 132 работы, из которых 19 отечественных и 113 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Исследование одномоментное, когортное выполнено на кафедре внутренних болезней №2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, в нефрологическом отделении клиники ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, в амбулаторном центре хронического гемодиализа Фрезениус Медикал Кеа ООО «Гемодиализный центр Ростов», лаборатории медицинского центра ООО «НАУКА» г. Ростова-на-Дону.

Обследование пациентов проводилось на всех описанных базах по единому протоколу, включающему тщательный сбор жалоб, данных анамнеза, учитывающему наличие сопутствующих заболеваний и стаж пациента на ЗПТ. Помимо стандартных лабораторных анализов с целью диагностики воспалительной нагрузки проводилось определение С-реактивного белка, β 2-микроглобулина, абсолютного числа лимфоцитов. С помощью интернет-калькуляторов определялось общее количество баллов по модифицированной шкале Glasgow. Были учтены параметры эффективности

диализной терапии: коэффициент снижения мочевины и доза диализа (eKt/V), определялся белковый эквивалент выведения азота (PCR_n), характеризующий скорость катаболизма белка в организме. Определение уровней сывороточных MSTN и АКТ проводилось методом полуколичественного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов Myostatin ELISA Kit (США) и Protein Kinase B Beta ELISA Kit (США). Стадия БЭН устанавливалась на основании комплексной методики в модификации G.L. Bilbrey и T.L. Cohen.

Антропометрическое обследование включало в себя измерение роста и веса пациента для расчета ИМТ и процента отклонения от идеального веса; измерение сантиметровой лентой окружности талии, бедер, шеи, плеча, запястья. С использованием специального циркуля-калипера измерялась толщина кожной складки над трицепсом, бицепсом, над лопаткой, в подвздошной области с целью подсчета процентного содержания жировой ткани по методу Durnin J.V., Womersley J.

Для определения функционального состояния мышечной ткани использовалась кистевая динамометрия (ДМЭР-120-0,5, Россия). Для оценки работоспособности нижних конечностей проводили пробу с поднятием ноги, где более 60 секунд в устойчивом положении считали нормой. Определение компонентного состава тела проводилось с использованием биоимпедансометра «Диамант АИСТ-мини» (Россия).

Оценка состояния питания проводилась на основании анализа 3-х дневных дневников питания, заполненных самими пациентами.

Клиническая характеристика обследованных больных. Критериями включения в исследование был возраст пациентов от 18 до 80 лет с установленным диагнозом хронической болезни почек 5 диализной стадии (ХБП 5Д), коррекция почечной дисфункции осуществлялась методом программного гемодиализа.

Критериями исключения являлось наличие у обследуемого ХБП 1-4 стадии или ХБП 5 стадии, не требующей заместительной почечной терапии. Исключались пациенты, получающие альтернативный вид диализа (перитонеальный диализ) или имеющие почечный трансплантат. Диагностированная патология мышечной ткани, оперативные вмешательства на органах ЖКТ, сопровождающиеся резекцией желудка или двенадцатиперстной кишки и отказ пациента от участия в исследовании также предполагали исключение из обследуемой группы.

В исследование было включено 80 человек, из которых 47 (58,75%) составляли мужчины и 33 (41,25%) женщины. Средний возраст обследуемых составил $51,7 \pm 11,6$ лет. При этом большая часть пациентов находилась в возрасте 50-60 лет. Характер распределения выборки по возрасту не отличался от нормального (критерий Kolmogorov-Smirnov $d=0,11568$, $p>0,20$; Lilliefors $p<0,01$; критерий Shapiro-Wilk $W=0,98328$, $p=0,38122$).

Результаты исследования

В проведенном исследовании отмечалась высокая распространенность БЭН в обследуемой группе (90 %), при этом большая часть пациентов имела

легкий (61,25%) и умеренный (27,5%) белково-энергетический дисбаланс, у 1 больного были выявлены тяжелые нутритивные нарушения.

Методом Спирмена было установлено наличие обратной корреляционной взаимосвязи стадии БЭН с антропометрическими показателями, в частности, действительным ($r = -0,33$) и сухим весом пациента ($r = -0,39$), ИМТ ($r = -0,40$), ОМП ($r = -0,28$), толщиной подкожно-жирового слоя в области трицепса ($r = -0,23$), окружности плеча ($r = -0,30$) и талии ($r = -0,25$). Данные об активации катаболических процессов в мышечном и жировом компартменте подтверждаются также результатами БИМ: снижение жировой, безжировой и активной клеточной массы ассоциировано с усугублением нутритивного дисбаланса. Описанные взаимосвязи, в конечном счете, влияют на усиление основного обмена в покое, что еще больше стимулирует процессы катаболической деградации биологических субстратов, приводя к раннему старению и увеличению биологического возраста.

Однако методы оценки состояния питания с помощью антропометрии требуют подтверждения лабораторными показателями. В связи с этим были изучены неспецифические маркеры БЭН, к которым относятся: трансферрин, альбумин, С-РБ, креатинин, холестерин, абсолютное число лимфоцитов, белковый эквивалент выведения азота, коэффициент снижения мочевины. Из всех приведенных факторов в нашем исследовании статистически достоверная связь с развитием БЭН прослеживалась в отношении трансферрина ($r = -0,42$, $p < 0,05$) и уровня лимфоцитов крови ($r = -0,61$, $p < 0,05$). Так снижение последнего отмечалось соразмерно прогрессированию БЭН, что в достаточной мере отражает формирующуюся вторичную иммунную недостаточность у пациентов с терминальной почечной патологией. Трансферрин в нашей работе подтвердил высокую чувствительность в отношении ранговой оценки БЭН, однако в большей мере ассоциировался с показателями обмена железа.

Несмотря на то, что увеличение С-РБ как независимого фактора активации системного воспалительного ответа, отмечалось у большинства больных (93,75%), он в большей мере был связан с показателями качества диализной терапии (доза диализа, коэффициент снижения мочевины), повышенной концентрацией β_2 -микроглобулина и паратиреоидного гормона. Уровень альбумина, по нашим данным, не способен в достаточной мере отразить наличие БЭН, однако установлена прямая взаимосвязь его со снижением мышечной силы ($r = -0,25$). В свою очередь, в нашей работе, было показано, что низкий уровень креатинина у пациентов с ХПН в большей мере отражает нарушение нутритивного статуса и был связан со слабостью мышц верхней и нижней конечности, уменьшением окружности мышц плеча (рисунок 1), а также снижением безжировой и активной клеточной массы, по данным БИМ. Также нами отмечалось уменьшение вероятности 5-ти летней продолжительности ГД терапии при прогрессировании БЭН ($\chi^2 = 4,73$, $p = 0,03$).

Принимая во внимание, что снижение мышечной силы является не только характерным клиническим признаком БЭН, но еще и предиктором

неблагоприятного прогноза у пациентов на ГД, были рассмотрены основные факторы риска развития динапении. Установлена связь мышечной слабости с женским полом ($r=0,74$), фактическим ($r=0,26$) и биологическим возрастом ($r=0,24$), весом пациента ($r=-0,4$). Из лабораторных параметров обращало на себя внимание наличие гипоальбуминемии ($r=0,23$), снижение креатинина ($r=0,59$), повышение уровня миостатина ($r=0,22$) и наличие гиперхолестеринемии ($r=0,37$) у пациентов с выраженной мышечной слабостью. Анализ данных БИМ показал, что снижение функции скелетных мышц взаимосвязано с увеличением жировой ($r=0,24$) и снижением безжировой ($r=0,67$) и активной клеточной массы тела ($r=0,68$) (рисунок 1).

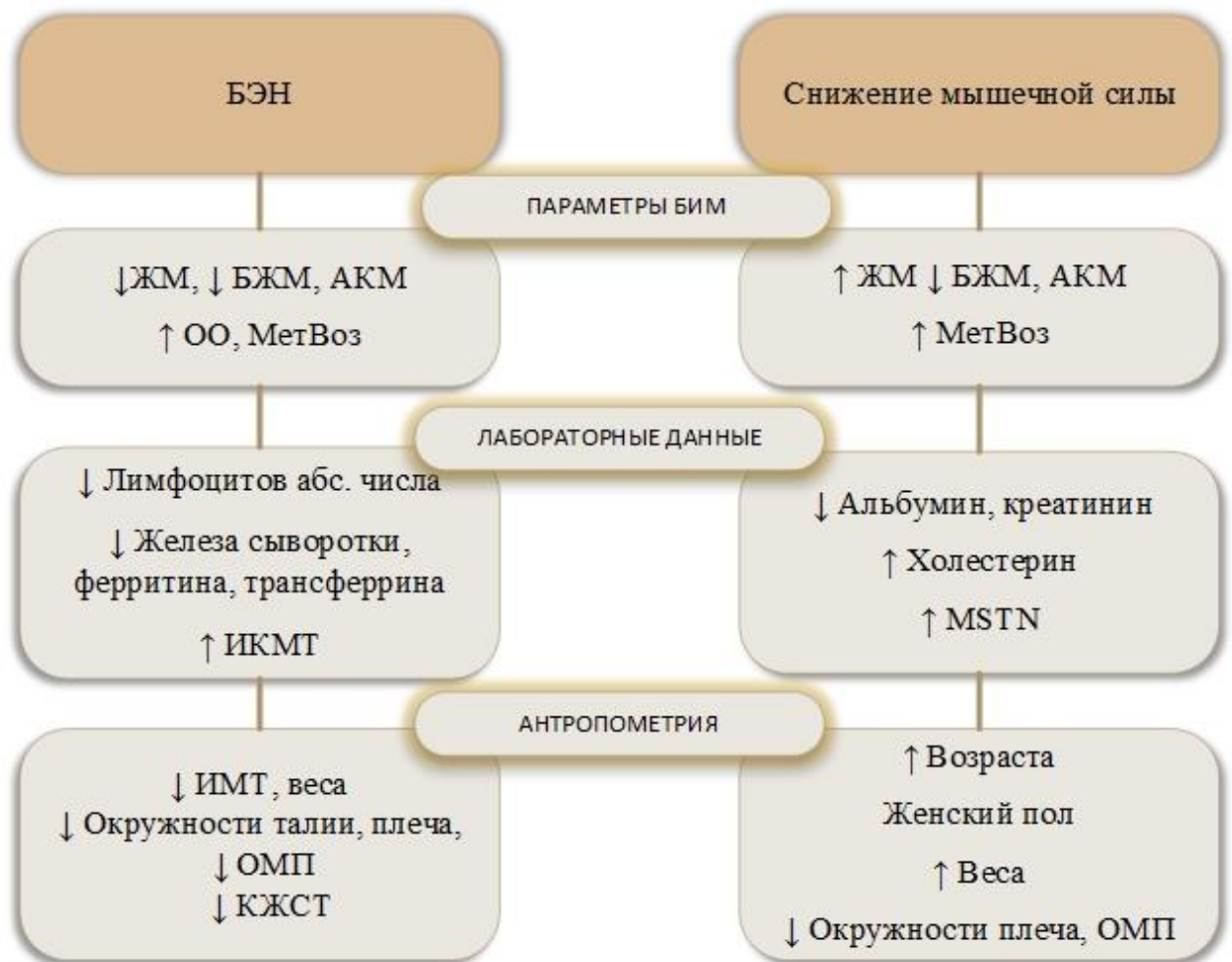


Рисунок 1 - Обобщенное представление о параметрах, связанных с развитием БЭН и мышечной слабости

Примечание: БЭН – белково-энергетическая недостаточность, БИМ – биоимпедансометрия, ИКМТ – индекс катаболизма мышечной ткани, ОМП – окружность мышц плеча, БЖМ – безжировая масса, ЖМ – жировая масса, АКМ – активная клеточная масса, ИМТ – индекс массы тела, КЖСТ – кожная складка трицепса, МетВоз – метаболический возраст, ОО – основной обмен

Изучение снижения мышечной силы на фоне развития белково-энергетической недостаточности подтвердило участие таких факторов как женский пол, гипопроteinемия, прием цитостатических препаратов в развитие мышечной дисфункции. Показана роль влияния нутритивных

особенностей, а именно, уменьшения калорийности рациона, которая ассоциировалась с более частым риском развития БЭН и мышечной слабости. Также было подтверждено, что в общей оценке мышечной силы при ХПН наиболее достоверно проведение кистевой динамометрии.

Определение взаимосвязи миостатина и протеинкиназы- β с проявлениями белково-энергетической недостаточности

Установлено, что гиперэкспрессия миостатина активирует катаболический контур метаболизма мышечной ткани, приводя к снижению мышечной силы ($\chi^2=4,15$, $p=0,04$). Кроме того, на повышение MSTN влияют процессы адипогенеза, что клинически выражается утолщением кожной складки в области бицепса плеча ($\chi^2=5,26$, $p=0,02$) и в подвздошной области ($\chi^2=4,2$, $p=0,04$). Данный процесс, вероятнее всего, обусловлен синтезом MSTN адипоцитами.

Были выявлены факторы, наличие которых приводит к повышению уровня MSTN. Так оценка влияния фармакотерапии позволила установить более частое применение кетоаналогов аминокислот в группе больных с большим уровнем миостатина (16/40 против 6/15). Такая зависимость, вероятнее всего, объясняется попыткой терапевтической коррекции сложившегося пищевого дисбаланса с помощью нутритивной белковой поддержки. Учитывая важность адекватного белкового состава рациона диализного пациента, необходимо, однако, принимать в расчет полученные результаты об увеличении MSTN на фоне повышенной калорийности в диализный день. Так увеличение суточного калоража на 500 ккал связано с ростом MSTN до 23%, на 1000 ккал – до 36%, превышение среднего рациона на 2000 ккал – до 64%. Показано, что снижение в выходной день пищевых продуктов, богатых липидами, и, прежде всего, полиненасыщенными жирными кислотами, активирует катаболический путь миостатина ($p=0,03$).

Частым осложнением у пациентов с ХПН является вторичный гиперпаратиреоз, характерным признаком которого является нарушение фосфорно-кальциевого обмена, дефицит витамина Д3 и гиперпродукция ПТГ. Лекарственная терапия данной патологии включает прием нативных форм и активных метаболитов витамина Д3, фосфат-связывающих препаратов различных фармакологических групп. В нашей работе показано, что нарастание деградации белка, обусловленное экспрессией миостатина инициируется повышенным уровнем паратиреоидного гормона, что связано с медикаментозной коррекцией последнего препаратами витамина Д.

Также нами установлена важная роль коррекции железодефицитного компонента в патогенезе анемического синдрома у больных с терминальной ХПН, так как персистирующее железодефицитное состояние увеличивает выработку MSTN ($\chi^2=4,65$, $p=0,03$).

При рассмотрении факторов, влияющих на концентрацию протеинкиназы- β как одного из ключевых активаторов синтеза белка, интересные связи получены в отношении нутритивных параметров. Так, снижение общего калоража в выходной день, а также уменьшение потребления белка в междиализный день, когда наиболее активно происходят процессы

восстановления утраченных во время процедуры гемодиализа ресурсов, приводит к снижению АКТ, что, соответственно, угнетает процессы синтеза в мышечной ткани.

Значимой оказалась регрессионная зависимость АКТ от PCRn- одного из расчетных параметров эффективности диализной терапии. Так как белковый эквивалент выведения азота не зависит от дозы диализа, но в условиях относительно стабильного eKt/V тесно связан с количеством алиментарного белка и действием экзо- и эндогенных катаболических и анаболических факторов, можно говорить о снижении процессов мышечного катаболизма на фоне повышения АКТ.

Следует отметить, что в группе пациентов с большей концентрацией протеинкиназы- β уровень $\beta 2$ -микроглобулина был ниже (118 ± 39 против 127 ± 19 нг/мл), а сывороточного железа выше ($14,7 \pm 3,8$ против $10,3 \pm 2,5$ г/л), также в этой подгруппе пациентов быстрее происходило снижение ПТГ на фоне медикаментозной терапии (123 ± 12 против 111 ± 18 нг/мл). Таким образом, можно сделать вывод о роли АКТ не только в регуляции синтеза белка, но и в положительном влиянии на другие триггеры БЭН такие, как системный воспалительный процесс, железодефицитное состояние и гиперпаратиреоз (рисунок 2).

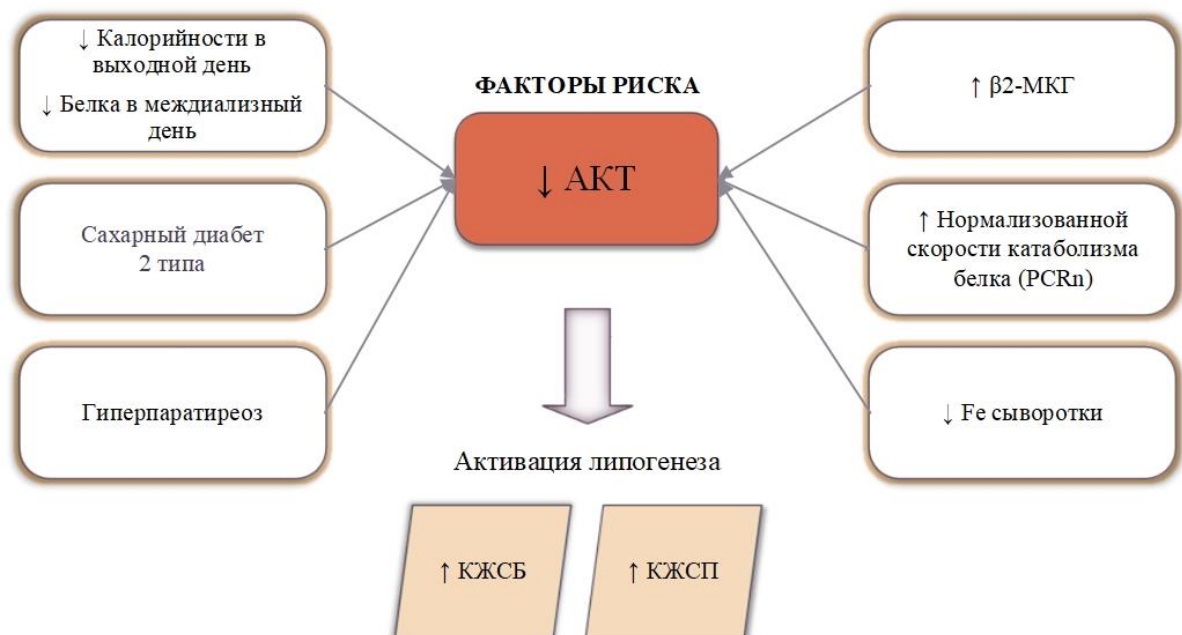


Рисунок 2 – Влияние протеинкиназы- β на показатели, связанные с развитием БЭН

Примечание: $\beta 2$ - МКГ - $\beta 2$ -микроглобулин, КЖСБ – кожная складка в области бицепса, КЖСП – кожная складка в паховой области

Логистический регрессионный анализ показал влияние более низкой концентрации АКТ на утолщение кожной складки в области бицепса и паховой области. Таким образом, полученные нами данные демонстрируют самостоятельное влияние на повышение уровня MSTN снижения АКТ через

активацию процессов липогенеза, что приводит к развитию мышечной слабости (рисунок 3).

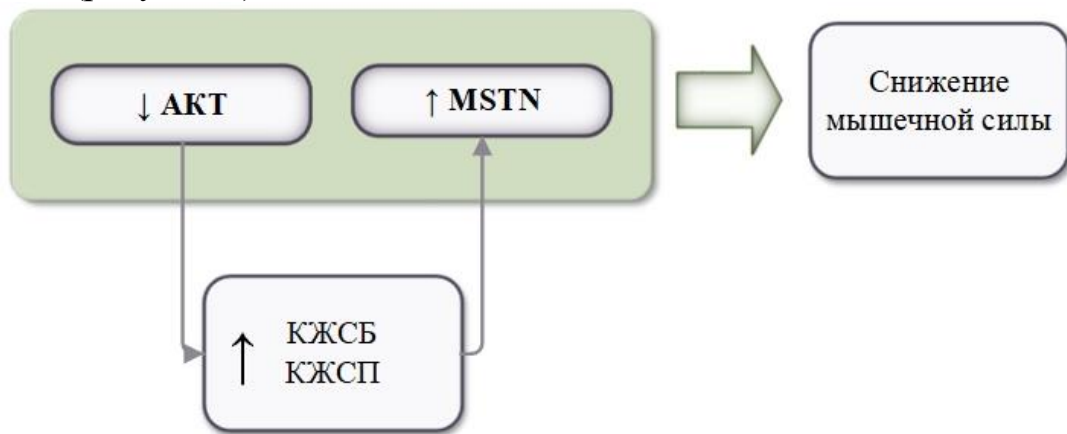


Рисунок 3 – Механизм регуляции протеинкиназой- β уровня MSTN

Примечание: КЖСБ – кожная складка в области бицепса, КЖСП – кожная складка в паховой области

По результатам проведенных статистических анализов не было выявлено значимой связи исследуемых медиаторов мышечного метаболизма с этиологией почечного заболевания, что говорит об общности патогенетических процессов на стадии терминальной почечной дисфункции и выраженности уремии как ведущем факторе развития сопутствующих заболеваний, в частности, БЭН.

Также не было обнаружено самостоятельного влияния сывороточного MSTN и АКТ на развитие БЭН. Несмотря на связь биомолекул с мышечной дисфункцией, подобные результаты, вероятнее всего, объясняются незначительной концентрацией исследуемых маркеров в системном кровотоке, что требует дальнейшей их оценки непосредственно в мышечном волокне. Нами предложен альтернативный вариант оценки комплексного влияния MSTN и АКТ на развитие БЭН и мышечной дисфункции. С этой целью был разработан индекс катаболизма мышечной ткани (ИКМТ). Предложенный индекс позволяет провести ранговую оценку направления вектора мышечного метаболизма на основании изменения сывороточного уровня MSTN и АКТ. ИКМТ продемонстрировал взаимосвязь с качественным и количественным определением БЭН. Так на фоне повышения катаболического потенциала мышечной ткани увеличивалась частота развития белкового истощения ($\log \text{ИКМТ} = \log \text{БЭН}$). Кроме того, прогрессирование БЭН само по себе является предиктором усиленной деградации белково-энергетических субстратов, мерой которого является ИКМТ. Формирующийся порочный круг активации катаболических процессов на фоне повышения ИКМТ утяжеляет белково-энергетический дефицит, который, в свою очередь, усиливает распад клеточных белков. Последнее обстоятельство, в скелетной мускулатуре характеризуется снижением мышечной функции.

Логистический регрессионный анализ продемонстрировал снижение мышечной силы конечностей в группе пациентов с большим ИКМТ. При

этом установлено, что более выраженная мышечная дисфункция отмечалась в наиболее функционально активных мышцах кисти руки без сосудистого доступа. При проведении анализа ANOVA и оценки статистической значимости с помощью теста Levene было отмечено, что снижение мышечной силы при наличии БЭН нарастает по мере роста ИКМТ.

Снижение мышечной силы не всегда сопровождается потерей мышечной массы, однако уменьшение окружности плеча и шеи как наиболее крупных оцениваемых мышечных массивов на фоне увеличения индекса катаболизма, может косвенно указывать на развитие уремической саркопении у пациентов с БЭН.

Так как активация катаболизма носит системный характер, а процессы деградации белковых субстратов неизбежно сопровождаются избыточным расходом жировых депо организма, с ростом ИКМТ отмечалось уменьшение толщины кожной складки над трицепсом и снижение мышечной силы, соответственно ($p=0,049$).

Определение взаимосвязи признаков методом множественной регрессии дало представление о совместном влиянии двух независимых признаков на развитие мышечной деградации. Например, увеличение суточного калоража питания в диализный день, что отчасти определяет повышение белкового эквивалента выведения азота, как одного из параметров, характеризующего количество потребляемого протеина, повышает активность катаболических реакций. Также увеличение ИКМТ наблюдалось у пациентов с низкой массой тела и в группе более частого приема кетоаналогов аминокислот. Данные взаимосвязи вполне логично объясняются развитием синдрома «гиперметаболизма-гиперкатаболизма», сопутствующего БЭН.

Учитывая триггерную роль системного воспаления в патогенезе белково-энергетической недостаточности, особый интерес представляло изучение связи воспалительных маркеров и ИКМТ. Метод дисперсионного анализа позволил установить, что в группе пациентов с диагностированными нарушениями нутритивного статуса отмечалось большее количество баллов по шкале Glasgow в сравнении с группой отсутствия БЭН. В то же время нарастание балльной оценки шкалы увеличивалось на фоне роста ИКМТ ($p=0,01$). Шкала Glasgow дает более полное представление о влиянии воспалительного процесса на питательный статус больного, так как учитывает состояние висцерального пула белка. При оценке изолированного влияния

С-РБ установлено значительное его повышение при наличии белково-энергетического дефицита (99 мг/л против 124 мг/л соответственно). С ростом ИКМТ также отмечается стабильное увеличение данного параметра ($p=0,02$). Полученные данные имеют важное прогностическое значение: С-РБ отражает не только активность системной воспалительной реакции, но и является самостоятельным предиктором смертности от сердечно-сосудистой патологии.

При проведении анализа выживаемости не было показано влияния ИКМТ на смертность от сердечно-сосудистых причин или нарушения церебрального

кровотока, если в качестве временного критерия использовались продолжительность жизни больного и продолжительность диализной терапии ($p > 0,05$). Однако в ходе анализа было показано, что усиление катаболических процессов в мышечной ткани у пациентов с ХПН, отражаемое нарастанием ИКМТ, сопровождается ухудшением выживаемости миокарда ($\chi^2=6,36$, $p=0,04$).

Применение ROC анализа определило информативность использования ИКМТ, а также миостатина и АКТ в диагностике БЭН. Все исследованные варианты оценки характеризовались средней и хорошей информативностью. Наилучшие результаты продемонстрировало использование ИКМТ в сочетании с изменением параметров мышечной силы и приемом кетоаминокислот (AUC 0,79, чувствительность 80%, специфичность 65%) и наличие тех же параметров на фоне снижения общей калорийности рациона (AUC 0,79, чувствительность 78%, специфичность 65%). При этом было показано, что включение в оценку ИКМТ повышает информативность по сравнению с изолированным применением биомаркеров, прежде всего за счет повышения чувствительности оценки.

Таким образом, проведенное исследование раскрыло многофакторную природу БЭН, дало понятие о распространенности белкового истощения у пациентов с ХБП 5Д стадии, определило клиничко-лабораторные и инструментальные показатели с ним ассоциированные. Нами было оценено изолированное и комплексное влияние миостатина и протеинкиназы- β на процессы мышечного катаболизма, одним из проявлений которого является снижение мышечной силы. Полученные результаты схематически представлены на рисунке 4.



Рисунок 4 - Основные клиничко-диагностические влияния, полученные в ходе анализа данных

Практическое применение полученных данных позволило нам составить оптимизированный алгоритм диагностики БЭН и основных точек немедикаментозного и терапевтического воздействия при развитии нарушений нутритивного статуса у пациентов на гемодиализе (рисунок 5).

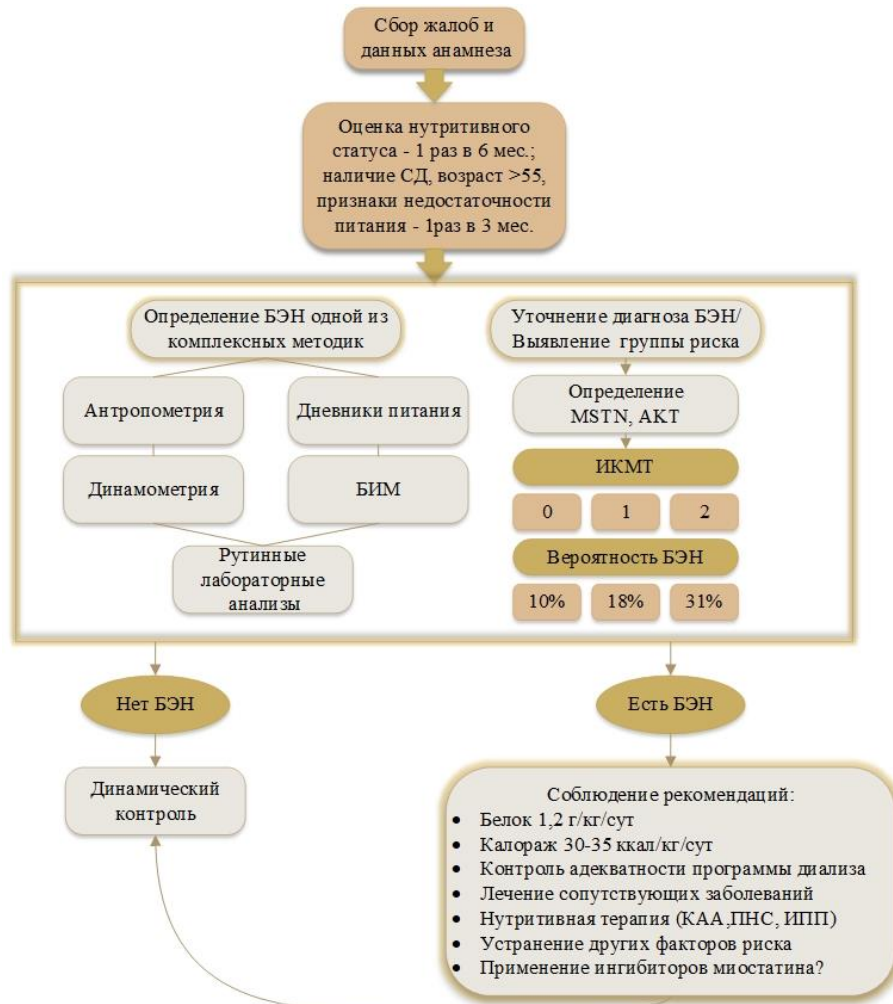


Рисунок 5 - Алгоритм диагностики и лечения БЭН у больных, получающих заместительную диализную терапию

Примечание: БЭН – белково-энергетическая недостаточность, СД – сахарный диабет, БИМ – биоимпедансометрия, ИКМТ – индекс катаболизма мышечной ткани, MSTN- миостатин, АКТ – протеинкиназа- β , КАА – кетоаналоги аминокислот, ЛНС- пероральные нутритивные смеси, ИПП- интрадиализное парентеральное питание

ВЫВОДЫ

1. Установлена высокая распространенность белково-энергетической недостаточности у больных с терминальной почечной дисфункцией на гемодиализе, которая составила 90% с преимущественным выявлением более легких ее форм. Уменьшение массы тела пациента при развитии нутритивного дисбаланса за счет жирового и мышечного компонента проявляется ростом основного обмена в покое и увеличением метаболического возраста пациента, что свидетельствует о развитии синдрома гиперкатаболизма-гиперметаболизма у пациентов с белково-энергетической недостаточностью.

2. Факторами риска снижения мышечной силы являлись возраст, женский пол, избыточная масса тела, гипоальбуминемия, гиперхолестеринемия. На снижение силы мышц у пациентов на гемодиализе влияло увеличение жировых отложений в организме (жировая масса при биоимпедансометрии) и уменьшение мышечной массы тела (безжировая и активная клеточная масса тела).

3. Активация протеолитических механизмов в случае повышения миостатина сопровождалась снижением мышечной силы, а более частый прием кетоаналогов аминокислот, железосодержащих препаратов и активных форм витамина Д, ассоциированный с гиперэкспрессией миостатина, связан с более тяжелым течением сопутствующей патологии на фоне усиленного катаболизма мышечной ткани. Мышечная деградация, вызванная снижением протеинкиназы-β, сопровождается усилением железодефицита и накоплением средней молекулы-активатора воспалительной реакции – β2-микроглобулина.

4. Подтверждено комплексное влияние на развитие и выраженность белково-энергетической недостаточности повышения уровня миостатина и снижения протеинкиназы-β, выраженное нами в виде индекса катаболизма мышечной ткани. Увеличение индекса катаболизма ассоциировано со снижением мышечной силы и активностью воспалительного процесса

(повышение С-РБ, трансферрина, количества баллов по шкале Glasgow) и связано с более частым развитием хронической сердечной недостаточности в более раннем возрасте у пациентов на гемодиализе.

5. Установлено, что большинство пациентов на ГД имеют недостаточность потребления белка (в среднем за 3 дня 0,9 г/кг/сут) и калорий (1433 ккал = 19,5 ккал/кг/сут). Было показано, что превышение суточного калоража более 30-35 ккал/кг/сут в день проведения процедуры гемодиализа, а также снижение калорийности рациона в выходной день за счет пищи, богатой полиненасыщенными жирными кислотами и углеводами, как и малобелковая диета в междиализный день, приводит к активации катаболических процессов, опосредованных миостатином и протеинкиназой-β, способствуя развитию белково-энергетических нарушений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовано всем пациентам, получающим терапию программным гемодиализом, проводить оценку питательного статуса 1 раз в 3-6 месяцев с использованием клинических (дневники питания), антропометрических (индекс массы тела, определение подкожно-жирового слоя в различных областях), лабораторных (показатели системного воспаления, обмена железа и белка), инструментальных (биоимпедансометрия, динамометрия) методов обследования с целью своевременной диагностики белково-энергетической недостаточности.

2. У больных на гемодиализе необходимо определять индекс катаболизма мышечной ткани, что позволит с большей точностью диагностировать наличие и прогрессирование белково-энергетической недостаточности.

3. Для профилактики развития нарушений нутритивного статуса у пациентов, находящихся на программном гемодиализе, необходимо поддерживать достаточную калорийность рациона в выходной день и не допускать снижения потребления белка в междиализный день. В то же время следует ограничить суточный калораж в день самой процедуры гемодиализа.

4. С целью снижения риска развития белково-энергетической недостаточности необходима коррекция сопутствующих состояний, влияющих на ее развитие, в частности: гиперпаратиреоза, железодефицитного компонента анемического синдрома, активности системной воспалительной реакции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Изучение различных маркеров катаболического каскада мышечной ткани (миостатин, протеинкиназа- β , инсулиноподобный фактор роста, mTOR и др.), лежащего в основе развития белково-энергетических нарушений, создает перспективное направление в нефрологии и клинике внутренних болезней в целом в связи с открытием и внедрением в реальную клиническую практику уже разработанных медикаментозных средств, способных воздействовать на эти контуры. Более детальное изучение точек приложения и патогенетических взаимосвязей описанных маркеров с клинико-лабораторными проявлениями БЭН, которые были намечены в нашем пилотном исследовании, ставит в перспективе задачу разработки наиболее достоверного, простого в использовании и неинвазивного метода диагностики БЭН у пациентов на ГД.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Молекулярные основы мышечного истощения: роль миостатина и протеинкиназы- β в прогрессировании белково-энергетической недостаточности у пациентов на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин, О.В. Голубева // Архивъ внутренней медицины. – 2019. – Том 9, №2. – С. 126-132.**
2. **The role of myostatin and protein kinase- β in the development of protein-energy wasting in patients with end-stage renal disease on hemodialysis / A.S. Kuzyarova, M.Z. Gasanov, M.M. Batyushin [et al.] // Georgian Medical News. – 2019. – Vol. 4(289). – P. 47-50.**
3. **Миостатин при белково-энергетической недостаточности у пациентов на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин, О.В. Голубева // Нефрология. -2019. – Том 23, №3. – С. 36-41.**
4. **Роль миостатина и актинина в развитии белково-энергетической недостаточности у пациентов, получающих лечение программным гемодиализом / А.С. Кузярова, М.М. Батюшин, М.З. Гасанов, Н.Б. Бондаренко // Сборник материалов межрегиональной конференции терапевтов Южного федерального округа «Инновационные технологии в терапии: от клинических исследований к практике». - Ростов-на-Дону, 2018. - С. 74-75.**

5. Взаимосвязь миостатина с клиническими проявлениями белково-энергетической недостаточности у пациентов на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин, О.В. Голубева // Научные труды VI научно-практической конференции молодых ученых, посвященной проблемам внутренней патологии «Воробьевские чтения». - Ростов-на-Дону, 2019. - С. 71-72.
6. Кузярова, А.С. Особенности проявлений белково-энергетической недостаточности у пациентов с терминальным заболеванием почек, получающих лечение гемодиализом / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин // Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием по актуальным вопросам внутренней патологии «Завадские чтения». - Ростов-на-Дону, 2019. - С. 81-82.
7. Кузярова, А.С. Белково-энергетическая недостаточность как предиктор снижения мышечной силы у пациентов с ХБП на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин // Сборник тезисов IV Съезда нефрологов Юга России. - Ростов-на-Дону, 2019. - С. 47-49.
8. Биоимпедансометрия при оценке белково-энергетической недостаточности у пациентов на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин, О.В. Голубева // Сборник тезисов IV Съезда нефрологов Юга России. - Ростов-на-Дону, 2019. - С. 49-50.
9. Кузярова, А.С. Снижение мышечной силы как проявление саркопении у пациентов с хронической почечной недостаточностью на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин // Сборник материалов XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». - Санкт-Петербург, 2019. - С. 211-212.
10. Изменение биоимпедансометрических показателей у пациентов на гемодиализе как предиктор развития уремической саркопении / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин, О.В. Голубева // Сборник тезисов Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием «Боткинские чтения» под редакцией академика РАН Мазурова В.И. - Санкт-Петербург, 2019. - С. 138.
11. Взаимосвязь миостатина и протеинкиназы- β при развитии белково-энергетической недостаточности у пациентов на гемодиализе / А.С. Кузярова, М.З. Гасанов, М.М. Батюшин, О.В. Голубева // Сборник тезисов Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием «Боткинские чтения» под редакцией академика РАН Мазурова В.И. - Санкт-Петербург, 2019. - С. 138-139.
12. Кузярова, А.С. Роль миостатина и протеинкиназы-бета в развитии белково-энергетической недостаточности у пациентов, находящихся на терапии гемодиализом / А.С. Кузярова, М.М. Батюшин, М.З. Гасанов // Сборник материалов III Терапевтического форума «Мультидисциплинарный больной». - Москва, 2019. - С.75-76.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АКМ – активная клеточная масса
БЖМ – безжировая масса
БИМ – биоимпедансометрия
БЭН – белково-энергетическая недостаточность
ГД – гемодиализ
ЖМ – жировая масса
ЗПТ – заместительная почечная терапия
ИКМТ – индекс катаболизма мышечной ткани
ИМТ – индекс массы тела
ИПП- интрадиализное парентеральное питание
КАА – кетоаналоги аминокислот
КЖСТ – кожная складка над трицепсом
ЛП – лекарственные препараты
ОВ – общий объем воды
ОВнекЖ – объем внеклеточной жидкости
ОВнутрЖ – объем внутриклеточной жидкости
ОЖ – объем жидкости в организме
ОМП – окружность мышц плеча
ПНС- пероральные нутритивные смеси
С-РБ – С-реактивный белок
УПС – убиквитин- протеасомная система
ХБП – хроническая болезнь почек
ХПН – хроническая почечная недостаточность
АКТ – протеинкиназа- β , актинин
DEXA - двухфотонная рентгеновская абсорбциометрия
Kt/V – доза диализа
mGPS – модифицированная шкала Glasgow
MSTN – миостатин
PCR_n – белковый эквивалент выведения азота, нормализованная скорость катаболизма белка.
 β 2-МКГ – β 2-микроглобулин.