

**ПРОБЛЕМИ ОРГАНІЗАЦІЇ ТА ЕКОНОМІКИ НЕФРОЛОГІЧНОЇ ДОПОМОГИ/
PROBLEMS OF ORGANIZATION AND ECONOMICS OF NEPHROLOGICAL CARE**

**РЕКОМЕНДАЦІЇ КОМІТЕТУ З НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЙ УКРАЇНСЬКОЇ АСОЦІАЦІЇ
НЕФРОЛОГІВ І ФАХІВЦІВ З ТРАНСПЛАНТАЦІЇ НИРКИ ЩОДО НАДАННЯ
СПЕЦІАЛІЗОВАНОЇ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ ПАЦІЄНТАМ НЕФРОЛОГІЧНОГО
ПРОФІЛЮ В УМОВАХ ВОЄННОГО СТАНУ**

М.О. Колесник, І.О. Дудар, Н.М. Степанова, В.В. Новаківський, Ю.І. Гончар, Е.К. Красюк,
І.М. Шіфріс, Р.О. Зограб'ян, М.Б. Величко, О.М. Лобода, С.П. Фоміна (Україна) 3

ОРИГІНАЛЬНІ НАУКОВІ РОБОТИ / ORIGINAL PAPERS

**MORPHOLOGICAL PATTERN OF KIDNEYS FOLLOWING ADMINISTRATION
OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOSITIONS CONTAINING NEUROTROPHIC FACTORS
IN RATS WITH INFRAVESICAL URINARY OBSTRUCTION**

V. Globa, G. Bozhok, E. Legach, M. Chyzh, Y. Samburg, O. Godlevska (Ukraine) 13

**EFFECTIVENESS OF SULODEXIDE IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE:
GLOMERULONEPHRITIS**

I. Mykhaloiko, R. Yatsyshyn, I. Dudar (Ukraine) 22

**ASSESSMENT OF SEX HORMONES AND THEIR CORRELATION WITH
THE QUALITY OF LIFE IN MALE HEMODIALYSIS PATIENTS**

Muzamil Latief1, Manjusha Yadla1, Farhat Abbas (India) 28

**ПЕРШИЙ ДОСВІД ВИКОРИСТАННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН У РЕЦІПІЄНТІВ
НИРКОВОГО АЛОТРАНСПЛАНТАТА: ОПИСОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ**

О.С. Вороняк, Р.О. Зограб'ян (Україна) 34

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТЕРАПІЯ ХРОНІЧНОЇ ІШЕМІЇ НИРКИ З ВИКОРИСТАННЯМ
ПРЕПАРАТУ ОСНОВНОГО ФАКТОРУ РОСТУ ФІБРОБЛАСТІВ**

С.В. Базалицька, Г.Г. Нікуліна, В.А. Кордюм, І.Я. Дубей, С.О. Возіанов, А.М. Романенко,
Я.О. Похолоенко, С.В. Нікітаєв, І.Є. Сербіна, Л.Я. Мигаль, О.Ф. Возіанов (Україна) 43

**МАРКЕР ВАЗОПРЕСИНУ КОПЕПТИН І РОЗВИТОК НИРКОВИХ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ
ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

А.О. Несен, П.С. Семенових, К.О. Савічева, В.Ю. Гальчінська (Україна) 55

**КОРЕКЦІЯ ГІПЕРФОСФАТЕМІЇ У ХВОРИХ, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ ГЕМОДІАЛІЗОМ:
РЕЗУЛЬТАТИ 12-МІСЯЧНОГО РАНДОМІЗОВАНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ**

І.О. Дудар, О.М. Лобода, Е.К. Красюк, С.Л. Дудар (Україна) 63

ШКОЛА НЕФРОЛОГА / NEPHROLOGY SCHOOL

**РОЛЬ ВІТАМІНІВ К І D У ПРОЦЕСАХ ЕКТОПІЧНОЇ КАЛЬЦИФІКАЦІЇ У ХВОРИХ
НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК: СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ**

О.Б. Сусла, О.В. Буштинська, С.В. Данилів, Л.С. Логойда, А.І. Гоженко (Україна) 73

РЕДАКЦІЙНА ІНФОРМАЦІЯ / EDITORIAL INFORMATION

ПАМ'ЯТІ НАТАЛІЇ ОЛЕКСАНДРІВНИ САЙДАКОВОЇ 83

РЕДАКЦІЙНА ІНФОРМАЦІЯ 85



Державна установа «Інститут нефрології НАМН України»
Національний нирковий фонд України

ISSN 2304-0238

ISSN 2616-7352

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ НЕФРОЛОГІЇ ТА ДІАЛІЗУ
НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ, МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

№ 3 (75) 2022

Заснований 04.2004.

ВИХОДИТЬ 4 РАЗИ НА РІК

Головний редактор: Колесник Микола Олексійович
Заступник головного редактора: Степанова Наталя Михайлівна
Відповідальний секретар: Козлюк Надія Іванівна

Редакційна колегія:

Деміхова Надія Володимирівна	Мартинюк Лілія Петрівна
Дряньська Вікторія Євгенівна	Стаховський Едуард Олександрович
Дудар Ірина Олексіївна	Фоміна Світлана Петрівна
Зуб Лілія Олексіївна	Manoj Khokhar
Король Леся Вікторівна	R.T. Krediet
Лісовий Володимир Миколайович	F.P. Schena

Засновники – Державна установа «Інститут нефрології Національної академії медичних наук України»,
Національний нирковий фонд України

Свідоцтво про державну реєстрацію: КВ № 21397-11197 ПР від 25.01.2015 р.

Журнал внесено до категорії «Б» переліку наукових фахових видань України
(Наказ Міністерства освіти і науки України від 28.12.2019 №1643)

Репозитарне зберігання та представлення журналу на порталі "Наукова періодика України" Національної бібліотеки України імені В.І. Вернадського

Індексація журналу:

- Scopus
- Crossref (видавничий префікс: 10.31450),
- The Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD),
- Google Scholar,
- Library catalog OCLC WorldCat.

Видається за наукової підтримки Державної установи «Інститут нефрології Національної академії медичних наук України»

Рекомендовано до друку Вченою радою Інституту нефрології НАМН України (протокол № 5 від 21.09.2022 р.)

Наклад 500 прим.

Адреса редакції: вул. Дегтярівська 17 В., м. Київ, 04050;
тел. 225 93 86; тел./факс: 225 93 87; e-mail: ukrjnd@gmail.com

Здано в набір 22.09.2022. **Підписано до друку** 25.09.2022
Формат паперу 64×90 1/8. Гарнітура НьютонС. Ум. друк. арк. 10,2. Замовлення № 250922

Друк ТОВ «Поліграф плюс»

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів видавничої справи
№ 5041 (серія ДК) від 26.01.2016 р.
03062, вул. Туполева, 8, Київ, тел./факс: (044) 466-14-42
e-mail: office@poligraph-plus.kiev.ua

Матеріали друкуються мовою оригіналу (українською, російською або англійською).
За достовірність і орфографію рекламної інформації відповідальність несе рекламодавець.

Редакція не завжди поділяє думки авторів публікацій.
Передрук публікацій здійснювати тільки за згодою редакції.

© «Український журнал нефрології та діалізу», 2022



Журнал розповсюджується за ліцензією CC Attribution-ShareAlike 4.0



State Institution “Institute of Nephrology NAMS of Ukraine”
National kidney foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238

UKRAINIAN JOURNAL OF NEPHROLOGY AND DIALYSIS

ISSN 2616-7352

PRACTICAL, SCIENTIFIC, MEDICAL JOURNAL

№ 3 (75) 2022

founded in 04.2004

PUBLISHED 4 TIMES A YEAR

Editor-in-chief:

Mykola Kolesnyk

Deputy Editor:

Natalia Stepanova

Executive secretary:

Nadiia Kozliuk

Editorial Board :

Nadiia Demikhova

Lilia Martyniuk

Victoria Driyanska

Svitlana Fomina

Iryna Dudar

Eduard Stakhovsky

Liliia Zub

Manoj Khokhar

Lesya Korol

R.T. Krediet

Volodymyr Lisovyi

F.P. Schena

Founders – State Institution “Institute of nephrology NAMSU”, National Kidney foundation of Ukraine

Certificate of registration: KB № 21397-11197 IIP from January 25, 2015

The Journal is included in the category “B” of the list of scientific professional editions of Ukraine (Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine from December 28, 2019 №1643)

Journal's repository storage and presentation in the portal “Scientific Periodicals of Ukraine” by the Vernadsky National Library of Ukraine

Journal indexing:

- Scopus
- Crossref Registration Agency (doi prefix 10.31450),
- The Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD),
- National repository Vernadsky National Library of Ukraine,
- Google Scholar,
- Library catalog OCLC WorldCat.

Published by scientific support of State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences»

Recommended for publication by Academic Council State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences» (Protocol № 5 from September 21, 2022).

Edition 500 copies

Address: Degtiarivska str.17V, Kyiv, 04050; e-mail: ukrjnd@gmail.com

tel. 225 93 86; tel/fax: 225 93 87.

Put in a set September 22, 2022. **Signed to print** September 25, 2022.

Paper size 64x90 1/8. Headset NewtonC. conventionally printed sheets 10,2. Order № 250922

Print Ltd “Poligraf plus”

Certificate of registration in the state register of subjects of publishing №169 (series DK) from 07/04/2005

03062, Tupoleva str., 8, Kyiv, tel/ fax: (044) 466-14-42

e-mail: office@poligraph-plus.kiev.ua

Materials are published in the original language
(Ukrainian, Russian or English).

For the accuracy and spelling of the advertising information the responsibility is on the advertiser.

Editorial office not always agrees with the authors.

Reprint of the publications is possible to carry out only for the agreement of editorial office

© Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis, 2022



The Journal is licensed by CC Attribution-ShareAlike 4.0 International



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

Expert group: M. Kolesnyk^{1,2}, I. Dudar^{1,2,4}, N. Stepanova^{1,2}, V. Novakivskyy^{2,3}, Y. Honchar^{1,2,4}, E. Krasnyuk^{2,4}, I. Shifris^{1,2}, R. Zograban^{2,5}, M. Velychko^{1,2}, O. Loboda^{1,2}, S. Fomina^{1,2}

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.01

Recommendations of the Ukrainian Renal Disaster Relief Committee of the Ukrainian Association of Nephrologists and Kidney Transplant Specialists regarding medical care to kidney disease patients during the war

¹State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences», Kyiv, Ukraine

²Ukrainian Association of Nephrologists and Kidney Transplant Specialists

³LLC «Fresenius Medical Care Ukraine»

⁴MNCE «Kyiv City Center of Nephrology and Dialysis» Kyiv, Ukraine

⁵SI «Shalimov's National Institute of Surgery and Transplantation NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Citation:

Kolesnyk M, Dudar I, Stepanova N, Novakivskyy V, Honchar Y, Krasnyuk E, et al. Recommendations of the Ukrainian Renal Disaster Relief Committee of the Ukrainian Association of Nephrologists and Kidney Transplant Specialists regarding medical care to kidney disease patients during the war. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):3-12. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.01.

Article history:

Received June 19, 2022

Received in revised form
June 29, 2022

Accepted July 01, 2022

Abstract. *The occurrence of an emergency situation (ES) forced international (ISN, EDTA/ERA) and national (Turkey) nephrological associations to establish the Renal Disaster Relief Task Force, which is primarily concerned with the treatment of patients with acute kidney injury and end-stage renal disease requiring dialysis. The war started by the RF is putting the Ukrainian state, Ukrainian society, and the healthcare system in the catastrophic ES. Under these circumstances, all nephrological patients became one of the most vulnerable categories of patients.*

To provide immediate support in solving problems within the Ukrainian Association of Nephrologists and Kidney Transplant Specialists (UAN&KTS), the Ukrainian Renal Disaster Relief Committee (URDRC) has been established. One of the most important tasks was to form a group of experts to develop recommendations for specialized medical care for kidney patients in wartime.

According to the experts, the key person for this type of medical care is the leading nephrologist in the region or city. He/she establishes a local Renal Disaster Relief Committee (LRDRC) and decides through horizontal (with other LRDRC) or vertical (with UAN & KTS) collaboration, using available communication tools, on the problems that arise; the most appropriate tool is the Viber platform "Nephrology. Dialysis. Transplantation". In this way, a network without administrative subordination and a non-hierarchical functional system was created, which, on the one hand, functions according to similar working principles, but, on the other hand, may differ in terms of LRDRC composition, communication methods, and more.

The LRDRC divides all patients into three groups and provides work preparation measures before, during and after the cancellation of ES.

Key words: *war, emergency situation (ES), Ukrainian Renal Disaster Relief Committee, Local Renal Disaster Relief Committee, chronic kidney disease, hemodialysis, peritoneal dialysis, kidney transplantation, acute kidney injury.*

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© M. Kolesnyk, I. Dudar, N. Stepanova, V. Novakivskyy, Y. Honchar, E. Krasnyuk, I. Shifris, R. Zograban, M. Velychko, O. Loboda, S. Fomina, 2022.

Correspondence should be addressed to Mykola Kolesnyk: director@inephrology.kiev.ua



© Колесник М.О., Дудар І.О., Степанова Н.М., Новаківський В.В., Гончар Ю.І., Красюк Е.К., Шіфріс І.М., Зограб'ян Р.О., Величко М.Б., Лобода О.М., Фоміна С.П., 2022.

УДК: 616.61:614.2]:355.01(477)

Експертна група: М.О. Колесник^{1,2}, І.О. Дудар^{1,2,4}, Н.М. Степанова^{1,2}, В.В. Новаківський^{2,3},
Ю.І. Гончар^{1,2,4}, Е.К. Красюк^{2,4}, І.М. Шіфріс^{1,2}, Р.О. Зограб'ян^{2,5}, М.Б. Величко^{1,2},
О.М. Лобода^{1,2}, С.П. Фоміна^{1,2}

Рекомендації Комітету з надзвичайних ситуацій Української асоціації нефрологів і фахівців з трансплантації нирки щодо надання спеціалізованої медичної допомоги пацієнтам нефрологічного профілю в умовах воєнного стану

¹ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ, Україна

²Українська Асоціація нефрологів та фахівців з трансплантації нирки

³ТОВ «Фрезеніус Медикал Кер Україна»

⁴КНП «Київський міський центр нефрології та діалізу», Київ, Україна

⁵ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О.Шалімова НАМН України», Київ, Україна

Резюме. Виникнення надзвичайних ситуацій (НС) спонукало міжнародні (ISN, ERA) та національні (Туреччина) нефрологічні асоціації створювати Renal Disaster Relief Task Force для здійснення лікування, перш за все, хворих на ГПН, які потребували ДНЗТ та пацієнтів з ХХН ВД стадії.

Війна, розпочата РФ, створила в Україні катастрофічну надзвичайну ситуацію загалом і в системі охорони здоров'я зокрема. За таких обставин усі хворі нефрологічного профілю стали однією з найбільш уразливих категорій пацієнтів.

Для оперативної допомоги у вирішенні виникаючих проблем, у рамках Української асоціації нефрологів і фахівців з трансплантації нирки (УАН і ФТН) був заснований Комітет з надзвичайних ситуацій (КНС). Однією з важливих завдань його роботи стало формування Експертної групи для створення рекомендацій щодо надання спеціалізованої медичної допомоги хворим нефрологічного профілю в умовах воєнного стану.

На думку експертів, ключовою фігурою в організації цього виду медичної допомоги є Головний Експерт з нефрології області чи міста. Він створює локальний комітет з НС (ЛКНС) і шляхом горизонтальної (з іншими ЛКНС) та/або вертикальної (КНС УАН і ФТН) взаємодії через доступні засоби комунікацій (основна з яких вайбер-платформа «Нефрологія, Діаліз, Трансплантація») вирішує виникаючі проблеми.

Таким чином, формується мережева (без адміністративного підпорядкування), а не ієрархічна функціональна система, яка з однієї сторони працює дотримуючись однакових принципів роботи, а з іншої, — може відрізнятися складом КНС, методами комунікацій і т.п.

ЛКНС розділяє всіх хворих на три групи та забезпечує заходи щодо підготовки до роботи в умовах НС, функціонування під час виникнення НС та після її відміни.

Ключові слова: надзвичайна ситуація, воєнний стан, війна, гемодіаліз, перитонеальний діаліз, гостре пошкодження нирок.

Вступ. Надзвичайна ситуація (НС) — це небезпечні обставини на частині або на усій території держави, викликані будь-якими причинами, які призвели до людських жертв і критично вплинули на здоров'я людей та умови їх життєдіяльності [1]. НС можуть бути викликані широким спектром причин, від природних (землетрус, повінь і т.д.) до спричинених військовими діями/війною. Рівень

НС може бути державним (дві або більше областей, м. Київ), регіональним (два або більше адміністративних райони однієї області або м.Києва) або локальним. НС, що призводить до значних людських та матеріальних втрат, кваліфікується як катастрофа [1].

Таким чином, в Україні сформувалась НС, викликана війною, яку відповідно до Кодексу цивільного захисту слід визначати як катастрофічну [1]. Кодекс цивільного захисту декларує пріоритетність завдань, спрямованих на збереження життя і здоров'я громадян України [1].

Професійні нефрологічні спільноти, через національні та міжнародні фахові організації, у різних формах долучались до зусиль конкретної держави, щодо ліквідації наслідків НС, викликаних різними

Колесник Микола Олексійович
director@inephrology.kiev.ua

причинами. Так, ще у 1988 році, під час землетрусу в регіоні м. Спітак (Вірменія) ISN створила Renal Disaster Relief Task Force, яка займалась організацією та проведенням лікування методом ГД постраждалих з ГПН. У 2005 році під час землетрусу в регіоні м. Мармаріс (Туреччина) були створені European Renal Disaster Relief Task Force і Turkish Renal Association Disaster Relief Task Force, відповідно.

У зв'язку з тяжкою ситуацією у нашій країні був створений Комітет з надзвичайних ситуацій (КНС) Української асоціації нефрологів і фахівців з трансплантації нирки (УАН і ФТН) [2, 3]. Основними завданнями Комітету є створення рекомендацій УАН і ФТН щодо організації спеціалізованої медичної допомоги хворим нефрологічного профілю та допомоги лікарям-нефрологам і фахівцям інших профілів щодо організації та здійснення діагностики і лікування пацієнтів з гострими та хронічними хворобами нирок.

1. ЗАГАЛЬНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

- 1.1. Ключовою особою області чи міста з організації підготовки та керівництва наданням спеціалізованої медичної допомоги хворим нефрологічного профілю є Головний експерт з нефрології відповідного рівня.
- 1.2. Головний експерт ініціює створення локального комітету з НС (ЛКНС), склад якого він визначає.
- 1.3. Інформувати хворих, керівників закладів охорони здоров'я, співробітників місцевих державних інституцій про створення ЛКНС щодо організації надання спеціалізованої медичної допомоги хворим нефрологічного профілю, про її склад, обов'язки членів та способи можливих комунікацій.
ЛКНС створюються як мережева структура. Вважаємо, що консолідована робота локальних та національного КНС побудована на принципі функціональної співпраці, а не адміністративного підпорядкування, буде найбільш ефективною.
- 1.4. Доцільно усіх хворих нефрологічного профілю розділити на 3 групи.
Перша група («зелена») – хворі на ХХН I-IV ст. без нефротичного синдрому, з корегованою гіпертензією або без неї, реконвалесценти після ГПН і хворі на хронічний пієлонефрит в стадії ремісії.
Друга група («жовта») – хворі на ХХН I-IV ст. з нефротичним синдромом, анемією, некорегованою гіпертензією, пацієнти з хронічним пієлонефритом у стадії загострення або гострою інфекцією сечових шляхів.
Третя група («червона») – хворі на ХХН V ст., VГД, VПД, VТН, пацієнти з ГПН, ШПГН.
- 1.5. Належність до конкретної групи визначає послідовність та об'єм дій нефрологів (в пріоритеті госпіталізації, евакуації, і т.д.).

«Червона» група хворих першочергово потребує евакуації до конкретних закладів охорони здоров'я, за необхідності, – зміни програми ГД, ПД чи протоколу імуносупресії у хворих з ТН або методики інших активних методів лікування пацієнтів.

«Жовта» група. Основне завдання, – усіма доступними способами мінімізувати прогресування ХХН, не допустити трансформації загострення хронічного пієлонефриту у сепсис, своєчасно сформувати судинний доступ або виконати імплантацію перитонеального катетеру і розпочати ГД або ПД.

«Зелена» група. Хворі цієї групи звертаються за медичною допомогою у разі погіршення стану (некорегована гіпертензія, прояви анемії і т.д.).

- 1.6. Усі заходи стосовно НС слід формалізувати шляхом їх розподілу на три складових: підготовка до роботи в умовах НС, адаптація діяльності до умов НС та надання спеціалізованої медичної допомоги після її відміни, конкретно сформулювавши кожен із них.
- 1.7. На основі узгодження з головними експертами областей та/або міст створити маршрути евакуації хворих та проінформувати про це останніх.
- 1.8. На рівні області або міста необхідно щоденно визначати можливу кількість прийому перелічених категорій хворих та інформувати про це ЛКНС та КНС через вайбер-платформу «Нефрологія, діаліз, трансплантація»; у разі неможливості вирішення питання про госпіталізацію, – звертатись до КНС.
- 1.9. У лікувальних закладах області чи міста, які здатні надавати спеціалізовану медичну допомогу, створити матеріально-технічні умови для забезпечення лікування евакуйованих хворих нефрологічного профілю.
- 1.10. У разі неможливості вирішення ЛКНС будь-якого питання стосовно надання спеціалізованої медичної допомоги хворим нефрологічного профілю, – її голова звертається до експертів або голови КНС.

2. ХВОРИ НА ГОСТРЕ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК

Гостре пошкодження нирок (ГПН) є клінічним синдромом, що характеризується підвищенням концентрації креатиніну сироватки на $\geq 0,3$ мг/дл (26,5 мкмоль/л) протягом 48 год, або $\geq 1,5$ -кратним підвищенням протягом останніх 7 днів, або зменшенням діурезу $< 0,5$ мл/кг/год протягом 6 год. Характеризується широким спектром розладів – від незначного підвищення креатиніну та зниження діурезу, олігурії або анурії, дизелектролітемії, порушення кислотно-лужної рівноваги, котрі диктують необхідність застосування життєзберігаючих технологій ДНЗТ [4]. Повідомлялося, що ГПН зустрічається у 20–50% пацієнтів у відділеннях інтенсивної терапії по всьому світу [5]. Гостре пошкодження нирок

(ГПН) є основною причиною поганих результатів лікування пацієнтів та зустрічається приблизно у 13,3 мільйонів людей на рік, 85% з яких живуть у країнах, що розвиваються, і, хоча прямого зв'язку між ГПН і смертю ще не встановлено, вважається, що ГПН спричиняє приблизно 1,7 мільйонів смертей щороку [4]. Перебіг ГПН змінюється залежно від умов, у яких виникає, а тяжкість і тривалість ГПН впливає на такі результати, як потреба в діалізі, відновлення функції нирок і виживання. Дедалі більше усвідомлюють вплив ГПН на пацієнтів і пов'язаний із цим суспільний тягар від довгострокових наслідків ГПН, включаючи розвиток хронічної хвороби нирок і термінальної стадії ниркової недостатності, що потребує діалізу або трансплантації. За даними Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок та пацієнтів з гострим пошкодженням нирок, кількість пацієнтів з гострим пошкодженням нирок склало 30 на 1 млн. населення з них 60% потребували замісної ниркової терапії [6]. Причинами невідповідності українських даних світовим може бути те, що дані в реєстр передають нефрологи, не всі гострі пошкодження нирок діагностуються особливо на ранніх стадіях, далеко не всі лікарні мають в штаті нефролога, або можливості для замісної ниркової терапії.

В умовах війни та ускладненого обліку визначити точні цифри даної патології в нашій країні стало ще складніше. Впевнено можна казати що під час війни внаслідок великої кількості мінно-вибухових травм, краш-синдрому, зневоднень (пов'язаних в першу чергу з крововтратою), септичних ускладнень, складних оперативних втручань пов'язаних з пораненнями, використанням турнікетів, та нефротоксичних лікарських засобів кількість випадків ГПН суттєво збільшується [2, 7]. З іншого боку логістичні медичні проблеми для тимчасових переселенців також збільшують ризики невчасної діагностики ГПН. Відповідно, збільшується і кількість діаліз-залежних випадків ГПН. Все перелічене ставить нові завдання перед системою охорони здоров'я.

2.1. Підготовка до роботи в умовах воєнного стану.

В кожному самостійному центрі нефрології та діалізу створити перелік закладів охорони здоров'я, здатних лікувати ГПН із застосуванням методів ДНЗТ та визначити орієнтовні шляхи евакуації пацієнтів.

Кожне ГД-відділення повинне створити умови для збільшення проведення кількості ГД-сесій щонайменше на 10% більше базового рівня. Якщо персонал відділення немає досвіду здійснення ГД-лікування хворих на ГПН, 2 рази на рік проводити семінари, присвячені діагностиці ГПН, визначення часу початку ДНЗТ, вибору адекватного варіанту ГД та часу його закінчення. Такі ж семінари провести із співробітниками відділень інтенсивної

терапії, де застосовується гемодіаліз як опція лікування пацієнтів з ГПН.

2.2. Організація та надання медичної допомоги хворим на ГПН в умовах надзвичайної ситуації/воєнного стану.

У разі виникнення надзвичайної ситуації чи воєнного стану, забезпечити наявним персоналом прийом та застосування ДНЗТ хворим на ГПН шляхом тимчасового скорочення кількості та/або тривалості ГД-сесій.

У разі перевищення кількості хворих на ГПН, лікування яких може забезпечити конкретне відділення, вони мають бути спрямовані до інших конкретних закладів, які зможуть лікувати таких хворих. Як тільки хворі на ГПН стають діаліз незалежними, вони можуть бути переведені до будь-яких інших відділень відповідно до можливостей і умов з забезпеченням контролю подальшого лікування лікарем-нефрологом.

У разі неможливості забезпечити пацієнта з ГПН необхідним лікуванням – звертатись до Комітету надзвичайних ситуацій.

2.3. Основні положення ведення хворих на ГПН в умовах воєнного стану [8].

Лікування пацієнтів на ГПН визначаються етіологією, типом та стадією ГПН. Забезпечення еуволемії у хворих з гіповолемією шляхом гідратації кристалоїдами з підтримкою забезпечення діурезу більше 0,5 мг/кг/год; у разі вазомоторного шоку разом з інфузією кристалоїдів слід використовувати вазопресори. За підозри розвитку ГПН унаслідок рабдоміолізу для забезпечення еуволемії застосовувати 0,9% розчин натрію хлориду і гідрокарбонату натрію.

Не застосовувати діуретики з метою лікування ГПН. Єдиним показанням до їх застосування є наявність значної гіпергідратації та чутливості до них (збільшення діурезу понад 500 мл після введення петльових діуретиків у максимально можливих дозах). Застосовані дози лікарських засобів повинні визначатись швидкістю клубочкової фільтрації та рівнем їх діалізабельності залежно від конкретного методу ДНЗТ. Слід уникати використання нефротоксичних лікарських засобів особливо нестероїдних протизапальних лікарських засобів, аміноглікозидів та внутрішньовенного введення рентгенконтрастних речовин.

Показаннями до необхідності ДНЗТ у хворих з ГПН є виникнення життєзагрожуючих ситуацій. Реферектерна гіперволемія, диселектролітемія (калій більше 6,5 особливо за наявності ЕКГ ознак гіперкаліємії, концентрація натрія менше 120, більше 155, декомпенсований ацидоз – Ph менше 7,2).

У разі якщо ГПН є складовою синдрому поліорганної недостатності ДНЗТ слід розпочинати до розвитку життєзагрожуючих ускладнень.

Для застосування будь-якого варіанту ГД необхідно застосовувати двоходовий діалізний

катетер з катетеризацією югулярної вени. Вибір конкретного методу ДНЗТ визначається наявністю необхідного обладнання, досвіду персоналу в його застосуванні та клінічними завданнями, які максимально ефективно забезпечать заміщення втраченої функції нирок.

Думка експертів. Частота та структура розподілу ГПН за факторами ураження нирок у зоні бойових дій сучасної війни остаточно не встановлені та можуть значно змінюватися залежно від типу застосованої зброї, структурних характеристик будівель та щільності населення у зоні ураження, ефективності первинної допомоги, ефективності допомоги під час евакуації та на її етапах, тривалості евакуації. Можна з великим ступенем впевненості стверджувати, що частота та спектр ГПН під час війни докорінно відрізняються від таких у мирний час, з істотним збільшенням пацієнтів, які отримали тяжкі вогнепальні або невогнепальні поранення в сполученні з чисельними ускладнюючими факторами (шок, крововтрата, інфікування, синдром стискання, вплив нефротоксичних речовин, недоступність чистої води, тяжкі когнітивні порушення тощо).

Преренальне, ренальне та постренальне ГПН, що є результатом травматичної та нетравматичної етіології, може розвинути як на полі бою, так і на всіх етапах лікування.

Гіповолемія в результаті масивної кровотечі внаслідок основної травми або операції, а також шок внаслідок різних причин може спричинити преренальне ГПН. Хаос і паніка, а також велике робоче навантаження внаслідок воєнної обстановки можуть бути причиною неадекватного лікування та впливати на трансформацію преренального ГПН у ренальне. Залучені на різних етапах надання допомоги лікарі мають володіти та застосовувати заходи профілактики та лікування гіповолемії, особливо під час спеки. Початок ранньої та швидкої гідратації кристалоїдами, для забезпечення еуволемії у поранених з гіповолемією, підтримка гідратації у постраждалих з еуволемією з достатнім виділенням сечі, протишокові заходи є провідними в лікуванні та профілактиці ГПН. Поряд з цим, не менш важливим є доступність чистої води, прийнятних побутових умов та гігієни [7, 8].

Ренальне ГПН викликають ряд станів, асоційовані з токсичним ураженням нирок. Тупа травма м'язів може спричинити краш-синдром, котрий супроводжується міоглобінурією та тяжким ендотоксикозом. Необхідно відмітити, що широке застосування турнікетів та інших засобів боротьби з кровотечею є фактором ризику ГПН та вимагає уваги до таких поранених. Настороженість мають викликати нефротоксичні лікарські засоби, які широко застосовуються у поранених (антибіотики, рентгеноконтрастні речовини, нестероїдні протизапальні препарати) та можуть спричинити ГПН або погіршити його перебіг. Оскільки більшість постражда-

лих госпіталізують у відділення хірургічного профілю, нефротоксичний вплив своєчасно може бути не діагностований. Часто постраждалі потребують переливання крові, проте гемотрансфузія несумісної крові та пов'язані з цим реакції є поширеними у хаотичних обставинах війни та катастроф і можуть призвести до гемоглобінуричного пошкодження нирок [7].

Постренальне ГПН також спостерігається у пацієнтів стаціонару. Основними етіологічними причинами є травма або сторонні тіла сечовивідних шляхів. Крім того, обструкція сечових катетерів або катетерів для нефростоми може легко призвести до зниження функції нирок.

Любі супутні ускладнення значно погіршують перебіг ГПН, тому їх профілактика, діагностика та лікування мають велике значення.

Однак, особливу роль під час війни набуває інфекція. Основними пошкодженнями в зоні бойових дій є рани, які всі вважаються інфікованими, характеризуються поганим загоєнням та численними ускладненнями. Частою є політравма з ураженням декількох органів. Пацієнти часто потребують катетеризації вен, дренажу порожнин, інтубації трехеї, трахеостомії і багатьох інших заходів, що сприяють розвитку інфекційних ускладнень та сепсису, який сам по собі може бути причиною ГПН [7].

Таким чином, організація допомоги хворим на ГПН в умовах війни – це складний багаторівневий процес, в якому повинні приймати участь спеціалісти різного профілю, – але нефрологи є ключовими спеціалістами щодо формалізації основних складових діагностики та лікування хворих на ГПН.

2.4. Організація та надання медичної допомоги після відміни воєнного стану.

Після відміни воєнного стану необхідно визначити наслідки перенесеної гострої хвороби нирок, щодо актуального функціонального стану нирок (повне відновлення, часткове відновлення з формуванням ХХН, стадія ХХН) з визначенням подальшої тактики лікування у разі необхідності.

3. ХВОРІ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК I-IV І V СТАДІЙ

3.1. Підготовка до роботи в умовах воєнного стану.

3.1.1. ЛКНС створює перелік хворих на три групи, інформує останніх про можливі заклади охорони здоров'я (ЗОЗ) у разі необхідності евакуації.

3.1.2. Показанням до госпіталізації хворих нефрологічного профілю під час воєнного стану, є загроза виникнення або наявність життєзагрожуючого стану, необхідність імплантації ПД-катетера або створення артеріовенозної фістули.

3.1.3. Інформувати хворих на ХХН IV стадії про ЗОЗ, де вчасно сформують AV-фістулу або викона-

ють імплантацію ПД-катетера та навчають методиці лікування і забезпечать розхідними матеріалами.

3.1.4. Створити додаткові запаси лікарських засобів та предметів медичного призначення для забезпечення лікування евакуйованих хворих. Орієнтовний об'єм необхідних запасів визначається кількістю хворих, яких додатково здатні прийняти нефрологічні центри області, міст.

3.2. Адаптація організації та надання медичної допомоги хворим на ХХН I-V ст. під час воєнного стану.

3.2.1. У разі загрози виникнення воєнних дій у конкретному регіоні, ЛКНС з іншими державними інституціями сприяють евакуації зазначених у переліку хворих у безпечні регіони України або закордон; за відмови хворих або неможливості здійснення евакуації, – усіма доступними способами інформувати хворих про ЗОЗ, де вони зможуть отримати необхідну консультацію (у т.ч. експертів КНС) та/або медичну допомогу.

3.2.2. Госпіталізація до нефрологічних відділень здійснюється відповідно до показань (див. п. 3.1.2); у разі госпіталізації до відділень іншого профілю, обстеження та лікування узгоджується з лікарем-нефрологом безпосередньо або через можливі засоби комунікацій.

3.3. Організація та надання медичної допомоги після відміни воєнного стану.

3.3.1. Забезпечити відновлення надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН I-V стадії відповідно до національних клінічних рекомендацій та протоколів.

3.3.2. Здійснити аналіз надання спеціалізованої медичної допомоги вище згаданим категоріям пацієнтів та внести необхідні корективи у подальшу діяльність ЛКНС у разі виникнення НС.

Думка експертів. Пацієнти є «пацієнтами» лише під час лікування чи консультації. Решту часу вони стикаються з тими ж проблемами та прагненнями, що й здорове населення. Відсутність доступу до лікаря у зоні бойових дій або окупації, відсутність імуносупресивних та інших ліків, разом з надзвичайно складною логістикою може призвести до смерті [9, 10]. Більшість, якщо не всі, пацієнти з ХХН потребують дієтичних обмежень і прийому кількох ліків для лікування та уповільнення прогресування ХХН. Більшість хворих повідомляли про гірший контроль артеріального тиску, а хворі на цукровий діабет демонстрували гірший глікемічний контроль, що сприяє прогресуванню ХХН. На особливу увагу заслуговують пацієнти, які отримують імуносупресивну терапію, оскільки переривання лікування може призвести до швидкого погіршення основного захворювання. Крім того, імуносупресивний стан може сприяти розвитку серйозних ускладнень, таких як важкі інфекції через антигігієнічні умови війни.

Проведення співбесід експерта КНС з лікарями і членами родин пацієнтів дозволить оптимізувати програму діагностики за умови вперше виявленого нефротичного синдрому, протеїнурії донефротичного рівня, еритроцитурії визначити комплексний лікувальний підхід та проаналізувати ефективність застосування симптоматичного лікування: діуретиків та антигіпертензивних ЛЗ, визначити доцільність призначення імуносупресантів за умови відсутності можливості проведення нефробиопсії.

На сьогодні даних літератури, щодо особливостей надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН в умовах воєнного стану вкрай мало. Важливим є розуміння використання всіх можливих підходів, які забезпечать мінімізацію темпів прогресування ХХН (вірогідність якого пропорційна стадії ХХН) та належним чином підготувати хворого до початку ДНЗТ.

4. ХВОРІ, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ МЕТОДОМ ГЕМОДІАЛІЗУ

За даними Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок та пацієнтів з ГПН станом на 01.01.2021 лікування ГД та ГДФ отримали 8717 пацієнтів, що становить 90% від загальної кількості НЗТ хворих в Україні [6].

Хворі на ХХН ВГД мають значну коморбідність, яка з відомих причин може поглиблюватись та збільшувати частоту негативних наслідків під час війни [11-14].

4.1. Підготовка до роботи в умовах воєнного стану.

4.1.1. ЛКНС надає у кожне відділення нефрології та діалізу створені інструкції щодо роботи в умовах воєнного стану.

4.1.2. Підготувати резерв розхідних матеріалів та лікарських засобів для додаткового лікування евакуйованих хворих, можливу кількість яких слід визначити раніше.

4.1.3. Зі змістом рекомендацій ЛКНС повинні бути ознайомлені пацієнти та персонал відділень в частині, яка їх стосується.

4.2. Організація та надання медичної допомоги в умовах воєнного стану.

4.2.1. Графік роботи відділення має співвідноситись зі змінами роботи громадського транспорту, з урахуванням комендантського часу і т.п.

4.2.2. У разі необхідності слід забезпечити перебування хворих та персоналу в межах лікувального закладу у комендантський час.

4.2.3. Про можливу евакуацію пацієнти мають бути проінформовані з визначенням конкретного ЗОЗ, який забезпечить їх подальше лікування.

4.2.4. Перед евакуацією хворим слід надати виписку з історії хвороби та за можливості надати лікарські засоби на час подорожі до пункту призначення.

4.2.5. Якщо тривалість евакуації вимагає проведення ГД сесії на її етапах, то про таку необхідність слід проінформувати пацієнта та узгодити можливість її здійснення з завідуючим конкретним відділенням.

4.3. Лікування методом ГД в умовах воєнного стану.

4.3.1. Воєнний стан може спричинити дефіцит лікарських засобів, обмеження щодо пересування і т.д., результатом чого можуть бути зміни щодо частоти та тривалості діалітичних сесій і супутнього лікування.

4.3.2. Перелічені причини призведуть до зниження ефективності та адекватності ГД терапії.

4.3.3. Скорочення тривалості діалітичної програми слід повернути до стандартів ГД терапії якомога швидше.

4.3.4. Пацієнти мають бути обізнані та навчені діям, що надаються в порядку само- та взаємодопомоги, за необхідності термінового відключення та спрямування до укриття.

4.4. Організація та надання медичної допомоги після відміни воєнного стану.

4.4.1. Після відміни воєнного стану необхідно якнайшвидше відновити надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН ВГД ст. відповідно до національних настанов та протоколів.

4.4.2. Доцільно провести аналіз організації та забезпечення лікування методом ГД та відкоригувати встановлені недоліки.

Думка експертів. Робота діалітичних центрів в умовах війни ускладнюється ризиками порушення водо- та енергопостачання, значними логістичними проблемами забезпечення лікарськими засобами, витратними матеріалами і т.д. Пацієнти та медичний персонал потерпають від негативних психо-емоційних впливів, погіршення побутових умов та харчування [11-14].

Правильна підготовка, адаптація і ефективна робота ЗОЗ можливі лише за тісної співпраці ЛКНС з органами виконавчої влади, військовими адміністраціями, волонтерськими організаціями, КНС УАН і ФТН. У разі неможливості лікування методом ГД як модальності ДНЗТ і наявності розхідних матеріалів для ПД хворі можуть бути переведені на лікування з застосуванням останньої модальності [15, 16].

5. ХВОРІ, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ МЕТОДОМ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДІАЛІЗУ

За даними Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок та пацієнтів з гострим пошкодженням нирок станом на 01.01.2021 року лікування ПД отримували 776 пацієнтів, що становило 8,5% від загальної кількості НЗТ хворих в Україні [6, 17].

Лікування ПД порівняно з ГД, має безперечні переваги в умовах воєнного стану з огляду на

відсутність залежності від водо- та електропостачання, кількості та завантаженості медичного персоналу, необхідності постійного відвідування хворими діалітичного центру. Останнє є особливо актуальним в зоні активних бойових дій [13, 18]. Основними проблемами під час воєнного стану є логістичні труднощі, зниження якості моніторингу хворих та дотримання гігієнічних вимог під час проведення обмінів, дистанційна корекція у разі виникнення проявів гіпергідратації, діагностика та лікування ПД-асоційованих інфекцій.

ПД-пацієнти відносяться до «червоної» групи та у разі згоди першочергово повинні бути евакуйовані до раніше визначених ЗОЗ до більш безпечних регіонів. У разі, якщо хворі не евакуйовуються, слід корегувати програму лікування ПД відповідно до кількості наявних ПД-розчинів через доступні способи комунікації.

5.1. Підготовка до роботи в умовах воєнного стану.

5.1.1. Голова ЛКНС відповідного рівня визначає особу відповідальну за надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН ВГД ст.

5.1.2. Лікар, відповідальний за лікування ПД-хворих, забезпечує контроль лікування та інформує пацієнтів про евакуацію до конкретного ЗОЗ, у разі необхідності.

5.1.3. Голова ЛКНС може звертатись до експерта КНС з ПД з будь-яких проблем щодо лікування чи евакуації таких хворих.

5.1.4. Задля забезпечення лікування цієї категорії хворих в безперервному режимі в умовах воєнного стану та лікування евакуйованих ПД хворих, створити принаймні тримісячний запас витратних матеріалів для ПД, антианемічних лікарських засобів, діуретиків, калієвих і фосфатбіндерів.

5.2. Адаптація організації та надання медичної допомоги хворим на ХХН V ПД до умов воєнного стану.

5.2.1. Моніторинг ПД пацієнтів слід організувати з урахуванням змін графіку роботи громадського транспорту, тривалості комендантського часу і т.п.

5.2.2. Показанням до госпіталізації ПД хворих під час воєнного стану, є наявність життєзагрожуючого стану, необхідність встановлення ЦВК або формування АВФ в разі потреби в зміні модальності НЗТ.

5.2.3. Під час евакуації, за можливості, передбачити здійснення обмінів з максимальним дотриманням гігієнічних вимог.

5.2.4. У разі виникнення необхідності евакуації, надати пацієнту виписку з історії хвороби, за можливості, забезпечити необхідними лікарськими засобами та рекомендувати звернення до конкретного ЗОЗ для продовження лікування.

5.2.5. У регіонах проведення активних бойових дій у разі виникнення логістичних проблем щодо

розхідних ПД засобів, необхідно змінити програму прескрипції відповідно до наявних ПД-розчинів.

5.2.6. Якщо застосована ПД прескрипція не забезпечує дотримання задовільного водного балансу, можна застосовувати ескалаційний спосіб дозування петльових діуретиків.

5.2.7. Ескалаційний спосіб дозування передбачає 25% збільшення разової дози петльового діуретика від початкової до максимально ефективної.

5.2.8. У разі отримання медичним персоналом інформації від хворого про підозру на виникнення ПД-асоційованої інфекції та неможливості її діагностики і лікування у ЗОЗ, надати йому доступним способом рекомендації щодо лікування таких інфекцій.

5.3. Організація та надання медичної допомоги хворим на ХХН V ПД після відміни воєнного стану.

5.3.1. Після відміни воєнного стану відновити надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН VПД відповідно до національних стандартів та протоколів.

5.3.2. Доцільним є організація надання послуг з психологічної підтримки хворим на ХХН VПД.

5.3.3. ЛКНС провести аналіз організації та якості надання медичної допомоги хворим на ХХН VПД ст. в умовах воєнного стану.

5.3.4. На підставі отриманих даних, визначити заходи щодо покращення організації спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН VПД ст. в умовах воєнного стану.

Думка експертів. Адекватне лікування ПД хворих в умовах воєнного стану в повному обсязі забезпечити вкрай складно. Разом з тим, попередня підготовка до роботи в таких умовах дозволить покращити її організацію та результат.

Інформування регіональними керівниками ЛКНС експертів КНС про виникаючі будь-які проблеми щодо лікування методом ПД також буде сприяти адаптації по організації медичної допомоги в умовах воєнного стану.

Співробітники місцевих військових адміністрацій відповідальні за організацію медичної допомоги мають бути проінформовані про особливості забезпечення лікування хворих на ХХН VД ст. Співпраця з волонтерськими організаціями допоможе у виборі швидкого та безпечного маршруту евакуації хворих як в межах України так і за кордоном.

На сьогодні є досить обмеженими дані щодо особливостей надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ХХН в цілому та, зокрема, пацієнтам з ХХН VПД ст., в умовах воєнного стану. Відсутня на теперішній час і інформація щодо впливу перебування цієї категорії хворих в умовах бойових дій та евакуації на наслідки, на частоту ускладнень та розвитку коморбідних станів в ПД популяції. Водночас, є доведеним, що в мирний час, розвиток коморбідних станів пов'язаний з ба-

гатьма факторами та має негативний вплив на наслідки у хворих на ХХН VД ст. [14, 17]. Саме тому досвід, що нажаль будуть мати нефрологи України після закінчення російського військового вторгнення на територію нашої суверенної країни, має бути всебічно проаналізований та дозволить розробити рекомендації спрямовані на покращення медичної допомоги в умовах воєнного стану.

6. ТРАНСПЛАНТАЦІЯ НИРКИ ТА ХВОРИ ПІСЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

Як правило, трансплантація під час війни різко обмежується у зв'язку зі скороченням кількості діючих лікувальних установ, медичного персоналу та доступних лікарських засобів, а вся хірургічна служба переорієнтується на надання допомоги раненим і постраждалим [18]. Основна увага має бути зосереджена на хворих після трансплантації нирок з метою збереження функції трансплантата та життя хворого. Таких пацієнтів в Україні на кінець 2021 року налічувалося близько 2000. Виклики воєнного часу – це проблематичність у забезпеченні імуносупресивною терапією, оскільки далеко не в усіх пацієнтів є запас лікарських засобів [19]. Погані санітарно-гігієнічні умови можуть стати причиною інфікування, а недостатнє харчування та дегідратація можуть стати причиною порушення функції ТН [20]. Відсутність спостереження нефролога/трансплантолога може сприяти пізній діагностиці та погіршити якість лікування ускладнень [18]. Як результат – збільшення кількості втрат ниркового трансплантату. З аналогічними ризиками та ускладненнями можуть зіткнутися і пацієнти, які виїхали у пошуках безпечного місця проживання за кордон. Для реципієнтів ТН такими проблемами є неможливість отримувати імуносупресивні препарати, погані умови переїзду в перенаселених приміщеннях, таборах, наметах та відсутність доступу до трансплантаційного центру. Крім того, хворі часто стикаються з проблемою мовного бар'єру, що веде до труднощів комунікації з місцевим медперсоналом та може негативно вплинути на результати лікування. Все це збільшує ризик втрати трансплантату і навіть смерті пацієнта [18]. Для мінімізації ризиків, пов'язаних з війною, дуже важливо навчання пацієнтів за допомогою різних засобів масової інформації, в першу чергу – спеціально підготовлених брошур та інфографіки [21]. Вони повинні містити практичні поради з самолікування в різних невідкладних ситуаціях, рекомендувати створення двотижневих запасів необхідних лікарських засобів [19, 22].

6.1. Підготовка до роботи в умовах воєнного стану.

Створити реєстр контактних осіб на регіональному/обласному рівні, безпосередньо відповідальних за надання спеціалізованої медичної допомоги хворим після ТН, встановити з ними оптимальний канал комунікації.

Створити реєстр лікувальних закладів по регіонах з урахуванням наявності спеціалістів нефрологів/трансплантологів та відповідних лабораторій з визначення концентрацій імунодепресивних препаратів з контактними даними.

Розрахувати необхідну потребу у лікарських засобах та рекомендувати створити їх запас у більш безпечних регіонах України.

6.2. Адаптація організації та надання медичної допомоги хворим після ТН до умов воєнного стану.

6.2.1. Створити план можливого переміщення пацієнтів після ТН між регіонами з метою евакуації у більш безпечні райони з орієнтацією на нефрологічний центр, конкретного експерта з питань нефрології та ТН, відповідального з питань ТН у КНС.

6.2.2. Забезпечити більш безпечні регіони додатковим медичним персоналом за рахунок його переведення з нефункціонуючих лікарень до функціонуючих в умовах раптового напливу потерпілих та перерозподілу пацієнтів.

6.2.3. Звернутися до регіональної військової адміністрації розглянути можливість додаткових закупок імуносупресивних лікарських засобів за необхідності або звернутися за гуманітарною допомогою до волонтерів, закордонних колег/асоціацій.

6.2.4. Забезпечити хворих з ТН запасом лікарських засобів.

6.2.5. Рекомендувати хворому з ТН терміново повідомити регіонального експерта з нефрології/трансплантації, у разі тимчасового переселення у більш безпечний регіон.

6.2.6. За необхідності, забезпечити доступ хворого з ТН до лікування ДНЗТ.

6.2.7. Можливою є корекція режиму прийому лікарських засобів з урахуванням їхньої наявності: можливим є перехід з одного препарату на інший

(лікарські засоби мікофенолової кислоти, в разі їх відсутності замінити на азатіоприн; замінити інгібітор кальцєневрину на той, що є в наявності з відповідною корекцією дози).

Можливою є, за необхідності, зміна трикомпонентної схеми імуносупресії на двокомпонентну з одночасним збільшенням концентрацій наявних лікарських засобів.

6.2.8. В разі виникнення ускладнень у хворих з ТН, в тому числі відторгнення трансплантата, в умовах відсутності профільних лікувальних закладів та фахівців можна використати телемедицину, а за відсутності доступу до неї – швидко спрямувати пацієнта в інший регіон або навіть країну, де є можливість надати відповідну медичну допомогу.

6.3. Організація та надання медичної допомоги після відміни воєнного стану.

6.3.1. Після закінчення воєнного стану слід якнайшвидше провести повне обстеження реципієнтів ТН для виявлення та усунення нетермінових медичних проблем, що виникли за час НС.

6.3.2. Слід проаналізувати та узагальнити досвід, накопичений за час війни, для запобігання старим помилкам та проведення оптимальних підготовчих заходів на випадок виникнення нових катастроф.

Реалізація запропонованих рекомендацій передбачає тісну співпрацю нефрологічної спільноти з державними, недержавними організаціями та окремими особами як в Україні, так і закордоном.

На наш погляд, запропоновані рекомендації, створені на основі важко здобутого досвіду українських нефрологів, допоможуть їм і хворим нефрологічного профілю досягти максимально можливих під час воєнного стану позитивних результатів лікування.

References (Література):

1. Kodeks tsyvilnoho zakhystu Ukrainy vid 02.10.2012 r. № 5403-VI (redaktsiia 03.04.2022 r.) [Internet]. Available from: https://protocol.ua/ua/kodeks_tsivilnogo_zahistu_ukraini_1/ [In Ukrainian].
2. Vanholder R, Van Biesen W, Lameire N, Sever MS; International Society of Nephrology/Renal Disaster Relief Task Force. The role of the International Society of Nephrology/Renal Disaster Relief Task Force in the rescue of renal disaster victims. *Contrib Nephrol.* 2007;156:325-32. doi: 10.1159/000102123.
3. Kolesnyk M, Stepanova N, Kozliuk N. Specialized medical care for chronic kidney disease patients during the war in Ukraine. *Ukr J Nephrol Dial.* 2022;2(74):3-5. doi: 10.31450/ukrjnd.2(74).2022.01.
4. Jonny J, Hasyim M, Angelia V, Jahya AN, Hilman LP, Kusumaningrum VF, et al. Incidence of acute kidney injury and use of renal replacement therapy in intensive care unit patients in Indonesia. *BMC Nephrol.* 2020;21(1):191. doi: 10.1186/s12882-020-01849-y.
5. Siew ED, Davenport A. The growth of acute kidney injury: a rising tide or just closer attention to detail? *Kidney Int.* 2015;87(1):46-61. doi: 10.1038/ki.2014.293.
6. Kolesnyk MO, hol. redaktor. Natsionalnyi reiestr khvorykh na khronichnu khvorobu nyrok ta patsientiv z hostryim poshkodzhenniam nyrok: 2020 rik / uklad. NI Kozliuk, OO Razvazhaieva; Derzhavna ustanova «Instytut nefrolohii NAMN Ukrainy». Kyiv; 2021.180 s. [In Ukrainian].

7. *Sever MS, Vanholder R, Lameire N.* Acute Kidney Injury in Active Wars and Other Man-Made Disasters. *Semin Nephrol.* 2020;40(4):341-353. doi: 10.1016/j.semnephrol.2020.06.001.
8. *Sever MS, Vanholder R;* RDRTF of ISN Work Group on Recommendations for the Management of Crush Victims in Mass Disasters. Recommendation for the management of crush victims in mass disasters. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27 Suppl 1:i1-67. doi: 10.1093/ndt/gfs156.
9. *Vanholder R, Gallego D, Sever MS.* Wars and kidney patients: a statement by the European Kidney Health Alliance related to the Russian-Ukrainian conflict. *J Nephrol.* 2022;35(2):377-380. doi: 10.1007/s40620-022-01301-4.
10. *Stepanova N.* War in Ukraine: the price of dialysis patients' survival. *J Nephrol.* 2022;35(3):717-718. doi: 10.1007/s40620-022-01308-x.
11. *Sekkarie M, Murad L, Al-Makki A, Al-Saghir F, Rifai O, Isreb M.* End-Stage Kidney Disease in Areas of Armed Conflicts: Challenges and Solutions. *Semin Nephrol.* 2020;40(4):354-362. doi: 10.1016/j.semnephrol.2020.06.003.
12. *Mesic E, Aleckovic-Halilovic M, Tulumovic D, Trnacevic S.* Nephrology in Bosnia and Herzegovina: impact of the 1992-95 war. *Clin Kidney J.* 2018;11(6):803-809. doi: 10.1093/ckj/sfy098.
13. *Stepanova N, Kolesnyk M, Mithani Z, Alkofair B, Shakour RL, Petrova A, Novakivskyy V, Hymes JL, Brzosko S, Giullian J, Espinel Z, Shultz JM.* Lifesaving Care for Patients with Kidney Failure during the War in Ukraine 2022. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2022;17(7):1079-1081. doi: 10.2215/CJN.04720422.
14. *Shifris I, Dudar I, Driyanska V, Honchar Y, Savchenko V.* Comorbidity status and interleukin-10 levels in end-stage renal disease patients treated with hemodialysis. *Pol Merkur Lekarski.* 2021;49(291):182-186.
15. *Gorbatkin C, Bass J, Finkelstein FO, Gorbatkin SM.* Peritoneal Dialysis in Austere Environments: An Emergent Approach to Renal Failure Management. *West J Emerg Med.* 2018;19(3):548-556. doi: 10.5811/westjem.2018.3.36762.
16. *Gorbatkin C, Finkelstein FO, Kazancioglu RT.* Peritoneal Dialysis during Active War. *Semin Nephrol.* 2020;40(4):375-385. doi: 10.1016/j.semnephrol.2020.06.005.
17. *Shifris IM, Dudar IO, Driyanska VE, Shymova AU.* Activation of chronic inflammation and comorbidity in end-stage renal disease patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Medicni Perspektivi.* 2020;25(2):108-118. doi:10.26641/2307-0404.2020.2.206381.
18. *Alasfar S, Isreb M, Kaysi S, Hatahet K.* Renal Transplantation in Areas of Armed Conflict. *Semin Nephrol.* 2020;40(4):386-392. doi: 10.1016/j.semnephrol.2020.06.006.
19. *Kadowaki M, Saito M, Amada N, Haga I, Nakamura A, Tokodai K.* Medication compliance in renal transplant patients during the Great East Japan Earthquake. *Transplant Proc.* 2014;46(2):610-2. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.11.039.
20. *Shimmura H, Kawaguchi H, Tokiwa M, Tanabe K.* Impact of the Great Eastern Japan Earthquake on transplant renal function in Iwaki city, Fukushima. *Transplant Proc.* 2014;46(2):613-5. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.11.044.
21. *Vanholder R, De Weggheleire A, Ivanov DD, Luyckx V, Slama S, Sekkarie M, et al.* Continuing kidney care in conflicts. *Nat Rev Nephrol.* 2022;18(8):479-480. doi: 10.1038/s41581-022-00588-7.
22. National Kidney Foundation. Planning for Emergencies – A Guide for People with Kidney Disease. [Internet]. Available from: <https://www.kidney.org/atoz/content/disasterbrochurefacilities>.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Clinical case reports

V. Globa¹, G. Bozhok¹, E. Legach¹, M. Chyzh¹, Y. Samburg²,
O. Godlevska²

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.02

Morphological pattern of kidneys in rats with infravesical urinary obstruction following administration of biologically active compositions containing neurotrophic factors

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

Citation:

Globa V, Bozhok G, Legach E, Chyzh M, Samburg Y, Godlevska O. Morphological pattern of kidneys in rats with infravesical urinary obstruction following administration of biologically active compositions containing neurotrophic factors. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):13-21. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.02.

Abstract. *The research aimed to study the morphological characteristics of kidneys after intraperitoneal administration of biologically active compositions (BACs) in rats with infravesical obstruction (IVO). Methods. IVO was reproduced by surgical ligation. BACs were injected intraperitoneally for 10 days. The morphometric parameters of the kidneys were determined by examining their structure (the areas of renal corpuscle, glomerulus, the cavity of the glomerular capsule, outer and inner diameters of the tubules, the tubular index, the outer diameter and area of the vascular lumen). The experimental animals were divided into the following groups: Group 1 was saved as an intact control group, Group 2 received "Cortexin", Group 3 was given CMCNMG, Group 4 received BCM, and Group 5 was not treated (U).*

Results. BACs obtained from a culture of native mantle gliocytes (MG) and BCM were involved in the remodeling of the kidneys' structure being changed during IVO. The renal corpuscle area was found to be increased in groups 2, 4, and 5 by 42.3%, 193.9%, and 72.3%, respectively, compared with the control group. At the same time, the extent of renal corpuscle hypertrophy in group 3 was minimal and approached the control values. The glomerulus area expanded by 35.4%, 181.1%, and 34% in animals of groups 3, 4, and 5, respectively, compared with the control group. However, the difference in the index between group 5 and BAC-treated animals was not significant, except for group 4. The Bowman's capsule area increased by 117.6%, 235.8%, and 186%, in groups 2, 4 and 5, respectively, compared with the control group. Interestingly, the values in groups 1 and 3 were in agreement but differed from group 5. The lowest values of outer and inner diameters of renal tubules were determined in group 3, which were close to those in the control group but significantly different from those of other groups. An increased tubular index (by 1.35 and 1.4 times) was revealed in groups 3 and 4, compared with other groups. The lowest values were found in groups 2 and 5. The maximum values of the average diameter and area of the vessel lumen were determined in groups 3 and 4, and the minimum values were obtained in group 5. It is noteworthy that the indices of these groups were significantly different from those of group 5.

Conclusions. The research results suggest that the phenomena of glomerulosclerosis, tubular atrophy, and renal interstitial fibrosis in rats can be alleviated, as well as the morphological structure of rat kidneys can be partially restored against the background of IVO after administration of CMCNMG and, to a lesser extent, BCM due to the multidirectional action of neurotrophic factors.

Keywords: *morphological parameters, infravesical obstruction, obstructive uropathy, renal fibrosis, spinal ganglion, mantle gliocytes, conditioned medium.*

Conflict of interest statement. *The authors declare no competing interest.*

© V. Globa, G. Bozhok, E. Legach, M. Chyzh, Y. Samburg, O. Godlevska, 2022.

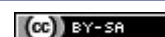
Correspondence should be addressed to Vyacheslav Globa: globa.1978@gmail.com

Article history:

Received July 08, 2022

Received in revised form
July 29, 2022

Accepted July 31, 2022



© Глоба В. Ю., Божок Г. А., Легач Є. І., Чиж М. О., Самбург Я. Ю., Годлевська О. М., 2022

УДК: 616.61/.62-008.22 :572.787]-085

В.Ю. Глоба¹, Г.А. Божок¹, Є.І. Легач¹, М.О. Чиж¹, Я.Ю. Самбург², О.М. Годлевська²

Морфологічний патерн нирок щурів з інфравезикальною обструкцією після введення біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

²Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна

Резюме. Метою дослідження було вивчення морфологічних особливостей нирок після внутрішньоочеревинного введення біологічно активних композицій (БАК) у щурів з інфравезикальною обструкцією (ІВО).

Методи. ІВО була відтворена шляхом лігування. БАК вводили внутрішньоочеревно протягом 10 діб. Визначали морфометричні показники нирок шляхом вивчення їх структури (площу ниркового тільця, площу клубочка, площу порожнини капсули клубочка, зовнішній та внутрішній діаметри каналців, каналцьовий індекс, зовнішній діаметр та площу просвіту судин). Піддослідні тварини були розподілені на групи: 1 – інтактний контроль (К); 2 – введення «кортексіну»; 3 – кондиційоване середовище культури нативних мантійних гліоцитів (КСКНМГ); 4 – базове середовище культивування (БСК); 5 – без лікування.

Результати. БАК, отримані від культури нативних мантійних гліоцитів (МГ) та БСК, брали участь у ремоделюванні структури нирок, яка змінюється під час ІВО. Виявлено збільшення площі ниркових тілець у 2-ї, 4-ї та 5-ї групах на 42,3%, 193,9% та 72,3% відповідно, порівняно з контрольною групою. У той же час ступінь гіпертрофії ниркового тільця у 3-ї групі була мінімальною та наближалася до контрольних значень. У тварин 3-ї, 4-ї та 5-ї груп площа клубочків збільшилася відповідно на 35,4 %, 181,1 % та 34 % порівняно з контрольною групою. Однак різниця в індексі між 5-ю групою та тваринами, які отримували БАК, була несуттєвою, за винятком 4-ї групи. Площа простору капсули Боумена збільшилася у 2-ї, 4-ї та 5-ї групах на 117,6%, 235,8% та 186%, відповідно, порівняно з контролем. Цікаво, що значення 1-ї та 3-ї груп збігалися, але відрізнялися від 5-ї групи. Найнижчі показники зовнішнього та внутрішнього діаметрів ниркових каналців були визначені у 3-ї групі, які були близькі до показників контрольної групи, але вірогідно відрізнялися від показників інших груп. У 3-ї та 4-ї групах виявлено підвищення тубулярного індексу (у 1,35 та 1,4 рази) порівняно з іншими групами. Найнижчі показники виявлені у 2-ї та 5-ї групах. Максимальні значення середнього діаметра та площі просвіту судини визначені у 3-ї та 4-ї групах, мінімальні у 5-ї. Слід зазначити, що показники цих груп значно відрізнялися від 5-ї групи.

Висновки. Результати експерименту свідчать про можливість зменшення явищ гломерулосклерозу, канальцевої атрофії та ниркового інтерстиціального фіброзу (НІФ), а також часткового відновлення морфологічної структури нирки щурів на тлі ІВО після введення КСКНМГ та меншою мірою БСК за рахунок різноспрямованої дії нейротрофічних факторів (НФ).

Ключові слова: морфологічні показники, інфравезикальна обструкція, обструктивна уропатія, нирковий фіброз, спінальний ганглії, мантійні гліоцити, кондиційоване середовище.

Introduction. The term ‘obstructive uropathy’ (OU) refers to a complex of changes in the structure and functions of renal parenchyma, predominantly of the tubulointerstitial type, which develops as a result of the disordered urine passage of functional or organic origins at the level of the pyelocaliceal, ureteropelvic, vesicoureteral segments or is the consequence of infra-vesical obstruction (IVO) [1-3].

Chronic tubulointerstitial nephritis develops as a result of the progression of epithelial to mesenchymal transition (EMT) and it is characterized by tubular atrophy, RIF, and inflammation, which is also a constant

component of chronic kidney disease (CKD) in general and OU, in particular [4-6].

CKD is one of the most prevalent diseases that pose a threat to human health and life, affecting more than 10% of the world’s population. By 2030, 14 out of every 100,000 people could die from CKD [7, 8]. CKD is a global pandemic that is growing rapidly [1, 9, 10], and in some cases, the progression of the disease cannot be prevented with modern treatments [2, 7, 11].

Among the tools of regenerative medicine, cell therapy is primarily considered a therapeutic intervention that improves the outcomes of kidney diseases. This approach has shown promise in terms of improving renal function, but some safety issues remain to be resolved before the clinical application. These include immune rejection, pulmonary embolism and teratoma formation due to uncontrolled proliferation of pluripotent stem cells (SC) [7, 11-14].

Глоба Вячеслав Юрійович
globa.1978@gmail.com

Stem cells can also act in a paracrine manner by secreting the growth factors and cytokines that can promote regeneration [2, 15, 16].

Renal interstitial fibrosis is an important pathological sign of renal aging and CKD, which can be regulated by SC through their secretion [3, 7, 16].

Neurotrophic factors (NFs) play several key roles in renal physiology, including immune modulation, tissue proliferation/regeneration, microbiota and electrolyte balance, which contribute to the maintenance of renal homeostasis. However, under pathological conditions, the NFs can stimulate inflammation, fibrosis, coagulation, and oncogenesis. Recently, both in vivo and in vitro studies have shown explosive advances regarding the protective role of NFs in various renal diseases [8, 15-18].

Evidence suggests that the NFs derived from the glial cell line are necessary for the development of parasympathetic, intestinal, and motor neurons during spermatogenesis and kidney morphogenesis, and may also be the factors in the survival of damaged kidneys cells [6, 15, 19, 20].

For this purpose, neurotrophic drugs are used including Cortexin, which acts mainly on the nervous system. The idea of using the mantle gliocytes (MG) and their secretome may be promising in the rehabilitation therapy of kidneys in OU due to IVO.

The present study aimed to evaluate the morphological characteristics of the kidneys after intraperitoneal administration of biologically active compositions in rats with IVO.

Materials and Methods. The study was carried out on 6-month-old white outbred rats (250–320g, n=48). Manipulations of animals were performed in accordance with the Law of Ukraine ‘On Protection of Animals Against Cruelty’ (No. 3447-IV dated 21.02.2006) in compliance with the requirements of the Committee in Bioethics of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv) and accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

Study design. The culture of MG was obtained from the spinal ganglia (SG) of neonatal piglets by an enzymatic method [21]. The BCM contained – MEM with the addition of 10% fetal bovine serum (FBTS, BioSera, France). Cells were cultured in plastic Petri dishes with an area of 9 cm², which were treated with poly-D-lysine (Orange Scientific, Belgium) at 37°C in an atmosphere with 5% CO₂. The initial seeding concentration of cells in both cases was 6 10⁴ cells/cm². On day 21 of cultivation, the medium was collected from all Petri dishes and pooled; an aliquot was taken and used

in further experiments. IVO was reproduced by surgical ligation [22]. After 6 weeks, the ligature was removed and the next day, the animals began to be injected intraperitoneally with the BACs for 10 days. Conditioned medium obtained from the culture of native mantle gliocytes (CMCNMG) and BCM were injected at 0.6 ml/kg of body weight. Cortexin (Geropharm, Russia) was administered at a dose of 1.0 ml/kg of body weight [23]. The animals were removed from the experiment by decapitation under anesthesia on day 56 after the start of IVO modeling. The experimental animals were divided into the following groups: Group 1 was saved as an intact control group, Group 2 received “Cortexin”, Group 3 was given CMCNMG, Group 4 received BCM, and Group 5 was not treated.

Morphologic analysis of kidneys. For morphological assessment, the kidney fragments were histologically processed and stained with hematoxylin and eosin according to the standard method [24]. Microphotography was carried out using an AmScope light-optical microscope, model XYL-403 (China), and a digital camera. Morphometric analysis of micrographs of serial sections of kidneys was performed using the AxioVision Rel 4.7 image processing software (Carl Zeiss, Germany). The areas of the renal corpuscle, glomerulus, glomerular capsule cavity, outer and inner diameters of tubules, the tubular index (the ratio of the tubule wall thickness to its lumen diameter), the outer diameter, and the area of the vessel lumen on histological specimens were measured in cross-sections. When calculating the quantitative characteristics of structural components in the kidney, one micro-photograph was measured 30 times in each case [25].

Statistical analysis. The results were statistically processed using Excel (Microsoft, USA) and Statistica 10 (Statsoft, USA). Quantitative data were expressed as median (Me) and quartiles (Q1; Q3) and assessed using nonparametric Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests with the Dunnett’s test for post-hoc comparisons. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results. General histological characteristic of kidneys. Morphological examination of kidneys of intact control rats revealed the renal corpuscles with elliptical and spherical glomeruli in the cortex. The glomeruli were of normal size, with thin unfolded loops, no evidence of the proliferation of glomerular cells, and an increased mesangial matrix. The vessels were consistent without signs of pathological changes. The kidney stroma consisted of loose, unaltered connective (interstitial) tissue. Intact distal and proximal renal tubules were noted in the renal parenchyma, forming nephrons together with blood capillaries (Fig. 1A, 1B).

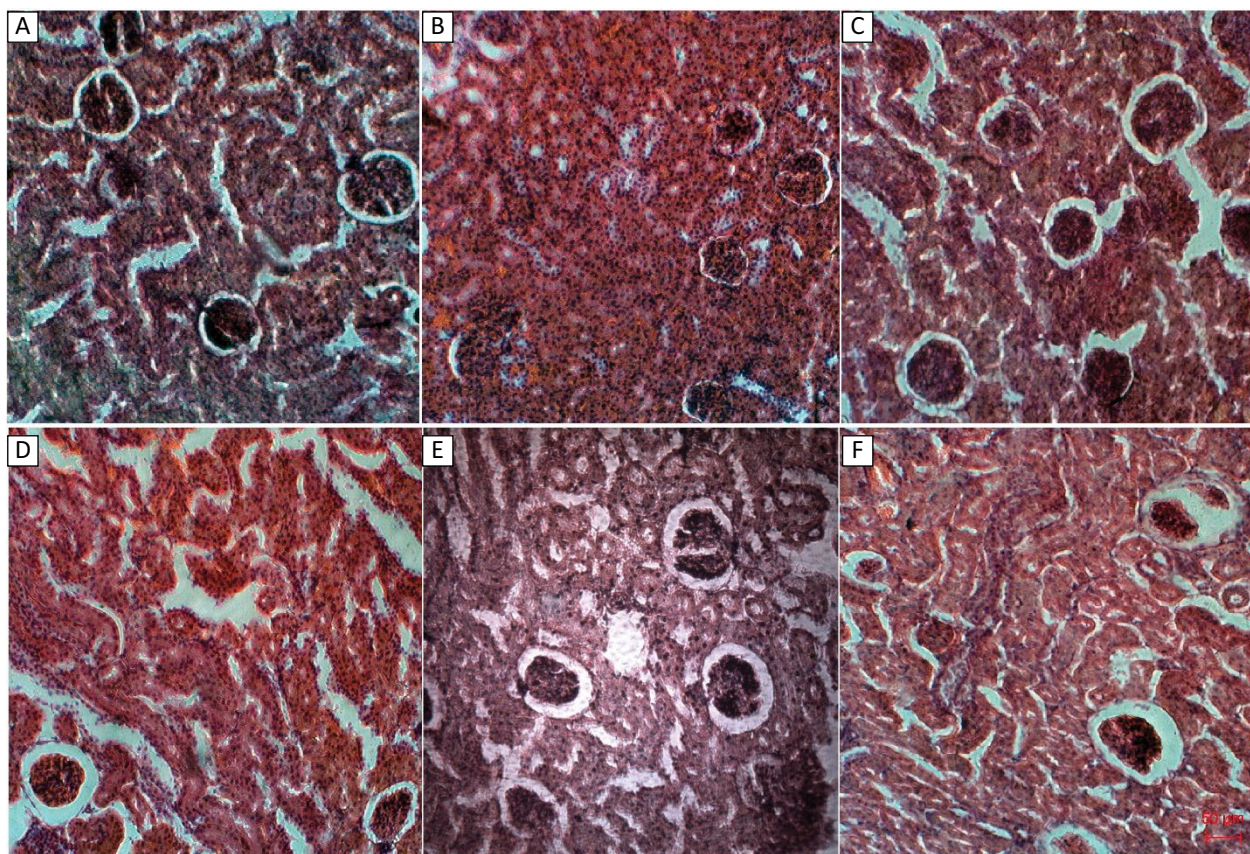


Fig. 1. Histopathological examination of the different groups examined (H and E stain; scale bar, 50 μm).
 (A), (B): intact control; (C): Cortexin drug; (D): conditioned medium obtained from the culture of native mantle gliocytes;
 (E): basic culture medium; (F): no treatment.

In group 2 kidneys (Cortexin), the renal corpuscles with glomeruli of various shapes were found in the cortical layer. The glomeruli were moderately enlarged, with evidence of segmental cell proliferation of the glomerulus. GS and partial atrophy of the glomeruli with the expansion of Bowman's space were often detected. Defragmentation of the glomerular capillary network with single areas of mesangiolytic was multifocal. Altered renal tubules were determined (partially with tubular degeneration and atrophy, signs of regeneration of collecting ducts and tubules, everywhere expanded in diameter with desquamated epithelial cells in the lumen, sometimes with tubular hyperplasia, also single cysts). Tubular necrosis areas were identified. The vessels were changed throughout: enlarged in diameter with a narrow lumen. Multifocal interstitial fibrosis, segmental inflammatory infiltrates, single infarcts, and hemorrhages were detected (Fig. 1C).

In group 3 animals (CMCNMG), the renal cortex was found to have nonenlarged renal corpuscles with spherical and elliptical glomeruli, the latter predominating. The glomerular capillary network largely retained its normal structure. The glomerular capillary network largely retained its normal structure. The glomeruli were enlarged, with evidence of cell proliferation and a moderate increase in the mesangium. The phenomenon was multifocal in nature. In most cases, the Bowman's space was unaltered, not expand-

ed. Most tubules were not enlarged, not dilated. The expressed hyperplasia of the tubule epithelium was found. Everywhere there was evidence of regeneration of the nephron structural elements (tubular basophilia and cell hyperplasia in the cortex and medulla without hypertrophy accompanying them, cell hyperplasia of the glomerulus basement membrane, absence or minimal diffuse peritubular and interstitial cell infiltrate, the vascular network restructuring). The diameter of the vessels was practically unchanged, their lumen was sufficient, sometimes expanded. Focal interstitial fibrosis and isolated inflammatory infiltrate were detected (Fig. 1D).

In group 4 rats (BCM), the enlarged renal corpuscles with elliptical, focally rounded, and polygonal glomeruli were determined in the cortical substance. The glomeruli were sharply enlarged with evidence of cell hyperplasia/hypertrophy. Defragmentation of the glomerular capillary network with the mesangiolytic areas was segmental. GS and partial glomerular atrophy were detected focally. Severe enlargement and expansion of the Bowman's space, which was frequently filled with cylinders, desquamated cells, and erythrocytes, was noted. Multifocally hyperplastic renal tubules are sharply enlarged and dilated in diameter, and the lumen is filled with cellular content. Areas with signs of degeneration and regeneration, partial atrophy, and single necrosis were identified. The diameter of the vessels was

increased, and the lumen was moderately sclerotic and narrowed. Focal interstitial fibrosis, single infarctions and inflammation occurred (Fig. 1E).

Microscopic assessment of the kidneys of group 5 rats (U) revealed enlarged renal corpuscles with glomeruli of various shapes in the cortical zone: often rounded or flattened, rarely ellipsoidal. Moderate enlargement of glomeruli with defragmentation of the glomerular capillary network and mesangiolytic was multifocal. Total and segmental destruction of renal corpuscles occurred. GS and atrophy with enlargement of the Bowman's space were frequently identified. Mostly it was filled with cell masses and cylinders. Focal glomerular and interstitial amyloidosis was detected. In the kidney parenchyma, multiple dilated tubules with tubular atrophy, degeneration (basophilia, nuclei accumulation, loss of the lining epithelium, single cell necrosis, pigment accumulation), and vacuolization of the epithelium were noted. Desquamated epithelial cells and cylinders were frequently noted in the lumen of the tubules. Regeneration of the tubular epithelium after degeneration in the form of hyperplasia and cell hypertrophy was focal in nature. Multiple cysts were found. The vessels were altered throughout sclerosed, greatly reduced in diameter with a narrow lumen. Multifocal interstitial fibrosis and inflammatory infiltrate, segmental infarctions, and hemorrhages (Fig. 1F).

The vessels were altered throughout sclerosed, greatly reduced in diameter with the narrow lumen. Multifocal interstitial fibrosis and inflammatory infiltrate, segmental infarcts, and hemorrhages were found (Fig. 1, F).

Morphometric characteristics of the kidneys. Measurement of the renal corpuscle area revealed an increase in groups 2, 4, and 5 by 42.3%, 193.9%, and 72.3%, respectively, compared with the intact control group (Fig. 2A). At the same time, the extent of renal corpuscle hypertrophy in group 3 was minimal and approached the control values, and it was maximal in group 4. The indices of both groups were significantly different from those of group 5 (U) (Fig. 2A, $p > 0.05$), except for group 2.

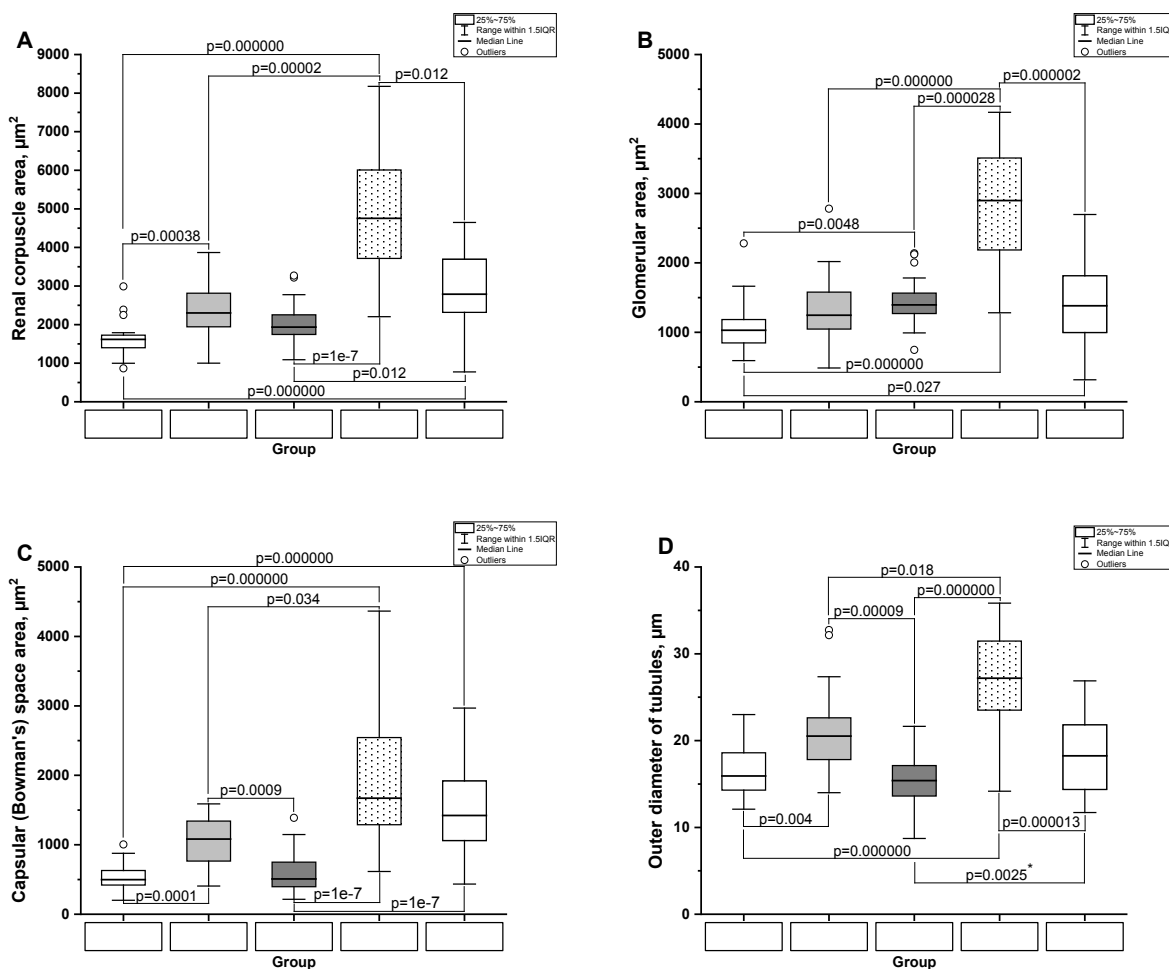


Fig. 2. Renal corpuscle area (A), glomerular area (B), capsular (Bowman's) space area (C), and outer diameter of tubules (D) of the examined groups.

The glomerulus area was increased in the animals of groups 3, 4 by 35.4%, 181.1%, and 34%, respectively, compared with the intact control group (Fig. 2B). However, the difference in this index between group 5 and BACs-treated animals was not significant except for group 4 ($p>0.05$).

Bowman's capsule area was enhanced by 117.6%, 235.8%, and 186% in groups 2, 4, and 5, respectively, compared with the intact control group (Fig. 2, C). Interestingly, the values of groups 1 (C) and 3 were in agreement but differed from those of group 5 (U).

Measurement of the outer diameter of tubules revealed an increase of 28.9% and 71% in groups 2

and 4, respectively, compared with the intact control group (Fig. 2D). At the same time, the extent of tubular enlargement in group 3 was minimal and approached the control values, and in group 4 it was maximal, which distinguished them from the corresponding indices of group 5 (U).

An increased inner diameter of tubules by 72.8%, 37.5%, and 31.2% was detected in groups 2, 4, and 5, respectively, compared with the intact control group (Fig. 3A). But the difference in this index between group 5 and BACs-treated animals was not significant, except for group 3 (Fig. 3A, $p>0.05$).

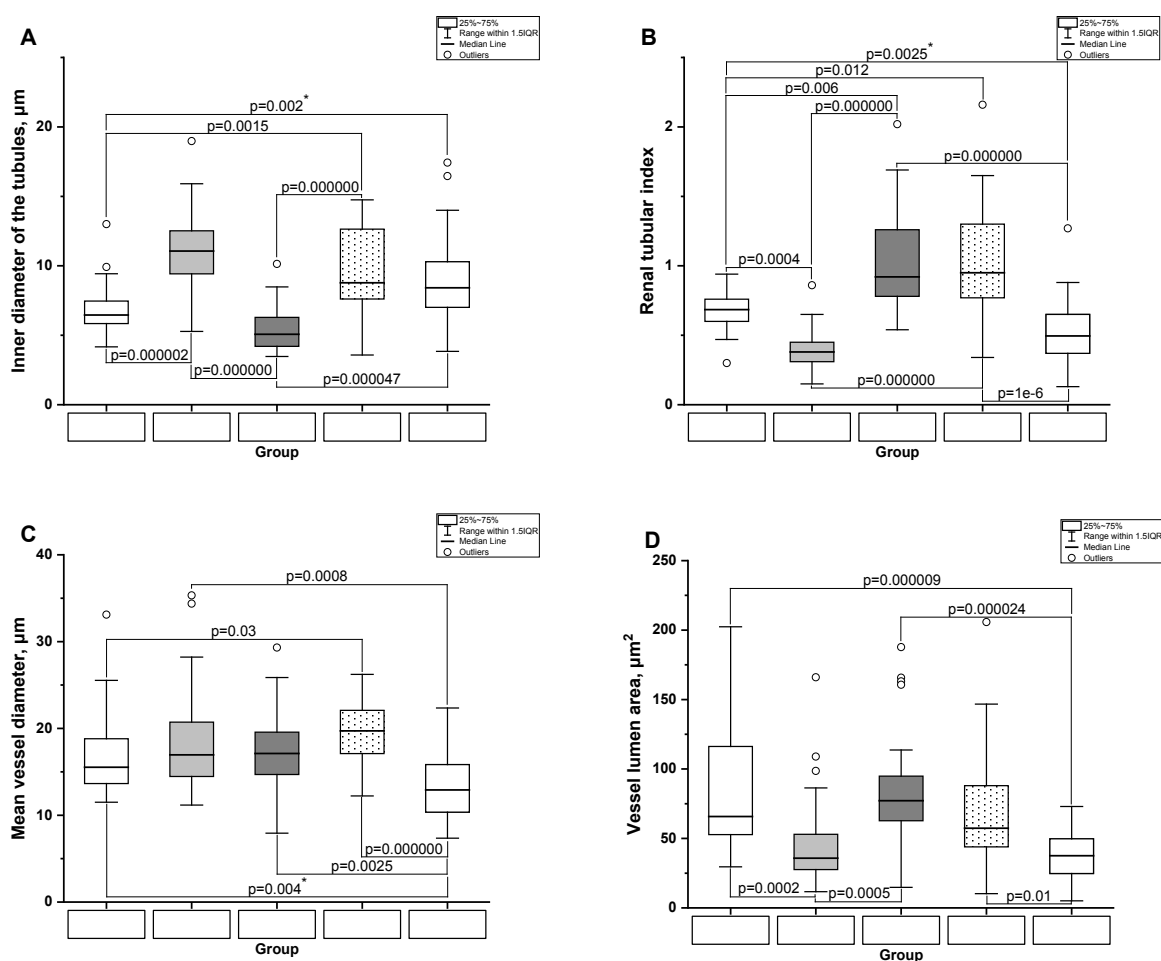


Fig. 3. Inner diameter of the tubules (A), renal tubular index (B), mean vessel diameter (C), and vessel lumen area (D) in the examined groups.

Examination of the renal tubular index revealed an increase of 1.35- and 1.4-fold in groups 3 (CMCNMG) and 4 (BCM), respectively, compared with the other groups (Fig. 3B). Groups 2 (Cortexin) and 5 (U) had the lowest index values.

Morphometric analysis revealed an increase in the mean vessel diameter in all groups except group 5 (U) by 9%, 10.3%, and 27.1%, respectively, compared with the intact control group (Fig. 3C). Besides, the size of the vessels in groups 2, 3 and 4 was significantly higher than in group 5 (U).

The vessel lumen area decreased by 45.7% and 43% in groups 2 and 5, respectively, compared with the intact control group (Fig. 3D). The vessel lumen area in group 3 was maximum and greater than the control values, and in group 4 it did not differ significantly from the latter. Interestingly, the scores of both groups were significantly different from those of group 5 (U), except for group 2 (Cortexin) (Fig. 3D, $p>0.05$).

Discussion. We searched for the papers that studied the effect of BACs obtained from SG on the morpho-functional parameters of kidneys of experimental

animals and humans after IVO. The results of such a search were meager [6, 14, 19, 26]. Basically, in most scientific reports the SCs and conditioned medium (CM) isolated by them were used for cell therapy and tissue engineering [7, 8, 11, 12, 15, 18]; and investigated the effect of high hydrostatic pressure on the renal tissue [1, 2, 5] or examined the role of endogenous NFs and growth factors in the morphology and kidney function [9, 10, 16, 17, 19, 27]. Moreover, the issue was evaluated in neurodegenerative diseases [6, 20, 23, 28], embryonic development of various organs [14, 19, 29], and the pathogenesis of various pathological conditions [3, 26]. The greater interest in this subject was triggered by our own previous findings. Previously, we have studied the morphology and functions of the urinary bladder (UB) as well as biochemical parameters of the rats' blood after IVO, the histological features of the uterus and its contractile activity in rats of all ages after the administration of BACs derived from SG. Animals injected with cryoextract of SG and CM obtained from the culture of cryopreserved MG were found to have the lowest UB weight and mass coefficient, normal values of the average thickness of the myometrium and endometrium, as well as increased contractile activity and the maximum amplitude of contractions of the UB and uterus in response to different stimuli [30-34].

Our findings in the current study were likely due to the fact that NFs mediate a decrease in the phenomena of GS and the extent of renal tubules expansion; increase the tubular index due to the protective and regenerative effects on the tubular epithelium and angiogenesis; reduce the severity of interstitial inflammation and RIF, including due to the modulation of immunological processes [6, 14, 16]. Also, NFs improve urodynamic parameters of the UB and regulate the water-salt balance while maintaining renal homeostasis, which reduces the severity and negative consequences of OU [5, 8, 31]. The effect of BACs on the conversion of macrophages into renal glomeruli or interstitium cells was revealed. At the same time, macrophages can enhance kidney damage under the action of NFs, playing a dual role in kidney pathology [1, 14, 26].

NFs play a crucial role in the survival and differentiation of visceral neurons during the development of an organism and can regulate the cell plasticity of adult neurons and non-neuronal visceral systems [11, 20, 29].

Interestingly, different types of growth factors and NFs can be both mitogens and growth inhibitors depending on the cell type and the state of cell differentiation, and can also express each other in the kidney and UB tissues [10, 28].

Established tubular indices are also indicative, which have been shown to demonstrate a reduction in the progression of the EMT in kidneys due to IVO [3, 6, 12]. NFs are responsible for the transmission of signals that can alter the behavior and physiology of target cells [19, 28].

Our previous report has confirmed the versatile effects of NFs, together with increased hydrostatic pressure due to IVO, on the growth, differentiation, and apoptosis of kidney and UB cells [33]. At the same time, the use of neurotrophic drugs such as Cortixin is less justified because they act mainly on the nervous system.

This study was experimental. Sufficient data regarding the effects of BACs administration is still required to translate this therapy into effective clinical treatment.

Conclusions. IVO leads to an increase in the area of the renal corpuscle and the Bowman's capsule space, an increase in the size of the renal tubules, and a decrease in the tubule index and diameter of the renal vessels. The administration of CMCNMG against the background of IVO normalizes the area of the renal corpuscle and the Bowman's capsule space, the outer and inner diameter of the renal tubules, and increases the tubular index, diameter, and vessel lumen of the kidney. The use of "Cortixin" against the background of IVO slightly decreases the area of renal corpuscle and glomerulus, does not affect the area of the Bowman's capsule space, increases the outer and inner diameter of the renal tubules, decreases the tubule index, and moderately enhances the diameter and lumen of the renal vessels.

Based on the above, the results of the experiment indicated the possibility of reducing the phenomena GS, tubular atrophy and RIF, as well as partially restoring the morphological structure of the rat kidneys against the background of IVO by introducing CMCNMG and, to a lesser extent, BCM due to the multidirectional effect of NFs. However, the mechanisms by which BACs containing NFs regulate physiological and pathological responses in kidneys are not yet clear and require further study.

Conflict of interest statement. The authors have no competing interests to declare.

Funding sources. The study was carried out within the framework of the scientific research work "Morphofunctional characteristics, cryopreservation and therapeutic potential of 2D and 3D cultures of cells derived from neural crest derivatives" (№ 2.2.6.134, Research Code 2.2.6.134, State Registration Number 0121U109133).

Author Contributions:

Vyacheslav Globa: experiment and methodology, analyzed and interpreted the data, and was a major contributor to writing the manuscript;

Galyna Bozhok: conceived the presented concept, designed the study, experiment and methodology;

Evgeniy Legach: final manuscript editing and research management;

Mykola Chyzh: histopathological evaluation and data interpretation;

Yana Samburg: analyzed and interpreted the data, edited the final manuscript;

Olga Godlevska: histopathological evaluation and data interpretation;

All authors discussed the results and commented on the manuscript.

References:

1. *Zaikova N, David V, Nigulianu P, Ciavdar N, Nedbailo E.* Clinicopathomorphologic changes in rat kidneys in non-infected reflux-nephropathy after experimental simulations of urethral stenosis. *The Journal Medical Courier.* 2010;5(317):65-71. Available from: <http://moldmedjournal.md/wp-content/uploads/2016/09/9.pdf>.
2. *Ucero AC, Gon alves S, Benito-Martin A, Santamar a B, Ramos AM, Berzal S, Ruiz-Ortega M, Egado J, Ortiz A.* Obstructive renal injury: from fluid mechanics to molecular cell biology. *Open Access J Urol.* 2010 Apr 22; 2:41-55. doi: 10.2147/rru.s6597.
3. *Brigstock DR.* Extracellular vesicles in organ fibrosis: mechanisms, therapies and diagnostics. *Cells.* MDPI AG; 2021 Jun 25; 10(7):1596. doi: 10.3390/cells10071596.
4. *Truong LD, Gaber L, Eknoyan G.* Obstructive uropathy. *Contrib Nephrol.* 2011;169:311-326. doi: 10.1159/000314578.
5. *Shirazi M, Soltani MR, Jahanabadi Z, Abdollahifar MA, Tanideh N, Noorafshan A.* Stereological comparison of the effects of pentoxifylline, captopril, simvastatin and tamoxifen on kidney and bladder structure after partial urethral obstruction in rats. *Korean J Urol.* 2014 Nov; 55(11):756-63. doi: 10.4111/kju.2014.55.11.756.
6. *Li S, Wang Y, Wang Z, Chen L, Zuo B, Liu C, et al.* Enhanced renoprotective effect of GDNF-modified adipose-derived mesenchymal stem cells on renal interstitial fibrosis. *Stem Cell Res Ther.* Springer Science and Business Media LLC; 2021 Jan 7; 12(1):1-12. doi: 10.1186/s13287-020-02049-z.
7. *Liao C, Chen G, Yang Q, Liu Y, Zhou T.* Potential therapeutic effect and mechanisms of mesenchymal stem cells-extracellular vesicles in renal fibrosis. *Front Cell Dev Biol.* Frontiers Media SA; 2022 Mar 11; 10: 824752. doi: 10.3389/fcell.2022.824752.
8. *Lee SA, Yoo TH.* Therapeutic application of extracellular vesicles for various kidney diseases: a brief review. *BMB Reports.* Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology – BMB Reports; 2022 Jan 31;55(1):3-10. doi: 10.5483/BMBRep.2022.55.1.141.
9. *Maeshima A, Nakasatomi M, Nojima Y.* Regenerative Medicine for the Kidney: Renotropic Factors, Renal Stem/Progenitor Cells, and Stem Cell Therapy. *BioMed Research International.* Hindawi Limited; 2014; 2014:1-10. doi:10.1155/2014/595493.
10. *Aparicio-Trejo OE, Aranda-Rivera AK, Osorio-Alonso H, Mart nez-Klimova E, S nchez-Lozada LG, Pedraza-Chaverri J, et al.* Extracellular vesicles in redox signaling and metabolic regulation in chronic kidney disease. *Antioxidants.* MDPI AG; 2022 Feb 11;11(2):356. doi: 10.3390/antiox11020356
11. *Sun DZ, Abelson B, Babbar P, Damaser MS.* Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for regenerative urology. *Nat Rev Urol.* Springer Science and Business Media LLC; 2019 Mar 28; 16(6):363-75. doi: 10.1038/s41585-019-0169-3.
12. *Kim MW, Ko IK, Atala A, Yoo JJ.* Cell-derived secretome for the treatment of renal disease. *Child Kidney Dis.* Korean Society of Pediatric Nephrology; 2019 Oct 30; 23(2):67-76. doi: 10.3339/jkspn.2019.23.2.67.
13. *Birtwistle L, Chen X-M, Pollock C.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles to the rescue of renal injury. *Int J Mol Sci.* MDPI AG; 2021 Jun 20; 22(12):6596. doi: 10.3390/ijms22126596.
14. *Wang Z, Li S, Wang Y, Zhang X, Chen L, Sun D.* GDNF enhances the anti-inflammatory effect of human adipose-derived mesenchymal stem cell-based therapy in renal interstitial fibrosis. *Stem Cell Research.* Elsevier BV; 2019 Dec; 41:101605. doi: 10.1016/j.scr.2019.101605.
15. *Bruno S, Porta S, Bussolati B.* Extracellular vesicles in renal tissue damage and regeneration. *Eur J Pharmacol.* Elsevier BV; 2016 Nov; 790:83-91. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.06.058.
16. *Lee SA, Choi C, Yoo T-H.* Extracellular vesicles in kidneys and their clinical potential in renal diseases *Kidney Res Clin Pract.* 2021 April 13; 40(2):194-207. doi: 10.23876/j.krcp.20.209.
17. *Miyasaki DM, Senegaglia AC, de Moura SAB, Leitolis A, Capriglione LGA, Fracaro L, et al.* Treatment of chronic kidney disease with extracellular vesicles from mesenchymal stem cells and CD133+ expanded cells: a comparative preclinical analysis. *Int J Mol Sci.* MDPI AG; 2022 Feb 25; 23(5):2521. doi :10.3390/ijms23052521.
18. *Tran C, Damaser MS.* Stem cells as drug delivery methods: application of stem cell secretome for regeneration. *Adv Drug Deliv Rev.* Elsevier BV; 2015 Mar; 82-83:1-11. doi: 10.1016/j.addr.2014.10.007.
19. *Tsui CC, Shankland SJ, Pierchala BA.* Glial cell line-derived neurotrophic factor and its receptor ret is a novel ligand-receptor complex critical for survival response during podocyte injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(6):1543-52. doi: 10.1681/asn.2005080835.
20. *Jha MK, Seo M, Kim J-H, Kim B-G, Cho J-Y, Suk K.* The secretome signature of reactive glial

- cells and its pathological implications. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. Elsevier BV; 2013 Nov; 1834(11):2418-28. doi:10.1016/j.bbapap.2012.12.006.
21. *Ali SG, Sidorenko OS, Bozhok GA*. Influence of nutrient medium composition on the morphological characteristics of culture of dorsal root ganglion cells of neonatal piglets. *Visnik Harkivskogo Nacionalnogo Universitetu Imeni V N Karazina Seria Biologia*. 2018;30(30):49-59. doi:10.26565/2075-5457-2018-30-6. [In Ukrainian].
22. *Zhang N, Ma L, Zhang J, Chen J*. Improved model for the establishment and evaluation of detrusor overactivity in female Wistar rats. *International braz j urol. FapUNIFESP (SciELO)*; 2014 Jun; 40(3):414-22. doi: 10.1590/s1677-5538.ibju.2014.03.17.
23. *Shavlovskaya OA*. Clinical efficacy of neuropeptides in cerebrovascular pathology. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im SS Korsakova [Internet]*. Media Sphere Publishing Group; 2016; 116(8):88-93. [In Russian].
24. *Bahrii MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI*. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen: monohrafiia*. Vinnytsia: Nova knyha; 2016. 328 p. [In Ukrainian].
25. *Avtandilov GG*. *Osnovy kolichestvennoj patologicheskoy anatomii*. M.: Medicina; 2002. 240 p. [In Russian].
26. *Priante G, Giancesello L, Ceol M, Del Prete D, Anglani F*. Cell death in the kidney. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul; 20(14):3598. doi: 10.3390/ijms20143598.
27. *Nowak N, Yamanouchi M, Satake E*. The Nephroprotective properties of extracellular vesicles in experimental models of chronic kidney disease: a systematic review. *Stem Cell Rev Rep*. Springer Science and Business Media LLC; 2021 Jun 10; 18(3):902-32. doi: 10.1007/s12015-021-10189-9.
28. *Dinescu S, Dobranici A, Tecucianu R, Selaru A, Balahura R, Ignat S, et al*. Exosomes as part of the human adipose-derived stem cells secretome-opening new perspectives for cell-free regenerative applications. *Cell Biology and Translational Medicine*, Volume 11. Springer International Publishing; 2020;139-63. doi: 10.1007/5584_2020_588.
29. *Lommatzsch M, Quarcoo D, Schulte-Herbruggen O, Weber H, Virchow JC, Renz H, et al*. Neurotrophins in murine viscera: a dynamic pattern from birth to adulthood. *Int J Dev Neurosci*. Wiley; 2005 Jun 22; 23(6):495-500. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2005.05.009.
30. *Globa V, Samburg Y, Bozhok G, Legach E*. Biochemical blood parameters of rats with infravesical obstruction with the introduction of biologically active compositions containing neurotrophic factors. *EM*. 2021 Sep. 30 [cited 2022 Jun. 16]; 16(4):115-20. doi:10.22141/2224-0586.16.4.2020.207940. [In Ukrainian].
31. *Globa V, Bondarenko T, Bozhok G, Samburg Y, Legach E, et al*. Biologically active compositions containing neurotrophic factors change the contractile activity of detrusor of rats with infravesical obstruction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2020 Jun 30; 30(2):188-98. doi: 10.15407/cryo30.02.188.
32. *Nesteruk H, Ustichenko V, Alabedalkarim N, Padalko V, Protsenko O, et al*. Impact of dorsal root ganglia cryoextract on histological steatures in dices and contractility of uterus in differently aged rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka) (Publications); 2021 Sep 25; 31(3):258-67. doi: 10.15407/cryo31.03.258.
33. *Globa V, Bozhok G, Legach E*. Morphological parameters of bladder rats with infravesical obstruction with the introduction of biologically active compositions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. David Publishing Company; 2020 Oct 28; 8(11): 327-33. doi: 10.17265/2328-2150/2020.11.001.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

I. Mykhaloiko¹, R. Yatsyshyn¹, I. Dudar²

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.03

Effectiveness of glycosaminoglycan in patients with glomerulonephritis: A prospective longitudinal cohort study

¹Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

²SI «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences», Kyiv, Ukraine

Citation:

Mykhaloiko I, Yatsyshyn R, Dudar I. Effectiveness of glycosaminoglycan in patients with glomerulonephritis: A prospective longitudinal cohort study. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):22-27. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.03.

Abstract. *Our study aimed to evaluate the effectiveness of Sulodexide in the treatment of patients with glomerulonephritis (GN).*

Methods. *We conducted a prospective longitudinal cohort study involving 105 patients with CKD, who were hospitalized at the Ivano-Frankivsk Regional Clinical Hospital (Ukraine) from 2021-2022. Only patients with proteinuria of 0.3 g – 3.5 g/day and chronic kidney disease (CKD) stages 1-3 and the diagnosis of GN were included in the study. The clinical diagnosis was determined based on standard examination methods according to the Classification of Kidney Diseases and protocols of management of CKD patients*

All patients were randomly assigned into 2 groups. Group 1 received basic therapy, and Group 2 received Sulodexide in oral capsules containing 250 lipase units (LSU) twice daily in addition to basic therapy. The duration of treatment was 6 months.

Results. *Our study showed that the additional use of sulodexide for 6 months significantly reduced the level of proteinuria in patients with GN, so in the second group, it was possible to achieve a significantly lower level of proteinuria 567 (356; 745) mg/day, compared to the first group 956 (765; 1233) mg/day (p 0.05).*

As the glomerular filtration rate remained stable or even increased, proteinuria reduction cannot be explained by alteration of filtration capacity. We also noted a significant decrease in the level of D-dimers in the group of patients who additionally received Sulodexide for 6 months, which may indicate the prevention of thromboembolic and cardiovascular events in this population of patients. However, this hypothesis needs further research.

Conclusions. *The additional use of Sulodexide in patients with GN statistically significantly reduced proteinuria levels preventing CKD progression rate.*

Keywords. *chronic kidney disease, glomerulonephritis, treatment, glycosaminoglycans, sulodexide.*

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© Mykhaloiko I., Yatsyshyn R., Dudar I., 2022.

Correspondence should be addressed to Iryna Mykhaloiko: iralisn@gmail.com

Article history:

Received July 21, 2022

Received in revised form

August 06, 2022

Accepted August 06, 2022



© Михалойко І. С., Яцишин Р. І., Дудар І. О., 2022

УДК: 616.61- 036.12-082

І.С. Михалойко¹, Р.І. Яцишин¹, І.О. Дудар²

Ефективність застосування глікозаміноглікану у хворих на гломерулонефрит: проспективне поздовжнє когортне дослідження

¹Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна

²ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м.Київ, Україна

Резюме. Метою нашого дослідження було оцінити ефективність сулодексиду в лікуванні хронічної хвороби нирок: гломерулонефриту.

Методи. Ми провели проспективне поздовжнє когортне дослідження за участю 105 пацієнтів із хронічною хворобою нирок, які перебували на стаціонарному лікуванні в Івано-Франківській обласній клінічній лікарні (Україна) протягом 2021-2022 років. У наше дослідження включені лише пацієнти з протеїнурією 0,3 г – 3,5 г/добу та хронічною хворобою нирок (ХХН) I-III стадій з діагнозом гломерулонефрит (ГН). Клінічний діагноз встановлено на основі загальноприйнятих методів обстеження відповідно до класифікації хвороб нирок та протоколів ведення хворих із ХХН.

Усі пацієнти були випадковим чином розподілені на 2 групи. Перша група отримувала базисну терапію, а друга група додатково до базисної терапії отримувала сулодексид в капсулах по 250 ліпопротеїнолітичних одиниць двічі на день. Тривалість лікування становила 6 місяців.

Результати. Наше дослідження показало, що додаткове застосування сулодексиду протягом 6 місяців значно зменшувало рівень протеїнурії у пацієнтів з ГН, так у другій групі вдалось досягнути достовірно нижчого рівня протеїнурії 567 (356; 745) mg/day, в порівнянні з першою групою 956 (765; 1233) mg/day (p 0,05).

Оскільки швидкість клубочкової фільтрації залишалася стабільною або навіть зростала, зниження протеїнурії не можна пояснити зміною фільтраційної здатності. Також ми відзначили достовірне зниження рівня Д-димерів у групі пацієнтів, які додатково отримували сулодексид протягом 6 місяців, що може свідчити про зниження ризику виникнення тромбоемболічних та серцево-судинних подій у даній категорії пацієнтів. Проте дану гіпотезу потрібно перевірити в подальших дослідженнях.

Висновки. Додаткове застосування сулодексиду в лікуванні гломерулонефриту статистично значуще знижує рівень протеїнурії, що сприяє зниженню швидкості прогресування ХХН.

Ключові слова. Хронічна хвороба нирок, гломерулонефрит, лікування, глікозаміноглікани, сулодексид.

Introduction. Chronic kidney disease (CKD) is a global health care problem [1-3]. During the last decades, the development of safe and effective kidney-protective interventions to slow or stop the progression of CKD is an important strategy in reducing the incidence of end-stage kidney disease [1]. Thus, it is to be understood why many studies have focused on the investigation of molecules that could contribute to reducing proteinuria and slowing down the progression of CKD [2-4].

Significant steps in this direction were made by introducing angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) in 1993 and angiotensin receptor blockers (ARBs) in 2001, while other molecules like glycosaminoglycans (GAGs), despite promising data in experimental studies, are still gathering evidence of clinical applicability [5].

One of the pathogenic mechanisms leading to proteinuria in GN involves an alteration in heparin sulfate expression in the glomerular basement membrane (GBM). Heparin sulfate is a member of the family of GAGs that is generally bound to a core protein to form a proteoglycan [6]. Alterations in heparin sulfate expression in the GBM had been reported in many proteinuric renal diseases which include diabetic nephropathy, minimal change nephropathy, and membranous GN [7]. The decrease of heparin sulfate content causes a reduction in the permselectivity to negatively charged macromolecules such as albumin thus allowing protein to leak into the urinary space [8].

Sulodexide (SDX) belongs to a class of GAGs. Experimental and clinical studies identified several mechanisms of action of Sulodexide which can explain its potential benefit in renal diseases [9]. Thus, SDX can replace lost endogenous heparan sulfate and restore the anionic charges, both at vascular endothelial and glomerular cell levels [10].

Restoration of heparan sulfate in mesangial cells inhibits their proliferation, and in podocytes contributes to the restoration of GBM permeability to albumin [8]. At the extracellular level, SDX precludes the extracellular matrix expansion and type III and type

Iryna Mykhaloiko
iralisn@gmail.com

IV collagen deposition, by inhibiting of the expression and bioactivity of transforming growth factor TGF- β 1. Also, SDX inhibits heparanase-1, preventing epithelial-mesenchymal transition and renal interstitial fibrosis induced via fibroblast growth factor-2 [11]. Most studies of the antiproteinuric effect of SDX have been carried out in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus. The antiproteinuric effect of sulodexide in GN is less well studied [12].

The **present study aimed** to evaluate the effectiveness of SDX in the treatment of patients with GN.

Materials and Methods. We conducted a prospective longitudinal cohort study involving 105 patients with GN admitted to the Ivano-Frankivsk Regional Clinical Hospital (Ukraine) in 2021-2022. The research was performed in accordance with international standards for the coordinated participation of respondents, the ethical component of research and biomaterial collection (WMA Declaration of Helsinki – “Ethical principles for medical research involving human subjects” and “Universal Declaration on Bioethics and Human Rights” (UNESCO)). The research protocol was approved by the local ethics committee of the Ivano-Frankivsk National Medical University. All patients signed a written informed consent to participate in the study.

Among the patients, there were 92 men (87.6 %; 95% CI 79.8-93.2) and 13 women (12.4 %; 95% CI 6.8-20.2). The average age of the patients was 46 (41; 49) years. The criteria for including patients in the study were: age over 18 years, presence of proteinuria 0.3-3.5 g/day, glomerular filtration rate (GFR) >30 ml/min/1.73m². Exclusion criteria were: patient's refusal to participate in the study, age <18 years, proteinuria > 3.5 g/day, systemic connective tissue diseases, systemic vasculitis, type 1 and type 2 diabetes, thromboembolic and cardiovascular events in history, chronic heart failure III-IV functional class (according to the NYHA classification), information about acute infectious processes of any etiology, oncological diseases, acute and chronic liver failure, mental disorders.

All patients have been receiving treatment with an ACEI or an ARB. 32 patients (30.5%; 95% CI 21.9-40.2) received stable maintenance glucocorticosteroid therapy (methylprednisolone 4 mg every other day). The effectiveness of treatment was assessed by the level of proteinuria, GFR, and D-dimers and the frequency of thromboembolic and cardiovascular events that occurred during the observation period.

The starting point of patient observation was the date of signing the informed consent. The primary endpoint of the study was death from any cause, and surrogate endpoints were the occurrence of cardiovascular and thromboembolic events.

CKD stage 1 was diagnosed in 33 patients (31.4%; 95% CI 22.7-41.2), CKD stage 2 – in 21 patients

(20.0%; 95% CI 12.8-28.9), CKD stage 3a – in 22 patients (21.0%; 95% CI 13.6-30.0), and CKD stage 3b – in 29 patients (27.6%; 95% CI 19.3-37.2).

In 65 patients (61.9%; 95% CI 51.9-71.2) the diagnosis of GN was confirmed morphologically as follows 24 patients (36.9%; 95% CI 25.3-49.8) were diagnosed with mesangioproliferative GN, 13 patients (20.0%; 95% CI 11.1-31.8) had membranous nephropathy, 12 patients (18.5%; 95% CI 9.9-30.0) had focalsegmental glomerulosclerosis, 10 patients (15.4%; 95% CI 7.6-26.5) had nephropathy with minimal changes, and 6 patients (9.2%; 95% CI 3.5-19.0) was confirmed membrane proliferative (mesangiocapillary) GN.

The clinical diagnosis was determined based on standard examination methods according to the Classification of Kidney Diseases and protocols of management of CKD patients. During the study, all patients underwent a standard examination, which included general clinical, biochemical and instrumental research methods. Biochemical tests and enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) were performed in the laboratory of Ivano-Frankivsk Regional Clinical Hospital.

The GFR was determined using a CKD-EPI calculator. Daily protein excretion (DPE) was determined by the colorimetric method (Dialab, Wiener Neudorf, Austria).

D-dimer was determined in serum quantitatively by ELISA using a set of reagents (Getein Biotech, Nanjing, China).

STATISTICA 8 software (StatSoft, Serial STA862D175437Q) was used for statistical analysis. The frequency of qualitative indicators was presented in absolute (n) and relative (%) frequencies with the indication of the 95% confidence interval (CI) in the form of “n (%; 95% CI)”. When analyzing quantitative data, it was necessary to determine the nature of the distribution of indicator values using Shapiro-Wilk's test. For quantitative data with a normal distribution, the results were represented as a mean value and the standard deviation (M \pm SD). For quantitative data with an abnormal distribution, the median and 25-75 quartiles (Me (Q25-Q75) were used. Quantitative indicators with the normal distribution of values in 2 independent groups were compared using the Student's criterion. The abnormally distributed data were compared using the Mann-Whitney test. A comparison of 2 independent groups for the qualitative indicator was carried out according to the exact Fisher criterion.

Results. All patients were randomly assigned into 2 groups. Group 1 received basic therapy, and group 2 in addition to basic therapy received SDX in oral capsules of 250 lipasemic units equivalent to 25 mg twice daily. The duration of treatment was 6 months.

Baseline demographics, and clinical and laboratory characteristics were tabulated in Table 1.

Table 1

Baseline characteristics of the studied groups

	I group (n=55)	II group (n=50)	p-value
Age, years Me (Q25-Q75)	42 (36; 48)	48 (42; 51)	0.871
Disease duration, years (Me (Q25-Q75))	10 (7; 14)	12 (8; 16)	0.644
Mesangioprolifera-tive GN (%; 95% CI)	21.8 (11.8-35.0)	24.0 (13.1-38.2)	0.812
Focalsegmental glomerulosclerosis (%; 95% CI)	10.9 (4.1-22.2)	12.0 (4.5-24.3)	1.000
Membranous GN (%; 95% CI)	12.7 (5.3-24.5)	12.0 (4.5-24.3)	1.000
GN with minimal changes (%; 95% CI)	9.1 (3.0-20.0)	10.0 (3.3-21.8)	1.000
Mesangiocapillary GN (%; 95% CI)	5.5 (1.1-15.1)	6.0 (1.3-16.5)	1.000
Creatinine $\mu\text{mol/L}$ Me (Q25-Q75)	128.5 (91.4; 175.3)	168.2 (125.2; 212.8)	0.433
Urea, mmol/L Me (Q25-Q75)	11.4 (7.8; 13.3)	14.8 (11.5; 16.3)	0.642
GFR ml / min. / 1.73 m ³ Me (Q25-Q75)	62 (37; 92)	66 (43; 94)	0.761
DPE mg / day Me (Q25-Q75)	1832 (1123; 2545)	2242 (1987; 2624)	0.124
D-dimer, mg / l Me (Q25-Q75)	0.98 (0.26; 1.64)	1.23 (0.45; 2.15)	0.453
Treatment of glucocorticosteroids (%; 95% CI)	29.1 (17.6- 42.9)	32.0 (19.5-46.7)	0.832
Treatment of ACEIs (%; 95% CI)	58.2 (44.1-71.3)	58.0 (43.2-71.8)	1.000
Treatment of ARBs (%; 95% CI)	41.8 (28.7-55.9)	42.0 (28.2-56.8)	1.000

Abbreviations: ACEIs – angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARBs – angiotensin receptor blockers; CI – confidence interval; DPE – daily protein excretion; GFR – glomerular filtration rate; Me (Q25-Q75)– median and quartiles.

As shown in Table 1, there were no significant differences in baseline demographic and clinical values between the two groups studied.

Following 6 months of treatment with low-dose SDX, we observed a significant decrease in proteinuria levels in patients with GN (Table 2).

Table 2

Baseline and post-treatment laboratory parameters of the studied groups

Treatment group	Baseline	1 month	6 month
DPE mg/day Me (Q25-Q75)			
I group (n=55)	1832 (1123; 2545)	1343 (986; 1678) p=0.125	956 (765; 1233) p=0.032 p ₁ =0.041
II group (n=50)	2242 (1987; 2624)	879 (657; 1158) p=0.016	567 (356; 745) p=0.001 p ₁ =0.027 p ₂ =0.024

Continuation of Table 2

Treatment group	Baseline	1 month	6 month
GFR ml/min./1.73 m³ Me (Q25-Q75)			
I group (n=55)	62 (37; 92)	64 (39; 97) p=0.872	59 (32; 89) p=0.891 p ₁ =0.845
II group (n=50)	66 (43; 94)	69 (45; 96) p=0.916	73 (50; 102) p=0.652 p ₁ =0.774 p ₂ =0.081
D-dimer, mg/l Me (Q25-Q75)			
I group (n=55)	0.98 (0.26; 1.64)	1.12 (0.67; 1.89) p=0.647	1.24 (0.78; 1.92) p=0.472 p ₁ =0.721
II group (n=50)	1.23 (0.55; 2.15)	0.68 (0.35; 1.05) p=0.027	0.45 (0.21; 0.63) p=0.012 p ₁ =0.041 p ₂ =0.018

Abbreviations: GFR – glomerular filtration rate; DPE – daily protein excretion; Me (Q25-Q75) – median and quartiles.

Note: p - reliability of the difference in indicators before treatment and 1 and 6 months after treatment;
p₁ - the reliability of the difference in indicators after 1 month and after 6 months after treatment;
p₂ - the reliability of the difference in indicators 6 months after treatment in the II group in comparison with the I group.

Since GFR remained stable or even increased, proteinuria reduction cannot be explained by alteration of filtration capacity. We also noted a significant decrease in serum D-dimers level in group 2 patients, which may indicate the prevention of thromboembolic and cardiovascular events in this population of patients.

12 (24.0 %; 95 % CI 13.1-38.2) patients reported at least one adverse event associated with taking SDX. Nausea occurred in 6 patients (12.0 %; 95 % CI 4.5-24.3), vomiting - 3 (6.0 %; 95 % CI 1.3-16.5), diarrhea – in 3 (6.0 %; 95 % CI 1.3-16.5) patients, dizziness – 2 (4.0 %; 95 % CI 0.5-13.7), skin rash – 1 (2.0%; 95% CI 0.1-10.6). The observed adverse events were mild in severity and did not require discontinuation of the drug.

During the observation period, we did not note any deaths among the patients included in the study. We noted 3 (5.5 %; 95 % CI 1.1-15.1) cases of deep vein thrombosis of the lower extremities in patients of Group I. In Group II, we did not note any cardiovascular and thromboembolic events, however, the difference between the groups was not statistically significant (p=0.153).

Discussion. A large number of studies advocated the potential role of SDX as an antiproteinuric agent in type 1 and 2 diabetes patients [6]. In the DiNAS trial, Gambaro et al. demonstrated that a 4 months course of oral SDX can significantly improve either micro- or macroalbuminuria in both type 1 and type 2 diabetes

mellitus, with approximately linear dose-response. The maximum dose (200 mg/day) produced the greatest decrease in albuminuria. This effect persisted after the cessation of the treatment [8]. More recently, the DAVET study presented evidence for the efficacy of low-dose 50 mg/day SDX, which was able to induce a significant reduction in albuminuria when continued therapy over 12 months [6].

Nowadays, few studies have described the use of SDX in non-diabetic nephropathies with conflicting results. On the one hand, Rozita et al. reported a significant response after 3 and 6 months of SDX as rescue therapy in patients with chronic GN unresponsive to conventional therapies [12]. On the other hand, Bang et al. did not find a significant difference between placebo vs SDX 75 mg/day and 150 mg/day administered in patients with IgA nephropathy, although the highest dose significantly reduced proteinuria [7].

SDX apparently alters glomerular permeability and effectively reduces proteinuria by a non-blood pressure, non-renin angiotensin aldosterone system (RAAS) related mechanism [13]. As a result, SDX could add to the therapeutic options for GN patients who fail to respond to RAAS inhibition. Moreover, it may further reduce proteinuria in patients who show a partial response to RAAS inhibition. Such additive effects are very important.

In addition, a decrease in the level of D-dimers, such as a biological marker of hypercoagulation, may indicate the prevention of thromboembolic and car-

diovascular events, the risk of which is increased in the population of patients with CKD [14]. However, this hypothesis needs further research.

Limitations. The sample size presented in the study is small, of course, more participants and long-term clinical trials are needed for more valid conclusions.

Conclusions. The additional use of SDX in patients with GN statistically significantly reduced proteinuria levels preventing CKD progression rate.

Conflict of interest statement: the authors declared no competing interest.

Funding source. The authors received no financial support for the research.

Information about the contribution of the authors.

I. Mykhaloiko: literature search, study design planning, data analysis, manuscript writing and submission;

R. Yatsyshyn: concept and management of the work;

I. Dudar: concept and management of the paper.

References:

1. *Kolesnyk M.* Innovative directions of CKD prevention and treatment. *Ukr J Nephrol Dial.* 2019;1(61):3-12. doi: 10.31450/ukrjnd.1(61).2019.01
2. *Dudar IO, Savchuk VM, Loboda OM, Krasiuk EK.* Hyperprolactinemia in patients with chronic kidney disease. *Ukr J Nephrol Dial.* 2021;1(69):61-66. doi: 10.31450/ukrjnd.1(69).2021.09
3. *Stepanova N, Snisar L, Lebid L, Driianska V.* Crosstalk between nephrotic proteinuria, plasma oxalic acid and inflammation in glomerulonephritis patients: an exploratory study. *Ukr J Nephrol Dial.* 2021;3(71):19-27. doi: 10.31450/ukrjnd.3(71).2021.03.
4. *Gaddi AV, Cicero AF, Gambaro G.* Nephroprotective action of glycosaminoglycans: why the pharmacological properties of sulodexide might be reconsidered. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2010;3:99-105. doi: 10.2147/IJNRD.S5943.
5. *Masola V, Zaza G, Gambaro G.* Sulodexide and glycosaminoglycans in the progression of renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2014; 29: i74–i79. doi: 10.1093/ndt/gft389.
6. *Li R, Xing J, Mu X, Wang H, Zhang L, Zhao Y, Zhang Y.* Sulodexide therapy for the treatment of diabetic nephropathy, a meta-analysis and literature review. *Drug Des Devel Ther.* 2015;9:6275-83. doi:10.2147/DDDT.S87973.
7. *Bang K, Chin HJ, Chae DW, Joo KW, Kim YS, Kim S, Ju KD, Kim H, Ahn C, Oh KH.* Anti-proteinuric effect of sulodexide in Immunoglobulin A nephropathy. *Yonsei Med J.* 2011;52(4):588-94. doi:10.3349/ymj.2011.52.4.588
8. *Bignamini AA, Chebil A, Gambaro G, Matu ka J.* Sulodexide for Diabetic-Induced Disabilities: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Ther.* 2021;38(3):1483-1513. doi: 10.1007/s12325-021-01620-1.
9. *De Felice F, Megiorni F, Pietrantonio I, Tini P, Lessiani G, Mastroiacovo D, Mattana P, Antinozzi C, Di Luigi L, Delle Monache S, Angelucci A, Festuccia C, Fanzani A, Maggio R, Tombolini V, Gravina GL, Marampon F.* Sulodexide counteracts endothelial dysfunction induced by metabolic or non-metabolic stresses through activation of the autophagic program. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(6):2669-2680. doi: 10.26355/eurrev_201903_17415.
10. *Yongwatana K, Supasyndh O, Satirapoj BJ.* Renal Effects of Sulodexide in Type 2 Diabetic Patients without Nephrotic Range Proteinuria. *Diabetes Res.* 2020;2020:2984680. doi: 10.1155/2020/2984680.
11. *Masola V, Onisto M, Zaza G.* A new mechanism of action of sulodexide in diabetic nephropathy: inhibits heparanase-1 and prevents FGF-2- induced renal epithelial-mesenchymal transition. *J Transl Med.* 2012; 10: 213. doi: 10.1186/1479-5876-10-213.
12. *Zilisteanu DS, Atasie T, Voiculescu M.* Efficacy of long-term low-dose sulodexide in diabetic and non-diabetic nephropathies. *Rom J Intern Med.* 2015;53(2):161-9. doi: 10.1515/rjim-2015-0022.
13. *Siddiqui F, Hoppensteadt D, Bontekoe E, Farooqui A, Jeske W, Fareed J.* Comparative Anticoagulant and Thrombin Generation Inhibitory Profile of Heparin, Sulodexide and Its Components. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2020;26:1076029620954913. doi: 10.1177/1076029620954913.
14. *Mykhaloiko IS, Dudar IO, Mykhaloiko IJ, Mykhaloiko OJ.* D-dimer as a potential predictor of thromboembolic and cardiovascular complications in patients with chronic kidney disease. *Ukr. Biochem. J.* 2020; Vol. 92, N 3:71-76. doi: 10.15407/ubj92.03.071.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

Muzamil Latief¹, Manjusha Yadla¹, Farhat Abbas²

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.04

Assessment of sex hormones and their correlation with the quality of life in male hemodialysis patients

¹Gandhi Medical College Secunderabad, Hyderabad India

²Government Medical College Srinagar, Kashmir India

Citation:

Latief M, Yadla M, Abbas F. Assessment of sex hormones and their correlation with the quality of life in male hemodialysis patients. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):28-33. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.04.

Abstract. In Chronic Kidney disease (CKD) there are various abnormalities in hormonal levels that lead to impairment of sexual functions, fertility, and pregnancy outcomes. Sex hormonal dysfunction not only affects the sexual aspect of human life but has a direct and indirect impact on other aspects like bone health, the central nervous system, and cognitive function. In this study, we looked at the testosterone and gonadotropins levels and their correlation with the quality of life using the SF-36 form.

Methods. In this cross-sectional observational study, we included 50 male patients on hemodialysis (HD) with a dialysis vintage of at least 6 months. Serum testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) were done from the mid-week pre-hemodialysis sample. Other hematological and biochemical parameters were assessed as well. Quality of life was assessed using the SF-36 form. Further analysis was done to find the correlation between SF 36 score and hormonal levels.

Results. The mean age of our patients was 34.86 ± 8.12 years and dialysis vintage was 24.24 ± 18.74 months. The mean serum LH level was 8.58 ± 3.56 mIU/ml, the mean serum FSH level was 8.9 ± 4.05 , and the mean testosterone was 217.46 ± 96.44 ng/dl. In our study 15 patients (30%) had normal testosterone levels >270 ng/dl, 35 patients (70%) had low testosterone level (<270 ng/dl). SF36 score in our study was 54.82 ± 12.81 . There was no correlation between LH, FSH levels and quality of life. However, there was a significant positive correlation between testosterone levels and SF-36 score.

Conclusion. Hypogonadism is common in HD male patients. Testosterone level has a positive correlation with SF-36 scores.

Keywords: testosterone, quality of life, hemodialysis, sex hormones.

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© Latief M., Yadla M., Abbas F., 2022.

Correspondence should be addressed to Muzamil Latief: muzamillatiefb@gmail.com

Article history:

Received March 28, 2022

Received in revised form
June 03, 2022

Accepted June 15, 2022



© Латієф М., Ядла М., Аббас Ф., 2022

УДК: 616.61-085.38-073.27:577.175.6]-055.1

Музаміл Латієф¹, Манджуша Ядла¹, Фархат Аббас²

Статеві гормони та їх асоціація з якістю життя у чоловіків, які лікуються гемодіалізом

¹Медичний коледж Ганді, Секундерабад, Гайдарабад, Індія

²Урядовий медичний коледж Шрінагар, Кашмір, Індія

Резюме. Хронічна хвороба нирок (ХНН) призводить до порушення гормонального фону і, відповідно, статевих функцій, фертильності та наслідків вагітності. Статева гормональна дисфункція не тільки впливає на сексуальний аспект людського життя, але має прямий і опосередкований вплив на інші аспекти, такі як здоров'я кісток, центральної нервової системи та когнітивні функції. У цьому дослідженні ми розглянули рівні тестостерону та гонадотропіну та їх кореляцію з якістю життя за допомогою опитувальника SF-36.

Методи. У це перехресне обсерваційне дослідження включено 50 хворих чоловічої статі з ХНН V, які лікувались методом гемодіалізу (ГД) щонайменше 6 місяців. Дослідження сироваткових концентрацій тестостерону, лютеїнізуючого гормону (ЛГ) і фолікулоstimулюючого гормону (ФСГ) виконували в середині тижня перед ГД. Також оцінювали інші гематологічні та біохімічні показники. Якість життя оцінювали за формою SF-36.

Результати. Середній вік пацієнтів становив $34,86 \pm 8,12$ років, тривалість діалізу $24,24 \pm 18,74$ місяця. Середній рівень сироваткового ЛГ становив $8,58 \pm 3,56$ мМО/мл, ФСГ – $8,9 \pm 4,05$ мМО/мл, тестостерону – $217,46 \pm 96,44$ нг/дл. Лише 15 (30%) пацієнтів мали референтні значення тестостерону >270 нг/дл, 35 (70%) пацієнтів мали низький рівень тестостерону (<270 нг/дл). Ми не визначили кореляції між рівнями ЛГ, ФСГ і якістю життя. Проте встановлено статистично значущий прямий кореляційний зв'язок між концентрацією тестостерону та середнім балом SF 36.

Висновок. Гіпогонадізм часто діагностується у пацієнтів чоловічої статі, які лікуються ГД. Рівень тестостерону позитивно корелює з якістю життя пацієнтів.

Ключові слова: тестостерон, якість життя, гемодіаліз, статеві гормони.

Introduction. In chronic kidney disease (CKD) there are various abnormalities in hormonal levels that lead to impairment of sexual functions, fertility, and pregnancy outcomes [1]. Sex hormonal dysfunctions not only affect the sexual aspect of human life but has a direct and indirect impact on other aspects like bone health, central nervous system, cognitive function, etc. Studies have revealed that age-related endocrine dysfunction leads to cognitive decline and increases the risk of neurodegenerative diseases. As has been proven already that estrogens can be protective of cognitive function, recently androgens and gonadotropins like luteinizing hormone (LH) have been shown to modulate learning and memory [2]. Significant derangements of the hypothalamic, pituitary, and gonadal axis have been commonly identified in CKD patients [1]. To assess the different aspects of a patient's life (emotional, physical and social), a commonly used questionnaire worldwide is the Short Form 36 (SF 36) Various studies have revealed the poor quality of life in the CKD population, be it patients in early stages of CKD or patients on dialysis. Comparison of quality of life in patients receiving

hemodialysis, peritoneal dialysis, or kidney transplantation has also been studied using SF 36 questionnaire [3-5]. Erectile dysfunction is seen in 20-80% of patients with CKD and about 80% of male patients on dialysis have erectile dysfunction [6]. It has been observed that quality of life improves in non-CKD patients and hypogonadism with the replacement of gonadotropin or testosterone hormones [7]. It has been observed that the quality of life is worse in patients with higher severity of erectile dysfunction [8]. In this study, we investigated testosterone and gonadotropin levels and their correlation with the quality of life using SF-36.

The **present study aimed** to assess the sex hormonal status and its association with the quality of life in male hemodialysis patients.

Materials and Methods. After attaining ethical approval (IEC/GMC/2020/01/38) and consent of patients, in this cross-sectional observational study, 50 male patients on hemodialysis with a dialysis vintage of at least 6 months were included. All the included patients were undergoing dialysis at a single center funded by the state government and were in the age group of 18-45 years. Patients on any hormone replacement therapy, dialysis vintage less than 6 months, and age <18 or >45 years were excluded from the study.

Serum testosterone, LH, and follicle-stimulating hormone (FSH) were done from the mid-week pre-HD sample. Other hematological and biochemical parameters were assessed. Quality of life was assessed using the SF-36 form.

Muzamil Latief
muzamillatiefb@gmail.com

The data obtained was analyzed using SPSS version 24.0. Continuous variables were expressed as means (M), and the standard deviations (SD), and compared using the Student's t-test. Categorical variables were expressed as frequency and percentage and compared using the Chi-square tests (χ^2). The Spearman correlation test was used to assess the association between categorical variables. The receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed to determine the optimal cut-off point of testosterone to predict changes in quality of life using the SF 36 form.

Results. The mean age of the patients was 34.86 ± 8.12 years and the dialysis vintage of 24.24 ± 18.74 months. All the patients were on thrice weekly HD with AV fistula as HD access. 12 (24%) patients were diabetic, and 1 patient was HBV positive. In our study, the mean serum LH level was 8.58 ± 3.56 mIU/ml, mean serum FSH level was 8.9 ± 4.05 , and mean testosterone was 217.46 ± 96.44 ng/dl. In our study 15 patients (30%) had normal testosterone levels >270 ng/dl, 35 patients (70%) had low testosterone level (<270 ng/dl). The clinical characteristic of the patients is presented in Table 1.

Table 1

Clinical characteristics of the patients

	Mean
Age (years)	34.86 ± 8.12
Weight (kg)	52.44 ± 7.90
Vintage (months)	24.24 ± 18.74
Hb (g/dl)	9.14 ± 1.68
TLC (per cmm)	7300.74 ± 2025.48
Platelet (per cmm)	208836.96 ± 61323.05
Creatinine (mg/dl)	8.80 ± 2.13
Calcium (mg/dl)	8.40 ± 1.07
Phosphorus (mg/dl)	4.51 ± 1.52
Bilirubin (mg/dl)	0.83 ± 0.26
Albumin (g/dl)	3.38 ± 0.58
IDWG (kg)	2.25 ± 0.87
Leutinizing Hormone (mIU/ml)	8.58 ± 3.56
Follicle Stimulating Hormone (mIU/ml)	8.90 ± 4.05
Testosterone (ng/dl)	217.46 ± 96.44

Abbreviations: IDWG, interdialytic weight gain; Hb, hemoglobin; TLC, total lymphocyte count.

The mean SF36 score in our study was 54.82 ± 12.81 , with 26 patients having SF 36 scores above 50, and 24 patients having scores below 50. When the anthropometric and biochemical parameters between low SF 36

and high SF 36 were compared, testosterone levels were higher in the high SF 36 group ($p < 0.05$) the differences in the rest of the parameters were statistically insignificant (Table 2).

Table 2

Comparison between study parameters and SF36 score among the patients

Parameters	SF 36 < 50 (n = 24)	SF 36 > 50 (n = 26)	p-value
Age (years)	33.54 ± 8.61	36.08 ± 7.60	0.274
Weight (kg)	50.46 ± 7.67	54.27 ± 7.81	0.088
Height (cm)	158.75 ± 5.30	160.19 ± 8.70	0.487
BMI (kg/m ²)	20.67 ± 3.18	20.53 ± 2.84	0.874
Vintage (months)	28.17 ± 21.22	20.62 ± 15.67	0.157
Hb (g/dl)	8.86 ± 1.88	9.40 ± 1.47	0.260
TLC (per cmm)	6962.79 ± 2064.82	7612.69 ± 1976.82	0.261
Platelet (per cmm)	201028.33 ± 60052.10	216044.92 ± 62771.73	0.393

Continuation of Table 2

Parameters	SF 36 < 50 (n = 24)	SF 36 > 50 (n = 26)	p-value
Creatinine (mg/dl)	8.41 ± 1.80	9.15 ± 2.37	0.222
Calcium (mg/dl)	8.49 ± 1.03	8.31 ± 1.11	0.556
Phosphate (mg/dl)	4.58 ± 1.32	4.44 ± 1.70	0.747
Bilirubin (mg/dl)	0.83 ± 0.26	0.83 ± 0.27	0.986
Albumin (g/dl)	3.48 ± 0.63	3.29 ± 0.53	0.248
IDWG (kg)	2.32 ± 0.92	2.19 ± 0.84	0.619
LH (mIU/ml)	8.56 ± 3.78	8.56 ± 2.80	1.000
FSH (mIU/ml)	9.92 ± 4.59	9.38 ± 4.33	0.670
Testosterone (ng/dl)	181.00 ± 77.08	251.12 ± 101.55	0.009

Abbreviations: BMI, body mass index; FSH, follicle-stimulating hormone; IDWG, interdialytic weight gain; Hb, hemoglobin; LH, luteinizing hormone; TLC, total lymphocyte count.

There was no correlation between the quality of life and LH ($r = -0.04$, $p = 0.97$), or FSH ($r = 0.016$, $p = 0.93$) levels. However, there was a significant positive correlation between testosterone levels and quality of life ($r = 0.37$, $p = 0.009$) (Fig.1).

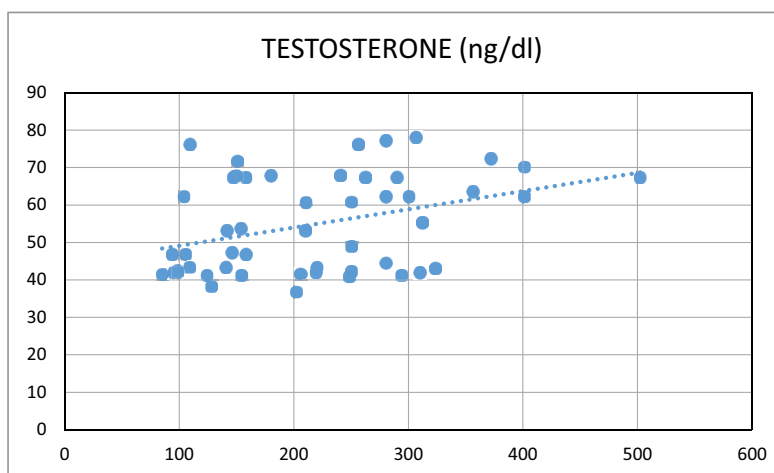


Fig. 1. The correlation between SF 36 score and testosterone levels in male HD patients.

Testosterone at a best cut off value of 146.5ng/dl could predict SF 36 >50 or SF 36 <50 with a sensitivity of 88.5 % and specificity of 45.8% ($p = 0.01$) (Fig. 2).

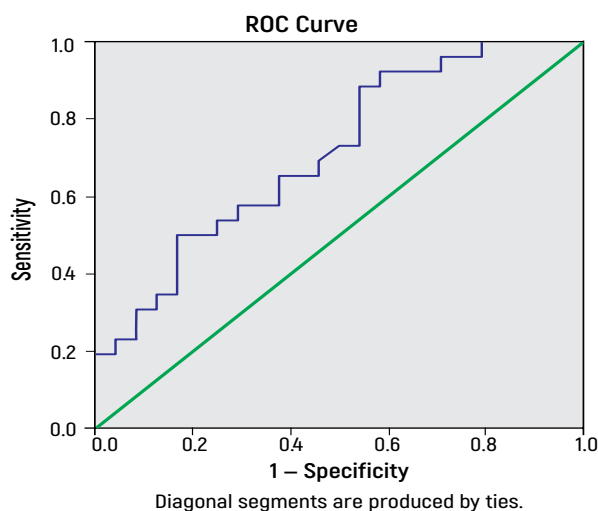


Fig. 2. Receiver-operating characteristic (ROC) curve for the cut-off value of testosterone to predict changes in quality of life using the SF 36 form.

Discussion. In the present study, we found that only 15 (30%) male HD patients had normal testosterone levels $>270\text{ng/dl}$, and 35 (70%) of them had low testosterone levels ($< 270\text{ng/dl}$). In one of the earliest studies by Guevara et al, 26 male CKD patients aged of 14-65 years were included to study gonadotropin hormonal levels (LH, FSH) [9]. The patients were subdivided based on renal replacement therapy (RRT) modality HD or peritoneal dialysis (PD), and those not on RRT. It was observed that serum LH level ($21.6 \pm 12.2\text{ mIU/ml}$) was higher in the patients on HD compared to PD or pre-dialysis patients and the control group. They found no significant difference in FSH levels among the patient groups. They also found that testosterone levels ranged between $101\text{-}426\text{ }\mu\text{g/dl}$ (mean value $256\text{ }\mu\text{g/dl}$) and were lower than in the control group [9]. Contrary to the mentioned study, we found serum LH and FSH in the reference ranges. Distiller et al found that the mean basal LH levels in both HD and PD patients were significantly elevated whereas serum testosterone levels were significantly low when compared to the control group [8]. However, there was no significant difference between pre-dialysis and post-dialysis levels of hormones [8]. Eckersten et al demonstrated higher prolactin and estradiol levels in HD male patients compared to control [10]. There were no differences found for FSH and testosterone between HD patients and the control group. The level of LH in their study was in the normal range [10]. Moreover, in accordance with our findings, Carrero et al have found a testosterone deficiency in a large cohort of male HD patients [11]. Cang ven et al have demonstrated that male HD patients with normal testosterone concentration had better sexual function as assessed by the International Index of Erectile Function (IIEF) than those with testosterone deficiency [12]. Hypogonadism was seen in 11.1% of patients and patients with low testosterone levels had higher gonadotropin levels [12]. In our study, 70% of men had hypogonadism which is contrary to the aforementioned study. One of the reasons for the smaller number of hypogonadal patients could be less number of diabetics included in their study. They concluded that normalization of serum testosterone levels after administration of T-gel was an effective treatment for erectile dysfunction. In the study from Pakistan, testosterone deficiency was observed in 60% of men compared to 70% of men in our study [13].

The quality of life assessment in our study was done using the SF-36 questionnaire and we found that the mean SF-36 score in our study was 54.82 ± 12.81 . No statistically significant difference was observed in LH and FSH levels between the two groups with high and low SF-36 scores. However, the testosterone levels were higher in the patients with better quality of life. We found that there was a positive correlation between SF36 scores and testosterone levels ($r = 0.366$). Using the ROC curve, testosterone at the best cut-off value of 146.5 ng/dl could predict SF 36 >50 or SF 36 <50 with

a sensitivity of 88.5 % and specificity of 45.8%. Feroze et al have observed that lower quality of life scores was associated with higher mortality risk [14]. Both the mental health and physical health dimensions of the SF-36 showed significant associations with mortality in their study. They also observed that creatinine and serum albumin levels were higher in those with a higher quality of life score quartiles [14]. Contrary to their finding, we did not find statistically significant differences in creatinine and albumin levels in patients with SF-36 scores >50 or <50 . In their study, Oliveira et al observed lower quality of life scores compared to studies from the United States and Europe but higher than the scores observed in studies from Asian countries like India and Saudi Arabia [15]. Moreover, in contrast to our study, they found higher quality of life scores. Shiraishi et al included 37 male hypogonadotropic hypogonadal HD patients (mean age: 26.1 years) who received gonadotrophin ($n = 31$) or testosterone treatment ($n = 6$) [7]. The SF-36 questionnaire was used to assess the quality of life at the baseline and every 6 months during the 2-year treatment period. The SF-36 scores in the patient population were lower than in the normal Japanese population. They concluded that gonadotrophin treatment for MHH was associated with significant improvements in SF-36 domains [7]. Rosas et al observed that the emotional domains of the SF-36 were more profoundly associated with erectile dysfunction than the physical domains [17]. This study highlights the fact that poor sexual function leads to poor quality of life and vice versa.

Our study has several limitations. It was an observational study with small sample size, and the hormones studied were measured at only one time point. Therefore, causality could not be established. In addition, we did not examine erectile dysfunction in the patients, which could clarify our findings on the relationship between testosterone levels and quality of life.

Conclusions. Hypogonadism is common in HD patients. Testosterone level correlates positively with SF-36 scores. Further studies with a larger cohort of patients are needed to confirm these preliminary results and validate testosterone level as a proposed biomarker of quality of life in clinical practice.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding source. This study was not financially supported.

Author Contributions.

Muzamil Latief: the study design, literature search, conduct and planning, data analysis, manuscript writing, and submission;

Manjusha Yadla: study design, planning, and supervision, data analysis, project writing;

Farhat Abbas: data analysis, literature search, manuscript writing.

References:

1. *Schaefer F, Veldhuis JD, Robertson WR, Dunger D, Scherer K.* Immunoreactive and bioactive luteinizing hormone in pubertal patients with chronic renal failure. Cooperative Study Group on Pubertal Development in Chronic Renal Failure. *Kidney Int.* 1994 May;45(5):1465-76. doi: 10.1038/ki.1994.191.
2. *Blair JA, McGee H, Bhatta S, Palm R, Casadesu G.* Hypothalamic-pituitary-gonadal axis involvement in learning and memory and Alzheimer's disease: more than "just" estrogen. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015 Mar 25;6:45. doi: 10.3389/fendo.2015.00045. PMID: 25859241; PMCID: PMC4373369.
3. *Purnell TS, Auguste P, Crews DC, Lamprea-Montealegre J, Olufade T, Greer R, Ephraim P, Sheu J, Kosteci D, Powe NR, Rabb H, Jaar B, Boulware LE.* Comparison of life participation activities among adults treated by hemodialysis, peritoneal dialysis, and kidney transplantation: a systematic review. *Am J Kidney Dis.* 2013 Nov;62(5):953-73. doi: 10.1053/j.ajkd.2013.03.022.
4. *Gayle F, Soyibo AK, Gilbert DT, Manzanares J, Barton EN.* Quality of life in end stage renal disease: a multicentre comparative study. *West Indian Med J.* 2009;58(3):235-242. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20043531/>.
5. *Bakewell AB, Higgins RM, Edmunds ME.* Quality of life in peritoneal dialysis patients: decline over time and association with clinical outcomes. *Kidney Int.* 2002 Jan;61(1):239-48. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00096.x.
6. *Rosas SE, Joffe M, Franklin E, Strom BL, Kotzker W, Brensinger C, Grossman E, Glasser D, Feldman HI.* Prevalence and determinants of erectile dysfunction in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2001 Jun;59(6):2259-66. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00742.x.
7. *Shiraishi K, Oka S, Matsuyama H.* Assessment of quality of life during gonadotrophin treatment for male hypogonadotropic hypogonadism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014 Aug;81(2):259-65. doi: 10.1111/cen.12435.
8. *Distiller LA, Morley JE, Sagel J, Pokroy M, Rabkin R.* Pituitary-gonadal function in chronic renal failure: the effect of luteinizing hormone--releasing hormone and the influence of dialysis. *Metabolism.* 1975 Jun;24(6):711-20. doi: 10.1016/0026-0495(75)90039-6.
9. *Guevara A, Vidt D, Hallberg MC, Zorn EM, Pohlman C, Wieland RG.* Serum gonadotropin and testosterone levels in uremic males undergoing intermittent dialysis. *Metabolism.* 1969 Dec;18(12):1062-6. doi: 10.1016/0026-0495(69)90024-9.
10. *Eckersten D, Giwercman A, Christensson A.* Male patients with terminal renal failure exhibit low serum levels of antimüllerian hormone. *Asian J Androl.* 2015;17(1):149-153. doi:10.4103/1008-682X.135124.
11. *Carrero JJ, Qureshi AR, Parini P, Arver S, Lindholm B, Brny P, Heimbürger O, Stenvinkel P.* Low serum testosterone increases mortality risk among male dialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2009 Mar;20(3):613-20. doi: 10.1681/ASN.2008060664.
12. *Cangven O, Aykose G, Albayrak S, Goktas C, Horuz R, Yencilek F.* Efficacy of testosterone gel in the treatment of erectile dysfunction in hypogonadal hemodialysis patients: a pilot study. *Int J Impot Res.* 2010 Mar-Apr;22(2):140-5. doi: 10.1038/ijir.2009.55.
13. *Anees M, Mumtaz A, Barki MH, Ibrahim M, Hussain S, Uzair M.* Sex hormones and erectile dysfunction in hemodialysis patients. *Pak J Med Sci* 2009;25(6):922-927. Available from: <https://pjms.com.pk/issues/octdec209/article/article9.html>.
14. *Feroze U, Noori N, Kovesdy CP, et al.* Quality-of-life and mortality in hemodialysis patients: roles of race and nutritional status. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(5):1100-1111. doi:10.2215/CJN.07690910.
15. *Oliveira AP, Schmidt DB, Amateis TM, Santos JC, Cavallet LH, Michel RB.* Quality of life in hemodialysis patients and the relationship with mortality, hospitalizations and poor treatment adherence. *J Bras Nefrol.* 2016 Dec;38(4):411-420. Portuguese, English. doi: 10.5935/0101-2800.20160066.
16. *Rosas SE, Joffe M, Franklin E, Strom BL, Kotzker W, Brensinger C, Grossman E, Glasser DB, Feldman HI.* Association of decreased quality of life and erectile dysfunction in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2003 Jul;64(1):232-8. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00042.x.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Original Papers

O. Vroniak, R. Zograban

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.05

The first experience of cord blood stem cells application in kidney transplantation: A descriptive study

SI «Shalimov's National Institute of Surgery and Transplantation NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Citation:

Vroniak O, Zograban R. The first experience of cord blood stem cells application in kidney transplantation: A descriptive study. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):34-42. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.05.

Abstract. *Kidney transplantation is recognized as the optimal method of end-stage kidney disease treatment, but chronic renal allograft rejection remains an unresolved issue and leads to transplanted organ function loss. Recent studies show positive effects of stem cell injections in a variety of diseases, including kidney transplantation.*

The present study aimed to analyze the first experience of umbilical cord blood stem cells application in living-related kidney transplantation in Shalimov's National Institute of Surgery and Transplantation, give a preliminary assessment of their effectiveness and safety, evaluate the clinical course and especially the dynamics of laboratory parameters in the recipient's postoperative period.

Methods. The study group included 6 male, adult recipients of kidney transplants, who performed the first kidney allotransplantation from a living family donor in the Shalimov's National Institute of Surgery and Transplantation in 2020 – 2021. Before surgery, all patients received intravenous administration of a fraction of nuclear cells from human umbilical cord blood at a dose of 2-3 x 10⁶/kg body weight in combination with standard three-component immunosuppressive therapy. Immune system studies were performed before kidney transplantation, on the first and third days of the postoperative period, at the end of the first and second week, as well as on the first, third, sixth, and twelfth months, following kidney transplantation. Renal graft function was assessed by serum creatinine and glomerular filtration rate. Monitoring of clinical and laboratory parameters of blood and urine, the concentration of calcineurin inhibitors (C0) was carried out regularly three times a week for the first month, twice a month for 2-3 months, and once a month until the end of the year.

Puncture biopsy of the transplanted kidney was performed three months after surgery to diagnose the pathology of the graft, namely the manifestations of acute and chronic rejection, the nature and degree of which were determined according to the Banff classification.

The state of the immune system of the recipients was characterized by indicators of cellular and humoral immunity.

Statistical processing of research results was performed using the statistical package StatSoft (2010) STATISTICA 9.1 for Windows StatSoft Inc, Tulsa.

Results. All patients received cord blood stem cells without complications. On the first day after surgery, an average diuresis was 9415 ± 928.1 ml. Normalization of graft function was observed on the second or third day (GFR more than 90 ml/min/1.73 m²). There were no rejections of grafts and signs of opportunistic infections in the patients during 1 year follow-up period. Morphological studies did not reveal signs of significant pathological changes in transplanted kidneys in patients who received stem cells as induction therapy.

The study of the state of the immune system of recipients in the dynamics, given the insufficient number of patients, requires further research.

Conclusions. The administration of cord blood stem cells to recipients prior to kidney transplantation is safe and promotes rapid recovery of renal allograft function. There were no signs of morphological proven chronic graft rejection, which allows us to predict its long-term functioning in the future. To assess the response of the recipient's immune system to the application of cord blood stem cells requires the accumulation of additional data.

Keywords: kidney transplantation, induction immunosuppressive therapy, umbilical cord blood stem cells, chronic renal failure.

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© O. Vroniak, R. Zograban, 2022.

Correspondence should be addressed to Oleksii Vroniak dr.vroniak@gmail.com

Article history:

Received May 11, 2022

Received in revised form
June 03, 2022

Accepted June 05, 2022



© Вороняк О. С., Зограб'ян Р. О., 2022

УДК: 616.61-089.843:576.3/.7

О.С. Вороняк, Р.О. Зограб'ян

Перший досвід використання стовбурових клітин у реципієнтів ниркового алотрансплантата: описове дослідження

ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О.Шалімова НАМН України», Київ, Україна

Резюме. Трансплантація нирки визнана оптимальним методом лікування термінальної ниркової недостатності, проте хронічна реакція відторгнення ниркового трансплантата залишається невирішеною проблемою і призводить до втрати функції пересадженого органу. Дослідження останніх років виявили позитивні ефекти від введення стовбурових клітин при різних захворюваннях, в тому числі при трансплантації нирки

Метою роботи було проаналізувати перший досвід, дати попередню оцінку ефективності та безпечності використання стовбурових клітин пуповинної крові при трансплантації нирки, оцінити клінічний перебіг післятрансплантаційного періоду, особливості динаміки лабораторних показників в післяопераційному періоді у реципієнтів ниркового трансплантата, що отримували стовбурові клітини в якості індукційної імуносупресивної терапії.

Методи. До групи дослідження було включено 6 повнолітніх реципієнтів ниркового трансплантата, чоловічої статі, яким у 2020 – 2021 рр. в Національному інституті хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України була виконана перша алотрансплантація нирки від живого родинного донора. Основним діагнозом була термінальна ниркова недостатність внаслідок прогресування хронічного гломерулонефриту, пролонгована програмним гемодіалізом. Всі пацієнти перед операцією отримували внутрішньовенне введення фракції ядромісних клітин з пуповинної крові людини в дозі 2-3 x 10⁶/кг маси тіла, разом з стандартною трикомпонентною імуносупресивною терапією.

Дослідження стану імунної системи проводили перед трансплантацією нирки, на перший та третій день, наприкінці першого та другого тижня, через один, три, шість місяців та 1 рік після ТН. Функцію ниркового трансплантата оцінювали за рівнем креатиніну сироватки крові та швидкістю клубочкової фільтрації. Моніторинг клініко-лабораторних показників крові та сечі, концентрації інгібіторів кальциневрину (C_d) здійснювався на постійній основі тричі на тиждень протягом першого місяця, двічі на місяць протягом 2-3 місяців та 1 раз на місяць до кінця року.

Пункційна біопсія трансплантованої нирки проводилась через три місяці після операції з метою діагностики патології ниркового трансплантата, а саме проявів гострого та хронічного відторгнення, характер та ступінь якого визначали згідно Banff-класифікації.

Стан імунної системи реципієнтів характеризувався рівнями показників клітинного та гуморального імунітету.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою статистичного пакету StatSoft (2010) STATISTICA 9.1 for Windows StatSoft Inc, Tulsa.

Результати. Всі пацієнти перенесли введення стовбурових клітин кордової крові без ускладнень. Діурез на першу добу після операції складав 9415±928, 1мл. Нормалізація показників функції ниркового алотрансплантата відмічалася вже на другу-третю добу (ШКФ більше 90мл/хв/1,73 м²). Реакцій відторгнення, розвитку опортуністичних інфекцій у даної категорії пацієнтів у віддаленому періоді в термін спостереження до 1-го року – не спостерігалось. Морфологічні дослідження не виявили ознак суттєвих патологічних змін в трансплантованих нирках у пацієнтів які отримували в якості індукційної терапії стовбурові клітини.

Висновки. Введення стовбурових клітин кордової крові реципієнтам перед трансплантацією нирки є безпечним та сприяє швидкому відновленню функції ниркового алотрансплантата. В жодному випадку морфологічне дослідження біоптата нирки не виявило ознак хронічного відторгнення трансплантата, що дозволяє прогнозувати його тривале функціонування в подальшому. Для оцінки реакції імунної системи реципієнтів на введення стовбурових клітин кордової крові потрібне накопичення додаткових даних.

Ключові слова: трансплантація нирки, індукційна імуносупресивна терапія, стовбурові клітини пуповинної крові, хронічна ниркова недостатність.

Олексій Сергійович Вороняк
dr.voroniak@gmail.com

Вступ. Трансплантація нирки продовжує залишатися найкращим методом лікування термінальної ниркової недостатності. Ще 89 років тому, першу в світі трансплантацію нирки (ТН) людині зробив український хірург Юрій Вороний, проте пересаджений орган був відторгнутий. Подальші спроби були дещо кращі, проте пацієнти жили не довго, оскільки в той час не була доступна імуносупресивна терапія.

супресивна терапія (ІСТ) [1]. Тільки після появи перших імуносупресивних препаратів результати ТН покращилися.

Розрізняють імуносупресивну терапію індукційну (ввідну) та підтримуючу. На сьогоднішній день препаратами вибору індукційної терапії (ІТ) при ТН стали антагоніст рецепторів інтерлейкіна-2 (ІЛ-2РА) і антиtimoцитарний глобулін (АТГ) [2].

В проведеному А.С. Webster дослідженні, відносний однорічний ризик гострого відторгнення після індукції із застосуванням ІЛ-2РА в порівнянні з відсутньою ІТ був 0,67 (95%, ДІ: 0,59–0,76) [3].

У пацієнтів зі стандартним імунологічним ризиком показники гострого відторгнення, виживання реципієнтів і ниркових трансплантатів (НТ) приблизно однакові при застосуванні ІЛ-2РА і АТГ, проте менше побічних ефектів відмічалось у групі пацієнтів з ІЛ-2РА. Однак у пацієнтів з високим імунологічним ризиком ІТ з АТГ була більш ефективною в плані попередження гострого відторгнення, проте призводила до більшого числа інфекційних ускладнень в післяопераційному періоді [4].

Крім ІТ існує підтримуюча ІСТ, яка проводиться практично всім реципієнтам ТН, щоб запобігти гострому та хронічному відторгненню НТ. Основними препаратами підтримуючої ІСТ є інгібітори кальциневрину (циклоспорин чи такролімус), мікофенолати (мікофеналату мофетил чи мікофеналат натрію) та глюкокортикостероїди [5]. З розвитком трансплантації відбувається і вдосконалення схем ІСТ, розробка нових імуносупресивних препаратів, які подовжують функціонування пересаженого органу.

На сьогоднішній день однорічне виживання НТ сягає 95-98%, але надалі спостерігається його поступове зниження та протягом 10 років втрачається біля 50% НТ [6], що найчастіше обумовлено розвитком хронічного відторгнення (в 40-80 % випадків за даними різних авторів) [7] та побічними ефектами імуносупресивних препаратів, такими як нефротоксичність, серцево-судинні, ендокринні порушення, онкологічні захворювання та опортуністичні інфекції, що призводять до смерті реципієнта з функціонуючим трансплантатом.

М. Coemans, порівнюючи результати 108787 ТН, виконаних з 1986 по 2015 роки [6] показав, що довгострокові результати таких операцій залишаються практично без покращення за останні 30 років. Це є підставою для пошуку нових методів запобігання розвитку реакції відторгнення НТ, уповільнення прогресування його дисфункції, можливості зменшення доз імуносупресивних препаратів та частоти пов'язаних з ними ускладнень [8]. Існує значна потреба в нових підходах до ІСТ, яка б поєднувала більшу ефективність та меншу кількість побічних ефектів.

В зв'язку з розвитком клітинної терапії та позитивними ефектами від введення стовбурових клі-

тин (СК) при різних захворюваннях, проводилися дослідження з ефективності їх застосування при ТН. Літературний аналіз використання СК на тваринних моделях з нирковою недостатністю, пролонгованою алотрансплантацією нирки (АТН) [9], а згодом і проведені клінічні дослідження показали кращі результати в післяопераційному періоді у цих пацієнтів. Це стало підґрунтям створенню альтернативної індукційної терапії при ТН.

Біологічні ефекти стовбурових клітин (СК), включаючи їх багатолінійну диференціацію, потенціал самонаведення, паракринний ефект та імуносупресивну дію, що призводять до пригнічення проліферації Т-клітин, дозрівання дендритних клітин та індукцію Т-регуляторних клітин відкрили нові горизонти для покращення як ранніх, так і віддалених результатів АТН та дозволяють припустити доцільність їх введення перед операцією в якості індукційної імуносупресії. Випробування такої методики почато у відділенні трансплантації нирки НІХТ ім. О.О. Шалімова в 2020 році.

Мета роботи: проаналізувати перший досвід, дати попередню оцінку ефективності та безпечності використання СК при ТН. Для досягнення цієї мети поставлені наступні завдання: оцінити особливості клінічного перебігу післятрансплантаційного періоду, оцінити особливості динаміки лабораторних показників в післяопераційному періоді у реципієнтів НТ, що отримували СК в якості індукційної ІСТ, оцінити вплив СК на показники функції трансплантованої нирки та імунного стану реципієнта.

Матеріали та методи. До описового дослідження було включено 6 реципієнтів НАТ, яким у 2020 – 2021 рр. була виконана перша алотрансплантація нирки від живого родинного донора в Національному інституті хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України. Показанням до алотрансплантації нирки у всіх реципієнтів була термінальна стадія хронічної ниркової недостатності (ХНН) різного генезу. Всі пацієнти за 3-4 години до операції та після премедикації дексаметазоном в дозі 8мг отримували внутрішньовенне введення фракції ядровмісних клітин з пуповинної крові людини (ФЯКПКЛ) в дозі 2-3 x 10⁶/кг маси тіла, разом з стандартною трикомпонентною ІСТ, що включала інгібітори кальциневрину (СНІ), такі як циклоспорин (CsA) (в дозі 8-10 мг/кг маси тіла для досягнення цільової концентрації 200-250 нг/мл) або такролімус (FK506) (в дозі 0,1-0,2 мг/кг маси тіла для досягнення цільової концентрації 10-12 нг/мл), а також мофетилу мікофенолат в дозі 1000 мг двічі на день чи мікофенолат натрію в дозі 1440 мг/добу. Їх прийом починали за 7 днів до планової операції. А також метилпреднізолон загальною кількістю 1,5 г протягом перших 3-х днів з переходом на пероральний прийом у початковій дозі 64 мг з поступовим зменшенням до підтримуючої дози 4 мг на добу.

В якості індукції імуносупресії 2 пацієнтам перед операцією та на 4-у добу після проводили внутрішньовенну інфузію базиліксимабу (I група), а інші 4 пацієнти отримували антитімоцитарний глобулін (АТГ) в курсовій дозі 3 мг/кг протягом 3 днів (II група) (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика реципієнтів ниркового трансплантата

Параметри	Реципієнти (n=6)
вік, роки, $M \pm m$	24,67 \pm 1,82
стать: чоловіки, n (%) жінки, n (%)	100 (100%) 0 (0%)
ІМТ (індекс маси тіла)	20,8 \pm 0,44
Індукційна ІСТ: Базиліксимаб (I група) АТГ (II група)	2 (33,33%) 4 (66,66%)
Введення ФЯКПКЛ	6 (100%)
імуносупресія:	
Cyclosporin, n (%)	1 (%)
Tacrolimus, n (%)	5 (%)
Mycophenolate, n (%)	6 (100%)
Methylprednisolone	6 (100%)
Cross-match негативний	6 (100%)
CMV статус реципієнта позитивний негативний	4 (66,66%) 2 (33,33%)

Дослідження стану імунної системи проводили перед трансплантацією нирки, на перший та третій день, наприкінці першого та другого тижня, через один, три, шість місяців та 1 рік після ТН. Функцію ниркового трансплантата оцінювали за рівнем креатиніну сироватки крові та швидкістю клубочкової фільтрації. Моніторинг клініко-лабораторних показників крові та сечі, концентрації інгібіторів кальциневрину (C_0) здійснювався на постійній основі тричі на тиждень протягом першого місяця, двічі на місяць протягом 2-3 місяців та 1 раз на місяць до кінця року.

Пункційна біопсія ТН проводилась за протоколом через три місяці після операції з метою діагностики патології НТ, а саме проявів гострого та хронічного відторгнення. Характер та ступінь морфологічних змін визначали згідно Vanff-класифікації [10].

Стан імунної системи реципієнтів характеризувався рівнями показників клітинного та гуморального імунітету. Клітинний імунітет оцінювали за відносним та абсолютним рівнем субпопуляцій лімфоцитів в периферичній крові (ПК), за допомогою моноклональних антитіл мічених FITC, PE, ECD (Beckman Coulter, USA) та PC5 у наступних

комбінаціях із наступними антигенами: CD45-FITC/CD4-PE/CD8-ECD/CD3-PC5 (Т-хелпери, Т-цитотоксичні); CD4-FITC/127-PE/45-ECD/25-PC5 (Т-регуляторні), CD3-FITC/DR-PE/45-ECD (Т-активовані), CD3-FITC/CD16/CD56-PE/45-ECD (Т-NK та NK-лімфоцити), CD38-FITC/CD45-ECD/CD19-PC5 (активовані В-клітини). Гейтування проводилось по CD45^{bright} та визначення рівня субпопуляцій здійснювалось за допомогою проточного цитофлуориметра FC-500 Cytomics (Beckman Coulter, USA) з урахуванням розрахункового імунорегуляторного індексу (Ireg) – CD4+/CD8+. Гуморальний імунітет оцінювався за рівнями загальних імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G в сироватці крові методом турбідиметрії на апараті HORIBA ABX Pentra 400 (France).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою статистичного пакету StatSoft (2010) STATISTICA 9.1 for Windows StatSoft Inc, Tulsa. Проводився описовий аналіз кожної вибірки з розрахунком середнього значення (M) та стандартного відхилення (SD). Порівняння двох незалежних сукупностей проводилось за непараметричним тестом – U-тест Манна-Уїтні (U-test Mann-Whitney). Розбіжності між сукупностями вважались статистично значимими при значеннях коефіцієнта достовірності $p < 0,05$. Характер зв'язку між змінними показниками оцінювався за рівнем коефіцієнта кореляції Pearson (r) при значеннях коефіцієнта достовірності $p < 0,05$.

Опис клітинного препарату. Пуповинну кров збирали із пупочного канатика новонародженого за стандартною методикою під час пологів на 39 – 41 тижні у 23–36-річних жінок з їх інформованої згоди. Проводили обстеження жінок на наявність поверхневого (HBsAg) та корового (coreHBV) антигенів вірусу гепатиту В, РНК вірусу імунодефіциту людини 1/2 (HIV 1/2), РНК вірусу гепатиту С (HCV), сумарних антитіл проти *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii* та цитомегаловірусу (CMV). Тестували саму пуповинну кров на антигени поверхневого (HBsAg) та ядерного (HBcoreAg) антигену вірусу гепатиту В, РНК вірусу імунодефіциту людини 1/2 (HIV 1/2), ДНК цитомегаловірусу, РНК вірусу гепатиту С (HCV) та антитіла до вірусу імунодефіциту людини (HIV 1/2), вірусу гепатиту С (HCV), *Treponema pallidum*. Проводили аналіз пуповинної крові на наявність аеробних, анаеробних бактерій, а також грибкової інфекції. До пакету, що містив пуповинну кров із цитратним буфером додавали розчин 6 % гідроксиетилкрохмалю та седиментували при кімнатній температурі до чіткого розділення фракції еритроцитів та ядромісних клітин. Проводили фракціонування на екстракторі плазми XP 100 (Jouan, Франція) та центрифугували при 400g протягом 20 хв. Осад клітин ресуспендували в вихідному розчині. До суспензії ядромісних клітин пуповинної крові додавали розчин кріопротектора (10% ДМСО приготований на 10%

декстрані з молекулярною масою 30000 – 40000 Да) у співвідношенні 1:1. Кріоконсервування проводили за допомогою програмного заморозувача ЗП-6.00.00.00. Процес охолодження починали з 20°C зі швидкістю 1°C/хв до температури -3,8°C. При цій температурі зразки витримували протягом 10 хв, після чого здійснювали ініціацію кристалотворення. Після завершення кристалізації кріоконтейнери охолоджували зі швидкістю 0,1°C/ хв до -35°C, потім – 5°C/хв до -50°C та -10°C/ хв до -140°C. За температури -140°C процес охолодження в заморозувачі зупиняли й перенесли матеріал у рідкий азот (-196°C) на довгострокове зберігання. Один зразок в середньому містить близько 4×10^8 ядромісних клітин, серед яких близько $6,4 \times 10^5$ колоніє-утворюючих одиниць. Вміст клітин, що експресують CD34 становить 0,1-1 %.

Результати. Нами проведено порівняльний аналіз загального стану пацієнтів, даних інструментального обстеження та лабораторних показників функції НТ, динаміки показників субпуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у двох групах пацієнтів, які отримували СК пуповинної крові перед трансплантацією нирки. Перша група пацієнтів отримувала базиликсимаб, а друга – АТГ в якості індукційної імуносупресії.

Введення ФЯКПКЛ проводили за 3-4 години перед ТН в дозі 2-3 x 10⁶/кг маси тіла реципієнта. Всі пацієнти перенесли введення препарату без побічних ефектів. Загальне самопочуття пацієнтів оцінювалося за 10-ти бальною шкалою на основі суб'єктивних відчуттів (загальна слабкість, задишка), враховували також рівень артеріального тиску, частоту пульсу, температуру тіла, набряки та інші скарги (табл. 2).

Таблиця 2

Оцінка загального стану пацієнтів

Термін	При поступленні	Після введення СК	1 день	1 тижд	2 тижні	1 міс	3 міс	6 міс	12 міс
Показники									
Загальне самопочуття, бали (за 10 – бальною шкалою)	6,67 ± 0,21	6,67 ± 0,21	6,17±0,17	8,67±0,21	10	10	10	10	10
Діурез, мл	850±373,1	-	9415±928,1	3558±378,1	2833± 102	2441± 121	2322± 69	2376±95	2341± 54
Арт-ний тиск, (% пацієнтів)									
- Менше 90/60	16,67	0	0	16,67	16,67	16,67	16,67	16,67	16,67
- 91/61-129/79	16,67	33,33	33,33	66,67	66,67	66,67	66,67	66,67	66,67
- Більше 130/80	66,67	66,67	66,67	16,67	16,67	16,67	16,67	16,67	16,67
Пульс, уд/хв (% пацієнтів)									
- Менше 60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- 61-90	83,33	66,67	33,33	83,33	100	100	100	100	100
- Більше 91	16,67	33,33	66,67	16,67	0	0	0	0	0
Вага (% пацієнтів)									
Зменшується	0	0	0	100	100	0	0	0	0
Стабільна	100	100	100	0	0	33,33	0	100	100
Підвищується	0	0	0	0	0	66,67	100	0	0
Температура тіла (% пацієнтів)									
- 36,6-36,9	100	100	66,67	66,67	100	100	100	100	100
- 37,0 – 37,9	0	0	33,33	33,33	0	0	0	0	0
- Більше 38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Набряки на тілі (% пацієнтів)									
- немає	66,67	66,67	66,67	83,33	100	100	100	100	100
- пастозність до рівня гомілок	33,33	33,33	33,33	16,67	0	0	0	0	0
- набряки нижніх кінцівок,	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- асцит, гідроторакс	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Динаміка рівнів креатиніну сироватки крові та ШКФ в ранньому післяопераційному періоді свідчила про швидке відновлення функції ниркового трансплантата (вже на другий день після операції

ми спостерігали нормалізацію обох показників). Такими ж ці показники залишались протягом 12 місяців спостереження (рис.1, 2).

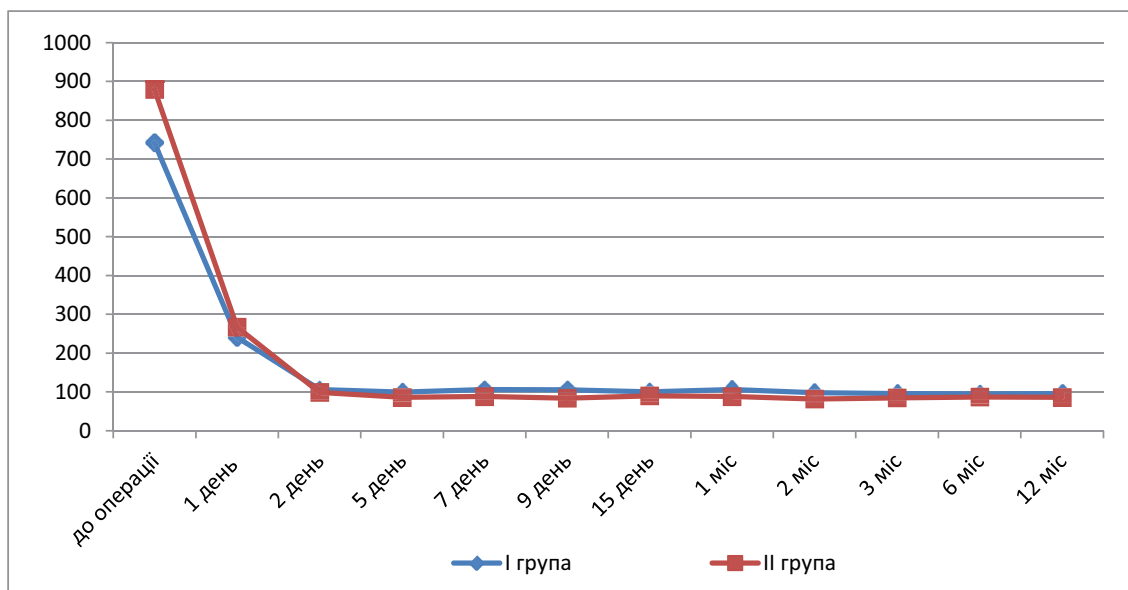


Рис. 1. Динаміка середнього рівня креатиніну (мкмоль/л) у пацієнтів, які отримували СК кордової крові при ТН та бизиліксимаб (I група) або тимоглобулін (II група).

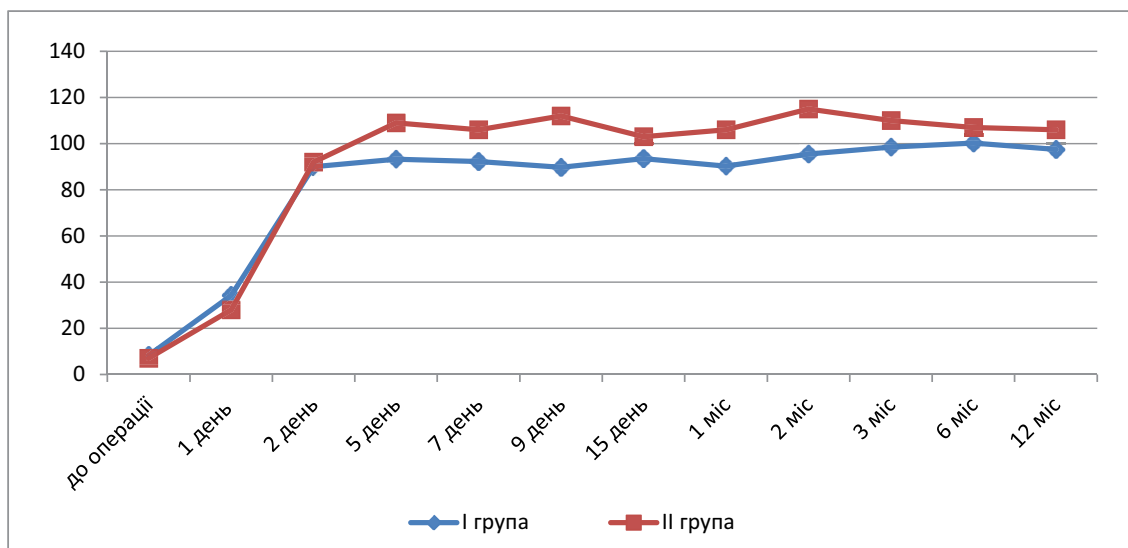


Рис. 2. Динаміка середньої ШКФ (СКД-ЕРІ) у пацієнтів які отримували СК кордової крові та бизиліксимаб (I група) або тимоглобулін (II група).

Всі пацієнти отримували для профілактики розвитку цитомегаловірусної інфекції валганцикловір 450 мг/добу, для профілактики пневмоцистної інфекції ко-тримоксазол 480мг/добу терміном до 5 місяців.

Аналіз динаміки показників імунної системи реципієнтів показав наступне. У реципієнтів I групи абсолютна кількість лімфоцитів зростала протягом перших двох тижнів з $1,558 \pm 0,123 \times 10^9$ /л до

$2,590 \pm 0,213 \times 10^9$ /л, після чого дещо зменшувалася до $1,800 \pm 0,143 \times 10^9$ /л. У II групі пацієнтів, на відміну від першої, відмічалось зменшення відносної кількості лімфоцитів периферичної крові (CD45+14-15-) майже на 95% з $24 \pm 11\%$ до $0,8 \pm 0,2\%$, а абсолютної з $1,575 \pm 0,546 \times 10^9$ /л до $0,101 \pm 0,032 \times 10^9$ /л на перший день після введення СК і тимоглобуліну, з тенденцією до поступового їх відновлення через 6-12 місяців до $0,678 \pm 0,293 \times 10^9$ /л.

Гранулоцитарно-лейкоцитарний індекс (g/l ratio) у I групі зменшувався до 7-ї доби на 15% з $2,4 \pm 0,12$ до $2,1 \pm 0,1$, після чого зростав на 50% до $3,2 \pm 0,1$, проте вже після двох тижнів повертався до вихідного рівня $2,2 \pm 0,18$. Після введення тимоглобуліну (у II групі) g/l ratio збільшувався майже в 40 разів (з $2,8$ до $116,12,4 \pm 9,34$) у першу добу, з поступовим зменшенням в післяопераційному періоді до $6,42 \pm 3,5$ через 6 місяців. Таке зростання індексу пов'язане з виснаженням пулу лімфоцитів внаслідок дії тимоглобуліну та відносним зростанням на цьому фоні кількості гранулоцитів.

Особливо цікаво в такій ситуації було б дослідити динаміку основних субпопуляцій лімфоцитів.

T-лімфоцити (CD3+19-) виконують ефекторні функції в реакціях клітинного імунітету і відіграють важливу роль у гуморальних імунних реакціях на тимусзалежні антигени, активуючи B-лімфоцити та стимулюючи їх до синтезу антитіл. У I групі пацієнтів відносна кількість T-лімфоцитів за два тижні зменшилася на 11,5% (з $85,5 \pm 6,54\%$ до $75,6 \pm 5,44\%$), після чого поверталася до вихідного рівня в кінці першого місяця ($85,6 \pm 5,34\%$). У II групі дослідження відносно число CD3+19- одразу після введення тимоглобуліну зменшувалося майже в 2 рази (з $74,2 \pm 5,54\%$ до $41,2 \pm 5,46\%$), а абсолютна кількість – в 5 разів ($0,997 \pm 0,421 \times 10^9/\text{л}$ до $0,049 \pm 0,021 \times 10^9/\text{л}$) з поступовим відновленням вже через два тижні до $0,999 \pm 0,371 \times 10^9/\text{л}$.

V-лімфоцити (CD3-19+) проходять розвиток в лімфовузлах та інших периферичних органах лімфоїдної системи. На поверхні ці клітини несуть імуноглобуліни, що функціонують як рецептори до антигенів. У відповідь на взаємодію з антигеном V-лімфоцити відповідають диференціацією в плазматичні клітини, що виробляють антитіла, за допомогою яких забезпечується гуморальний імунітет. У II групі відмічалася зростання відносної кількості основних маркерів V-лімфоцитів на першу добу у 6 разів (з $7,71 \pm 2,5\%$ до $46,8 \pm 6,7\%$), після чого відмічалася тенденція до зменшення протягом двох тижнів (до $9,8 \pm 3,7\%$). Абсолютна їх кількість навпаки одразу зменшувалася вдвічі ($0,135 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ до $0,065 \pm 0,015 \times 10^9/\text{л}$), з послідуною тенденцією до зростання через 1 місяць до $0,1 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$. У I групі відносна кількість V-лімфоцитів збільшувалася в 2,5 рази за два тижні (з $7,2 \pm 2,5\%$ до $18,1 \pm 3,7\%$), після чого ще через два тижні зменшувалася майже до вхідного рівня ($7,3 \pm 1,8\%$). Їх абсолютна кількість у I групі зростала у 4 рази за два тижні (з $0,112 \pm 0,046 \times 10^9/\text{л}$ до $0,469 \pm 0,065 \times 10^9/\text{л}$), після чого зменшувалася майже до вихідного рівня ($0,142 \pm 0,021 \times 10^9/\text{л}$).

T-хелпери (CD4+8-) несуть на своїй поверхні структури, що сприяють розпізнаванню антигенів, які презентуються допоміжними клітинами, беруть участь в індукції та регуляції імунної відповіді, виробляючи різні цитокіни, стимулюють запуск і розвиток імунних реакцій. У II групі на першу добу

після введення АТГ їх відносна кількість зменшувалася у 3,5 рази ($58,5 \pm 12,5\%$ до $16,5 \pm 5,1\%$), з послідуою поступовим зростанням і відновленням до вихідного рівня через 1 місяць (до $55,1 \pm 5,1\%$). У I групі їх абсолютна кількість зростала у 2 рази (з $0,911 \pm 0,044 \times 10^9/\text{л}$ до $1,792 \pm 0,114 \times 10^9/\text{л}$), а через 1 місяць поверталася до вихідного рівня ($0,967 \pm 0,054 \times 10^9/\text{л}$).

T-цитотоксичні (CD4-8+) розпізнають фрагменти антигену на поверхні клітин-мішеней, орієнтують свої гранули у напрямку до мішені і вивільняють їх вміст в області контакту з нею. При цьому деякі цитокіни є сигналом загибелі (по типу апоптозу) для клітин-мішеней. Їх функція полягає в знищенні власних пошкоджених клітин, заражених вірусами, пухлинних клітин та ін. Вони діють через запуск у таргетній клітині механізмів апоптозу і є головними ефекторними клітинами у механізмах розвитку реакцій відторгнення. Відносна кількість T-цитотоксичних клітин у II групі зменшувалася в чотири рази на першу добу ($28,5 \pm 2,5\%$ до $7,4 \pm 3,1\%$), після чого відновлювалася до вихідного рівня вже через тиждень (до $29,5 \pm 3,2\%$). Абсолютна їх кількість зменшувалася майже на 97% після першого дня (з $0,576 \pm 0,041 \times 10^9/\text{л}$ до $0,005 \pm 0,001 \times 10^9/\text{л}$), та поступово зростала до $0,561 \pm 0,031 \times 10^9/\text{л}$ через 1 місяць спостереження. У I групі відносна кількість T-цитотоксичних клітин на першу добу зменшувалася на 25% ($27,2 \pm 2,5\%$ до $20,5 \pm 3,1\%$), після чого зростала до 1 місяця після операції до $26 \pm 2,1\%$.

Натуральні кілери (NK-клітини CD3-16+56+) – популяція великих гранулярних лімфоцитів, які здатні лізувати клітини-мішені інфіковані вірусами та іншими внутрішньоклітинними антигенами, пухлинні клітини, а також інші клітини алогенного і ксеногенного походження. Вони першими розпізнають донорські HLA. Збільшення кількості NK-клітин може бути пов'язано з активацією трансплантаційного імунітету. Зниження їх кількості спостерігається при вроджених імунодефіцитах, паразитарних інфекціях, аутоімунних захворюваннях, опроміненні, лікуванні цитостатиками і кортикостероїдами. У II групі пацієнтів на першу добу абсолютна їх кількість зменшувалася на більше ніж 90% (з $0,329 \pm 0,056 \times 10^9/\text{л}$ до $0,004 \pm 0,001 \times 10^9/\text{л}$), та повільно зростала через два тижні до $0,02 \pm 0,016 \times 10^9/\text{л}$, та залишалася приблизно такою ж в періоді спостереження до $0,021 \pm 0,003 \times 10^9/\text{л}$. Відносна кількість NK-клітин зростала в першу добу у два рази (з $1,1 \pm 0,1\%$ до $2,1 \pm 0,2\%$), та продовжила зростання через два тижні до $3,8 \pm 0,85\%$. У I групі їх абсолютна кількість зростала протягом двох тижнів спостереження з $0,101 \pm 0,032 \times 10^9/\text{л}$ до $0,197 \pm 0,054 \times 10^9/\text{л}$, а відносна кількість з $6,4 \pm 2,5\%$ до $7,6 \pm 1,1\%$, а через 1 місяць абсолютна кількість ставала меншою вихідного рівня ($0,077 \pm 0,012 \times 10^9/\text{л}$), а відносна – $4,3 \pm 1,5\%$ відповідно.

T-reg (CD4+127-25+45+) регулюють T-клітинний гомеостаз, запобігають аутоімунним захворюванням, алергії, гіперчутливості, реакції трансплантат проти хазяїна, а також забезпечують толерантність після трансплантації. З іншого боку вони знижують протипухлинний та протиінфекційний імунітет. У I групі відносна кількість T-reg мала тенденцію до зменшення з $5,7 \pm 0,9\%$ до $3,1 \pm 0,7\%$, а через 1 місяць після операції зменшувалася ще більше до $0,1 \pm 0,05\%$, після чого мала тенденцію до підвищення до $3,1 \pm 1,3\%$ за період спостереження. У II групі пацієнтів їх відносна кількість спочатку зменшувалася (з $4,8 \pm 2,5\%$ до $4,3 \pm 1,2\%$), а потім зростала і залишалася підвищеною протягом періоду спостереження (до $5,5 \pm 1,2\%$).

Імунорегуляторний індекс, I-reg (CD4+/8+) є співвідношенням рівнів CD4+ до CD8+T-лімфоцитів. Рівень імунорегуляторного індексу оцінюють у зіставленні з фазою імунної відповіді. У період розпаду і стихання клінічних проявів імунорегуляторний індекс сягає високих значень за рахунок великого відсоткового вмісту T-хелперів (CD4+T-клітин). У період реконвалесценції значення показника зменшується у зв'язку з наростанням рівня CD8+T-клітин (кілерів). Порушення такої закономірності свідчить про неадекватність імунної реакції та про можливість хронізації інфекції через неповну ерадикацію збудника. I-reg у I групі у перший тиждень дещо підвищувався (з $2,2 \pm 0,2$ до $3 \pm 0,3$), а потім повертався до вихідного рівня ($2,2 \pm 0,15$), а у II групі навпаки, спочатку зменшувався (з $1,7 \pm 0,2$ до $0,7 \pm 0,15$), після чого мав тенденцію до зростання, проте не доходив до вихідного рівня ($1,3 \pm 0,2$).

Рівень імунoglobulinів – є неспецифічним показником гуморального імунітету. В динаміці у реципієнтів I та II групи достовірної різниці між рівнями IgA, який бере участь у забезпеченні місцевого імунітету, рівнями IgM, який забезпечує первинну імунну відповідь, та рівнями IgG, який забезпечує вторинну імунну відповідь, не відмічали.

Протокольні біопсії виконувалися всім пацієнтам на 3-ій місяць після операції. У дослідженому матеріалі фрагментів тканини нирки в основному клубочки були без ознак склерозування, без сегментоядерних нейтрофілів у просвіті петель, без ознак подвоєння базальної мембрани та розширення мезангіального матриксу (g0, mm0, cg0). Канальці мали збережений епітелій, у 20% пацієнтів були мінімальні ділянки тубулярної атрофії (ct1), інтраепітеліальних лімфоцитів виявлено не було (t0). У просвіті каналців патологічного вмісту виявлено не було, у інтерстиції ознак фіброзу, запальної інфільтрації виявлено не було (ci0, i0, i-IFTA0, у перитубулярних капілярах нейтрофілів виявлено не було (ptc0), стінки артерій без патологічних змін у стінці (v0, cv0, ah0), загальна вираженість запалення була відсутня (ti0).

Імуногістохімічне дослідження показало: CD3 (Polyclonal) – у 20% біоптатів - позитивна реакція в T-лімфоцитах у вигляді одиничних дискретно розташованих клітин у інтерстиції, C4d позитивна реакція спостергалася у 2 із 6 пацієнтів зі ступеню вираженості 5 і 15% в перитубулярних капілярах та капілярах петель частини клубочків.

Загалом морфологічна будова біоптатів була без суттєвих патологічних змін. Banff score: g0, mm0, cg0, ct1, ci0, t0, ptc0, i-IFTA0, i0, ti0, v0, cv0, ah0, c4d2 (5-15% біоптатів).

Обговорення. Загалом всі пацієнти перенесли введення СК кордової крові без ускладнень, що показано в таблиці 2. У пацієнтів відмічалось незначне підвищення артеріального тиску, що може бути пов'язано з премедикацією дексаметазоном [11] та хвилюванням пацієнтів ще до введення СК, оскільки спостереження за пацієнтами велося в умовах відділення інтенсивної терапії. Жодних гіпертермічних чи анафілактичних реакцій на введення препарату ФЯКПКЛ не відмічалось. Відстроеної функції НАТ не було. Діурез на першу добу після операції складав $9415 \pm 928,1$ мл. Відновлення функції НАТ відмічалось вже на другу-третю добу (ШКФ більше 90 мл/хв/м²). Післяопераційні рани у всіх пацієнтів заживали первинним натягом, ранніх післяопераційних ускладнень, таких як неспроможність неоуретеро-цистоанастомозу, лімфоцеле не було. Пацієнти в задовільному стані на 12-14-у добу були виписані з стаціонару під нагляд трансплантолога поліклініки нашого інституту. Основні скарги пацієнтів включали в основному біль в місці виходу сечового катетера у 50% пацієнтів, який проходив після його видалення, появу акне на шкірних покриттях протягом 3-6 місяців після трансплантації нирки у 33,33% пацієнтів, випадіння волосся відмічалось у одного пацієнта, який приймав такролімус [12].

Реакцій відторгнення у даної категорії пацієнтів у віддаленому періоді в термін спостереження до 1-го року – не спостерігалось. Протокольні виконані біопсії та проведені морфологічні дослідження не виявили ознак суттєвих патологічних змін в трансплантованих нирках у пацієнтів які отримували в індукційній терапії СК. Загалом морфологічна будова біоптатів була без суттєвих патологічних змін, що співпадало з нормальними показниками функції всіх НТ. Слабко виражена експресія c4d у перитубулярних капілярах без морфологічних та клінічних проявів антитілоопосередкованого відторгнення, яку ми спостерігали у 2 з 6 реципієнтів, не має достовірного діагностичного значення [13].

Ми не спостерігали розвитку опортуністичних інфекцій у наших групах пацієнтів. Аналогічні дані наведені Zhao L. et al. [14], які при метаналізі чотирьох досліджень, в яких було порівняно результати лікування 197 реципієнтів НАТ, одна частина з яких отримувала МСК в індукційній терапії, а інша отримувала стандартну ІСТ при ТН. Автори також

відмітили менший рівень інфекційних ускладнень протягом року спостереження (RR = 0,65, 95% ДІ: 0,46–0,9, P = 0,01) порівняно з пацієнтами, які отримували стандартну ІСТ. Автори вважають, що схема з введенням СК може мати переваги та можливі кращі віддалені результати.

Визначення стану імунної системи реципієнтів в динаміці, враховуючи малу кількість пацієнтів потребують подальшого продовження дослідження.

Висновки. Введення стовбурових клітин кордової крові реципієнтам перед трансплантацією нирки є безпечним та сприяє швидкому відновленню функції ниркового алотрансплантата. В жодному випадку морфологічне дослідження біоптата нирки не виявило ознак хронічного відторгнення трансплантата, що дозволяє прогнозувати його

тривале функціонування в подальшому. Аналіз динаміки показників імунної системи реципієнтів ниркових трансплантатів поки не виявив достовірних закономірностей, що пов'язано з малою кількістю спостережень та потребує продовження досліджень.

Джерела фінансування: Кошти держбюджету для фінансування НДР «Визначити можливість застосування МСК при трансплантації нирки».

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Внесок кожного автора:

Вороняк О.С.: збір та обробка матеріалів дослідження, аналіз отриманих даних, написання тексту рукопису;

Зограб'ян Р.О.: концепція та дизайн дослідження.

Література (References):

1. *Benjamins S, Moers C, Slart RHJA, Pol RA.* Kidney Transplantation and Diagnostic Imaging: The Early Days and Future Advancements of Transplant Surgery. *Diagnostics (Basel)*. 2020;11(1):47. doi: 10.3390/diagnostics11010047.
2. *Pinchuk A.V.* Induction immunosuppression in kidney transplantation: Thymoglobulin® (a literature review). *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2014;(2):31-43. [In Russian].
3. *Webster AC, Ruster LP, McGee R, Matheson SL, Higgins GY, Willis NS, et al.* Interleukin 2 receptor antagonists for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;2010(1):CD003897. doi: 10.1002/14651858.CD003897.pub3.
4. *Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D;* Thymoglobulin Induction Study Group. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2006;355(19):1967-77. doi: 10.1056/NEJMoa060068.
5. *Jones-Hughes T, Snowsill T, Haasova M, Coelho H, Crathorne L, Cooper C, et al.* Immunosuppressive therapy for kidney transplantation in adults: a systematic review and economic model. *Health Technol Assess*. 2016;20(62):1-594. doi: 10.3310/hta20620.
6. *Coemans M, Süsal C, Döhler B, Anglicheau D, Giral M, Bestard O, et al.* Analyses of the short- and long-term graft survival after kidney transplantation in Europe between 1986 and 2015. *Kidney Int*. 2018;94(5):964-973. doi: 10.1016/j.kint.2018.05.018.
7. *Justiz Vaillant AA, Mohseni M.* Chronic Transplantation Rejection. [Updated 2022 Jul 8]. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535435/>
8. *Foley RN, Chen SC, Solid CA, Gilbertson DT, Collins AJ.* Early mortality in patients starting dialysis appears to go unregistered. *Kidney Int*. 2014;86(2):392-8. doi: 10.1038/ki.2014.15.
9. *Voroniak O, Zograban R.* The opportunity of stem cells application in kidney transplantation: experimental studies (review). *Pochki*. 2020;9(4):240-248. doi: 10.22141/2307-1257.9.4.2020.218239. [In Ukrainian].
10. *Jeong HJ.* Diagnosis of renal transplant rejection: Banff classification and beyond. *Kidney Res Clin Pract*. 2020;39(1):17-31. doi: 10.23876/j.krcp.20.003.
11. *Duchatsch F, Constantino PB, Herrera NA, Fabricio MF, Tardelli LP, Martuscelli et al.* Short-term exposure to dexamethasone promotes autonomic imbalance to the heart before hypertension. *J Am Soc Hypertens*. 2018;12(8):605-613. doi: 10.1016/j.jash.2018.06.004.
12. *Ilyas M, Colegio OR, Kaplan B, Sharma A.* Cutaneous Toxicities From Transplantation-Related Medications. *Am J Transplant*. 2017;17(11):2782-2789. doi: 10.1111/ajt.14337.
13. *Dominy KM, Willicombe M, Al Johani T, Beckwith H, Goodall D, Brookes P, et al.* Molecular Assessment of C4d-Positive Renal Transplant Biopsies Without Evidence of Rejection. *Kidney Int Rep*. 2018;4(1):148-158. doi: 10.1016/j.ekir.2018.09.005.
14. *Zhao L, Hu C, Han F, Chen D, Cheng J, Wu J, et al.* Induction therapy with mesenchymal stromal cells in kidney transplantation: a meta-analysis. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):158. doi: 10.1186/s13287-021-02219-7.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research article

S. Bazalytska¹, G. Nikulina¹, V. Kordium², I. Dubey², S. Vozianov¹,
A. Romanenko¹, Ia. Pokholenko², S. Nikitaev¹, I. Serbina¹,
L. Mygal¹, **O. Vozianov¹**

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.06

Experimental therapy of chronic kidney ischemia using drug basic fibroblast growth factor

¹SI «Academician O.F. Vozianov Institute of Urology» NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Citation:

Bazalytska S, Nikulina G, Kordium V, Dubey I, Vozianov S, Romanenko A, et al. Experimental therapy of chronic kidney ischemia using drug basic fibroblast growth factor. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):43-54. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.06.

Abstract. The aim of the work was to experimentally study the effect of the created injectable drug basic fibroblast growth factor (bFGF) with the controlled release on morphological changes and indicators of renospecific enzymes in the ischemic kidney (experiment on rabbits).

Methods. Studies on the release dynamics of the created bFGF drug were performed in vitro and the study of the induction of bFGF angiogenesis in the model of the chick chorioallantoic membrane was performed. The experimental model was performed in 25 rabbits: in 10 rabbits we studied the effect of 1-8 months of "pure ischemia" of the kidney without injection of the drug (control); in 12 rabbits 1 month after the creation of the model of ischemia in the renal parenchyma was injected the prolonged-acting drug bFGF, deposited on our polymeric carrier at a dose of 5 µg (experiment). The reference group consisted of 3 intact rabbits. Histological examinations of renal tissue and morphometric examinations with the determination of vascular coefficient (VC) and interstitial coefficient (IC) were performed. Enzymological indicators of enzyme activity in the homogenate of the renal parenchyma were determined by biochemical methods; statistical analysis was performed.

Results. It was preliminarily demonstrated that the developed injectable prolonged-acting drug bFGF deposited on a polymeric carrier based on cross-linked modified heparin, effectively enhances neoangiogenesis in chick chorioallantoic membrane model.

The results of morphological and morphometric studies with the determination of vascular and interstitial coefficients showed, that the injection of the prolonged-acting drug bFGF in all cases was accompanied by an increased blood supply in the kidneys and neoangiogenesis, which reduced the effects of ischemia.

A single injection of the experimental drug bFGF at a dose of 5 µg in the model of chronic segmental renal ischemia for 3-4 months completely prevented the development of initial sclerotic and atrophic changes, that developed in the kidney during this period under the influence of chronic ischemia without bFGF. A single injection of prolonged-acting experimental drug bFGF at a dose of 5 µg in the model of chronic segmental renal ischemia for 5-8 months prevented expressed sclerotic and atrophic changes, that developed under the influence of chronic ischemia during this period without the use of bFGF.

As a result of biochemical studies, the activation and normalization of indicators of renospecific tubular enzymes in the ischemic kidney under the action of the created experimental drug bFGF were determined.

Conclusions. Therapy of ischemic changes in the kidney with the developed injectable long-acting drug bFGF at a dose of 5 µg in the experimental model of chronic ischemia protects the organ from hypoxic damage, has a positive effect on the structural and functional state and metabolism of the kidney, and prevents the development of nephrosclerosis.

Keywords: chronic kidney ischemia, basic fibroblast growth factor, vascular coefficient, interstitial coefficient, enzymes.

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© S. Bazalytska, G. Nikulina, V. Kordium, I. Dubey, S. Vozianov, A. Romanenko, Ia. Pokholenko, S. Nikitaev, I. Serbina, L. Mygal, O. Vozianov, 2022.

Correspondence should be addressed to Svitlana Bazalytska: bsvua@i.ua



© Базалицька С. В., Нікуліна Г. Г., Кордюм В. А., Дубей І. Я., Возіанов С. О., Романенко А. М., Похолєнко Я. О., Нікітаєв С. В., Сєрбіна І. Є., Мигаль Л. Я., Возіанов О. Ф., 2022

УДК 616.61-005.4-085-092.9

С.В. Базалицька¹, Г.Г. Нікуліна¹, В.А. Кордюм², І.Я. Дубей², С.О. Возіанов¹, А.М. Романенко¹, Я.О. Похолєнко², С.В. Нікітаєв¹, І.Є. Сєрбіна¹, Л.Я. Мигаль¹, **О.Ф. Возіанов¹**

Експериментальна терапія хронічної ішемії нирки з використанням препарату основного фактору росту фібробластів

¹ДУ «Інститут урології імені академіка О.Ф.Возіанова» НАМН України, м. Київ, Україна

²Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, м. Київ, Україна

Резюме. Метою роботи було вивчити в експерименті дію створеного ін'єкційного препарату основного фактору росту фібробластів (bFGF) із контрольованим вивільненням на морфологічні зміни та показники реноспецифічних ферментів в ішемізованій нирці (експеримент на кролях).

Матеріал та методи. Проводились дослідження динаміки вивільнення створеного ін'єкційного препарату bFGF *in vitro* та дослідження індукції ангиогенезу bFGF на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати. Експериментальна модель виконана на 25 кролях: у 10 кролів вивчали вплив на нирку 1-8 місяців «чистої ішемії» без введення препарату (контроль); у 12 кролів через 1 місяць після моделювання ішемії в паренхімі нирки ін'єкційним шляхом вводився препарат bFGF з пролонгованою дією, депонований на створеному нами полімерному носії в дозі 5 мкг (дослід). Референтна група складалась із 3-х інтактних кролів. Проводились гістологічні дослідження ниркової тканини та морфометричні дослідження з визначенням судинного коефіцієнту (СК) та інтерстиційного коефіцієнту (ІК). Біохімічними методами визначались ензимологічні показники активності ферментів у гомогенаті паренхіми нирок; проводився статистичний аналіз.

Результати. Попередньо на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати було продемонстровано, що розроблений препарат bFGF з пролонгованою дією, депонований на полімерному носії на основі зшитого модифікованого гепарину, ефективно посилює неоангіогенез.

Результати морфологічних та морфометричних досліджень із визначенням судинного та інтерстиціального коефіцієнтів показали, що ін'єкційне введення препарату bFGF з пролонгованою дією в усіх випадках супроводжувалося посиленням кровопостачання в нирках і явищами неоангіогенезу, що зменшували наслідки ішемії.

Одноразове введення препарату bFGF в дозі 5 мкг при моделюванні хронічної сегментарної ішемії нирки протягом 3-4 місяців повністю запобігло розвитку початкових склеротичних і атрофічних змін, які розвивались в нирці у ці строки під впливом хронічної ішемії без застосування препарату bFGF. Ін'єкційне одноразове введення експериментального препарату bFGF з пролонгованою дією в дозі 5 мкг при моделюванні хронічної ішемії нирки протягом 5-8 місяців запобігло виразним склеротичним та атрофічним змінам, які розвивались під впливом хронічної ішемії у ці строки без застосування препарату bFGF.

В результаті біохімічних досліджень визначено активізацію і нормалізацію показників реноспецифічних каналцевих ензимів в ішемізованій нирці під дією створеного експериментального препарату bFGF.

Висновки. Продемонстровано ефективність терапії ішемічних змін нирок з використанням розробленого ін'єкційного препарату пролонгованої дії bFGF у дозі 5 мкг в умовах експериментальної моделі хронічної ішемії, що захищає від гіпоксичного ураження орган, позитивно впливає на структурно-функціональний стан та метаболізм нирки та запобігає розвитку нефросклерозу.

Ключові слова: Хронічна ішемія нирки, основний фактор росту фібробластів, судинний коефіцієнт, інтерстиціальний коефіцієнт, ензими.

Вступ. Хронічна ішемія нирки є складовою патогенезу більшості захворювань нирок як вродженої (вади верхніх сечових шляхів), так і набутої (сечокам'яна хвороба, хронічна ренальна гіпер-

тензія, пієлонефрит, гломерулонефрит) етіології. Саме тому, корекція ішемічних розладів займає важливе місце у визначенні тактики лікування цих захворювань. Існуючі методи хірургічного лікування ішемічних станів, переважно, спрямовані на покращення кровообігу в нирковій артерії, але відновлення магістрального кровообігу далеко не завжди призводить до відновлення функціонального стану органу.

Одним із перспективних напрямків медикоментозної корекції ішемічних розладів, які розробляються, є метод індукції ангиогенезу шляхом

Базалицька Світлана Василівна

bsvua@i.ua

використання проангіогенних цитокінів [1]. Так, експериментальне використання основного фактору росту фібробластів (bFGF) при гострому інфаркті міокарда продемонструвало збільшення кількості мікросудин і покращення гемодинаміки в стінці серця, що запобігало склерозу міокарда [2, 3, 4]. Ці результати стали підґрунтям для вивчення впливу bFGF на ішемізовану нирку. В експериментальних роботах останніх років було продемонстровано, що при моделюванні гострої ішемії нирки введення bFGF в паренхіму нирки прискорює процеси регенерації ниркової тканини і зменшує її ушкодження [5, 6]. Проте, питання фармакологічної корекції хронічних ішемічних станів нирки досі залишаються недослідженими та відкритими для подальшого вивчення.

Однією з основних проблем, що виникають при застосуванні проангіогенних цитокінів для індукції неоангіогенезу в ушкодженій тканині, є нерівномірний розподіл терапевтичних доз білків по тканинах та органах при їх системному введенні. Для цих білків характерним є швидкий кліренс у поєднанні з вузькими концентраційними межами дії: висока концентрація є токсичною, а низька – не ефективною. Вирішення цієї проблеми може полягати у застосуванні носіїв, які відповідатимуть за локальну доставку терапевтичних макромолекул проангіогенних цитокінів безпосередньо в орган-мішень, що забезпечить високий терапевтичний ефект при одночасному зниженні кількості та інтенсивності побічних ефектів. Спрямована локальна доставка терапевтичних засобів може досягатися за рахунок їх ковалентного чи нековалентного приєднання до певних біосумісних полімерних носіїв [7, 8].

Мета роботи: вивчити в експерименті дію створеного ін'єкційного препарату основного фактору росту фібробластів bFGF із контрольованим вивільненням на морфологічні зміни та показники реноспецифічних ферментів в ішемізованій нирці (експеримент на кролях).

Матеріал та методи. У роботі використовували рекомбінантний bFGF людини виробництва Інтерфармбіотек (Україна), гепарин виробництва Applichem (Німеччина), 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл) карбодіімідгідрохлорид та дигідрозид адипінової кислоти виробництва Merck (США). Полімерний гідрогель отримували шляхом зшивання гепарину за допомогою дигідрозиду адипінової кислоти, як було описано нами раніше [9].

Дослідження динаміки вивільнення ін'єкційного препарату bFGF. У фосфатно-сольовому буфері розчиняли bFGF до кінцевої концентрації 0,2 мг/мл. Протягом 30 хв 15-30 мг полімеру інкубували у фізіологічному розчині та обробляли ультразвуком. Згодом полімер занурювали у 2 мл розчину bFGF та інкубували при повільному обертанні протягом 1 години при + 22° С. Полімер двічі промивали у фізіологічному розчині та занурювали у 2 мл фізіологічного розчину, в якості середовища

для вивільнення. Зразки інкубували при +37°С. Через певні інтервали часу розчин змінювали на свіжий. Вміст bFGF у розчині та його залишок, приєднаний до полімеру, аналізували за допомогою електрофорезу у поліакриламідному гелі в присутності додецилсульфату натрію [10]. Кількість bFGF у досліджуваних зразках визначали за допомогою денситометрії електрофореграм. Для цього після проведення розділення електрофорезом гелі фарбували Page Blue Protein Staining Solution (Thermo Scientific, США) відповідно до інструкцій виробника та документували за допомогою Chemi Doc™ XRS + (Bio-Rad) з подальшим аналізом у «Image Lab Software™» (Bio-Rad).

Дослідження індукції ангіогенезу bFGF на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати. Здатність створеного засобу bFGF індукувати ангіогенез *in vivo* досліджували на моделі хоріон-алантоїсної мембрани (chorion-allantoic membrane – CAM) курчат згідно методики Wilting J. et al. [11].

У контрольній групі точково крапельно на судину наносили гідрогелевий носій, який не містив bFGF; у дослідних групах – аналогічно наносили препарат, яких складався із гідрогелевого носія та bFGF у дозі 1 мкг та 10 мкг, відповідно. Візуалізацію судинної сітки проводили на 4 добу після крапельного нанесення препарату у контрольній та дослідній групах.

Експериментальна модель. Протокол досліджень на лабораторних тваринах було затверджено комітетом з біомедичної етики ДУ «Інститут урології НАМН України» (протокол №8 від 08.11.2013). Експериментальні дослідження на кролях було виконано відповідно до закону України №3447 «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Європейської конвенції щодо «Захисту та гуманного поводження з хребетними тваринами, яких використовують для експериментів у наукових цілях» (Страсбург, 20.09.1985 р.).

В основу роботи покладено модель хронічної сегментарної ішемії, яка полягає в накладанні під час операційного втручання странгуляційної лігатури на межі верхнього та середнього сегменту лівої дослідної нирки кролів. Модель дає можливість уникнути повної втрати життєздатності нирки в умовах хронічного експерименту протягом 7-8 місяців.

Дослідження проводились на 25 кролях породи шиншила віком 2 роки вагою 2.5-3 кг. Експериментальну сегментарну ішемію лівої нирки моделювали під час хірургічної операції шляхом накладання лігатури «Вікріл-1» на межі верхньої третини лівої нирки до утворення странгуляційної борозни, як описано у [12]. Права нирка залишалася інтактною. У післяопераційному періоді проводили антибактеріальну терапію: «Біцилін-3» (Arterium, Україна) внутрішньом'язово 50000 од. на 1 кг ваги. На 6-7 день видаляли лігатури, накладені на шкірні краї операційної рани кроля.

У 10 кролів вивчали вплив на нирку 1-8 місяців «чистої ішемії» без введення bFGF (контроль).

У 12 кролів, через 1 місяць після моделювання ішемії нирки в її паренхіму під УЗД-контролем ін'єкційним шляхом через шкіру вводився рекомбінантний bFGF людини в дозі 5 мкг, депонований на створеному нами полімерному носії, суспендованому у 0.2 мл фізіологічного розчину (дослід).

Референтна група складалась з 3-х здорових інтактних кролів.

Тварин виводили з експерименту через 1-8 місяців після моделювання ішемії у відповідні строки та видаляли нирки для подальших досліджень.

Морфологічні та морфометричні дослідження. Гістологічно досліджували обидві нирки кожної тварини експериментальної моделі із контрольної, дослідної та референтної груп. Для гістологічного дослідження матеріал фіксували у 10% забуференому формаліні і заливали у парафін. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином та за Ван-Гізеном і вивчали у світловому мікроскопі «Olympus BX-100».

Морфометричні дослідження проводили з використанням системи аналізу зображень та комп'ютерної програми «Quickphoto MICRO 2,2-R0008.jpg». Використовуючи об'єктив із збільшенням $\times 20$, підраховували середню кількість перитубулярних гемокапілярів в інтерстиції коркової речовини нирки в квадраті на площі 100 мкм^2 і визначали судинний коефіцієнт (СК). У кожному випадку обраховували 120 таких квадратів і виводили середнє значення показника СК. Крім того, підраховували питому площу строми коркової речовини органу щодо паренхіми і виводили інтерстиціальний коефіцієнт (ІК) за формулою $ІК = A/B$, де А – площа, займана інтерстиціальною сполучною тканиною у полі зору мікроскопа при збільшенні $\times 200$ (1414410 мкм^2); В – площа паренхіми нирки у цій же ділянці коркової речовини при загальному збільшенні $\times 200$ (1414410 мкм^2). У кожному випадку проводили вимірювання на 5 таких ділянках коркової речовини нирки і виводили середнє значення показника ІК для кожної досліджуваної групи. Достовірними вважали показники і відмінності при $p < 0,5$.

Біохімічні дослідження. Ензимологічне дослідження проводили в гомогенаті тканини коркового шару верхнього полюсу нирки. Було сформовано три групи: група 1 – матеріал коркового шару нирки 3х інтактних кролів (6 нирок); група 2 – матеріал коркового шару верхнього полюсу лівої ішемізованої нирки кролів з експериментально змодельованою ішемією; група 3 – матеріал коркового шару верхнього полюсу лівої ішемізованої нирки кролів з аналогічним терміном хронічної ішемії нирки, в яку транскутанно вводили 5 мкг bFGF, адсорбованого на полімерному носії.

В гомогенаті тканини коркового шару нирок визначали активність ензимів, локалізованих в клітинах епітелію проксимальних каналців нефрону: лізосомних ферментів нефротелію β -галактозидази (β -ГАЛ, КФ 3.2.1.23) та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ, КФ 3.2.1.30); лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1.); гамма-глутамілтранспептидази (ГТП, КФ 2.3.2.2); нейтральної (НГ) та кислої (КГ) альфа-глюкозидаз (КФ 3.2.1.20). Активність НАГ та β -ГАЛ визначали за розробленим методом [13] і вимірювали в мкмоль пара-нітрофенолу, утвореному за годину інкубації при 37°C у перерахунку на 1 г сирової тканини мкмоль/(год \times г). Активність ЛФ та ГТП досліджували за допомогою наборів реактивів («Реагент» або «Філіцит-Діагностика») для визначення цих ензимів у крові відповідно до інструкції, попередньо розбавивши гомогенат у 20 разів для ЛФ, і 50 – для ГТТ. Активність НГ та КГ вивчали у розведеному в 50 разів гомогенаті за швидкістю приросту кількості глюкози в пробі при розщепленні мальтози (використовували відповідно нейтральний 0,2 М фосфатний буфер з рН 6,5 та кислий 0,2 М ацетатний буфер з рН 4,5), при цьому вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом за допомогою наборів реактивів. Активність ферментів ЛФ, ГТП, НГ та КГ вимірювали колориметрично і визначали в нмоль/(с \times г).

Статистичний аналіз. Розрахунки виконувались за допомогою програми MaxStatLite (Німеччина). Достовірність різниці (p) між показниками визначалась за допомогою критеріїв Манна-Уїтні (U) та Стьюдента (t).

Результати. *Дослідження динаміки вивільнення ін'єкційного препарату bFGF.* Проведені дослідження динаміки вивільнення створеного ін'єкційного препарату bFGF свідчать про те, що bFGF протягом 4 діб поступово десорбується з полімерного гідрогелю. При цьому, як і у випадку препарату bFGF, раніше створеного у формі колагенового скафолду для місцевого застосування [9], має місце двофазний характер вивільнення bFGF із полімерного носія. Протягом первинної фази у перші 6 годин інкубації (фаза швидкого вивільнення) десорбувалось майже $60 \pm 3,5\%$ bFGF, на 90 годину (фаза поступового вивільнення) цей показник становив $83 \pm 6,43\%$.

Дослідження індукції ангиогенезу bFGF на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати. Загальний вплив створеного bFGF на ангиогенез попередньо вивчали на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати.

На 4 добу після точкового крапельного нанесення гідрогелевого носія без bFGF у контрольній групі не відбувалося утворення відгалужень від кровоносної судини, на яку наносили препарат (Рис.1а).

У двох дослідних групах, в яких наносився препарат, що складався з гідрогелевого носія із адсорбованим bFGF у дозі 1 мкг та 10 мкг, на 4 добу

після нанесення спостерігалось, відповідно, слабке (Рис.1б) та виразне (Рис.1в). утворення гемокапі-

лярів, які відгалужувалися від основної кровососної судини, на яку наносили препарат.

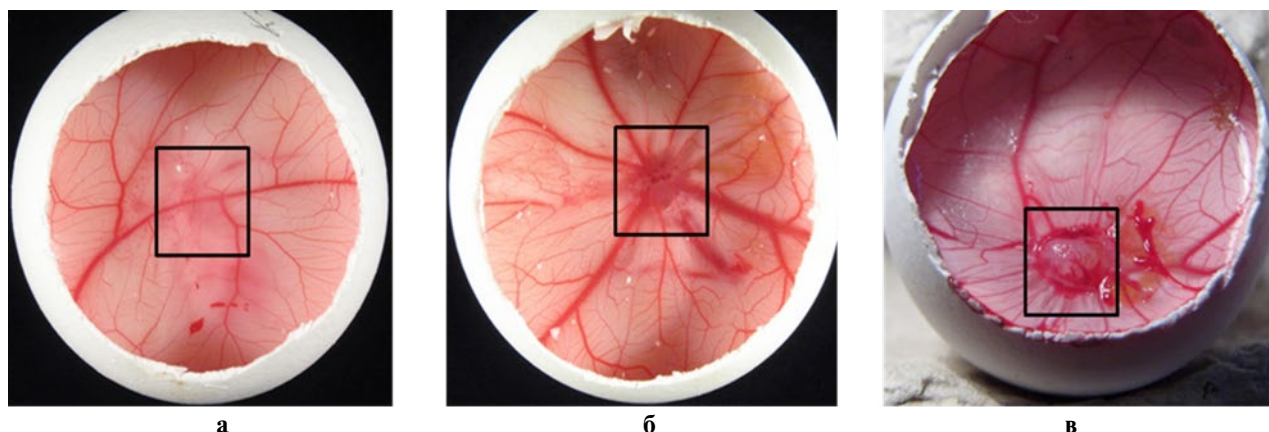


Рис 1. Індукція ангиогенезу bFGF на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати на 4 добу після крапельного нанесення препарату (місця нанесення позначені квадратами):

- а – контрольна група: відсутність судинних відгалужень при нанесенні гідрогелевого носія без bFGF;
- б – слабке утворення гемокапілярів при нанесенні препарату (гідрогелевий носій +1 мкг bFGF);
- в – виразне утворення гемокапілярів при нанесенні препарату (гідрогелевий носій+10 мкг bFGF)

Тобто, застосування препарату bFGF в діапазоні від 1 мкг та 10 мкг на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати призводило до індукції ангиогенезу від слабких проявів до виразних.

Результати морфологічних та морфометричних досліджень. Морфологічне дослідження нирок контрольної групи через 1-2 місяці після моделювання сегментарної ішемії продемонструвало наявність в ішемізованій нирці порушень кровообігу у вигляді дилатації судин – нерівномірного роз-

ширення їх просвітів, повнокров'я й численних дрібних еритростазів, іноді – тромбозів та крововиливів. Крім того, визначались дрібні осередки периваскулярної лімфоїдноклітинної інфільтрації стромі та слабок виражені дистрофічні зміни епітеліальних клітин проксимальних каналців. При цьому, явища склерозування інтерстицію та атрофії елементів паренхіми нирки були відсутні (Рис. 2). Показники інтерстиціального коефіцієнту ІК становили $0,1 \pm 0,02$ (Таблиця 1).

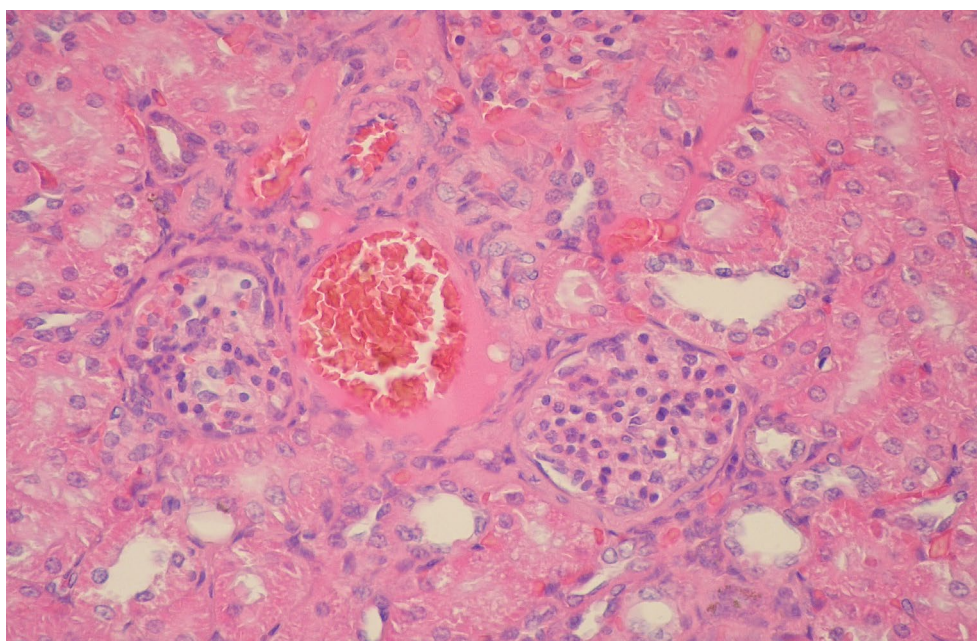


Рис. 2. Ішемія нирки протягом 2 місяців. Дилатація перитубулярних капілярів, еритростази, тромбози судин, дистрофічні зміни клітин проксимальних каналців. Зафарбування гематоксилін-еозином. $\times 200$.

Таблиця 1

Показники судинного та інтерстиціального коефіцієнтів нирок досліджуваних тварин

Морфометричні показники	Ішемія нирки (тривалість)						Інтактні кролі
	1-2 міс.	1-2 міс. + bFGF	3-4 міс.	3-4 міс. + bFGF	5-8 міс.	5-8 міс. + bFGF	
СК	1,2±0,1	1,3±0,2	1,1±0,3*	2,1±0,3*	0,8±0,1**	2,9±0,16** ***	1,3±0,2***
ІК	0,1±0,02	0,05±0,02	0,25±0,15*	0,07±0,02*	0,39±0,12**	0,08±0,03**	0,05±0,01

*, **, *** – достовірно між групами

Скорочення: ІК – інтерстиціальний коефіцієнт, СК – судинний коефіцієнт.

При ішемії тривалістю 3-4 місяці в нирці контрольної групи виявлялись дрібні та помірного розміру осередки склерозу інтерстицію та численні вогнища помірно вираженої лімфоїдноклітинної інфільтрації строми, на фоні чого спостерігались невеликі ділянки з ознаками атрофії канальцевого епітелію. Визначались помірно виражені дистрофічні зміни епітелію, переважно, проксимальних і в меншій мірі – дистальних канальців (Рис. 3). Показники ІК становили $0,25 \pm 0,15$ (див. таблицю 1).

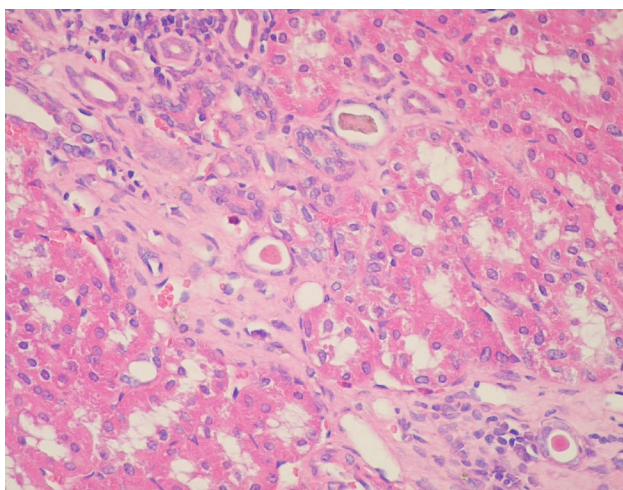


Рис. 3. Ішемія нирки протягом 4 місяців. Розширення інтерстицію, дрібні осередки склерозу, вогнищева лімфоїдноклітинна інфільтрація, слабка атрофія канальців, дистрофічні зміни клітин канальцевого епітелію. Зафарбування гематоксилін-еозином. $\times 200$.

При ішемії тривалістю 5-8 місяців у контрольній групі в нирці спостерігались явища нефросклерозу: багаточисельні помірні та поширені ділянки склерозування інтерстицію з ознаками помірної дифузної лімфогістіоцитарної інфільтрації, на фоні яких мали місце виразні явища атрофії канальцевого епітелію, виразні дистрофічні зміни епітелію проксимальних і дистальних канальців та склеротичні зміни клубочків. У перитубулярних гемокапілярах визначались ознаки склерозування стінки судин (Рис. 4). Показники ІК становили $0,39 \pm 0,12$ (див. таблицю 1).

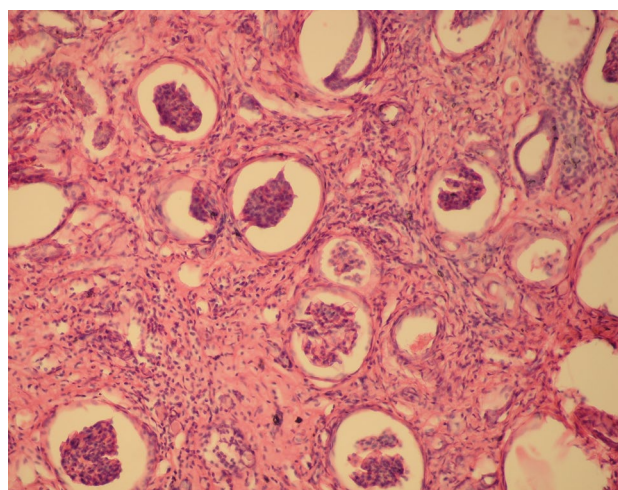


Рис. 4. Ішемія нирки протягом 7-8 місяців.

Склерозування інтерстицію, дифузна лімфогістіоцитарна інфільтрація строми, атрофія канальців, склерозування стінки перитубулярних судин та клубочків. Зафарбування гематоксилін-еозином. $\times 100$.

При застосуванні експериментального препарату bFGF в дозі 5 мкг після 1-2 місяців ішемії нирки спостерігалось виразне повнокров'я перитубулярних та гломерулярних капілярів (Рис. 5). Показник судинного коефіцієнту становив $1,2 \pm 0,1$.

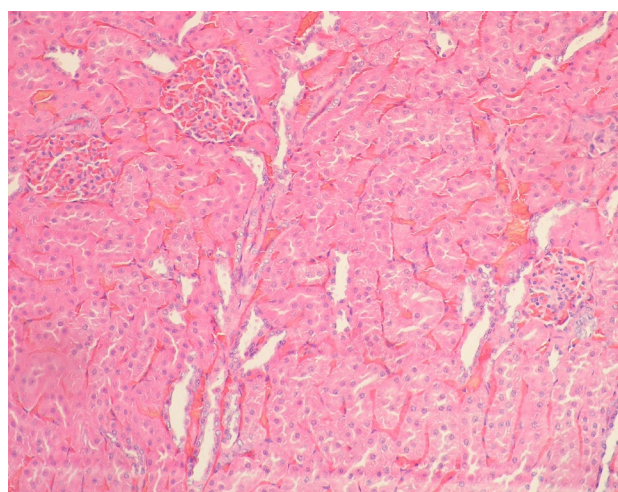


Рис. 5. Ішемія нирки протягом 2 місяців + 5 мкг bFGF.

Виразне повнокров'я гломерулярних та перитубулярних гемокапілярів. Зафарбування гематоксилін-еозином. $\times 100$.

При ін'єкційному введенні експериментального препарату bFGF в дозі 5 мкг після 3-4 місяців ішемії нирки спостерігались досить виразне повнокров'я більшості перитубулярних та гломерулярних капілярів та явища неоангіогенезу, про що свідчить підвищений показник СК, який становив $2,1 \pm 0,3$ (див. таблицю 1). Спостерігалась незначна дрібновогнищева периваскулярна лімфоїдно-клітинна інфільтрація стромы. Ознаки фіброзу та склеротичні зміни інтерстицію нирки були повністю відсутні і в цілому паренхіма нирки виглядала збереженою (Рис. 6). Показник інтерстиціального коефіцієнту (ІК) становив $0,07 \pm 0,02$.

При ін'єкційному введенні експериментального препарату bFGF з пролонгованою дією в дозі 5 мкг через 5-8 місяців після моделювання хро-

нічної сегментарної ішемії в нирці спостерігались осередки незначного розширення інтерстицію та рідко – дрібні осередки фіброзу, а також помірно- і дрібновогнищева лімфогістіоцитарна інфільтрація стромы, на фоні яких, хоча й виявлялись невеликі осередки атрофії каналцевого епітелію, більшість ниркових каналців були повністю збережені, або з незначними дистрофічними змінами епітеліальних клітин. Спостерігалось також посилення кровопостачання органу: досить виразне повнокров'я більшості перитубулярних та гломерулярних капілярів та явища неоангіогенезу, показники СК досягли $2,9 \pm 0,16$. В цілому паренхіма нирки виглядала досить збереженою без виразних склеротичних та атрофічних змін (Рис. 7), показники ІК становили $0,08 \pm 0,03$ (див. таблицю 1).

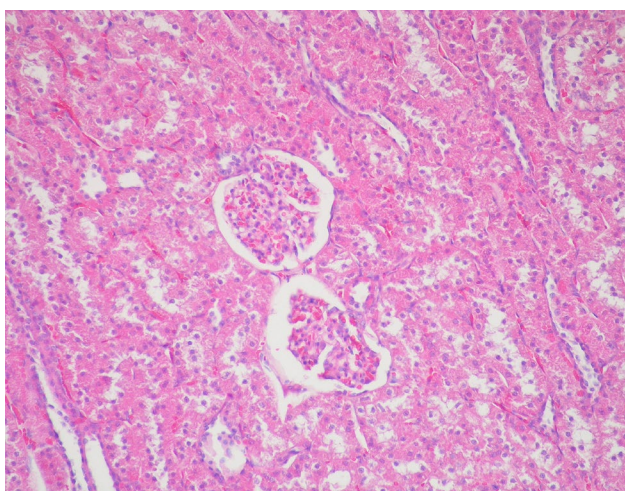


Рис. 6. Ішемія нирки протягом 4 місяців + 5 мкг bFGF.
Повнокров'я гломерулярних та чисельних перитубулярних гемокапілярів, дистрофічні зміни клітин каналцевого епітелію. Зафарбування гематоксилін-еозином. $\times 100$.

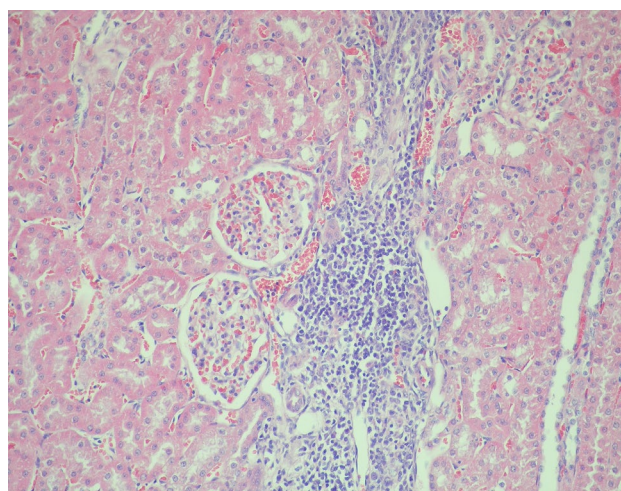


Рис. 7. Ішемія нирки протягом 8 місяців + 5 мкг bFGF.
Повнокров'я гломерулярних та перитубулярних гемокапілярів, помірно вогнищева лімфогістіоцитарна інфільтрація, незначне розширення інтерстицію, слабка атрофія каналців. Зафарбування гематоксилін-еозином. $\times 100$

Результати біохімічних досліджень. Ензимологічні показники активності ферментів у гомогенаті

паренхіми нирок кролів в залежності від умов експерименту представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

Ензимологічні показники в гомогенаті паренхіми нирок кролів (M ± m)

Групи	Активність ферментів в гомогенаті паренхіми нирок кролів					
	β-ГАЛ	НАГ	ЛФ	ГГТП	НГ	КГ
	мкмоль/(год × г)		нмоль/(с × г)			
Група 1 (інтактні кролі)	18,4±1,1	118,5±3,2	442,9±24,3	750,7±47,6	266,3±16,9	148,0±10,7
Група 2 (ішемія 5-8 міс.)	13,3±0,8	64,9 ± 2,2	259,2±47,7	533,1±104,2	101,1±21,6	52,6±10,5
Група 3 (ішемія 5-8 міс. + 5 мкг bFGF)	19,41±0,7	83,8 ± 3,4	326,2±34,3	610,1±67,1	137,1±19,1	97,9±12,4

Скорочення: β-ГАЛ – β-галактозидаза, НАГ – N-ацетил-β-D-глюкозамінідаза, ЛФ – лужна фосфатаза, ГГТП – γ-глутамілтранспептидаза, НГ – нейтральна α-глюкозидаза, КГ – кисла α-глюкозидаза

Встановлено, що активність β -ГАЛ в паренхімі нирки кролів при хронічній ішемії протягом 5-8 місяців достовірно знизилась на 27,7% від цього показника у здорових інтактних тварин з $18,4 \pm 1,1$ до $13,3 \pm 0,8$ ($p < 0,001$). Застосування препарату bFGF призвело до відновлення активності даного ферменту до $19,41 \pm 0,7$ ($p < 0,001$).

Активність НАГ в умовах хронічної ішемії достовірно зменшилась на 45,2% з $118,5 \pm 3,2$ до $64,9 \pm 2,2$ ($p < 0,001$), а під дією препарату bFGF цей показник достовірно підвищився на 22,5% до $83,8 \pm 3,4$ ($p < 0,01$).

Визначено, що активність ЛФ, ГТП, НГ та КГ при хронічній ішемії нирки впродовж 5-8 місяців достовірно знизилась порівняно із показниками у здорових інтактних кролів, відповідно: ЛФ на 41,5% – з $442,9 \pm 24,3$ до $259,2 \pm 47,7$; ГТП на 29% – з $750,7 \pm 47,6$ до $533,1 \pm 104,2$; НГ на 62,3% – з $266,3 \pm 16,9$ до $101,1 \pm 21,6$; КГ на 86,1% – з $148,0 \pm 10,7$ до $52,6 \pm 10,5$ ($p < 0,01-0,001$).

У групі 3 після введення 5 мкг експериментального препарату bFGF в дослідних нирках спостерігалось статистично вірогідне зростання рівня активності КГ на 64,5% з $52,6 \pm 10,5$ до $97,9 \pm 12,4$ в порівнянні з чистою ішемією ($p < 0,01$). Також виявлена виразна тенденція в напрямку відновлення активності ГТП, ЛФ та НГ – зареєстровано зростання активності цих ферментів відносно показників групи 2 відповідно: ГТП до $610,1 \pm 67,1$ на 14,4%; ЛФ до $326,2 \pm 34,3$ на 25,9% та НГ до $137,1 \pm 19,1$ на 35,6% (див. таблицю 2).

Обговорення. Для ефективної фармакологічної корекції наслідків хронічної ішемії та індукції неангіогенезу в паренхімі ішемізованого органу необхідно забезпечити надходження препарату bFGF протягом тривалого часу безпосередньо у зону ішемії. Згідно даних літератури, при експериментальному інфаркті міокарда парентеральне введення bFGF не здатне забезпечити відновлення кровотоку в паренхімі серця [14], у той час, як введення фактору росту FGF-1, інкорпорованого у фібриновий гель, безпосередньо в ішемізовану тканину, призводить до індукції неангіогенезу [15].

Для доставки bFGF в ішемізовану ділянку ми використали полімерний носій, створений на основі зшитого модифікованого гепарину, який завдяки поліаніонному характеру молекули, здатен нековалентно зв'язувати bFGF. У попередній роботі нами було розроблено зручний протокол для одержання такого полімерного носія, який базується на реакції гепарину з відомим біфункціональним реагентом – дигідрозидом адипінової кислоти, у присутності водорозчинного карбодіміду у водному середовищі при слабо кислому рН [9].

Раніше також були проведені дослідження адсорбції та динаміки вивільнення препарату bFGF, створеного у формі колагенового скафолду для місцевого застосування, який складався із bFGF, гідрогелю на основі зшитого модифікованого гепари-

ну, в якості носія, та колагенового матриксу. Було встановлено, що за цих умов гідрогель на основі зшитого модифікованого гепарину здатен адсорбувати рекомбінантний bFGF людини, середня ємність носія при цьому становила $10,4 \pm 2,047$ мкг/мг гідрогелю [9].

Але, інкорпорація носія у пористу матрицю з колагену може змінювати властивості кінцевого препарату bFGF. Це підтвердили проведені в даній роботі дослідження динаміки вивільнення створеного ін'єкційного препарату bFGF, які продемонстрували, що вивільнення bFGF із полімеру має такий самий двофазний характер, як і у формі колагенового скафолду, але, із чистого полімеру десорбція проходить швидше: з чистого полімеру за перші шість годин інкубації (фаза швидкого вивільнення) вивільняється $60 \pm 3,5\%$ bFGF, у той час, як із носія, інкорпорованого у колагенову матрицю – менше 40% [9].

Отримані дані про динаміку вивільнення ін'єкційного препарату bFGF є важливими, як для аналізу результатів експериментального дослідження, так і для подальшого вивчення фармакодинаміки отриманого експериментального препарату. Відповідно до зміни характеристик носія bFGF, необхідно було підтвердити, що створений ін'єкційний комплекс має проангіогенну активність.

Попередньо проведені в даній роботі дослідження створеного препарату bFGF на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати, згідно методики Wilting J. et al. [11], продемонстрували, що bFGF, який було адсорбовано на полімерному носії, здатен індукувати ангіогенез.

Крім того, використання препарату bFGF в діапазоні від 1 мкг до 10 мкг на хоріон-алантоїсній моделі було нами застосовано як необхідний інструмент стандартизації, який дозволив визначити умовні дози препарату bFGF, що призводять до реакції у вигляді індукції ангіогенезу – від початкових проявів до надмірних, оскільки, як показали попередні дослідження, надмірно висока концентрація препарату bFGF може бути токсичною [16], а занадто низька – не ефективною.

В подальшому створену композицію ін'єкційного препарату bFGF ми застосовували на експериментальній моделі хронічної ішемії нирки кроля в досліді *in vivo* для терапії наслідків хронічної ішемії, обравши середній показник, що лежить в межах діапазону між 1 мкг та 10 мкг – дозу 5 мкг bFGF.

Морфологічні дослідження та аналіз стану нирок спочатку були проведені у групі експериментальних тварин при різних термінах ішемії без застосування терапії, які вивчались для розуміння наслідків хронічної ішемії.

В результаті аналізу визначено такі послідовні етапи розвитку патогістологічних змін нирки в залежності від строку ішемії:

I етап – дистрофічних змін клітин, які відбуваються в нирці під впливом ішемії протягом 1-2 місяців. Характеризується порушенням кровообігу у вигляді дилатації судин, повнокров'я, еритростазів та слабкою лімфоїдноклітинною інфільтрацією строми, на фоні яких виявляються дистрофічні зміни клітин паренхіми нирки;

II етап – початкових склеротичних і атрофічних змін, які відбуваються в нирці під впливом ішемії протягом 3-4 місяців. Характеризується появою осередків фіброзу і склерозу інтерстицію, потовщенням стінок частини судин, на фоні чого виникають початкові явища атрофії епітелію ниркових каналців;

III етап – виразних склеротичних і атрофічних змін, які відбуваються в нирці під впливом 5-8 місяців ішемії. Характеризується явищами нефросклерозу – поширеними склеротичними змінами інтерстицію та судин, на фоні яких розвиваються виразні деструктивні зміни та атрофія клітинних елементів ниркової паренхіми.

Отримані нами результати в цілому відповідають і даним літератури, згідно яких короткотривала ішемія призводить до помірного ушкодження ниркових каналців, яке може регресувати після завершення гострої фази [17], а довготривала ішемія може спричинити значне ушкодження ниркових каналців, що в подальшому призводить до фіброзу ниркової паренхіми. Але, основною експериментальною моделлю, яка використовувалась в інших дослідженнях, була модель гострої ішемії нирки, тому, послідовність і поетапність цих процесів при хронічній ішемії була не відома.

Ми зосередили свою увагу на можливості корекції саме на етапах розвитку склеротичних змін – початкових і виразних (II та III етапи), які розвиваються в нирці під впливом хронічної ішемії впродовж 3-8 місяців та призводять до нефросклерозу.

Було продемонстровано, що введення експериментального препарату bFGF в дозі 5 мкг при моделюванні хронічної сегментарної ішемії нирки протягом 3-4 місяців повністю запобігло розвитку склеротичних змін строми і судин та атрофії клітинних елементів ниркової паренхіми, які розвивались в нирці під впливом хронічної ішемії без застосування препарату bFGF – про це свідчать показники ІК у цих групах, які достовірно відрізнялись між собою: $0,25 \pm 0,15$ – без застосування bFGF, та $0,07 \pm 0,02$ – при застосуванні препарату.

Застосування експериментального препарату bFGF у дозі 5 мкг при моделюванні хронічної сегментарної ішемії нирки протягом 5-8 місяців в результаті посилення неоангіогенезу та кровопостачання органу, значно зменшувало виразні склеротичні зміни строми і судин та запобігало виразній атрофії елементів ниркової паренхіми, які розвивались під впливом хронічної довготривалої ішемії без застосування препарату bFGF. Ці процеси яскраво демонструють розроблені морфоме-

тричні показники – судинний коефіцієнт (СК) та інтерстиціальний коефіцієнт (ІК). Так, СК, який відображає кількість судин на одиницю площі, в цій групі збільшився у 3,6 рази – з $0,8 \pm 0,1$ при «чистій» ішемії до $2,9 \pm 0,16$ при застосуванні bFGF. А ІК, що демонструє питому площу, яку займає інтерстицій, зменшився у даній групі майже у 4,9 рази – з $0,39 \pm 0,12$ при «чистій» ішемії до $0,08 \pm 0,03$ при застосуванні bFGF.

Демонстративним є порівняння морфометричних показників СК та ІК між групами здорових інтактних тварин та при хронічній ішемії протягом 5-8 місяців при застосуванні препарату bFGF. Значення ІК між цими групами достовірно не відрізнялися і становили $0,05 \pm 0,01$ та $0,08 \pm 0,03$ відповідно; при цьому, показник СК при застосуванні терапії препаратом bFGF при хронічній ішемії протягом 5-8 місяців, порівняно із СК інтактних тварин був збільшений у 2,2 рази та становив $2,9 \pm 0,16$ проти $1,3 \pm 0,2$, що свідчить про посилений ангіогенез (див. таблицю 1).

Таким чином, встановлено позитивний ефект впливу експериментального препарату bFGF на ішемізовану тканину нирки у вигляді посилення ангіогенезу і, відповідно – зменшення наслідків ішемії. Отримані результати дозволяють припустити наявність у розробленого препарату bFGF «пускового» механізму, коли дія одноразового введення тривалий час зберігається та впливає на віддалені результати ішемії органу через 5-8 місяців. Крім того, сімейство FGF – це ростові гепаринзв'язуючі молекули, які виходять із клітини тільки при наявності так званого чинника «потреби» – при травмі або при ішемії [16].

Необхідно підкреслити, що стимуляція новоутворення судин препаратом bFGF не викликала неопластичних змін клітин в жодному спостереженні.

В результаті проведених досліджень, можна зазначити, що застосування bFGF захищає гістологічну структуру нирок експериментальних тварин від наслідків хронічної ішемії, а саме – запобігає розвитку нефросклерозу та атрофії ниркової паренхіми.

Відомо, що усі ферменти нирок є чутливими до гіпоксії, але реакція каналцевого апарату нефрону є найбільш ранньою і тому найбільш інформативною. Отже, функціонально-метаболічні порушення в нирці, що спровоковані гіпоксією, можна виявити при дослідженні у тканині нирки активності ферментів каналцевого епітелію. Діагностично значущим є дослідження в нирці активності лізосомних гідролаз β -ГАЛ та НАГ, що розташовані переважно в епітелії проксимальних каналців. Ці ферменти є близькими між собою у функціональному відношенні, але різними за ступенем зв'язку з мембраною цієї клітинної органели: β -ГАЛ розчинена в матриксі лізосом, а НАГ частково пов'язана з мембраною цієї органели [18].

Було визначено, що активність β -ГАЛ та НАГ в паренхімі нирки кролів при ішемії 5-8 місяців достовірно знизилась на 27,7% та 45,2 % від цього показника у здорових тварин ($p < 0,001$). Застосування препарату bFGF призвело до відновлення активності цих ферментів ($p < 0,001$).

Продемонстровано, що активність ЛФ, ГТП, НГ та КГ при порушенні гемодинаміки в паренхімі нирки впродовж 5-8 місяців достовірно знизилась відповідно на 41,5%, 29%, 62,3% та 86,1% від показників у здорових кролів ($p < 0,01-0,001$). Тобто, найбільших змін при хронічній гіпоксії зазнає ланка обміну вуглеводів (НГ та КГ). Менше за цих умов страждає ланка обміну білків (ГТП), яка пов'язана з транспортом амінокислот через клітинну мембрану, що може свідчити про довготривале збереження функції реабсорбції амінокислот із сечі, що запобігає надмірній втраті білку при даній патології. При введенні 5 мкг bFGF в дослідних нирках спостерігались статистично вірогідне зростання рівня активності КГ на 64,5% в порівнянні з чистою ішемією ($p < 0,01$), а також виразна тенденція відновлення активності ГТП, ЛФ та НГ – зростання активності цих ферментів відповідно на 14,4%, 25,9% та 35,6% (див. таблицю 2).

Представлені результати біохімічних досліджень вказують на суттєві зміни активності ензимів при хронічній ішемії нирки, які свідчать про гіпоксичне ураження паренхіми нирки та демонструють позитивний вплив експериментального препарату bFGF в дозі 5 мкг на метаболізм і функціональний стан нирки в умовах хронічної ішемії.

Таким чином, отримані результати морфологічних та біохімічних досліджень продемонстрували, що застосування препарату bFGF, адсорбованого на створеному полімерному носії, в нирках із експериментально змодельованою хронічною ішемією, забезпечує активізацію та відновлення внутрішньониркової гемодинаміки, сприяє захисту гістологічної структури та метаболізму нирки від наслідків гіпоксії та має позитивний вплив на функціональний стан органу в цілому. Відповідно отриманим експериментальним даним, ангіогенний стимулятор bFGF з пролонгованою дією є перспективним препаратом для розробки ефективної терапії ішемічних змін у нирках.

Дослідження можливостей застосування ангіогенного стимулятора bFGF при різних захворюваннях нами продовжуються. Зокрема, в останні роки на експериментальній моделі розсіяного склерозу (купризон-індукована модель демієлінізації) було продемонстровано, що введення bFGF у комплексі із стовбуровими мезенхімальними клітинами може покращувати показники поведінкової активності та знижувати рівень маркерів оксидативного стресу у тканині мозку [19, 20].

Висновки:

1. На моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати продемонстровано, що розроблений експериментальний препарат bFGF з пролонгованою дією, депонований на полімерному носії на основі зшитого модифікованого гепарину, ефективно посилює неоангіогенез.
2. Результати морфологічних та морфометричних досліджень із визначенням судинного та інтерстиціального коефіцієнтів показали, що введення експериментального препарату bFGF з пролонгованою дією в усіх випадках супроводжувалося посиленням кровопостачання в нирках і явищами неоангіогенезу, що зменшували наслідки ішемії.
3. Одноразове введення препарату bFGF в дозі 5 мкг при моделюванні хронічної сегментарної ішемії нирки протягом 3-4 місяців повністю запобігло розвитку початкових склеротичних і атрофічних змін, які розвивались в нирці у ці строки під впливом хронічної ішемії без застосування препарату bFGF.
4. Ін'єкційне одноразове введення експериментального препарату bFGF з пролонгованою дією в дозі 5 мкг при моделюванні хронічної ішемії нирки протягом 5-8 місяців запобігало виразним склеротичним та атрофічним змінам, які розвивались під впливом хронічної ішемії у ці строки без застосування препарату bFGF.
5. В результаті біохімічних досліджень визначено активізацію і нормалізацію показників реноспецифічних каналцевих ензимів в ішемізованій нирці під дією створеного експериментального препарату bFGF.
6. Продемонстровано ефективність терапії ішемічних змін нирок з використанням розробленого ін'єкційного препарату bFGF пролонгованої дії у дозі 5 мкг в умовах експериментальної моделі хронічної ішемії, що захищає від гіпоксичного ураження орган, позитивно впливає на структурно-функціональний стан та метаболізм нирки та запобігає розвитку нефросклерозу.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Джерело фінансування. Дослідження виконано за підтримки НАН України (№ 2.2.4.23) та НАМН України (№0108U000435, №0111U002098).

Інформація про внесок кожного учасника:

С.В. Базалицька: морфологічні та морфометричні дослідження, аналіз отриманих даних, написання та оформлення тексту статті;

Г.Г. Нікуліна: біохімічні дослідження, аналіз отриманих даних, написання біохімічного фрагменту;

В.А. Кордюм: концепція та дизайн дослідження, аналіз отриманих даних;

І.Я. Дубей: синтез полімерного носія на основі зшитого модифікованого гепарину;

С.О. Возіанов: розробка експериментальної моделі, аналіз отриманих даних;

А.М. Романенко: морфологічні дослідження, аналіз отриманих даних;

Я.О. Похолєнко: розробка композицій на основі bFGF та полімерного носія на основі зшитого модифікованого гепарину, дослідження дина-

міки вивільнення bFGF та індукції ангиогенезу на моделі хоріон-алантоїсної мембрани курчати;

С.В. Нікітасєв: експериментальна модель;

І.Є. Сєрбіна: біохімічні дослідження, аналіз отриманих даних, оформлення результатів;

Л.Я. Мигаль: біохімічні дослідження;

О.Ф. Возіанов: ідея, концепція та загальний план дослідження.

Література (References):

1. Chade AR, Stewart N. Angiogenic cytokines in revascular disease: do they have potential for therapeutic use? *J. Am. Soc. Hypertens.* 2013;7(2):180–90. doi: 10.1016/j.jash.2013.01.004.
2. Iwakura A, Fujita M, Kataoka K, Tambara K, Sakakibara Y, Komeda M, et al. Intramyocardial sustained delivery of basic fibroblast growth factor improves angiogenesis and ventricular function in a rat infarct model. *Heart Vessels.* 2003;18(2): 93–9. doi: 10.1007/s10380-002-0686-5.
3. Kawasuji M, Naqamine H, Ikeda M, Sakakjbara N, Takemura H, Fujis S, et al. Therapeutic angiogenesis with intramyocardial administration of basic fibroblast growth factor. *Ann. Thorac. Surg.* 2000;69(4):1155–61. doi: 10.1016/S0003-4975(99)01557-X.
4. Kumagai M, Minakata K, Masumoto H, Yamamoto M, Yonezawa A, Ikeda T, et al. A therapeutic angiogenesis of sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogel sheets in a canine chronic myocardial infarction model. *Heart Vessels.* 2018;33(10):1251–7. doi: 10.1007/s00380-018-1185-6.
5. Villanueva S, Cespedes C, Gonzalez AA, Vio CP. bFGF induces an earlier expression of nephrogenic proteins after ischemic acute renal failure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006;291:1677–87. doi: 10.1152/ajpregu.00023.2006.
6. Villanueva S, Cespedes C, Gonzalez AA, Roessler E, Vio CP. Inhibition of bFGF-receptor type 2 increases kidney damage and suppresses nephrogenic protein expression after ischemic acute renal failure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008; 294(3):819–28. doi: 10.1152/ajpregu.00273.2007.
7. Vargason, AM, Anselmo AC, Mitragotri S. The evolution of commercial drug delivery technologies. *Nat. Biomed. Eng.* 2021;5:951–67. doi: 10.1038/s41551-021-00698-w.
8. Jin H, Quesada C, Aliabouzar M, Kripfgans OD, Franceschi RT, Liu J, et al. Release of basic fibroblast growth factor from acoustically-responsive scaffolds promotes therapeutic angiogenesis in the hind limb ischemia model. *J Control Release.* 2021 Oct 10;338:773–83. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.09.013.
9. Pokhonenko IaO, Chetyrkina MD, Dubey, LV, Dubey IYa, Moshynets OV, Sheludko EV, et al. Development and characterization of porous functionalized collagen scaffolds for delivery of FGF-2. *Biopolym. Cell.* 2014; 30:216–22. doi: 10.7124/bc.000899.
10. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual.* 2 ed. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989, 1659 p.
11. Wilting J, Christ B, Bokeloh M. A modified chorioallantoic membrane (CAM) assay for qualitative and quantitative study of growth factors. *Anat. Embryol. (Berl).* 1991;183(3):259–71. doi: 10.1007/BF00192214.
12. Vozianov OF, Pyrohov VO, Zubko VI, Nikitaiev SV, Romanenko AM, Bazalytska SV, et al. vynakhidnyky; DU «In-t urolohii NAMN Ukrainy», patentovlasnyk. Sposib modeliuвання ishemii nyrky. Patent Ukrainy na korysnu model. № 65480. 2011 Hrud. 12. [In Ukrainian].
13. Pyrohov VO, Myhal LYa, Nikulina HH, Nikitaiev SV, Serbina IYe, vynakhidnyky; DU «In-t urolohii NAMN Ukrainy», patentovlasnyk. Sposib vyznachennia aktyvnosti N-atsetyl- β -D-hliukozaminidazy v parenkhimi nyrky. Patent Ukrainy na korysnu model № 83116, 2014 Serp. 27. [In Ukrainian].
14. Lazarous DF, Shou M, Stiber JA, Dadhanian DM, Thirumurti V, et al. Pharmacodynamics of basic fibroblast growth factor: route of administration determines myocardial and systemic distribution. *Cardiovasc. Res.* 1997;36(1):78–85. doi: 10.1016/S0008-6363(97)00142-9.
15. Schumacher B, Stegmann T, Pecher P. The stimulation of neoangiogenesis in the ischemic human heart by the growth factor FGF: first clinical results. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 1998; 39 (6): 783–9. PMID: 9972900.
16. Vozianov OF, Kordium VA, Pyrohov VO, Romanenko AM, Zubko VI, vynakhidnyky; DU «In-t urolohii NAMN Ukrainy», In-t molekuliarnoi biolohii i henetyky NAN Ukrainy, patentovlasnyky. Zastosuvannia osnovnoho faktora rostu fibroblastiv (bFGF) yak zasobu dlia korektsii porushen krovoobihu v nyrkakh. Patent Ukrainy na korysnu model. №26456, 2007 Veres.25. [In Ukrainian].

17. Dong Y, Zhang Q, Wen J, Chen T, He L, Wang Yi, et al. Ischemic duration and frequency determines AKI-to CKD progression monitored by dynamic changes of tubular biomarkers in IRI mice. *Front. Physiol.* 2019;10:153. doi: 10.3389/fphys.2019.00153.
18. Pyrohov VO, Kordium VA, Zubko VI, Myhal LIa, Nikulina HH, Dubei Ila, vynakhidnyky; DU «In-t urolohii NAMN Ukrainy», In-t molekuliarnoi biolohii i henetyky NAN Ukrainy, patentovlasnyky. Sposib korektsii porushen krovoobihu v nyrkakh iz eksperymentalno zmodelovanoiu ishemiiieu. Patent Ukrainy na korysnu model №88695. 2014 Berez. 25. [In Ukrainian].
19. Labunets IF, Utko NA, Toporova OK, Savosko SI, Pokholenko IaO, Panteleymonova TN, Butenko GM. Melatonin and fibroblast growth factor-2 potentiate the effects of human umbilical cord multipotent mesenchymal stromal cells in mice with cuprizone-induced demyelination. *Biopolym. Cell.* 2021; 5(37): 369-78. doi: 10.7124/bc.000A62.
20. Labunets I, Utko N, Toporova O, Pokholenko Ia, Panteleymonova T, Litoshenko Z, Butenko G. The effects of combined administration of human umbilical cord-derived multipotent mesenchymal stromal cells and melatonin or fibroblast growth factor-2 to aged mice with a toxic cuprizone model of demyelination *Cell and Organ Transplantation.* 2021; 9(1):4-10. doi: 10.22494/cot.v9i1.116.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research article

A. Nesen, K. Savicheva, P. Semenovykh, V. Galchiskaya

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.07

Vasopressin marker copeptin and the development of renal and metabolic disorders in patients with type 2 diabetes

Government Institution “L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv, Ukraine

Citation:

Nesen A, Savicheva K, Semenovykh P, Galchiskaya V. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):55-62. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.07.

Abstract. *The aim of the study was to evaluate the possibility of using copeptin as a marker of renal and metabolic dysfunction in patients with type 2 diabetes.*

Methods: In this cross-sectional, observational study included 78 patients with type 2 diabetes mellitus complicated by diabetic nephropathy (DN) were examined. Patients were divided into 4 groups according to the stage of chronic kidney disease. Control group – 15 healthy subjects. Serum levels of copeptin and insulin were determined by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: our studies have shown that the development of DN in type 2 diabetes is accompanied by a significant increase of copeptin concentration in blood plasma compared with controls and with diabetic patients without signs of nephropathy. The highest values of copeptin were found in the later stages of DN - in patients with albuminuria and impaired kidney filtration function. In patients with type 2 diabetes, a significant direct correlation was found between copeptin level and serum creatinine ($r = 0.247$, $p < 0.03$). We found more significant violations of glucose metabolism in DN patients with high serum levels of copeptin compared with patients with normal values of this factor. In particular, an increase in serum copeptin was accompanied by a significant increase in the HOMA index and insulin concentration.

Conclusions. Our data indicate that the copeptin level reflects the functional state of the kidneys and can be considered a diagnostic marker of renal and cardiovascular lesions in type 2 diabetes.

Key words: *diabetic nephropathy, copeptin, arginine-vasopressin system, diabetes mellitus.*

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© A. Nesen, K. Savicheva, P. Semenovykh, V. Galchiskaya, 2022.

Correspondence should be addressed to Polina Semenovykh: polinasemenovykh@ukr.net

Article history:

Received May 15, 2022

Received in revised form

June 19, 2022

Accepted June 19, 2022



© Несен А. О., Семенових П. С., Савічева К. О., Гальчінська В. Ю., 2022

УДК: 616.379-008.64-092:577.175.343

А.О. Несен, П.С. Семенових, К.О. Савічева, В.Ю. Гальчінська

Маркер вазопресину копептин і розвиток ниркових та метаболічних порушень у хворих на цукровий діабет 2 типу

Державна установа „Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої
НАМН України”, м. Харків, Україна

Резюме. *Мета роботи:* оцінити можливість використання копептину в якості маркера ренальних та метаболічних порушень у хворих на цукровий діабет 2 типу.

Методи: до обсерваційного одномоментного дослідження включено 78 хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу, ускладнений діабетичною нефропатією (ДН). Хворі були розподілені на 4 групи відповідно до стадії хронічної хвороби нирок. Група контролю – 15 практично здорових осіб. Визначення рівнів копептину та інсуліну в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу.

Результати: виконані дослідження показали, що розвиток ДН при ЦД 2 типу супроводжується вірогідним зростанням концентрації копептину в сироватці крові у порівнянні з контролем та з хворими на ЦД без ознак нефропатії. Найвищі значення копептину виявлено на пізніх стадіях ДН – у хворих з альбумінурією та порушенням фільтраційної функції нирок. В групі хворих на ЦД 2 типу виявлено достовірний прямий кореляційний зв'язок вмісту копептину з рівнем креатиніну сироватки крові ($r = 0,247, p < 0,03$). Визначено, що у хворих на ДН з високими рівнями копептину в сироватці крові спостерігались більш суттєві порушення показників обміну глюкози у порівнянні з пацієнтами з нормальними значеннями даного фактору. Зокрема, підвищення копептину в сироватці крові супроводжувалось суттєвим зростанням індексу НОМА та концентрації інсуліну.

Висновки. Отримані дані вказують на те, що рівень копептину певною мірою відображає функціональний стан нирок та може розглядатись в якості діагностичного маркера ниркових та серцево-судинних уражень при ЦД 2 типу.

Ключові слова: діабетична нефропатія, копептин, система аргінін-вазопресин, цукровий діабет.

Вступ. Поширеність цукрового діабету (ЦД) 2 типу набула масштабів глобальної неінфекційної пандемії. За останніми даними серед дорослого населення ЦД діагностовано у 537 млн. людей, що є важким тягарем для системи охорони здоров'я в світі [1].

Діабетична нефропатія (ДН) або діабетична хвороба нирок – одне з специфічних мікросудинних ускладнень ЦД, яке характеризується розвитком дифузного або вузликового гломерулосклерозу та розвивається приблизно у 40 % пацієнтів з ЦД 2 типу та є провідною причиною хронічної хвороби нирок (ХХН) [2]. За даними досліджень, значна частина ризику смерті від усіх причин та серцево-судинних подій у хворих на ЦД пов'язана саме з ДН [3].

Виникнення нефропатії у хворих ЦД 2 типу призводить до стрімкого погіршення прогнозу та драматичного зростання частоти кардіоваскулярних ускладнень. ХХН займає друге місце, після серцево-судинної патології, серед причин смерті

в даній когорті. Контроль традиційних факторів ризику, таких як глікемія, АТ, стан обміну ліпідів, відмова від паління у цієї категорії хворих допомагають лише уповільнити, але не попередити розвиток ДН.

Виявлення ранніх діагностичних маркерів ниркових уражень у хворих на ЦД 2 типу представляє значний клінічний інтерес через можливість прогнозувати перебіг та визначати групи підвищеного ризику ще на доклінічному етапі, коли зміни в нирках можуть бути зворотними [4]. В цьому зв'язку на особливу увагу, як з клінічної, так і з наукової точки зору, заслуговує дослідження компонентів системи аргінін-вазопресин (АВП). Вазопресин є одним з основних гіпоталамічних гормонів стресу, який впливає на баланс рідини та внутрішньосудинний тиск. Останні дослідження виявляють зв'язок АВП з перебігом ХХН. Передбачається, що патологічна дія вазопресину пов'язана зі стимуляцією ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС). Підвищення активності РААС супроводжується звуженням еферентних артеріол клубочків і, як наслідок, сприяє розвитку внутрішньоклубочкової гіпертензії та гломерулопатії [5]. Результати, отримані на моделях діабету у гризунів, свідчать, що провідний механізм патологічного впливу АВП на нирки – це гіперфільтрація,

Поліна Станіславівна Семенових
polinasemenovkh@ukr.net

яка призводить до формування альбумінурії та гломерулосклерозу [6, 7]. Крім того, АВП впливає на гомеостаз глюкози, ліпідний та жировий обмін [8]. Вазопресин має протромботичні властивості [9] та індукує вивільнення фактора фон Віллебранда з ендотеліальних клітин [10]. З активацією системи АВП пов'язують підвищення секреції ендотеліна 1 та простагландину D2 ендотеліальними клітинами [11], що сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції у хворих на ЦД.

Незважаючи на важливу роль у патогенезі захворювань та високу біологічну активність в організмі, вимірювання та діагностичне використання вазопресину як біомаркера пов'язане з певними труднощами: пульсуючий характер секреції, нестабільність та швидке зникнення з циркуляції. Безпосередньо визначити вазопресин на сьогодні в клінічних умовах дуже важко. Копептин є карбокситермінальною частиною прогормону вазопресину і секретується в еквімолярних кількостях з вазопресиноном, але відрізняється більшою стабільністю в циркуляції і, отже, доступніший для визначення. Копептин відображає продукцію вазопресину та є сурогатним маркером рівня вазопресину в крові, а також більш чутливим маркером гострого ендогенного стресу порівняно з кортизолом.

Рівень копептину пов'язаний з тяжкістю захворювання та прогнозом. Повідомлялося про прогностичну цінність копептину при цукровому діабеті, метаболічному синдромі, серцевій недостатності, полікістозі нирок та інших патологічних станах [12-15].

При застосуванні в поєднанні з рутинними маркерами копептин забезпечує більш конкретну діагностичну інформацію, особливо у пацієнтів із серцево-судинною патологією. Ця інформація полегшує стратифікацію прогнозу, впливає на оцінку ефективності лікування та дозволяє забезпечити оптимальну індивідуальну допомогу пацієнтам [16, 17].

В цілому отримані за останні роки наукові дані вказують на необхідність подальших досліджень для оцінки клінічних переваг використання копептину у повсякденній клінічній практиці. Перспективність копептину як діагностичного маркера розвитку ренальних та метаболічних порушень в першу чергу обумовлена його участю в патогенетичних ланках ДН [18].

З огляду на вищезазначене, доцільно припустити, що копептин може стати важливим діагностичним та прогностичним інструментом визначення функціонального стану нирок та метаболічних порушень у хворих на ЦД 2 типу.

Мета роботи: оцінити можливість використання копептину в якості маркера ренальних та метаболічних порушень у хворих на ЦД 2 типу.

Пацієнти та методи. Це обсерваційне одномоментне дослідження проводилось у відділі профілактики та лікування хвороб нирок при коморбід-

них станах на базі клінічного відділення гіпертензій та захворювань нирок ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України». Дослідження виконані згідно міжнародних стандартів щодо погодженої участі обстежених, етичної складової виконання досліджень та взяття біоматеріалу.

В процесі виконання дослідження обстежено 78 хворих на ЦД 2 типу.

Діагноз ХХН встановлювався згідно класифікації, прийнятій на VI Національному з'їзді нефрологів України в 2017 р. та рекомендацій KDIGO 2012 р. Для визначення стадії захворювання розраховували показник ШКФ за формулою СКD-EPI.

Хворі були розділені на групи в залежності від ШКФ та стадії ХХН.

- I група – ШКФ більше 90 мл/хв./1,73 м² (ХХН I ст.), n=19,
- II група – ШКФ від 60 до 89 мл/хв./1,73 м² (ХХН II ст.), n=23,
- III група – ШКФ від 30 до 59 мл/хв./1,73 м² (ХХН III ст.), n=21,
- IV група – ШКФ від 15 до 29 мл/хв./1,73 м² (ХХН IV ст.), n=15.

Контрольну групу склали 15 здорових осіб.

Критеріями виключення з дослідження були: вік менше 18 років, вагітність, ЦД 1 типу, уроджені аномалії сечовивідних шляхів і нирок, термінальна ниркова недостатність, серцева недостатність III-IV стадій (NYHA), гострий інфаркт міокарду, інфекційні та важкі запальні процеси, онкологічні захворювання, неконтрольовані хвороби крові, важка патологія печінки.

План обстеження включав: вивчення загально-клінічних та антропометричних показників; лабораторні дослідження (клінічні аналізи крові та сечі); визначення функціонального стану нирок шляхом розрахунку ШКФ; дослідження альбумінурії; визначення параметрів вуглеводного обміну та ліпідного спектру крові; електрокардіографія; ехокардіографія.

Визначення концентрації копептину в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу з використанням набору реактивів «Human CPP ELISA Kit» виробництва «FineTest» (Китай). Вміст глікозильованого гемоглобіну (%) визначали фотометричним іонообмінним методом з використанням реактивів фірми «Human» (Німеччина). Визначення концентрації інсуліну в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу з використанням набору реактивів «Insulin IFA» виробництва «ХЕМА» (Україна).

Розрахунок індексу Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (НОМА) проводили за формулою:

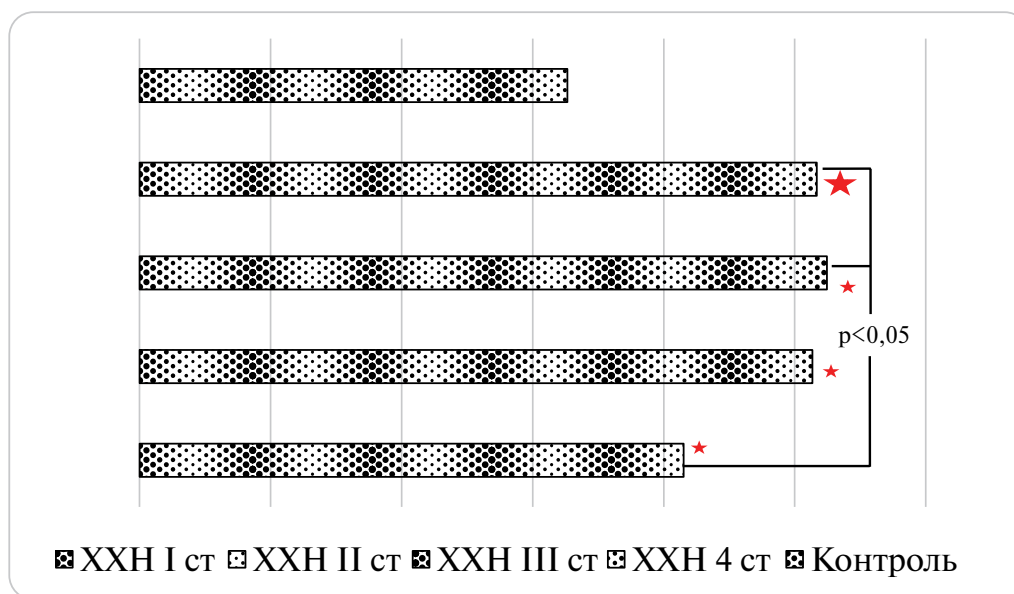
Індекс НОМА = глюкоза (ммоль/л) x інсулін (мкМО/мл) / 22

Статистичну обробку проводили з використанням пакетів програм IBM®SPSS® Statistics 23.0. Перевірку нормальності розподілу показни-

ків здійснювали за допомогою тесту Колмогорова—Смірнова. Різницю між групами в сукупностях з нормальним розподілом визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA та критерію Стюдента. В групах, які не відповідали нормальному розподілу, кількісні показники порівнювали за допомогою непараметричного критерію Манна—Уїтні. Достовірною вважалася ймовірна похибка менше 5 % ($p < 0,05$). Кореляцію кількісних ознак оцінювали шляхом розрахунку коефіцієнта Пірсона. Дані наведені як середні величини та їх похибки ($M \pm m$) при нормальному розподілі даних та як медіана (Me) й інтерквантильний діапазон при розподілі, що від-

різняється від нормального. Різницю між значеннями вважали статистично достовірною за рівня критерію значущості $p < 0,05$.

Результати. Встановлено, що розвиток ДН супроводжується суттєвим підвищенням рівня копептину в сироватці крові, яке має тісний взаємозв'язок з функціональним станом нирок. Зокрема, при ХХН I ст. рівень копептину становив ($207,55 \pm 9,59$) пг/мл, ($256,68 \pm 38,68$) пг/мл при ХХН II ст., ($262,22 \pm 39,27$) пг/мл при ХХН III ст. та ($258,35 \pm 20,62$) пг/мл при ХХН IV ст. В контрольній групі рівень досліджуваного агенту становив ($163,20 \pm 13,28$) пг/мл. Наглядне зображення отриманих результатів представлено на рисунку 1.



Примітка: ★ - вірогідно у порівнянні з контролем.

Рис. 1. Рівень копептину (пг/мл) в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу з ДН на різних стадіях захворювання

У хворих всіх досліджуваних груп мали місце суттєві зміни вмісту копептину в сироватці крові, його рівні були вище у пацієнтів з діабетом, ніж у здорових людей ($p < 0,02$). Як видно з представлених на рисунку 1 даних, у хворих на ДН відзначалося підвищення вмісту копептину, яке достовірно залежало від функціонального стану нирок. Так у хворих на ДН зі зниженою ШКФ, які відповідали ХХН III ст. та ХХН IV ст. за KDIGO, визначалася достовірна вища концентрація досліджуваного агенту в сироватці крові, порівняно з пацієнтами зі ХХН I ст. ($p_{1-3} < 0,05$, $p_{1-4} < 0,05$).

З метою кращого розуміння механізмів асоціації вмісту копептину з розвитком та прогресуванням ДН, відібрані хворі були розділені на тертилі згідно з рівнем досліджуваного агенту сироватці крові:

– I тертиль – хворі на ЦД 2 типу з ДН з вмістом копептину в сироватці крові менше ніж $205,78$ пг/мл ($n=20$);

– II тертиль – хворі на ЦД 2 типу з ДН з вмістом копептину в сироватці крові більшим за $205,78$ пг/мл та меншим ніж $240,86$ пг/мл ($n=29$);

– III тертиль – хворі на ЦД 2 типу з ДН з вмістом копептину в сироватці крові понад $240,86$ пг/мл ($n=29$).

В цих групах були оцінені основні клінічні та біохімічні параметри, що представлені в таблиці 1.

Як продемонстровано у таблиці 1, підвищення вмісту копептину в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу з ДН супроводжувалось зростанням рівня креатиніну ($p_{1-3} < 0,05$, $p_{2-3} < 0,05$). Крім того, статистичний аналіз виявив позитивний кореляційний зв'язок концентрації копептину з креатиніном крові ($r=0,247$, $p < 0,03$). Отримані дані вказують на те, що рівень копептину певною мірою відображає функціональний стан нирок та може розглядатись в якості діагностичного маркера ниркових уражень при ЦД 2 типу.

Таблиця 1

Основні клінічні характеристики та лабораторні параметри в групах обстежених ($M \pm m$ або $Me [Q1-Q3]$)

Показник		Копептин			p
		I тертиль <205,78 пг/мл (n=20)	II тертиль >205,78 пг/мл <240,86 пг/мл (n=29)	III тертиль >240,86 пг/мл (n=29)	
		1	2	3	
Стать, %	чол.	45	48,28	44,83	
	жін.	55	51,72	55,17	
Вік, роки		62,65±2,50	59,72±2,21	62,41±2,19	
ІМТ, кг/м ²		31,63±0,87	32,34±1,18	31,05±0,55	
Глюкоза крові, ммоль/л		7,31 [6,44-9,10]	6,69 [5,38-7,79]	7,12 [6,00-10,11]	
Інсулін, мкМО/мл		17,06 [11,07- 23,87]	17,63 [12,58-26,19]	18,54 [11,79-27,89]	
Індекс НОМА		6,16 [3,39-7,06]	4,91 [3,80-7,46]	6,92 [4,41-9,36]	p2-3<0,05
Креатинін, мкмоль/л		88,50 [75,25-103,25]	88,00 [71,50-96,50]	101,00 [84,50-120,00]	p1-3<0,05 p2-3<0,05
Сечовина, ммоль/л		7,20 [5,20-9,38]	6,80 [5,27-8,47]	7,7 [5,95-10,9]	
ШКФ, мл/хв/1,73м ²		73,00 [53,00-90,50]	77,50 [60,00-91,00]	70,00[42,00-83,00]	p2-3<0,05
ЗХС, ммоль/л		5,07±0,35	5,07±0,26	5,27±0,23	
ТГ, ммоль/л		2,17 [1,37-2,75]	1,99 [1,36-2,72]	1,96 [1,50-3,00]	
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л		0,91 [0,73-1,49]	0,89 [0,58-1,10]	0,90 [0,68-1,49]	
ХС ЛПВЩ, ммоль/л		1,23 [0,96-1,36]	1,23 [0,92-1,61]	1,07 [0,91-1,53]	
ХС ЛПНП, ммоль/л		2,27±0,30	2,86±0,26	2,46±0,23	
КА		3,30 [2,37-5,50]	3,82 [2,39-4,86]	4,30 [2,45-4,94]	
Альбумін сечі, мкг/мл		15,16 [11,32-35,43]	23,14 [15,45-35,14]	30,57 [22,32-62,35]	
Креатинін сечі, мкмоль/л		106,50 [68,58-136,80]	138,70 [69,73-153,97]	147,10 [86,20-175,65]	
Співвідношення альбумін/креатинін		0,19 [0,09-0,41]	0,21 [0,13-0,39]	0,32 [0,15-0,43]	

Примітки: ІМТ – індекс маси тіла, ЗХС – загальний холестерин, КА – коефіцієнт атерогенності, ХС – холестерин, ТГ – тригліцериди.

Наглядне зображення стану показників обміну глюкози представлено на рисунку 2.

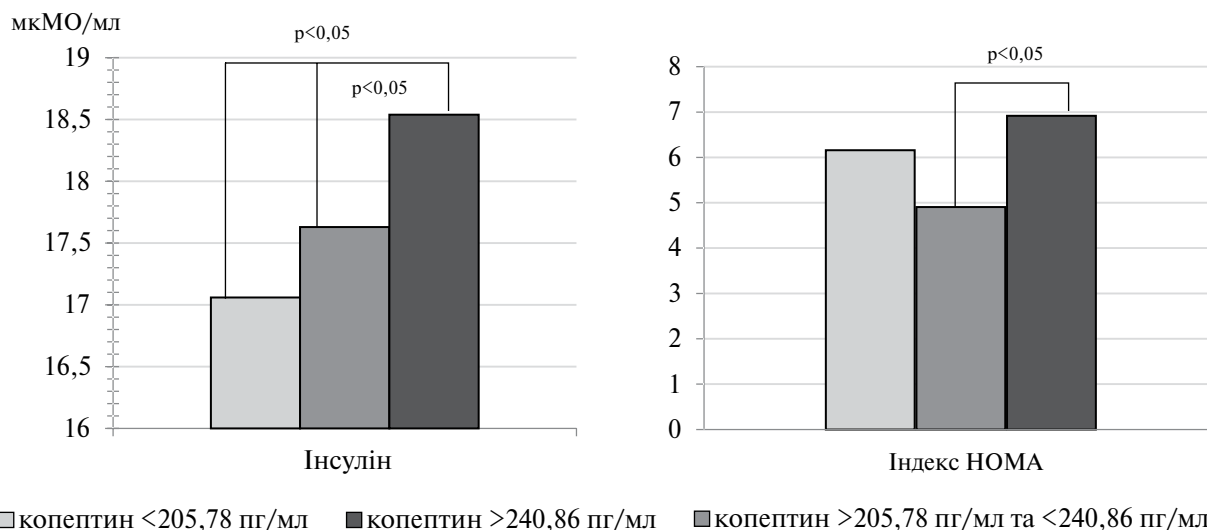


Рис. 2. Обмін глюкози у хворих на ЦД 2 типу з ДН в залежності від вмісту копептину в сироватці крові.

Наше дослідження показало, що у хворих на ЦД 2 типу з ДН з підвищенням вмісту копептину в сироватці крові погіршувалися показники обміну глюкози, а саме зростає індекс НОМА та рівень інсуліну (табл. 1, рис. 2). При цьому когорти хворих не мали суттєвих розбіжностей за статтю, віком та індексом маси тіла, що мінімізує можливість похибок та дозволяє припустити можливу роль копептину у прогресуванні ЦД 2 типу.

Обговорення. В цілому, отримані нами дані свідчать, що рівень копептину в крові хворих на ЦД 2 типу суттєво зростає по мірі прогресування ураження нирок. Крім того, ми встановили тісний зв'язок даного біомаркера з ключовими показниками вуглеводного обміну, зокрема, рівнем інсуліну та індексом НОМА.

Аналіз наукової літератури свідчить, що наші результати узгоджуються з попередніми дослідженнями. Зокрема, експериментальні роботи показали, що у генетично модифікованих мишей з заблокованими рецепторами V1a та/або V1b до АВП спостерігаються значні метаболічні порушення, пов'язані з обміном глюкози, починаючи з гіперчутливості до інсуліну, підвищення толерантності до глюкози і закінчуючи формуванням інсуліно-резистентності, ожиріння та ЦД [19]. У людей, які страждають на ЦД, також виявляються підвищені рівні АВП в сироватці крові [15].

М. Vilella-Torres та співавтори при обстеженні когорти хворих на ЦД 2 типу виявили чітку асоціацію вмісту копептину в сироватці крові зі зниженням ШКФ, що підтверджує уявлення про участь копептину у патофізіологічних механізмах розвитку ХХН [20]. F.X. Zhu та ін. в дослідженні на китайській популяції довели, що копептин можна розглядати в якості важливого діагностичного маркера, пов'язаного з ризиком розвитку інсуліно-резистентності, метаболічного синдрому та ЦД 2 типу [21].

В якості можливого патогенетичного механізму впливу копептину на метаболічні процеси розглядається стимуляція АВП рецепторів, розміщених у передній долі гіпофіза, внаслідок чого підвищується секреція АКТГ [22]. Гіперсекреція АКТГ, в свою чергу, призводить до підсилення синтезу кортизола, що має негативний вплив на обмін глюкози. Нещодавно з'явилися дані щодо прямого впливу вазопресину на печінку шляхом активації рецептору V1b, внаслідок чого підвищується глікогеноліз та глюконеогенез [23].

В той же час відомості щодо зв'язку вмісту копептину та концентрації інсуліну в крові є неоднозначними. Так S. Enhörning та співавт. виявили асоціацію між копептином та рівнем глюкози й інсуліну натще [18]. Навпаки, дослідження FINRISK97 продемонструвало відсутність зв'язку копептину з ЦД після корекції факторів метаболічного ризику [24]. Також суперечливими є результати досліджень щодо гендерних розбіжностей ризику розви-

тку ЦД на фоні підвищеного вмісту АВП та копептину [25].

Натомість, в осіб з вперше виявленим ЦД 2 типу високі стартові рівні копептину свідчили про ризик розвитку ХХН через 10 років [25]. В дослідженні DIABHUSCAR, яке проводилось у когорті хворих на ЦД з альбумінурією, спостерігався жорсткий зв'язок рівня копептину з нирковими кінцевими точками, а саме подвоєнням креатиніну крові та/або термінальною ХХН, який не залежав від віку, тривалості діабету, артеріального тиску тощо [17]. На експериментальній моделі стрептозотцин-індукованого діабету у щурів показано зменшення рівня альбумінурії при використанні селективних антагоністів V2 рецепторів до АВП [5].

Зважаючи на дані світових досліджень та з огляду на отримані нами результати, копептин може мати діагностичну та прогностичну цінність у хворих на ЦД 2 типу з ДН, а також в перспективі бути використаним в патогенетичній терапії ХХН шляхом селективного блокування специфічних рецепторів до АВП.

Таким чином, вимірювання концентрації копептину поряд з іншими клінічними критеріями дозволяє проводити більш ранню та якісну діагностику ускладнень при ЦД.

Вивчення копептину як біомаркера та інструменту стратифікації ризику у хворих на ЦД з різною генетичною детермінованістю доцільно розглядати як перспективний напрямок подальших досліджень.

Представлене дослідження має певні обмеження. По-перше, розмір вибірки був відносно невеликим. По-друге, робота виконана в межах одного центру, внаслідок чого отримані нами дані не можуть бути в повному обсязі ре-презентовані всю популяцію хворих на ЦД 2 типу в Україні. Тим не менш, це дослідження є першим, що надає нове уявлення про роль копептину як біологічного маркера ниркових та метаболічних уражень в цієї категорії пацієнтів. Отримані результати дають підстави для подальших досліджень із більшими розмірами вибірки, що відображають більш інклюзивну популяцію.

Висновки:

1. Розвиток ДН при ЦД 2 типу супроводжується вірогідним зростанням концентрації копептину в сироватці крові у порівнянні з контролем та з хворими на ЦД без ознак нефропатії.
2. В групі хворих на ЦД 2 типу виявлено достовірний прямий кореляційний зв'язок вмісту копептину з рівнем креатиніну сироватки крові.
3. У хворих на ДН з високими рівнями копептину в сироватці крові спостерігались більш суттєві порушення показників обміну глюкози у порівнянні з пацієнтами з нормальними значеннями даного фактору.

4. Отримані дані вказують на те, що рівень копептину певною мірою відображає функціональний стан нирок та може розглядатись в якості діагностичного маркера ниркових та метаболічних порушень при ЦД 2 типу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника:
А.О. Несен – концепція та дизайн дослідження;
П.С. Семенових – вступ, формулювання висновків, оформлення тексту роботи;
К.О. Савічева – аналіз отриманих даних, оформлення тексту роботи;
В.Ю. Гальчінська – визначення вмісту копептину в сироватці крові.

Література (References):

1. IDF Diabetes Atlas. 9th ed. International Diabetes Federation. 2019. Available from: <https://www.diabetesatlas.org/en>.
2. *Alicic R Z, Rooney M T, Tuttle K R.* Diabetic Kidney Disease: Challenges, Progress, and Possibilities. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2017;12(12):2032-45. doi:10.2215/CJN.11491116.
3. *Evans P D, Taal M W.* Epidemiology and causes of chronic kidney disease. *Medicine.* 2015;43(8):450-3. doi.org/10.1016/j.mpmed.2015.05.005.
4. *Topchii I, Semenovykh P, Shcherban T, Galchinska V, Savicheva K.* Serum Klotho protein level in type 2 diabetic patients depending on the renal function. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis.* 2020;3(67):60-66. doi: 10.31450/ukrjnd.3(67).2020.08.
5. *Bardoux P, Bruneval P, Heudes D, Bouby N, Bankir L.* Diabetes-induced albuminuria: role of antidiuretic hormone as revealed by chronic V2 receptor antagonism in rats. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003;18(9):1755-63. doi: 10.1093/ndt/gfg277. PMID: 12937221.
6. *Bankir L, Bardoux P, Ahloulay M.* Vasopressin and diabetes mellitus. *Nephron.* 2001;87:8-18. doi: 10.1159/000045879.
7. *Bolignano D, Zoccali C.* Vasopressin beyond water: implications for renal diseases. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2010;19:499-504. doi: 10.1097/MNH.0b013e32833d35cf.
8. *Hiroshima M, Fujiwara Y, Nakamura K, Aoyagi T, Mizutani R, Sanbe A, et al.* Altered lipid metabolism in vasopressin V1B receptor-deficient mice. *Eur J Pharmacol.* 2009;602(2-3):455-61. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.11.043.
9. *Filep J, Rosenkranz B.* Mechanism of vasopressin-induced platelet aggregation. *Thromb. Res.* 1987;45:7-15. doi:10.1016/0049-3848(87)90252-0.
10. *Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB, Gnther G, Rosenthal W, Vischer UM.* Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. *J. Clin. Invest.* 2000;106:107-16. doi: 10.1172/JCI9516.
11. *Spatz M, Stanimirovic D, Bacic F, Uematsu S, McCarron RM.* Vasoconstrictive peptides induce endothelin-1 and prostanoids in human cerebrovascular endothelium. *Am. J. Physiol.* 1994;266:654-60. doi:10.1152/ajpcell.1994.266.3.C654.
12. *Enh rning S, Wang T J, Nilsson P M, Almgren P, Hedblad B, Berglund G, et al.* Plasma copeptin and the risk of diabetes mellitus. *Circulation.* 2010;121(19): 2102-8. doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.909663.
13. *Saleem U, Khaleghi M, Morgenthaler NG, Bergmann A, Struck J, Mosley TH, et al.* Plasma carboxy-terminal provasopressin (copeptin): a novel marker of insulin resistance and metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(7):2558-64. doi: 10.1210/jc.2008-2278.
14. *Schill F, Timpka S, Nilsson PM, Melander O, Enh rning S.* Copeptin as a predictive marker of incident heart failure. *ESC Heart Fail.* 2021;8(4):3180-8. doi:10.1002/ehf2.13439.
15. *Nakajima A, Lu Y, Kawano H, Horie S, Muto S.* Association of arginine vasopressin surrogate marker urinary copeptin with severity of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Clin Exp Nephrol.* 2015;19(6):1199-205. doi: 10.1007/s10157-015-1101-7.
16. *Wannamethee SG, Welsh P, Lennon L, Papacosta O, Whincup PH, Sattar N.* Copeptin and the risk of incident stroke, CHD and cardiovascular mortality in older men with and without diabetes: The British Regional Heart Study. *Diabetologia.* 2016;59(9):1904-1912. doi:10.1007/s00125-016-4011-7.
17. *Velho G, Ragot S, El Boustany R, et al.* Plasma copeptin, kidney disease, and risk for cardiovascular morbidity and mortality in two cohorts of type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):110. doi:10.1186/s12933-018-0753-5.
18. *Enh rning S, Christensson A, Melander O.* Plasma copeptin as a predictor of kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2019;34(1):74-82. doi:10.1093/ndt/gfy017.
19. *Aoyagi T, Birumachi J, Hiroshima M, Fujiwara Y, Sanbe A, Yamauchi J, et al.* Alteration of glucose homeostasis in V1a vasopressin receptor-deficient mice. *Endocrinology.* 2007;148(5):2075-84. doi: 10.1210/en.2006-1315.

20. *Villela-Torres ML, Higareda-Mendoza AE, Gomez-García A, Alvarez-Paredes AR, García-López E, Stenvinkel P, et al.* Copeptin Plasma Levels are Associated with Decline of Renal Function in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Arch Med Res.* 2018;49(1):36-43. doi: 10.1016/j.arcmed.2018.04.002.
21. *Zhu FX, Wu HL, Tu KS, Chen JX, Zhang M, Shi C.* Serum levels of copeptin are associated with type 2 diabetes and diabetic complications in Chinese population. *J Diabetes Complications.* 2016;30(8):1566-70. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.07.017.
22. *Melander O.* Vasopressin, from regulator to disease predictor for diabetes and cardiometabolic risk. *Ann. Nutr. Metab.* 2016;68(2):24-28. doi: 10.1159/000446201.
23. *Enhörning S, Sjögren M, Hedblad B, Nilsson PM, Struck J, Melander O.* Genetic vasopressin 1b receptor variance in overweight and diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(1):69-75. doi:10.1530/EJE-15-0781.
24. *Salomaa V, Havulinna A, Saarela O, Zeller T, Jousilahti P, Jula A, et al.* Thirty-one novel biomarkers as predictors for clinically incident diabetes. *PLoS One.* 2010;5(4):e10100. doi: 10.1371/journal.pone.0010100.
25. *Pikkemaat M, Melander O, Bengtsson Boström K.* Association between copeptin and declining glomerular filtration rate in people with newly diagnosed diabetes. The Skaraborg Diabetes Register. *J Diabetes Complications.* 2015;29(8):1062-5. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2015.07.006.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research article

I.O. Dudar¹, O.M. Loboda¹, E.K. Krasnyuk², S.L. Dudar³

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.08

Correction of hyperphosphatemia in hemodialysis patients: 12-month findings from a randomized study

¹SI «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

²MNCE «Kyiv City Center of Nephrology and Dialysis» Kyiv, Ukraine

³Shupik National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Citation:

Dudar IO, Loboda OM, Krasnyuk EK, Dudar SL. Correction of hyperphosphatemia in hemodialysis patients: 12-month findings from a randomized study. Ukr J Nephrol Dial. 2022;3(75):63-72. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.08.

Abstract. *The aim of our study was to compare the safety and effectiveness of the use of sevelamer with calcium acetate for hyperphosphatemia control in hemodialysis patients.*

Materials and methods. An open-label, randomized, parallel study was conducted to compare the safety and effectiveness of the use of sevelamer with calcium acetate for hyperphosphatemia control in hemodialysis patients. 198 patients treated with hemodialysis at the Kyiv City Center of Nephrology and Dialysis in the period from 2019 to 2021 were included. The duration of the study was 12 months, with a 2-week washout period before starting the study. Before the start of the study, any phosphate binders were withdrawn. After a 2-week washout period, patients were randomized to receive sevelamer or calcium acetate. The primary endpoint of the study was death from any cause, the surrogates were death from cardiovascular events, and the incidence of fractures.

Results. At the end of the follow-up period, 86 (93%) of the 92 patients who remained alive (main group) had the target serum phosphorus level. At the end of treatment, the level of phosphorus in the main group was 1.62 (1.4, 1.67) mmol/l ($p < 0.001$). The dose of sevelamer carbonate was 4800 mg/day.

The target serum phosphorus level was achieved in 72 (94%) of the 77 patients who remained alive after 12 months of follow-up period. At the end of the treatment, the phosphorus level in the comparison group was 1.62 (1.44, 1.66) mmol/l ($p < 0.001$). The dose of calcium acetate was 3000 (1500; 3000) mg/day.

24 (24%) patients in the main group and 22 (23%) in the comparison group reported at least one adverse event (AE) related to phosphate binder intake. In most cases, the established AEs had a mild degree of severity and did not require discontinuation of the drug.

During the observation period, the overall mortality rate in the comparison group was more than 2.3 times higher than in the main group, and this difference was statistically significant (RR 0.43, 95% CI: 0.207 - 0.902). At the same time, cardiovascular mortality in the comparison group was more than 2.8 times higher than in the main group, and this difference was also statistically significant (RR 0.34, 95% CI: 0.128 - 0.916). Survival analysis showed a statistically significant difference in survival in patients of the studied groups. During the observation period (12 months), 6 cases of fractures (6%) were recorded in the main group. In the comparison group, the frequency of fractures was 7%, and the difference in frequency was not statistically significant (RR 0.82, 95% CI: 0.287 - 2.362).

Conclusions. The obtained data showed the high efficiency and safety of sevelamer for hyperphosphatemia correction in hemodialysis patients, as well as a beneficial effect on important clinical outcomes.

Key words: hyperphosphatemia, hemodialysis, sevelamer carbonate, calcium acetate.

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© I.O. Dudar, O.M. Loboda, E.K. Krasnyuk, S.L. Dudar, 2022.

Correspondence should be addressed to Olena Loboda: doctor_yelena@ukr.net

Article history:

Received July 28, 2022

Received in revised form

August 16, 2022

Accepted August 16, 2022



© Дудар І. О., Лобода О. М., Красюк Е. К., Дудар С. Л., 2022

УДК: 616.61-085.38-073.27:616.152.18

І.О. Дудар¹, О.М. Лобода¹, Е.К. Красюк², С.Л. Дудар³

Корекція гіперфосфатемії у хворих, які лікуються гемодіалізом: результати 12-місячного рандомізованого дослідження

¹ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ, Україна

²КНП «Київський міський центр нефрології та діалізу», Київ, Україна

³Національний інститут охорони здоров'я України ім П.Л. Шупика, Київ, Україна

Резюме. Метою нашої роботи було порівняти безпеку та ефективність застосування севеламеру карбонату з кальцієм ацетатом для контролю гіперфосфатемії у гемодіалітичних хворих.

Матеріали та методи. Було проведено відкрите рандомізоване паралельне дослідження для оцінки безпеки та ефективності севеламеру карбонату порівняно з кальцієм ацетатом у контролі гіперфосфатемії у гемодіалітичних хворих. До дослідження було включено 198 пацієнтів з ХХН VД ст., які отримували лікування гемодіалізом (ГД) у КНП «Київський міський центр нефрології та діалізу», що є клінічною базою ДУ «Інститут нефрології НАМН України», в період з 2019 по 2021 рр. Тривалість дослідження становила 12 міс. з 2-ох тижневим періодом вимивання перед початком дослідження. За вихідну точку спостереження хворих основної групи та групи порівняння було взято дату підписання інформованої згоди. Після 2-тижневого періоду вимивання пацієнти були випадковим чином розподілені для отримання севеламеру або ацетату кальцію. Первинною кінцевою точкою дослідження була смерть від будь-якої причини, сурогатними – випадки смерті від серцево-судинних подій, частота переломів.

Результати. В кінці періоду спостереження цільовий рівень сироваткового фосфору був досягнутий у 86 (93%) з 92 пацієнтів, які залишилися живими (основна група). В кінці лікування рівень фосфору в основній групі становив 1,62 (1,4; 1,67) ммоль/л ($p < 0,001$). Доза севеламеру становила 4800 мг/добу.

У хворих групи порівняння через 12 міс. спостереження цільовий рівень сироваткового фосфору був досягнутий у 72 (94%) з 77 пацієнтів, які залишилися живими. В кінці лікування рівень фосфору в групі порівняння становив 1,62 (1,44; 1,66) ммоль/л ($p < 0,001$). Доза кальцію ацетату становила 3000 (1500; 3000) мг/добу.

24 (24%) хворих основної групи та 22 (23%) хворих у групі порівняння повідомили принаймні про одне небажане явище (НЯ), пов'язане з прийомом фосфат біндеру. Констатовані НЯ в більшості випадків мали легку ступінь вираженості та не потребували відміни препарату.

За період спостереження в групі порівняння рівень загальної смертності був більший ніж в 2,3 разів вищим, ніж в основній групі, ця різниця була статистично значущою (RR 0,43, 95% ДІ: 0,207 – 0,902). При цьому серцево-судинна смертність в групі порівняння була більшою ніж в 2,8 разів вищою, ніж в основній групі, ця різниця також була статистично значущою (RR 0,34, 95% ДІ: 0,128 – 0,916). Аналіз виживання показав статистично значущу відмінність у виживаності у хворих досліджуваних груп. За період спостереження (12 міс.) у основній групі було зафіксовано 6 випадків переломів (6%). В групі порівняння частота переломів становила 7%, різниця в частоті не була статистично значущою (RR 0,82, 95% ДІ: 0,287 – 2,362).

Висновки. Отримані дані показали високу ефективність та безпеку севеламеру в корекції гіперфосфатемії у гемодіалітичних пацієнтів, а також сприятливий вплив на важливі клінічні наслідки.

Ключові слова: гіперфосфатемія, гемодіаліз, севеламер карбонат, кальцію ацетат

Вступ. Хронічна хвороба нирок (ХХН) – актуальна проблема сучасної медицини, що зумовлено великою поширеністю даної патології, прогресуючим перебігом, частою інвалідизацією, виникненням ускладнень, дороговартісними методами лікування (нирковозамісна терапія та трансплантація нирки) та високою летальністю хворих

[1]. Практично у всіх хворих на ХХН розвиваються порушення кальцій-фосфорного обміну. Гомеостаз метаболізму кальцію та фосфору підтримується за допомогою взаємодії між нирками, кишечником і кістковою тканиною, та опосередкований кількома гормонами, включаючи активні форми вітаміна Д, паратиреоїдний гормон (ПТГ) і фактором росту фіброblastів 23 (ФРФ-23). При розвитку термінальної стадії ХХН, яка потребує лікування діалізом, цей баланс стає все більш незрегульованим, що призводить до розвитку стану, який отримав назву “Мінерально-кісткові розлади, пов'язані з ХХН” (ХХН-МКР) [1]. На додаток до біохімічного дисбалансу, ХХН-МКР асоціюється з гіперплазією парациитовидних залоз, кальцифікацією судин,

Олена Лобода
doctor_yelena@ukr.net

підвищеним ризиком переломів, болями у кістках і серцево-судинними (СС) подіями, що пов'язується зі зниженням якості та тривалість життя [2, 3]. Високий рівень фосфору в сироватці крові також асоціюється з підвищеним ризиком смертності в загальній популяції та у пацієнтів з ХХН-МКР [4-6]. Підвищення смертності, пов'язаної з гіперфосфатемією, пояснюють відкладанням депозитів фосфату кальцію у м'яких тканинах, кальцифікацією коронарних артерій, серцевих клапанів та міокарду [5]. Хоча природний перебіг ХХН призводить до підвищеного рівня ПТГ і фосфору в сироватці крові з низьким вмістом кальцію в сироватці, поточний стандарт лікування призводить до того, що типовий пацієнт має підвищені рівні всіх 3 параметрів.

Контроль фосфору є важливою ланкою корекції порушень мінерального балансу орієнтованого на лікування пацієнта. Лікування гіперфосфатемії за сучасними рекомендаціями передбачає обмеження фосфатів в дієті, адекватний діаліз та застосування фосфат біндерів [7]. Однак досягнення цільових значень контролю фосфату є складним завданням, і контроль може бути недосяжним у багатьох пацієнтів. Фосфат біндери використовуються для зниження позитивного фосфорного балансу і зниження рівня сироваткового фосфору з метою запобігання прогресування мінерально-кісткових розладів у хворих на ХХН.

Метою роботи було порівняння безпеки та ефективності застосування севеламеру карбонату з кальцієм ацетатом у гемодіалізних хворих з гіперфосфатемією.

Матеріали та методи. Нами проведено відкрите рандомізоване паралельне дослідження для оцінки безпеки та ефективності севеламеру карбонату порівняно з кальцієм ацетатом у контролі гіперфосфатемії у гемодіалізних хворих. До дослідження було включено 198 пацієнтів з ХХН ВД ст., які отримували лікування гемодіалізом (ГД) у КНП «Київський міський центр нефрології та діалізу», що є клінічною базою ДУ «Інститут нефрології НАМН України», в період з 2019 по 2021 рр.

Дослідження було виконано в рамках НДР «Вивчити патогенетичні механізми формування коморбідності у хворих на ХХН ВД стадії», державний реєстраційний номер: 0119U000001; «Підвищити ефективність лікування хворих на ХХН ВД ст. на підставі нових наукових даних, щодо вивчення патогенетичних механізмів формування коморбідності та визначення шляхів їх корекції», державний реєстраційний номер: 0122U000148.

Критеріями включення в дослідження були вік хворих від 18 років, тривалість лікування ГД протягом щонайменше 3 місяців, наявність постійного судинного доступу, лікування ГД 3 рази на тиждень не менше 4 год, $eKt/V \geq 1,2$, рівень фосфору в крові $\geq 1,78$ ммоль/л. Критеріями виключення були незгода пацієнта на участь в дослідженні, вік < 18

років, тривалість гемодіалізу ≤ 3 місяців, серйозні захворювання шлунково-кишкового тракту, зокрема виразкова хвороба шлунку та дванадцятипалої кишки, часті блювання, порушення моторики, великі операції на кишечнику в анамнезі та/або значно виражені дисфункції кишечника (пронози/закрепи), хронічна серцева недостатність III-IV функціонального класу (за класифікацією NYHA), рівень сироваткового кальцію $\geq 2,75$ ммоль/л, рівень ПТГ менше 150 пг/мл або вище 650 пг/мл, рівень гемоглобіну < 70 г/л, інформація про гострі інфекційні процеси будь-якої етіології, діагностовані впродовж 3-х місяців до початку аналізу, онкологічні захворювання, трансплантація нирки в анамнезі, гостра та хронічна печінкова недостатність, психічні розлади. Пацієнти були проінформовані про ризики та переваги дослідження та підписали інформовану згоду перед початком дослідження. Звичайні супутні ліки були дозволено. Зокрема, проводилася корекція анемії (препарати еритропоетинів, заліза, фолієвої кислоти за показами), антигіпертинзивна терапія, за показами використовували кальциміметики та альфакальцидол, корекція глікемії інсуліном у хворих на цукровий діабет.

На початку дослідження було вивчено анамнез пацієнта та проведено фізикальне обстеження, оцінено супутню терапію та щоденне споживання фосфатів у дієті. Початкові лабораторні дослідження включали загальний аналіз крові, скринінг на гепатит (типи С і В), електроліти, кальцій, фосфати, функції печінки, глюкозу крові, сечовину, креатинін, холестерин, тригліцериди і рівень інтактного ПТГ.

Тривалість дослідження становила 12 міс. з 2 тижневим періодом вимивання перед початком дослідження. До початку дослідження, будь-які фосфатбіндери були відмінені. За вихідну точку спостереження хворих основної групи та групи порівняння було взято дату підписання інформованої згоди. Після 2-тижневого періоду вимивання пацієнти були випадковим чином розподілені для отримання севеламеру карбонату або ацетату кальцію. Початкова доза севеламеру (Севеламер Віста) становила 1 капсула (800 мг) перорально 3 рази на день під час їжі за умови показника фосфору у плазмі крові 1,78-2,42 ммоль/л, або 2 капсули (1600 мг) перорально 3 рази на день під час їжі за умови показника фосфору у плазмі крові $> 2,42$ ммоль/л. Початкова доза ацетату кальцію (Кальцію ацетат Активіум) була одна таблетка (500 мг кальцію ацетату) під час їжі 3 рази на день за умови показника фосфору у плазмі крові 1,78-2,42 ммоль/л, або 2 таблетки (1000 мг) перорально 3 рази на день за умови показника фосфору у плазмі крові $> 2,42$ ммоль/л. Доза будь-якого препарату була скоригована відповідно досягнутого контролю фосфору (цільовий рівень 0,8-1,78 ммоль/л). У разі необхідності, було збільшення або зменшення дози

кожного разу щомісяця, додаючи одну таблетку 3 рази на день, щоб зберегти рівень фосфору в межах цільових значень. Максимальні дози препаратів становили 3 капсули тричі на день для севеламеру та 3 таблетки три рази на день для кальцію ацетату. За умови збільшення сироваткового кальцію вище 2,75 ммоль/л доза кальцію ацетату зменшувалася на 1 таблетку під час їди, за необхідності до повної відміни з відновленням призначення препарату після зникнення гіперкальціємії. За умови рівню фосфору в сироватці крові менше 0,8 ммоль/л фосфат біндери відмінялися.

В усіх хворих концентрація кальцію в діалізаті становила 1,5 ммоль/л (2,75 мЕкв/л) та не змінювалася протягом періоду дослідження. Також відсутніми були зміни у призначеному споживанні фосфору (не більше 0,8-1,0 г щодня) та у дозуванні препаратів вітаміну Д протягом періоду дослідження.

Кожному діалізованому хворому щомісяця визначався стандартний біохімічний профіль, який включає сечовину, креатинін сироватки крові; сироваткові рівні загального білку, альбуміну, калію, кальцію, фосфату, гемоглобіну, білірубину, АЛТ,

АСТ. Кожні 3 міс. визначався паратгормон, феритин та % насичення трансферину (НСТ). Зразки крові були взяті на початку другого сеансу діалізу тижня для всіх пацієнтів.

Основну групу хворих (ті, які були розподілені в групу севеламеру) складала 101 особа, групу порівняння (ті, які розподілені в групу кальцію ацетату) – 97 осіб.

Була проведено порівняння параметрів фосфор-кальцієвого обміну (фосфору, кальцію, ПТГ), показників загальної та серцево-судинної смертності, а також частоти переломів в досліджуваних групах. Також щомісяця пацієнти оцінювали свої суб'єктивні симптоми запору, нудоти, блювання, діареї та болю в животі за шкалою від 0 (немає) до 10 (сильний). Первинною кінцевою точкою дослідження була смерть від будь-якої причини, сурогатними – випадки смерті від серцево-судинних подій, випадки переломів.

До початку дослідження в досліджуваних групах не було виявлено статистично значущої різниці за віком, статтю, нозологією ХХН, тривалістю та адекватністю ГД, залишковою функцією нирок (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика включених у дослідження хворих з гіперфосфатемією в групах порівняння

Показник	Основна група (n = 101)	Група порівняння (n = 97)	p
Причина ХХН			
Гломерулонефрит n (%)	47 (47)	46 (47)	>0,05
Цукровий діабет n (%)	36 (36)	37 (38)	>0,05
Пієлонефрит (в т.ч. на тлі полікістозної хвороби нирок) n (%)	12 (12)	11 (11)	>0,05
Інші ураження n (%)	6 (6)	3 (3)	>0,05
Демографічні показники			
Вік, роки	53 (46;67)	54 (44;68)	>0,05
Чоловіків n (%)	54 (53)	52 (54)	>0,05
Діаліз-асоційовані показники			
Тривалість лікування ГД, міс.	34,7 (22;76)	33,8 (22;68)	>0,05
Анурія, (n/%)	73 (72)	69 (71)	>0,05
eKt/V	1,32 (1,26;1,38)	1,31 (1,28;1,36)	>0,05

Матеріали дослідження були статистично проаналізовані з використанням методів параметричного і непараметричного аналізу. Накопичення, коригування, систематизація вихідної інформації і візуалізація отриманих результатів здійснювалися в електронних таблицях Microsoft Office Excel 2016. Статистичний аналіз проводився з використанням програми STATISTICA 12 (розробник – StatSoft, Inc). Кількісні показники оцінювалися на предмет відповідності нормальному розподілу, для цього використовувався критерій Колмогорова-Смирно-

ва. Оскільки розподіл основної частини параметрів був відмінним від нормального, сукупності кількісних показників описувалися за допомогою значень медіани (Me) і нижнього і верхнього квантилей (Q1;Q3). Номінальні дані описувалися із зазначенням абсолютних значень і процентних часток. Для міжгрупового порівняння кількісних даних двох незалежних виборок статистичну значущість різниці встановлювали за допомогою U-тесту за методом Манна-Уїтні. Порівняння номінальних даних проводилося за допомогою критерію χ^2 Пірсона, з

виправленням Йетса на безперервність при числі ступенів свободи, що дорівнює 1. Різниця вважалася достовірною при досягнутому рівні значимості $p < 0,05$. Оцінку ризику реалізації події проводили за вірогідністю величин відносного (RR) ризику, з обчисленням їх довірчих інтервалів (95% ДІ). Оцінка функції виживання пацієнтів проводилася за методом Каплана-Мейєра.

Під час виконання роботи дотримані принципи біоетики, законодавчих норм та вимог щодо проведення біомедичних досліджень.

Результати дослідження. До початку лікування рівень сироваткового фосфору в основній групі становив 2,2 (2,02; 2,3) ммоль/л. Через 6 міс. після початку лікування севеламером цільовий рівень сироваткового фосфору був досягнутий у 86 (85%) пацієнтів (основна група). У 7 (7%) пацієнтів суттєвих змін в рівнях фосфору не було. Доза севеламеру становила 4800 (2400; 4800) мг/добу.

До початку лікування рівень сироваткового фосфору в групі порівняння становив 2,21 (2,12;

2,31) ммоль/л. У хворих групи порівняння через 6 міс. спостереження цільовий рівень фосфору був досягнутий у 81 (84%) пацієнтів, а у 5 (5%) пацієнтів суттєвих змін в рівнях фосфору не було. Доза кальцію ацетату становила 1500 (1500; 3000) мг/добу.

В кінці періоду спостереження цільовий рівень сироваткового фосфору був у 86 (93%) з 92 пацієнтів, які залишилися живими (основна група). В кінці лікування рівень фосфору в основній групі становив 1,62 (1,4; 1,67) ммоль/л ($p < 0,001$). Доза севеламеру становила 4800 (4800; 4800) мг/добу.

У хворих групи порівняння через 12 міс. спостереження цільовий рівень сироваткового фосфору був досягнутий у 72 (94%) з 77 пацієнтів, які залишилися живими. В кінці лікування рівень фосфору в групі порівняння становив 1,62 (1,44; 1,66) ммоль/л ($p < 0,001$). Доза кальцію ацетату становила 3000 (1500; 3000) мг/добу.

Динаміка показників сироваткового фосфору в основній групі та групі порівняння подана на рис. 1.

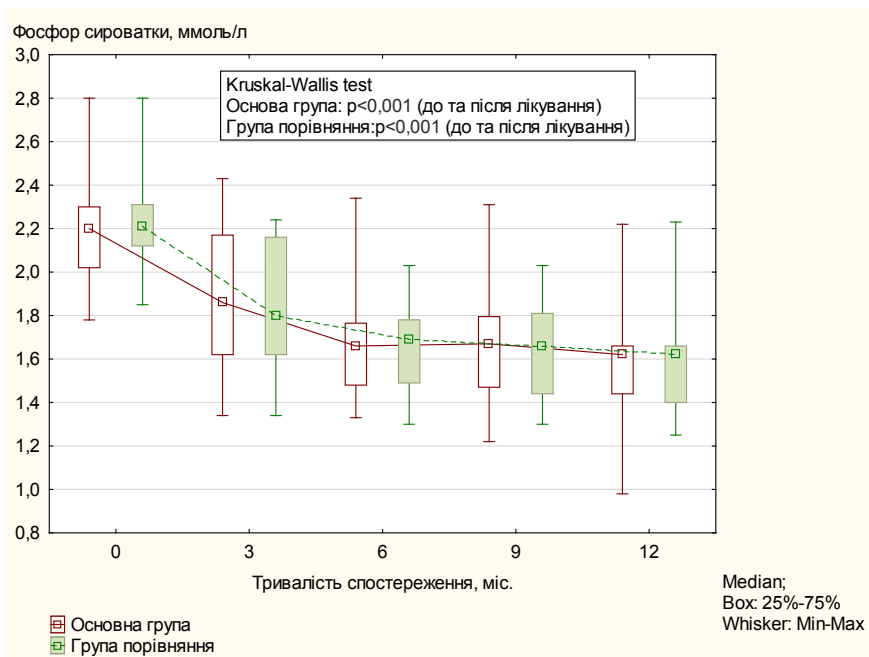


Рис. 1 Динаміка показників сироваткового фосфору в досліджуваних групах.

В нашому дослідженні не було статистично значущої різниці рівнів сироваткового фосфору в досліджуваних групах через 12 міс. спостереження. Разом з тим, в обох групах відбулося достовірне зниження рівнів сироваткового фосфору.

Динаміка показників сироваткових кальцію та ПТГ була наступною. В основній групі рівень кальцію сироватки крові знизився з 2,34 (2,22; 2,41) до 2,21 (2,19; 2,34) ммоль/л ($p > 0,05$), в групі порівняння збільшився з 2,25 (2,23; 2,43) до 2,5 (2,22; 2,51) ммоль/л ($p < 0,05$). В кінці періоду спостереження різниця між показниками сироваткового кальцію в основній групі та групі спостереження була статистично значущою ($p < 0,05$).

Рівень ПТГ сироватки крові в основній групі суттєво не змінився: 523,4 (396,2; 595,8) пг/мл на початку спостереження, 532,6 (440,3; 594,9) пг/мл, в кінці дослідження ($p > 0,05$). В групі порівняння рівень ПТГ також не зазнав статистично значущих змін: 505,3 (394; 567) на початку спостереження, 521 (485; 575,5) пг/мл, в кінці дослідження ($p > 0,05$). В кінці періоду спостереження різниця між показниками ПТГ в основній групі та групі спостереження не була статистично значущою.

Гіперкальціємія (рівень кальцію вище 2,75 ммоль/л) протягом періоду спостереження була зафіксована у 28 (29%) пацієнтів групи порівняння. У жодного пацієнта основної групи гіперкаль-

ціемії не спостерігалось. Різниця в частоті гіперкальціемії була статистично значущою ($\chi^2 = 33,9$, $p < 0,001$)

Аналіз небажаних явищ (НЯ) в обох групах показав, що в основній групі 24 (24%) хворих, і групі порівняння 22 (23%) хворих повідомили принаймні про одне небажане явище (НЯ), пов'язане з прийомом фосфат біндерів. Найбільш частими побічними явищами були розлади з боку шлунково-кишкового тракту. Нудота виникла у 22 (22%)

та 18 (19%) хворих, закрепи у 18 (18%) та 11 (11%), блювота – 2 (2%) та 4 (4%) хворих, та діарея у 14 (14%) та 9 (9%) в основній групі та групі порівняння відповідно. Були поодинокі повідомлення про головний біль, біль в епігастрії, у кінцівках. Констатовані НЯ в більшості випадків мали легку або середню ступінь вираженості та не потребували відміни препарату.

Аналіз кінцевих точок дослідження констатував відмінності в групах порівняння (табл. 2).

Таблиця 2

Клінічні наслідки, зареєстровані протягом 12-ти місяців спостереження у ГД пацієнтів з гіперфосфатемією

Клінічні наслідки	Групи хворих	
	Основна група (n = 101)	Група порівняння (n = 97)
	n (%)	n (%)
В цілому смерті	9 (9%)	20 (21%)
	$\chi^2 = 4,6$, $p = 0,03$	
СС смерть	5 (5%)	14 (14%)
	$\chi^2 = 5,1$, $p = 0,02$	
Переломи кісток	6 (6%)	7 (7%)
	$\chi^2 = 0,13$, $p = 0,7$	

За період спостереження в групі порівняння рівень загальної смертності був більш ніж в 2,3 разів вищим, ніж в основній групі, та ця різниця була статистично значущою (RR 0,43, 95% ДІ: 0,207 – 0,902). При цьому серцево-судинна смертність в групі порівняння була більш ніж в 2,8 разів вищою,

ніж в основній групі, та ця різниця також була статистично значущою (RR 0,34, 95% ДІ: 0,128 – 0,916). Аналіз виживання показав статистично значущу відмінність у виживаності у хворих досліджуваних груп (рис 2).

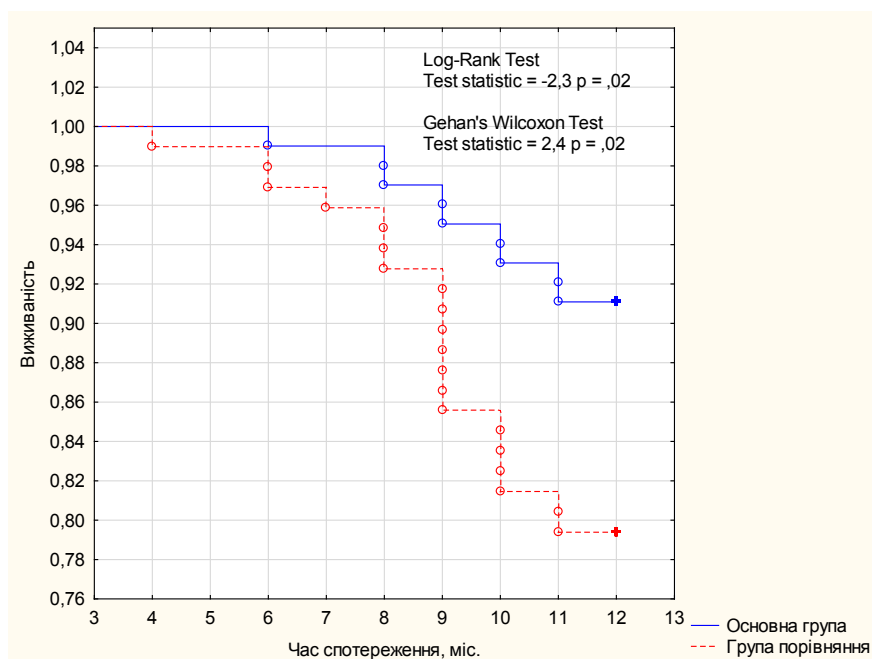


Рис. 2. Виживаність пацієнтів основної групи та групи порівняння за період спостереження 12 міс.

За період спостереження (12 міс.) у основній групі було зафіксовано 6 випадків переломів (6%). В групі порівняння частота переломів становила 7%, різниця в частоті не була статистично значущою (RR 0,82, 95% ДІ: 0,287 – 2,362).

Обговорення. Корекція гіперфосфатемії потребує комплексного підходу, який включає дієтичні обмеження вживання фосфатів, їх видалення за допомогою інтенсивних режимів діалізу і фармакологічної корекції за допомогою фосфат біндерів. У коментарі до Керівництва KDIGO 2017 з діагностики, оцінки, профілактики та лікування

ХХН-МКР вказується на доцільність призначення фосфат біндерів при показниках фосфатемії, які прогресивно зростають, або залишаються постійно високими [7]. Фосфат біндери — це група лікарських засобів з різною хімічною структурою, які застосовуються для лікування гіперфосфатемії у хворих на ХХН ВД стадії, основний механізм дії яких зменшення всмоктування фосфатів їжі у шлунково-кишковому тракті шляхом зв'язування їх в просвіті кишечника [8-10]. Фосфатні біндери та їх основні переваги і недоліки наведені в табл. 3 [10].

Таблиця 3

Основні переваги і недоліки існуючих фосфат біндерів.

Лікарський засіб	Звичайна доза	Переваги	Недоліки
Кальцію карбонат	500-1250мг (3-6 табл.)	Низьке навантаження таблетками	Перевантаження кальцієм
Кальцію ацетат	667мг (6-12 капсул)	Ефективний так само як й кальцію карбонат	Перевантаження кальцієм Велика кількість таблеток
Магнію карбонат	63мг (2-6 капсул)	Добра переносимість з боку ШКТ, низьке навантаження таблетками	Гіпермагніємія
Севеламер гідрохлорид	800мг (6-12 капсул)	Зменшення ЛПНЩ, краще виживання хворих на ГД	Високе навантаження таблетками. Побічні дії з боку ШКТ, метаболічний ацидоз.
Севеламер карбонат	800мг (6-12 капсул)	Зменшення ЛПНЩ, краще виживання хворих на ГД	Високе навантаження таблетками. Побічні дії з боку ШКТ.
Біксаломер	250мг (6-14 капсул.)	Добра переносимість з боку ШКТ	Високе навантаження таблетками
Лантану карбонат	250-1000мг (3-6 жувальних табл.)	Низьке навантаження таблетками, добра переносимість з боку ШКТ	Низька розчинність, накопичення в тканинах, наприклад в кістках
Цитрат заліза	210мг (4-5 таблеток)	Низьке навантаження таблетками, зменшення потреби у залізі та ЕПО	Незначні побічні дії з боку ШКТ
Комплекс заліза оксигідроксиду, сахарози і крохмалю.	500мг (2-6 жувальних таблеток)	Низьке навантаження таблетками	Незначні побічні дії з боку ШКТ

Примітка: ШКТ — шлунково-кишковий тракт; ГД — гемодіаліз, ЛПНЩ — ліпопротеїди низької щільності; ЕПО — еритропоетини.

Фосфатні біндери на основі кальцію все ще відіграють певну роль в контролі гіперфосфатемії у дорослих хворих на ХХН, однак їх застосування все більше зменшується і тільки висока вартість некальцієвих фосфатбіндерів обмежують їх застосування. Оновлені у 2017 року Керівні принципи клінічної практики KDIGO у рекомендації 11 пропонують обмежене використання кальціймістких фосфатбіндерів на основі кальцію, яке ґрунтується на основі слабких доказів в 3 РКД, які були новаторськими, але також мали деякі недоліками. Не рекомендовано довготривале застосування алюмініймісних фосфатних біндерів із-за можливості алюмінієвої інтоксикації (1С) [1, 7].

Після 20-річного періоду існування фосфатних біндерів на основі алюмінію та кальцію в 1998 році Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів Міністерства охорони здоров'я і соціальних служб США (Food and Drug Administration — FDA) схвалило застосування першого фосфатбіндера на основі аніонообмінного полімеру, який не всмоктується і не містить метали кальцію та алюмінію — севеламеру гідрохлорид, а в 2007 році — севеламеру карбонат [11]. Це був крок вперед, бо некальціймісткі фосфатбіндери не загрожують діалізованому хворому розвитком гіперкальціємії та її наслідками.

В той же час, в систематичному огляді [12] проаналізовано 77 досліджень за участю 12 562 дорослих із ХХН, переважно діалісної популяції. Не було доказів того, що будь-який фосфатзв'язуючий агент знижував смертність порівняно з плацебо. В той же час застосування севеламеру, як і в нашому дослідженні, було пов'язано з нижчою смертністю від усіх причин порівняно зі фосфатзв'язуючими препаратами на основі кальцію. Разом з тим, існуючі випробування фосфатзв'язуючих речовин щодо смертності від усіх причин були короткими, як правило не більше 3 місяців. Наше ж дослідження тривало 12 місяців, було більш тривалим, ніж більшість і підтвердило, що застосування некальціймісткого фосфатбіндера – севеламера карбоната супроводжувалось показниками нижчої смертності, зокрема серцево-судинної. Кальцифікація коронарних артерій (передбачуваний механізм смерті, пов'язаний із високим рівнем кальцію та фосфору в сироватці крові) клінічно не проявляється для більшості пацієнтів до 10 років діалісної терапії [13], що вказує на те, що наявні на даний момент випробування фосфатзв'язувальної терапії можуть бути недостатніми для остаточної інформації щодо впливу лікування на серцево-судинні події або кальцифікацію судин, хоча, існують роботи, які підкреслюють, що севеламер запобігає кальцифікації коронарних артерій у порівнянні з кальціймісткими фосфатбіндерами і в короткостроковій перспективі [14].

Доведені й інші корисні властивості севеламеру: відсутність системної абсорбції, зменшення васкулярної кальцифікації, протизапальний та ліпідзнижуючий ефекти, корекція метаболічного ацидозу [15-19].

Метою Кокранівського огляду [20] була оцінка переваги та шкоди фосфатзв'язувальних препаратів у пацієнтів з ХХН з аналізом відповідних біохімічних кінцевих точок, захворюваності опорно-рухового апарату та серцево-судинної системи, госпіталізації та смертності. Результати включали всі причини госпіталізацій та серцево-судинну смерть, інфаркт міокарда, інсульт, побічні ефекти, кальцифікацію судин та перелом кісток, а також сурогатні показники – фосфат сироватки, ПТГ та FGF23. В огляді тридцять досліджень порівняли севеламер з кальціймісткими фосфатбіндерами (5424 учасників). У 82 дослідженнях лікування оцінювалося серед дорослих з ХХН 5D, які отримували гемодіаліз або перитонеальний діаліз. Тривалість дослідження коливалася від 8 тижнів до 36 місяців (в середньому 3,7 місяці). Розмір вибірки коливався від 8 до 2103 учасників (медіана 69). Середній вік коливався від 42,6 до 68,9 років. Застосування севеламеру у хворих на ХХН-5D приводило до зниження смертності (всі причини) (RR 0,53, ДІ від 0,30 до 0,91) і викликати меншу гіперкальціємію (RR 0,30, ДІ 0,20 до 0,43) у порівнянні з фосфат біндерами на основі кальцію,

і має невизначений або недооцінений вплив на серцево-судинну смертність, розвиток інфаркту міокарда, інсульт, переломи або кальцифікацію коронарних артерій. В абсолютному вимірі севеламер знизив ризик смерті (від усіх причин) з 210 на 1000 до 105 на 1000 протягом подальшого спостереження до 36 місяців, в порівнянні з кальціймісткими фосфат біндерами.

Наше дослідження показало, що кальціймісткі фосфат біндери і севеламер співставно переносяться хворими, а шлунково-кишкові побічні ефекти були схожими. Наші дані суттєво не відрізняються від більшості досліджень, однак частота запорів у групі хворих, яким призначали севеламер була дещо більшою. Слід зазначити, що багато досліджень вказують на подібну частоту НЯ (до 23%), як і в нашому дослідженні [15-16].

Таким чином порівняльне дослідження некальціймісткого фосфат біндера севеламера та кальціймісткого фосфатбіндера кальцію ацетату у гемодіалітичних пацієнтів з гіперфосфатемією показало, що севеламер співставно знижує показники сироваткового фосфору, як і кальціймісткий фосфат біндер. Рівень кальцію у більшості хворих обох груп був у межах норми, однак у групі хворих, які застосовували кальцію ацетат достовірно частіше констатована гіперкальціємія, в порівнянні з хворими, які вживали севеламер. Гастроінтестинальні побічні явища зустрічалися однаково часто. Загальна смертність та серцево-судинна смертність були достовірно меншими в групі хворих, які отримували севеламер. Разом з тим ми не виявили суттєвої різниці в частоті переломів.

Наше дослідження має певні обмеження: це одноцентрове дослідження, ми не враховували вплив супутньої патології, зокрема наявності цукрового діабету, серцевої недостатності на кінцеві точки.

Висновки. Отримані дані підтвердили високу ефективність севеламеру та кальцію ацетату в корекції гіперфосфатемії. Результати нашого дослідження показали, що застосування даних препаратів протягом 12 міс. дозволило досягнути цільового рівню фосфору у 93% пацієнтів основної групи та 94% пацієнтів групи порівняння. Однак застосування кальцію ацетату супроводжувалося високою частотою випадків гіперкальціємії (29%), що може пояснити високу загальну та серцево-судинну смертність. Різниці в частоті переломів не було.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Кошти держбюджету для фінансування НДР «Вивчити патогенетичні механізми формування коморбідності у хворих на ХХН ВД стадії», державний реєстраційний номер: 0119U000001.

Внесок кожного автора.

Дудар І.О.: концепція та дизайн дослідження, інтерпретація та узагальнення клінічних і біохімічних результатів, аналіз літературних джерел, написання статті

Лобода О.М., Красюк Е.К.: обстеження пацієнтів, збір та аналіз клінічних даних, забір біоло-

гічного матеріалу, формування бази даних, аналіз літературних джерел, статистичний аналіз отриманих результатів.

Дудар С.Л.: обстеження та ведення хворих, які потребували супроводу травматолога-ортопеда, аналіз літературних джерел.

Література (References):

1. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease—Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2017;7:1–59 doi: 10.1016/j.kisu.2017.10.001.
2. *Rastogi A, Bhatt N, Rossetti S, Beto J.* Management of Hyperphosphatemia in End-Stage Renal Disease: A New Paradigm. *J Ren Nutr.* 2021 Jan;31(1):21–34. doi: <https://doi.org/10.1053/J.JRN.2020.02.003>.
3. *Beto J, Bhatt N, Gerbeling T, Patel C, Drayer D.* Overview of the 2017 KDIGO CKD-MBD Update: Practice Implications for Adult Hemodialysis Patients. *J Ren Nutr.* 2019 Jan;29(1):2–15. doi: 10.1053/j.jrn.2018.05.006.
4. *Dhingra R, Sullivan LM, Fox CS, Wang TJ, D'Agostino RB Sr, Gaziano JM, Vasan RS.* Relations of serum phosphorus and calcium levels to the incidence of cardiovascular disease in the community. *Arch Intern Med.* 2007 May 14;167(9):879–85. doi: 10.1001/archinte.167.9.879.
5. *Kestenbaum B, Sampson JN, Rudser KD, Patterson DJ, Seliger SL, Young B, Sherrard DJ, Andress DL.* Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Feb;16(2):520–8. doi: 10.1681/ASN.2004070602.
6. *Hou Y, Li X, Sun L, Qu Z, Jiang L, Du Y.* Phosphorus and mortality risk in end-stage renal disease: A meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2017 Nov;474:108–113. doi: 10.1016/j.cca.2017.09.005.
7. *Vervloet MG, van Ballegooijen AJ.* Prevention and treatment of hyperphosphatemia in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2018 May;93(5):1060–1072. doi: 10.1016/j.kint.2017.11.036.
8. *Kushnirenko S.* Hyperphosphatemia is a complication of reduced kidney functions and limit for renoprotection. *KIDNEYS,* 9(1): 39–46. doi: 10.22141/2307-1257.9.1.2020.196916.
9. *D'Alessandro C, Piccoli GB, Cupisti A.* The «phosphorus pyramid»: a visual tool for dietary phosphate management in dialysis and CKD patients. *BMC Nephrol.* 2015 Jan 20;16:9. doi: 10.1186/1471-2369-16-9.
10. *Barreto FC, Barreto DV, Massy ZA, Dreke TB.* Strategies for Phosphate Control in Patients With CKD. *Kidney Int Rep.* 2019 Jun 20;4(8):1043–1056. doi: 10.1016/j.ekir.2019.06.002.
11. *Berndt T, Kumar R.* Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annu Rev Physiol.* 2007;69:341–59. doi: 10.1146/annurev.physiol.69.040705.141729.
12. *Palmer SC, Gardner S, Tonelli M, Mavridis D, Johnson DW, Craig JC, French R, Ruospo M, Strippoli GF.* Phosphate-Binding Agents in Adults With CKD: A Network Meta-analysis of Randomized Trials. *Am J Kidney Dis.* 2016 Nov;68(5):691–702. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.05.015.
13. *Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, Yoon C, Gales B, Sider D, Wang Y, Chung J, Emerick A, Greaser L, Elashoff RM, Salusky IB.* Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 2000 May 18;342(20):1478–83. doi: 10.1056/NEJM200005183422003.
14. *Ogata H, Fukagawa M, Hirakata H, Kagimura T, Fukushima M, Akizawa T.* LANDMARK Investigators and Committees. Effect of Treating Hyperphosphatemia With Lanthanum Carbonate vs Calcium Carbonate on Cardiovascular Events in Patients With Chronic Kidney Disease Undergoing Hemodialysis: The LANDMARK Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2021 May 18;325(19):1946–1954. doi: 10.1001/jama.2021.4807.
15. *Jamal SA, Vandermeer B, Raggi P, Mendelssohn DC, Chatterley T, Dorgan M, Lok CE, Fitchett D, Tsuyuki RT.* Effect of calcium-based versus non-calcium-based phosphate binders on mortality in patients with chronic kidney disease: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2013 Oct 12;382(9900):1268–77. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60897-1.
16. *Ferramosca E, Burke S, Chasan-Taber S, Ratti C, Chertow GM, Raggi P.* Potential antiatherogenic and anti-inflammatory properties of sevelamer in maintenance hemodialysis patients. *Am Heart J.* 2005 May;149(5):820–5. doi: 10.1016/j.ahj.2004.07.023.
17. *Smith ER, Pan FFM, Hewitson TD, Toussaint ND, Holt SG.* Effect of Sevelamer on Calciprotein

- Particles in Hemodialysis Patients: The Sevelamer Versus Calcium to Reduce Fetuin-A-Containing Calciprotein Particles in Dialysis (SCaRF) Randomized Controlled Trial. *Kidney Int Rep.* 2020 Jun 29;5(9):1432-1447. doi: 10.1016/j.ekir.2020.06.014.
18. Navarro-Gonzalez JF, Mora-Fernandez C, Muros de Fuentes M, Donate-Correa J, Caza a-Prez V, Garcia-Prez J. Effect of phosphate binders on serum inflammatory profile, soluble CD14, and endotoxin levels in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 Sep;6(9):2272-9. doi: 10.2215/CJN.01650211.
19. Peres AT, Dalboni MA, Canziani ME, et al. Effect of phosphate binders on oxidative stress and inflammation markers in hemodialysis patients. *Hemodial Int.* 2009 Jul;13(3):271-7. doi: 10.1111/j.1542-4758.2009.00369.x.
20. Ruospo M, Palmer SC, Natale P, Craig JC, Vecchio M, Elder GJ, Strippoli GF. Phosphate binders for preventing and treating chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 Aug 22;8(8):CD006023. doi: 10.1002/14651858.CD006023.pub3.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research article

O. Susla¹, O. Bushtynska¹, S. Danyliv¹, L. Logoyda¹, A. Gozhenko²

doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.09

The role of vitamins K and D in the processes of ectopic calcification in patients with chronic kidney disease: The current state of the problem

¹I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

²SE «Ukrainian Scientific-Research Institute of Transport Medicine of Ministry of Health of Ukraine», Odesa, Ukraine

Citation:

Susla O, Bushtynska O, Danyliv S, Logoyda L, Gozhenko A. The role of vitamins K and D in the processes of ectopic calcification in patients with chronic kidney disease: the current state of the problem. Ukr J Nephrol Dial. 2022;2(74):73-82. doi: 10.31450/ukrjnd.3(75).2022.09.

Article history:

Received June 07, 2022

Received in revised form

August 02, 2022

Accepted August 02, 2022

Abstract. *The generalization of experimental and clinical data currently allows us to confirm the important pathogenetic role of vitamin K deficiency in cardiovascular calcification and atherosclerotic damage in chronic kidney disease (CKD). It was highlighted that, apart from vitamin K, the activity and expression of matrix Gla protein, which strongly inhibits vascular calcification, depended to a considerable extent on vitamin D. The efficacy and safety of the combined intake of vitamin K and D in slowing the progression of ectopic calcification, reducing cardiovascular risk, and improving prognosis in CKD patients need to be confirmed in multicenter randomized controlled trials.*

Key words: *chronic kidney disease, cardiovascular system, ectopic calcification, atherosclerosis, vitamin K, vitamin D, matrix Gla protein, osteocalcin, pathogenesis, treatment.*

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

© O. Susla, O. Bushtynska, S. Danyliv, L. Logoyda, A. Gozhenko, 2022.

Correspondence should be addressed to Oleksandr Susla: oleksandrsusla@ukr.net



© Сусла О. Б., Буштинська О. В., Данилів С. В., Логойда Л. С., Гоженко А. І., 2022

УДК: 616.61-036.12:616.12/14:577.161.2/5

О. Б. Сусла¹, О. В. Буштинська¹, С. В. Данилів¹, Л. С. Логойда¹, А. І. Гоженко²

Роль вітамінів К і D у процесах ектопічної кальцифікації у хворих на хронічну хворобу нирок: сучасний стан проблеми

¹Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна

²ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України», Одеса, Україна

Резюме. Узагальнення експериментальних і клінічних даних дозволяють на сьогодні стверджувати про важливу патогенетичну роль дефіциту вітаміну К у механізмах кардіоваскулярної кальцифікації та атеросклеротичного ушкодження у хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН). Підкреслено, що активність та експресія матриксного *Gla*-протеїну як потужного інгібітора судинної кальцифікації, окрім вітаміну К, суттєво залежить від вітаміну D. Ефективність і безпечність поєднаного застосування добавок вітамінів К і D щодо сповільнення прогресування ектопічної кальцифікації, зменшення серцево-судинного ризику та покращення прогнозу у хворих на ХХН вимагають підтвердження в багатоцентрових рандомізованих контрольованих дослідженнях.

Ключові слова: хронічна хвороба нирок, серцево-судинна система, ектопічна кальцифікація, атеросклероз, вітамін К, вітамін D, матриксний *Gla*-протеїн, остеокальцин, патогенез, лікування.

Згідно з сучасними досягненнями науки [1-15], у парадигмі нирково-кістково-судинного синдрому, процесах ектопічної кальцифікації та атеросклеротичного ушкодження неабияку роль може відігравати порушення метаболізму вітамінів К і D. Вважається, що при хронічній хворобі нирок (ХХН) вітамін К є важливим регулятором судинної кальцифікації [3, 4], а дефіцит вітаміну D асоціюється із дезадаптивним ремоделюванням серцево-судинної системи [12, 15]. Разом із тим дані таких рандомізованих контрольованих клінічних досліджень, як PRIMO, OPERA, VITAL [16-18], суперечливі, не дають чіткої відповіді щодо ефективності приймання активних метаболітів вітаміну D або його аналогів на зниження серцево-судинного ризику в загальній популяції та при ХХН. На сьогодні вітамін К, як правило, стає «новим» вітаміном D, проте остаточні та проміжні результати великих обсерваційних досліджень – VIKI Study, Valkyrie Study, PREVEND Study [19-21] та інших клінічних інтервенцій [22-24] – щодо впливу вітаміну К на судинну кальцифікацію, загальну та кардіоваскулярну смертність у хворих на ХХН обнадійливі, але неоднозначні. Накопичення експериментальних та клінічних даних про статус вітамінів К і D у рамках синдрому мінеральних і кісткових порушень (МКП) у хворих на ХХН (ХХН-МКП), їх аналіз та узагальнення, можуть визначати нові терапевтичні стратегії для попередження та лікування ектопічної

кальцифікації у недіалізних та діалізних пацієнтів, покращити показники довготривалого прогнозу.

Вітамін К є жиророзчинним вітаміном. Вітамін К бере участь у метаболізмі кісткової та сполучної тканини, відповідає за процес згортання крові. Існує в трьох структурних формах: вітамін К1 – філохінон, вітамін К2 – менахінон (МХ), вітамін К3 – менадіон, які відрізняються один від одного довжиною і насиченістю бокового ланцюга. Відомо також естерифікована форма менадіону (вітамін К4). К1 та К2 є природними формами вітаміну К, водночас, К3 – синтетичний, наявний лише в добавках [5, 6, 25]. Вітамін К1 синтезується рослинами, відтак – основними його джерелами є темно-зелені листові овочі, рослинні масла. Вітамін К2 є продуктом життєдіяльності бактерій і міститься у зброджених продуктах тваринного походження. Незначна частина вітаміну К2 синтезується в товстій кишці [5, 6, 25]. Вітамін К2 представлений декількома хімічними варіантами (вітамерами), які позначаються МХ-п, де «п» вказує на кількість ізопренільних ланок у боковому ланцюгу. Найпоширенішою формою МХ у людському організмі є коротколанцюговий МХ-4, який утворюється в печінці шляхом перетворення вітаміну К1 у вітамін К2. МХ-4 за допомогою холестерину ліпопротеїнів низької щільності транспортується до таких запечіткованих тканин, як кістки, артерії та макрофаги [26]. Натомість довголанцюгові форми МХ представлені МХ-7, МХ-10, причому їжа людини особливо насичена МХ-7. Якщо ж кількість ізопренільних ланок у боковому ланцюгу молекули вітаміну К дорівнює 0, тоді ця хімічна формула називається вітаміном К3 [5, 25].

Вітамін К необхідний для коректної роботи групи білків, залежних від нього, серед яких осо-

Сусла Олександр Богданович
oleksandrususla@ukr.net

бливе і важливе місце відводиться остеокальцину та матричному Gla-протеїну (MGP) – факторам кісткової мінералізації та ектопічної кальцифікації. Вітамін К є кофактором ферменту γ -глутаматкарбоксилази, що каталізує карбоксилювання глутамінової кислоти з утворенням γ -карбоксиглутамінової кислоти (Gla), яка потім транспортується у позаклітинний простір. Добре відомо, що саме некарбоксилюваний MGP асоційований із судинною кальцифікацією [2, 6, 10], а фосфорильований MGP є потужним природним інгібітором ектопічної кальцифікації [4, 5, 26]. Серед факторів, що регулюють експресію та активність MGP, Гарбузова і співавт. [10] виділяють вітамін D, ретиноеву кислоту, позаклітинні іони кальцію, цитокіни та деякі гормони.

На відміну від остеокальцину, специфічного для кісток, MGP експресується в багатьох тканинах, переважно у клітинах серця і медіального шару артеріальних судин [10]. Дослідження, проведені на культурах клітин, вказують на те, що MGP також виражено експресується в ендотелії, звідки, найімовірніше, потрапляє в системний кровоплин [1]. Вважають, що MGP, отриманий із ендотеліальних клітин, відіграє важливу роль у запобіганні ендотеліально-мезенхімальних трансформацій, які можуть сприяти кальцифікації клітин [28]; водночас, відсутність MGP може спричинити артеріо-венозні мальформації [1]. MGP містить п'ять залишків α -аміноглутарової кислоти і три серинові залишки, що вимагають, відповідно, карбоксилювання глутамату та фосфорилування серину для набуття MGP повністю функціональних властивостей [1, 5], відтак попередження формування кальцифікації артерій. Ідентифікація рівнів циркулюючого MGP може мати клінічний потенціал для ранньої діагностики ектопічної кальцифікації, своєчасного терапевтичного втручання та надання додаткової прогностичної інформації щодо серцево-судинних подій поза традиційними факторами ризику [5, 10].

Доведено, що антикальцифікуючий вплив MGP зумовлений наступними механізмами: 1) зв'язуванням з іонами кальцію та кристалами гідроксиапатиту; 2) зв'язуванням з компонентами позаклітинного матриксу; 3) взаємодією з кістковим морфогенетичним білком 2 або BMP-2 й уникненням остеогенної диференціації гладком'язових клітин судин; 4) участю у регуляції апоптозу [4, 10]. Згідно з останніми даними [5], важливим аспектом позитивних ефектів MGP є генерація частинок кальційпротеїну з більш низьким відсотком їх вторинних форм за допомогою Gla через стабілізацію везикул матриксу та кальцій-фосфатних біонів. Вивчення алельних варіантів гена MGP має важливе значення у зв'язку з можливою асоціацією із розвитком серцево-судинної патології та ектопічної кальцифікації [1, 10]. Показано, що в мишей із ушкодженим алелем MGP формується масивна

кальцифікація аорти, її гілок, що призводить до їх розриву та розвитку кровотеч, відбувається порушення кальцифікації хрящів, ровиваються остеопенія та переломи [27]. У кальцифікованих артеріях виявляється зменшення експресії маркерів гладком'язових клітин судин і збільшення експресії RUNX2 транскрипційного фактора і остеопонтину [6].

Варто відзначити, що споживання зелених листових овочів із високим вмістом вітаміну К збільшує ризик гіперкаліємії, а сиру з надлишковою концентрацією вітамінів К і D підвищує рівень фосфатів в сироватці крові [5, 25]. Тому дефіцит вітаміну К є поширеним явищем у хворих на ХХН, оскільки вони споживають менше овочів через обмеження калію в раціоні [5]. Більше того, дефіцит вітаміну К, поряд із іншими біомаркерами МІА-синдрому, визначають при ХХН у пацієнтів із аноресією та гастроінтестинальними розладами [5]. Однією з можливих причин недостатньої кількості вітаміну К у хворих на ХХН може бути використання фосфатбіндерів. Дослідження *in vitro* стверджують, що багато фосфатзв'язувальних засобів (включаючи лантану карбонат і кальцію карбонат) захоплюють вітамін К у кишечнику, перешкоджаючи його всмоктуванню [4, 6, 29]. Лише такі фосфатбіндери, як комплекс оксигідроксид заліза та севеламеру карбонат не зв'язують у великій кількості вітамін К [29]. Субклінічний дефіцит вітаміну К зі значною частотою (аж до 30 %) виявляють у хворих із термінальною нирковою недостатністю (ТНН), які отримують діалізне лікування, причому сироваткова концентрація вітаміну К не корелює з такими показниками ліпідного профілю, як триацилгліцероли або холестерин ліпопротеїнів високої щільності [5]. У дослідженні Fusaro і співавт. [30] показано, що вміст вітаміну К1 є особливо низьким у гемодіалізній (ГД) популяції. Крім того, при аденін-індукованій нефропатії концентрація МХ не підвищувалась після тривалого вживання дієти, багатой на вітамін К, протягом 7 тижнів [5]. McCabe і співавтори повідомляють про різні схеми розподілу ізоформ вітаміну К у щурів із ХХН [31]; більше того, експресія ферментів рециркуляції вітаміну К (Vkor) та його утилізації (Ggcs) у грудній аорті експериментальних тварин при ХХН зменшується. Вважають, що дефіцит функціонального вітаміну К є предиктором судинної кальцифікації у хворих на ХХН. Так, Nigwekar і співавт. [32] довели, що низький рівень відносного карбоксилюваного MGP є провісником кальцифікації у пацієнтів із ТНН. Kaesler і співавтори продемонстрували, що активність γ -глутаматкарбоксилази знижується в печінці та нирках щурів, які отримували аденін, причому зниження активності γ -глутаматкарбоксилази було пов'язано з кальцифікацією аорти [33]. У хворих на ХХН некарбоксилюваний MGP асоціюється з жорсткістю артерій, але після приймання вітаміну К рівень неактивного MGP знижується [5]. У па-

цієнтів із трансплантованою ниркою концентрація вітаміну К може бути нижчою, ніж у загальній популяції, причому недостатній рівень вітаміну К асоціюється з більш високим вмістом десфосфо-некарбоксілюваного MGP [5]. Незважаючи на те, що немає прямих доказів щодо впливу уремичного середовища на активність γ -глутаматкарбоксилази в тканинах або експресії її активності у людей, дефіцит вітаміну К є розповсюдженим феноменом у хворих на ХХН.

Згідно з даними багатьох клінічних досліджень [1, 5, 6, 19], кількість поглинутого філохінону або МХ була предиктивною щодо кальцифікації коронарних артерій. Rattazzi і співавтори довели, що варфарин, антагоніст вітаміну К, спричиняє кальцифікацію аортального клапана (КАК) на моделі атеросклерозу у мишей [34]. Приймання вітаміну К послаблювало судинну кальцифікацію, пригнічуючи Toll-like-рецептори при атеросклерозі в умовах експерименту [5]. Вважають, що атеросклеротичне uszkodження, мінералізація структур судинної стінки є результатом порушення балансу між прокальцифікуючими (остео/хондрогенними) та антикальцифікуючими чинниками; до останніх віднесено MGP [1, 6, 10]. Дефіцит вітаміну К у постменопаузальних жінок супроводжується зниженням мінеральної щільності кісткової тканини і кальцифікацією атеросклеротичних бляшок у черевній аорті [6]. Некарбоксілюваний MGP також визначають у кальцифікованих бляшках старих щурів [10, 27]. Застосування варфарину може посилювати кальцифікацію судин у ГД-пацієнтів [2, 4], що підтверджено даними загальнонаціонального обстеження, проведеного Nigwekar зі співавторами [35]. Крім того, Zaragatski і співавтори довели, що антагоністи вітаміну К погіршують неоінтимальну гіперплазію у щурів із ХХН [36]. Важливо, що вітамін К-залежне карбоксилювання остеокальцину модулює ремоделювання кісткової тканини. При високообмінних хворобах кісток карбоксилюваний остеокальцин сприяє формуванню кістки та її мінералізації [6]. У цих умовах кількість кальцію і фосфату, що вивільняється з кістки до судинної стінки, буде меншою, відтак процес кальцифікації може утруднитись [5]. Цікаво, що залишки Gla зв'язуються з кальцієм та модулюють такі кісткові протеїни, як BMP-2/BMP-4 [27], а MGP є Gla-залежним інгібітором цих маркерів мінерального метаболізму та білків теплового шоку HSP-70 [10].

На сьогодні проведено та проводяться декілька проспективних рандомізованих контрольованих досліджень для оцінки впливу добавок вітаміну К на прогресування ектопічної кальцифікації та серцево-судинні наслідки у загальній та ГД-популяції (ClinicalTrials.gov; ідентифікатори: NCT01742273, NCT01528800, NCT00785109, NCT01002157, NCT01922804, NCT02870829, NCT02976246). Досліджують ефективність ривароксабану щодо прогресування атеросклеротичних бляшок, їх

композицію, у коронарних судинах, КАК та артеріальної жорсткості при недіалізній стадії ХХН (ClinicalTrials.gov; ідентифікатори: NCT02066662, NCT02161965). Згідно з даними Valkyrie Study [21], тривалий приймання ривароксабану та вітаміну К2 (2000 мкг три рази на тиждень, МХ-7) у ГД-пацієнтів із фібриляцією передсердь призводить до вірогідного зниження десфосфо-некарбоксилюваного MGP, проте не супроводжується зменшенням коронарного кальцієвого індексу за Agatston, послабленням ступеня кальцифікації аорти чи редукцією кардіоваскулярних подій. У нещодавній праці Oikonomaki зі співавторами показали, що застосування вітаміну К2 (200 мкг/добу, МХ-7) протягом 12 місяців у хворих на ХХН 5Д стадії, яких лікували хронічним ГД, не зупиняє прогресування аортальної кальцифікації [22]. У дослідженні iPASC-HD [37], яке розпочато у 2012 р., вивчають ефективність 12-місячного перорального прийому філохінону (10 мг три рази на тиждень) на прогресування кальцифікації коронарних судин у ГД-хворих. Проспективне багатоцентрове рандомізоване контрольоване дослідження VitaVask trial [11] завершено у 2020 р. і ми очікуємо остаточних висновків з доцільності при ТНН застосовувати пероральну форму вітаміну К1 (5 мг три рази на тиждень) щодо прогресування кардіоваскулярної кальцифікації, розвитку загальної і серцево-судинної смертності. Дані масштабного дослідження Rotterdam Study [38], яке охоплювало 4807 пацієнтів із відсутністю інфаркту міокарда в анамнезі та тривалістю спостереження понад 10 років, визначили, що адекватний щоденний прийом МХ є важливим інструментом попередження ішемічної хвороби серця (ІХС), збільшення вираження судинної кальцифікації, зниження кардіоваскулярного ризику та сприятливого прогнозу. Більше того, у 2017 р. Brandenburg і співавт. [39] довели, що 1-річне застосування вітаміну К1 пригнічує прогресування стенозу КАК у хворих загальної популяції.

Накопичений клінічний досвід підтверджує чітку асоціацію використання варфарину з поширеністю кальцифікації у хворих на ХХН 5Д стадії. Серед японської ГД-популяції ризик розвитку кальцифікуючої уремичної артеріолопатії у хворих, які отримували непрямі антикоагулянти, в 11 разів вищий, ніж у пацієнтів, які не приймали антагоністів вітаміну К [40]; предикторами кальцифікації у зазначеній когорті осіб були: 1) терапія варфарином; 2) дефіцит сироваткового альбуміну. У США частота кальцифікуючої уремичної артеріолопатії у ГД-пацієнтів у 4,3 раза є вищою на лікуванні варфарином [41]. Згідно з даними німецького реєстру кальцифікації [42], серед понад 200 пацієнтів із ТНН та кальцифікуючою уремичною артеріолопатією близько 50 % випадків захворювання зумовлено застосуванням непрямих антикоагулянтів. Оскільки кальцифікація – це прототип судинної кальцифікації при ХХН, призводить до проліфе-

рації інтими артеріол, ендovasкулярного фіброзу, внутрішньосудинного тромбозу та некрозу тканин, характеризується агресивним перебігом із розвитком смертельних наслідків, застосування вітаміну К у хворих із ТНН, на думку [3, 7, 29], може бути доцільним, безпечним і ліберальним. Важливо, що робоча група «ХХН-МКП» ERA застерігає від рутинного застосування антагоністів до вітаміну К у діалітичних пацієнтів [43]. Варто відзначити, що в 2019 р. завершено другу фазу пілотного рандомізованого плацебо-контрольованого клінічного дослідження VitK-CUA щодо оцінки впливу синтетичного аналога вітаміну К фітоменадіону на процеси кальцифікації у хворих на ХХН 5Д стадії, які отримують хронічний ГД (ClinicalTrials.gov; ідентифікатор: NCT02278692). Встановлено, що фітоменадіон достовірно знижував кількість некарбоксілюваного MGP у сироватці крові та асоціювався з вірогідним зменшенням загальної смертності у зазначеній категорії хворих. Цікавим є й те, що експериментально встановлено послаблення кальцифікації медії артерій, індукованої варфарином, під впливом статинів [27], причому механізмом зазначеної ефективності може бути гальмування апоптозу шляхом вітамін К-залежної активації гена Gas-6, фактора росту.

Таким чином, приймання вітаміну К може редукувати некарбоксілюваний MGP у хворих на ХХН, сповільнити прогресування кардіоваскулярної кальцифікації [5, 25, 29], що підтверджує його патогенетичну роль у цих процесах. Підвищене споживання вітаміну К може збільшити карбоксілювання остеокальцину та MGP [6]. Доведено, що вітамін К1 не активує стероїд і ксенобіотичний рецептор, водночас МХ-4 виконує функції ліганда прегнанового Х рецептора, дефіцит якого асоціюється з втратою кісткової маси [44]. Важливо, що при ХХН нестача вітаміну К1 поєднується з остеопорозом і крихкістю кісток [45], а недостатність МХ-4 і МХ-7 є предикторами кальцифікації аорти та клубової артерії відповідно [19, 46]. МХ-7 може бути оптимальною формою вітаміну К в якості середника, що проявляє властивості зменшувати судинну кальцифікацію, зокрема через тривалий період напіввиведення. Більше того, вітамін К2 характеризується найбільшою спорідненістю до MGP [6, 10]. Короткотривалий (4-6 тижнів) прийом добавки МХ-7 у дозі 360 мкг/добу знижує рівень десфосфо-некарбоксілюваного MGP у ГД-пацієнтів, сприяє стійкій модифікації MGP [29].

Крім сприятливого впливу на bone health, приймання МХ-7 у високих дозах успішно блокує жорсткість судин, асоційовану з віком [6]. Більше того, МХ-7, на відміну від плацебо, приводить до зниження ступеня тяжкості кальцифікації аорти та відносного ризику ІХС [6]. Тривають клінічні випробування щодо оцінки ефективності вітаміну К2 з метою послаблення кальцифікації вінцевих судин у загальній популяції [47]. Встановлено, що вико-

ристання довголанцюгового МХ було пов'язане зі зменшенням навантаження коронарних артерій кальцієм, послабленням артеріальної жорсткості і покращенням еластичних властивостей каротидних судин у здорових жінок у постменопаузі [38, 48]. В іншому рандомізованому клінічному дослідженні [6] добавка вітаміну К1 сповільнила прогресування кальцифікації вінцевих артерій у здорових людей похилого віку з наявністю раніше діагностованого атеросклеротичного ушкодження, що свідчить про потенційну ефективність вітаміну К для лікування ектопічної кальцифікації при ХХН.

Особливий інтерес на сьогодні викликає дослідження ефективності добавки вітаміну К2 на основі Natto та лікарського засобу менатетренону, зареєстрованого в Японії, на механізми судинної кальцифікації та остеопорозу при ХХН, покликаної, насамперед, на усунення порушеної продукції вітаміну К ендогенною мікробіотою [49]. Активно проводять дослідження Trevasc-HDR, trial, RenaKvit trial для визначення впливу при ТНН тривалої терапії філохінону та МХ на прогресування судинної кальцифікації, артеріальної жорсткості, остеодіфіцитних станів, розвитку переломів та зниження загальної і кардіоваскулярної смертності [50, 51]. Варто відзначити, що на сьогодні режими застосування та дозування різних форм вітаміну К при ХХН активно досліджують [3, 6, 7, 41], оцінюють їх безпечність і ефективність, що є вимогою доказової медицини.

Таким чином, інтервенційні дослідження щодо оцінки ефективності добавок вітаміну К для профілактики кальцифікації серцево-судинної системи при ХХН перспективні, мають достатнє як клінічне, так і патофізіологічне підґрунтя. Разом із тим, враховуючи складний і мультимодальний характер процесів кардіоваскулярної кальцифікації в умовах ХХН, ізольований терапевтичний вплив на порушення метаболізму вітаміну К-залежних білків, на один із патогенетичних механізмів ектопічної кальцифікації навряд чи повністю буде достатнім для вирішення проблеми. Залишаються відкритими питання пріоритетності застосування вітамінів К1 або К2, так само й доцільності приймання добавок вітаміну К усім хворим із ТНН.

Як уже зазначалось вище, експресія та активність MGP залежить від вітаміну D. Показано, що 1,25 (ОН)₂ D₃ (кальцитріол) збільшує синтез мікроРНК MGP в остеоцитах людини, а також у хондроцитах, остеоцитах і клітинах остеосаркоми шурів та не впливає на експресію гена MGP у фібробластах, хондроцитах і остеоцитах людини [10]. З'ясовано, що вітамін D може стимулювати синтез остеокальцину раніше й при більш низькому вмісті регулятора порівняно з генерацією MGP [10]. Важливо, що у фізіологічних концентраціях кальцитріол посилює транскрипцію гена MGP у гладком'язових клітинах судин [5]. У дослідженні [52] вітамін К сприяв остеогенезу в мезенхімаль-

них стовбурових клітинах людини шляхом активації вивільнення остеокальцину, опосередкованого вітаміном D3. Більше того, Roop і співавт. [53] показали, що поєднане застосування вітаміну K2 з кальцитріолом підвищує анаболічні процеси в остеообластах щурів із діабетом. Відтак, посилюючи анаболізм кісток, ектопічна кальцифікація може бути зменшена. З іншого боку, застосування фармакологічної дози добавки 1,25 (ОН)₂ D3 індукує надмірне всмоктування кальцію і фосфату у кишечнику, що, у свою чергу, призводить до судинної кальцифікації [5]. Дослідження *in vitro* визначило, що приймання вітаміну K полегшує кальцифікацію аорти в експерименті, зумовлену вітаміном D [5]. Крім того, MGP пригнічує остеобластну диференціацію гладком'язових клітин судин [6]. Таким чином, оскільки вітамін D безпосередньо стимулює вітамін K-залежний синтез MGP *in vivo* та *in vitro*, його карбоксилювання та фосфорилування, підтримка вітаміном D може послабити кальцифікацію артеріальних судин.

Дефіцит вітаміну D є частим ускладненням у хворих на ХХН, зумовлений такими причинами: 1) протеїнурією; 2) зниженням швидкості клубочкової фільтрації; 3) тубулоінтерстиціальним ураженням; 4) призначенням активних метаболітів вітаміну D у терапевтичних дозах [5, 12]. Нестача вітаміну D при ХХН пов'язана з розвитком багатьох патологічних станів, включаючи інфекційні процеси, ендотеліальну дисфункцію, дезадаптивне ремоделювання міокарда, а також інсулінорезистентність [14, 15, 25, 54]. Дефіцит вітаміну D визначається на основі сироваткової концентрації 25-гідрокси-вітаміну D (25 (ОН) D) – кальцидіолу. На підставі клінічних даних встановлено, що гіповітаміноз D є одним із етіологічних чинників судинної кальцифікації [5, 25, 54]. Дефіцит вітаміну D асоціюється з прогресуванням серцево-судинних захворювань через інсулінорезистентність та активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової системи [12, 53, 55]. Зменшення чутливості тканин до інсуліну пов'язане зі зниженням реактивності ендотелію до напруження зсуву, водночас, активацію ренін-ангіотензинової системи, спричинену нестачею вітаміну D, доведено при діабетичній нефропатії на клінічних та експериментальних моделях [13, 15, 54, 55]. У дітей, хворих на ХХН, дефіцит вітаміну D асоціюється з частим розвитком артеріальної жорсткості, причому такі фактори ектопічної кальцифікації, як вік та інсулінорезистентність, були виключені з математичного розрахунку [56]. Збільшення кількості колагену в аорті та зменшення вмісту еластину зареєстровано у дефіцитних щодо рецепторів до вітаміну D (VDR) мишей [13]. Більше того, застосування кальцитріолу призводить до транскрипційної регуляції ендотеліальної синтази оксиду азоту, посилення його продукції, послаблює ушкодження/дисфункцію ендотелію, знижує жорсткість аорти, патологічне ремоделювання су-

дин та зменшує післянавантаження на міокард в експерименті [13]. Таким чином, дефіцит вітаміну D може бути чинником формування кардіоваскулярної кальцифікації в умовах ХХН.

Клінічні дані вказують на те, що дефіцит вітаміну D та дефіцит вітаміну K мають синергічні ефекти щодо погіршення клінічного статусу та його наслідків. Van Ballegooijen і співавт. [9] встановили, що нестача вітаміну D (<50 ммоль/л) поряд з дефіцитом вітаміну K асоціюється з високим артеріальним тиском та ризиком розвитку артеріальної гіпертензії. O'Connell і співавт. [57] довели, що дефіцит кальцидіолу пов'язаний із низькою концентрацією некарбоксилюваного остеокальцину в сироватці крові та низьким вмістом мінералів у кістковій тканині, хоча приймання вітаміну D не підвищувало сироватковий рівень остеокальцину. У поперечному дослідженні Mayer і співавт. [58] з'ясували, що недостатні рівні 25 (ОН) D були пов'язані з вищим вмістом десфосфо-некарбоксилюваного MGP, відтак із більшою швидкістю поширення пульсової хвилі по аорті, причому поліморфізм VDR (фенотип GG) у поєднанні з нестачею вітаміну K був предиктором більш високої аортальної жорсткості. Оскільки дефіцити вітамінів D і K відіграють спряжену роль при остеопорозі та залежному від вітаміну K обміні білків, застосування зазначених регуляторів може сповільнити прогресування кальцифікації серцево-судинної системи у хворих на ХХН. Asemi і співавт. [59] продемонстрували, що синергічне приймання вітамінів D і K вірогідно покращило чутливість до інсуліну та зменшило максимальну товщину комплексу інтима-медіа загальної сонної артерії в осіб із цукровим діабетом 2 типу. Крім того, застосування вітаміну D у дозі 5 мкг/добу та вітаміну K2 у дозі 90 мкг/добу протягом 12 тижнів покращує артеріальну жорсткість [5]. Згідно з даними дослідження, проведеного в Італії [5], у ГД-пацієнтів, які приймали аналоги вітаміну D (20 %) визначались вищі концентрації загального та некарбоксилюваного остеокальцину, водночас, достовірного зв'язку між прийоманням вітаміну D та загальним і некарбоксилюваним MGP встановлено не було. Gigante і співавт. [52] повідомляють, що поєднане застосування вітамінів D і K справляє позитивний ефект на остеогенез, оскільки вітамін K посилює індукцію гена вітаміну D остеокальцину в мезенхімальних стовбурових клітинах. Більше того, в дослідженні *ex vivo* синергічні ефекти вітамінів D і K змогли послабити формування кінцевих продуктів глікування в остеообластах, відтак покращити фізіологію кістки [60]. Важливим є й те, що вітамін D зменшує утворення кристалічних форм частинок кальційпротеїну в реципієнтів ниркового алотрансплантату [5].

На підставі вищенаведених даних, можна стверджувати, що приймання вітаміну D покращує сироваткову концентрацію MGP та остеокальцину.

Оскільки MGP безпосередньо послаблює судинну кальцифікацію, а гладком'язові клітини судин або остеокальцин підтримують bone health, зменшуючи ектопічну кальцифікацію, добавки вітаміну D повинні стати перспективною мішенню за рахунок збільшення інгібування кальцифікації, залежної від вітаміну K, у т.ч. шляхом модуляції частинок кальційпротеїну та позаклітинних везикул. Враховуючи зв'язок дефіциту вітаміну D із смертністю у ГД-популяції [61], визначення пріоритетності адекватного застосування нативних форм вітаміну D у хворих на ХХН, ризиків і переваг, впливу на кінцеві серцево-судинні точки є одним із основних завдань сучасної нефрології [15, 25]. На сьогодні необхідні додаткові дослідження для визначення категорії хворих на ХХН із можливою максимальною користю від поєданого застосування вітамінів K і D.

Системне та комплексне вивчення статусу вітамінів K і D, їх метаболізму, у парадигмі нирково-кістково-судинного континууму є актуальним і доцільним як із точки зору проблеми ранньої діагностики кардіоваскулярної кальцифікації, так і розробки та оцінки ефективності патогенетичної терапії, її впливу на показники довготривалого сприятливого прогнозу. На наш погляд, інтервенції, спрямовані на кілька патологічних паралельних інтерактивних механізмів із використанням, наприклад адаптованих фармакологічних засобів, які можуть включати сполуки, що модулюють мінеральний і кістковий метаболізм, редукують активність хронічного запалення, послаблюють ушкодження ендотелію, сприяють його регенерації, відтак покращують серцево-судинний ризик, повинні стати корисним підходом для майбутніх досліджень. У прогностичному плані, на думку Ketteler і співавторів додаткова «поліпілюля»,

спрямована на bone and vascular health при всіх стадіях ХХН може складатися з вітамінів K, D і магнію, що вимагає ідеального дизайну дослідження для передбачення чистого ефекту від такого втручання в реальних клінічних сценаріях [3].

Таким чином, ектопічна кальцифікація є серйозним ускладненням ХХН, незалежним предиктором загальної і серцево-судинної смертності та компонентом синдрому ХХН-МКП. Узагальнення наукових даних дозволяють на сьогодні стверджувати про важливу патогенетичну роль дефіциту вітаміну K у механізмах кардіоваскулярної кальцифікації та атеросклеротичного ушкодження при ХХН, причому активність та експресія MGP як потужного інгібітора судинної кальцифікації, окрім вітаміну K, суттєво залежить від вітаміну D. Ефективність і безпечність поєданого застосування добавок вітамінів K і D щодо сповільнення прогресування ектопічної кальцифікації, зменшення серцево-судинного ризику та покращення прогнозу у хворих на ХХН вимагають підтвердження в багатоцентрових рандомізованих контрольованих дослідженнях.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника:

О. Б. Сула: ідея роботи, огляд і аналіз літературних джерел, написання статті;

О. В. Буштинська: огляд і аналіз літературних джерел, оформлення рукопису до друку;

С. В. Данилів: огляд і аналіз літературних джерел, літературне редагування статті;

Л. С. Логойда: огляд і аналіз літературних джерел;

А. І. Гоженко: ідея роботи, формулювання висновків.

Література (References):

1. Barrett H, O'Keefe M, Kavanagh E, Walsh M, O'Connor EM. Is Matrix Gla Protein Associated with Vascular Calcification? A Systematic Review. *Nutrients*. 2018;10(4):415. doi:10.3390/nu10040415.
2. Ketteler M, Rothe H, Brandenburg VM, Westenfeld R. The K-factor in chronic kidney disease: biomarkers of calcification inhibition and beyond. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(7):1267-1270. doi:10.1093/ndt/gfu053.
3. Ketteler M, Schanz M, Schrickler S. Vitamin K: should we supplement to protect the kidneys and the heart? *Nephrol Dial Transplant*. 2021;36(12):2196-2198. doi:10.1093/ndt/gfy291.
4. Schurgers LJ. Vitamin K: key vitamin in controlling vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2013;83(5):782-784. doi:10.1038/ki.2013.26.
5. Hou YC, Lu CL, Zheng CM, Chen RM, Lin YF, Liu WC, et al. Emerging role of vitamins D and K in modulating uremic vascular calcification: The aspect of passive calcification. *Nutrients*. 2019; 11(1): 152. doi.org/10.3390/nu11010152.
6. Wasilewski GB, Vervloet MG, Schurgers LJ. The Bone-Vasculature Axis: Calcium Supplementation and the Role of Vitamin K. *Front Cardiovasc Med*. 2019;6:6. doi:10.3389/fcvm.2019.00006.
7. Caluwé R, Verbeke F, De Vriese AS. Evaluation of vitamin K status and rationale for vitamin K supplementation in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2020;35(1):23-33. doi:10.1093/ndt/gfy373.
8. Peeters FECM, Dudink EAMP, Kimenai DM, Weijs B, Altintas S, Heckman LIB, et al. Vitamin K Antagonists, Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants, and Vascular Calcification in Patients with Atrial

- Fibrillation. *TH Open*. 2018;2(4):e391-e398. doi:10.1055/s-0038-1675578.
9. *van Ballegooijen AJ, Beulens JWJ, Keyzer CA, Navis GJ, Berger SP, de Borst MH, et al.* Joint association of vitamins D and K status with long-term outcomes in stable kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 2020;35(4):706-714. doi:10.1093/ndt/gfy399.
 10. *Garbuzova VYu, Ataman OV.* Matrix Gla-protein and its role in vascular wall calcification. *Fiziol Zh*. 2011;57(4):96-112. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22167840/>.
 11. *Krueger T, Schlieper G, Schurgers L, Cornelis T, Cozzolino M, Jacobi J, et al.* Vitamin K1 to slow vascular calcification in haemodialysis patients (VitaVasK trial): a rationale and study protocol. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(9):1633-1638. doi:10.1093/ndt/gft459.
 12. *Keung L, Perwad F.* Vitamin D and kidney disease. *Bone Rep*. 2018;9:93-100. doi:10.1016/j.bonr.2018.07.002.
 13. *Andrukhova O, Slavic S, Zeitz U, Riesen SC, Heppelmann MS, Ambrisko TD, et al.* Vitamin D is a regulator of endothelial nitric oxide synthase and arterial stiffness in mice. *Mol Endocrinol*. 2014;28(1):53-64. doi:10.1210/me.2013-1252.
 14. *Vila Cuenca M, van Bezu J, Beelen RHJ, Vervloet MG, Hordijk PL.* Stabilization of cell-cell junctions by active vitamin D ameliorates uraemia-induced loss of human endothelial barrier function. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(2):252-264. doi:10.1093/ndt/gfy111.
 15. *Bacchetta J, Pelletier S.* Vitamin D deficiency is associated with mortality in maintenance dialysis: moving forward from epidemiology to clinical trials. *Nephrol Dial Transplant*. 2018;33(10):1679-1682. doi:10.1093/ndt/gfy122.
 16. *Thadhani R, Appelbaum E, Pritchett Y, Chang Y, Wenger J, Tamez H, et al.* Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA*. 2012;307(7):674-2014;27(5):483-94. doi:10.1001/jama.2012.120.
 17. *Wang A Y-M, Fang F, Chan J, Wen Y-Y, Oing S, Chan I H-S, et al.* Effect of paricalcitol on left ventricular mass and function in CKD – the OPERA trial. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(1):175-186. doi:10.1681/ASN.2013010103.
 18. *Manson JE, Bassuk SS, Buring JE, VITAL Research Group.* Principal results of the VITamin D and Omega-3 Trial (VITAL) and updated meta-analyses of relevant vitamin D trials. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;198:105522. doi:10.1016/j.jsbmb.2019.105522.
 19. *Fusaro M, Tripepi G, Plebani M, Politi C, Aghi A, Taddei F, et al.* The Vessels-Bone Axis: Iliac Artery Calcifications, Vertebral Fractures and Vitamin K from VIKI Study. *Nutrients*. 2021;13(10):3567. doi:10.3390/nu13103567.
 20. *Riphagen IJ, Keyzer CA, Drummen NEA, de Borst MH, Beulens JWJ, Gansevoort RT, et al.* Prevalence and Effects of Functional Vitamin K Insufficiency: The PREVEND Study. *Nutrients*. 2017;9(12):1334. doi:10.3390/nu9121334.
 21. *De Vriese AS, Caluwé R, Pyfferoen L, De Bacquer D, De Boeck K, Delanote J, et al.* Multicenter Randomized Controlled Trial of Vitamin K Antagonist Replacement by Rivaroxaban with or without Vitamin K2 in Hemodialysis Patients with Atrial Fibrillation: the Valkyrie Study. *J Am Soc Nephrol*. 2020;31(1):186-196. doi:10.1681/ASN.2019060579.
 22. *Oikonomaki T, Papatirou M, Ntrinas T, Kalogeropoulou C, Zabakis P, Kalavrizioti D, et al.* The effect of vitamin K2 supplementation on vascular calcification in haemodialysis patients: a 1-year follow-up randomized trial. *Int Urol Nephrol*. 2019;51(11):2037-2044. doi:10.1007/s11255-019-02275-2.
 23. *Caluwé R, Vandecasteele S, Van Vlem B, Vermeer C, De Vriese AS.* Vitamin K2 supplementation in haemodialysis patients: a randomized dose-finding study. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(7):1385-1390. doi:10.1093/ndt/gft464.
 24. *Westenfeld R, Krueger T, Schlieper G, Cranenburg EC, Magdeleyns EJ, Heidenreich S, et al.* Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial. *Am J Kidney Dis*. 2012;59(2):186-195. doi:10.1053/j.ajkd.2011.10.041.
 25. *Lee SM, An WS.* Supplementary nutrients for prevention of vascular calcification in patients with chronic kidney disease. *Korean J Intern Med*. 2019;34(3):459-469. doi:10.3904/kjim.2019.125.
 26. *Ivanova D, Zhelev Z, Getsov P, Nikolova B, Aoki I, Higashi T, et al.* Vitamin K: Redox-modulation, prevention of mitochondrial dysfunction and anticancer effect. *Redox Biology*. 2018;16:352-358. doi:10.1016/j.redox.2018.03.013.
 27. *Egshatyan LV, Mokrysheva NG.* Ectopic calcification in chronic kidney disease. Part 1. Classification and pathogenesis. *Nephrology*. 2017;21(4):30-39. doi:10.24884/1561-6274-2017-21-4-30-39.
 28. *Yao Y, Jumabay M, Ly A, Radparvar M, Cubberly MR, Boström KI.* A role for the endothelium in vascular calcification. *Circ Res*. 2013;113(5):495-504. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.301792.
 29. *Nitta K, Ogawa T, Hanafusa N, Tsuchiya K.* Recent Advances in the Management of Vascular Calcification in Patients with End-Stage Renal Disease. *Contrib Nephrol*. 2019;198:62-72. doi:10.1159/000496532.
 30. *Fusaro M, D'Alessandro C, Noale M, Tripepi G, Plebani M, Veeronese N, et al.* Low vitamin K1 intake

- in haemodialysis patients. *Clin Nutr.* 2017;36(2):601-607. doi:10.1016/j.clnu.2016.04.024.
31. McCabe KM, Booth SL, Fu X, Ward E, Adams MA, Holden RM. Vitamin K Metabolism in a Rat Model of Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol.* 2017;45(1):4-13. doi:10.1159/000451068.
 32. Nigwekar SU, Bloch DB, Nazarian RM, Vermeer C, Booth SL, Xu D, et al. Vitamin K-Dependent Carboxylation of Matrix Gla Protein Influences the Risk of Calciphylaxis. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(6):1717-1722. doi:10.1681/ASN.2016060651.
 33. Kaesler N, Magdeleyns E, Herfs M, Schettgen T, Brandenburg V, Fliser D, et al. Impaired vitamin K recycling in uremia is rescued by vitamin K supplementation. *Kidney Int.* 2014;86(2):286-293. doi:10.1038/ki.2013.530.
 34. Rattazzi M, Faggini E, Bertacco E, Nardin C, Pagliani L, Plebani M, et al. Warfarin, but not rivaroxaban, promotes the calcification of the aortic valve in ApoE^{-/-} mice. *Cardiovasc Ther.* 2018;36(4):e12438. doi:10.1111/1755-5922.12438.
 35. Nigwekar SU, Zhao S, Wenger J, Hymes JL, Maddux FW, Thadhani RI, et al. A Nationally Representative Study of Calcific Uremic Arteriopathy Risk Factors. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(11):3421-3429. doi:10.1681/ASN.2015091065.
 36. Zaragatski E, Grommes J, Schurgers LJ, Langer S, Kennes L, Tamm M, et al. Vitamin K antagonism aggravates chronic kidney disease-induced neointimal hyperplasia and calcification in arterialized veins: role of vitamin K treatment? *Kidney Int.* 2016;89(3):601-611. doi:10.1038/ki.2015.298.
 37. Holden RM, Booth SL, Day AG, Clase CM, Zimmerman D, Moist L, et al. Inhibiting the progression of arterial calcification with vitamin K in Hemodialysis patients (iPACK-HD) trial: rationale and study design for a randomized trial of vitamin K in patients with end stage kidney disease. *Can J Kidney Health Dis.* 2015;2:17. doi:10.1186/s40697-015-0053-x.
 38. Geleijnse JM, Vermeer C, Grobbee DE, Schurgers LJ, Knapen MH, van der Meer IM, et al. Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: The Rotterdam Study. *J Nutr.* 2004;134(11):3100-3105. doi:10.1093/jn/134.11.3100.
 39. Brandenburg VM, Reinartz S, Kaesler N, Krüger T, Dirrachs T, Kramann R, et al. Slower Progress of Aortic Valve Calcification With Vitamin K Supplementation: Results From a Prospective Interventional Proof-of-Concept Study. *Circulation.* 2017;135(21):2081-2083. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.027011.
 40. Hayashi M, Takamatsu I, Kanno Y, Yoshida T, Abe T, Sato Y, et al. A case-control study of calciphylaxis in Japanese end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(4):1580-1584. doi:10.1093/ndt/gfr658.
 41. Kodumudi V, Jeha GM, Mydlo N, Kaye AD. Management of Cutaneous Calciphylaxis. *Adv Ther.* 2020;37(12):4797-4807. doi:10.1007/s12325-020-01504-w.
 42. Brandenburg VM, Kramann R, Rothe H, Kaesler N, Korbiel J, Specht P, et al. Calcific uraemic arteriopathy (calciphylaxis): data from a large nationwide registry. *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(1):126-132. doi:10.1093/ndt/gfv438.
 43. Schlieper G, Schurgers L, Brandenburg V, Reutelingsperger C, Floege J. Vascular calcification in chronic kidney disease: an update. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(1):31-39. doi:10.1093/ndt/gfv111.
 44. Fusaro M, Cianciolo G, Brandi ML, Ferrari S, Nickolas TL, Tripepi G, et al. Vitamin K and Osteoporosis. *Nutrients.* 2020;12(12):3625. doi:10.3390/nu12123625.
 45. Evenepoel P, Claes K, Meijers B, Laurent M, Bammens B, Naesens M, et al. Poor Vitamin K Status Is Associated With Low Bone Mineral Density and Increased Fracture Risk in End-Stage Renal Disease. *J Bone Miner Res.* 2019;34(2):262-269. doi:10.1002/jbmr.3608.
 46. Cui L, Xu J, Zhang J, Zhang M, Zhang S, Bai Y. Menaquinone-4 modulates the expression levels of calcification-associated factors to inhibit calcification of rat aortic vascular smooth muscle cells in a dose-dependent manner. *Exp Ther Med.* 2018;16(4):3172-3178. doi:10.3892/etm.2018.6535.
 47. Vossen LM, Schurgers LJ, van Varik BJ, Kietselaer BL, Vermeer C, Meeder JG, et al. Menaquinone-7 Supplementation to Reduce Vascular Calcification in Patients with Coronary Artery Disease: Rationale and Study Protocol (VitaK-CAC Trial). *Nutrients.* 2015;7(11):8905-8915. doi:10.3390/nu7115443.
 48. Knapen MH, Braam LA, Drummen NE, Bekers O, Hoeks AP, Vermeer C. Menaquinone-7 supplementation improves arterial stiffness in healthy postmenopausal women. A double-blind randomised clinical trial. *Thromb Haemost.* 2015;113(5):1135-1144. doi:10.1160/TH14-08-0675.
 49. Nakagawa K. Diseases Due to the Deficiency in Vitamin K Conversion System and Its Prevention. *Yakugaku Zasshi.* 2021;141(5):669-674. doi:10.1248/yakushi.20-00243-1.
 50. Haroon SW, Tai BC, Ling LH, Teo L, Davenport A, Schurgers L, et al. Treatment to reduce vascular calcification in hemodialysis patients using vitamin K (Trevasc-HDK): A study protocol for a randomized controlled trial. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(36):e21906. doi:10.1097/MD.00000000000021906.

51. *Levy-Schousboe K, Frimodt-Møller M, Hansen D, Peters CD, Kjærgaard, Jensen JD, et al.* Vitamin K supplementation and arterial calcification in dialysis: results of the double-blind, randomized, placebo-controlled RenaKvit trial. *Clin Kidney J.* 2021;14(9):2114-2123. doi:10.1093/ckj/sfab017.
52. *Gigante A, Brugè F, Cecconi S, Manzotti S, Littarru GP, Tiano L.* D3-induced osteogenesis in hMSCs: Modulation of key effectors in mineralization and vascularization *J Tissue Eng Regen Med.* 2015;9(6):691-701. doi:10.1002/term.1627.
53. *Poon CC, Li RW, Seto SW, Kong SK, Ho HP, Hoi MPM, et al.* In vitro vitamin K(2) and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3) combination enhances osteoblasts anabolism of diabetic mice. *Eur J Pharmacol.* 2015;767:30-40. doi:10.1016/j.ejphar.2015.09.048.
54. *Smirnov AV, Volkov MM, Dobronravov VA.* Cardio-protective effects of D-hormone in patients with chronic kidney disease: literature review and personal data. *Nephrology.* 2009;13(1):30-38.
55. *Legarth C, Grimm D, Wehland M, Bauer J, Krüger M.* The Impact of Vitamin D in the Treatment of Essential Hypertension. *Int J Mol Sci.* 2018;19(2):455. doi:10.3390/ijms19020455.
56. *Murni IK, Sulistyoningrum DC, Oktaria V.* Association of vitamin D deficiency with cardiovascular disease risk in children: implications for the Asia Pacific Region. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2016;25(Suppl 1):S8-S19. doi:10.6133/apjcn.122016.s1.
57. *O'Connor E, Mølgaard C, Michaelsen KF, Jakobsen J, Lamberg-Allardt CJ, Cashman KD.* Serum percentage undercarboxylated osteocalcin, a sensitive measure of vitamin K status, and its relationship to bone health indices in Danish girls. *Br J Nutr.* 2007;97(4):661-6. doi:10.1017/S0007114507433050.
58. *Mayer O Jr, Seidlerová J, Wohlfahrt P, Filipovský J, Cífková R, Černá V, et al.* Synergistic effect of low K and D vitamin status on arterial stiffness in a general population. *J Nutr Biochem.* 2017; 46:83-89. doi:10.1016/j.jnutbio.2017.04.010.
59. *Asemi Z, Raygan F, Bahmani F, Rezavandi Z, Talari HR, Rafiee M, et al.* The effects of vitamin D, K and calcium co-supplementation on carotid intima-media thickness and metabolic status in overweight type 2 diabetic patients with CHD. *Br J Nutr.* 2016;116(2):286-293. doi:10.1017/S0007114516001847.
60. *Sanguineti R, Monacelli F, Parodi A, Furfaro AL, Borghi R, Pacini D, et al.* Vitamins D3 and K2 may partially counterbalance the detrimental effects of pentosidine in ex vivo human osteoblasts. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2016;30(3):713-726.
61. *da Silva Canhos MM, de Oliveira RC, Modelli de Andrade LG, Caramori JCT, Barretti P, Martin LC.* Association between vitamin D levels and mortality in hemodialysis patients: a cohort study. *Ren Fail.* 2020;42(1):225-233. doi:10.1080/0886022X.2020.1735415.

У скорботі...



ПАМ'ЯТІ НАТАЛІЇ ОЛЕКСАНДРІВНИ САЙДАКОВОЇ

**Медична спільнота України з глибоким сумом повідомляє, що 19 липня 2022 року пішла з життя доктор медичних наук (1992 р.), професор (1999 р.)
Наталія Олександрівна Сайдакова.**

Сайдакова Наталія (Надія) Олександрівна народилася 24 квітня 1942 року. В 1965 році закінчила Київський медичний інститут. З 1968 року працювала в НДІ урології і нефрології, з 2004 року і по теперішній час - завідувача відділом епідеміології та організаційно-методичної роботи ДУ «Інститут урології ім. акад. О.Ф. Возіанова НАМН України». З моменту створення ДУ «Інститут нефрології НАМН України» до останнього часу успішно втілювала свої ідеї науково-організаційної роботи як сумісник.

У 1973 році захистила кандидатську дисертацію за темою: «Клинико-електромиографические особенности у больных ночным недержанием мочи» під керівництвом професорів Г.Ф. Колеснікова та В.С. Карпенка; в 1992 – докторську дисертацію за темою: «Медико-социальные и организационные основы улучшения результатов лечения больных урологическими заболеваниями», наукові консультанти професори Л.П. Павлова і О.П. Мінцер.

Наталія Олександрівна була висококваліфікованим фахівцем у галузі соціальної медицини та організації охорони здоров'я, мала великий досвід наукової роботи. Основні на-

прямки її наукової діяльності – медико-соціальні та організаційні аспекти поліпшення якості надання спеціалізованої допомоги хворим з урологічною та нефрологічною патологією; здійснення моніторингу за захворюваністю та поширеністю хвороб сечостатевої системи в Україні та основними показниками діяльності профільної служби. Професіоналізм Наталії Олександрівни визнано науковою спільнотою серед фахівців як з проблем урології та нефрології, так і з охорони здоров'я та соціальної медицини. Вона була членом Вчених рад Інститутів урології та нефрології, а також Спеціалізованих рад з присвоєння ступенів доктора та кандидата медичних наук за фахом «урологія», «нефрологія», а з 2003 р. – апробаційної ради Національної медичної академії післядипломної освіти (Національний університет охорони здоров'я України) ім. П.Л. Шупика за спеціальністю «соціальна медицина».

З 2003 року Сайдакова Н.О. приймала активну участь у роботі координаційного комітету ДУ «Інститут нефрології НАМН України» зі створення та забезпечення функціонування Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок, з гострим пошкодженням

нирок та з трансплантованою ниркою. Вона цікавилася кращими світовими практиками та успішно впроваджувала їх в українську систему охорони здоров'я. Запровадження нових технологій і процедур підвищило якість розроблених форм первинної облікової документації нефрологічних хворих. Такий підхід забезпечив відповідність даних національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок вимогам міжнародного реєстру ERA-EDTA, куди він був внесений у 2006 році.

На сьогодні інформація національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок є джерелом оперативного керівництва нефрологічною службою України та може бути використана для визначення основних проблем нефрологічної допомоги населенню, окреслити шляхи їх вирішення.

У науковому здобутку Сайдакової Н.О. – 331 робота (з них 18 – самостійно). Була членом редколегії журналів: «Урологія», «Україн-

ський журнал нефрології та діалізу», «Україна. Здоров'я нації». Приймала активну участь в організації та проведенні форумів різного рівня.

Всі ми втратили відомого фахівця з великим досвідом в галузі охорони здоров'я, авторитетну Людину з великої літери, якій притамані такі кращі людські якості як інтелігентність, колегіальність, порядність, готовність від щирого серця допомогти колегам, в тому числі багаточисельним дисертантам. Під час спілкування із Наталією Олександрівною ми заряджалися енергією світла, тепла і радості.

Колектив ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Громадська організація «Українська Асоціація нефрологів і фахівців з трансплантації нирки» глибоко сумують з приводу несправної втрати. Світла пам'ять високопрофесійному фахівцю та чудовій людині!

ВИМОГИ ДО РОБІТ, ЩО ПОДАЮТЬСЯ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В “УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ НЕФРОЛОГІЇ ТА ДІАЛІЗУ”

У зв'язку з індексуванням журналу міжнародними пошуковими системами та підвищенням вимог до оформлення наукового матеріалу, редколегія формалізує вимоги до видання для ефективного розповсюдження матеріалів у світовій мережі Інтернет та приєднання до міжнародних наукових баз даних.

Правила для авторів складені відповідно до «Єдиних вимог до рукописів, що подаються у біомедичні журнали» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), які сформульовані Міжнародним комітетом редакторів медичних журналів (International Committee of Medical Journal Editors) та містяться на ресурсі ICMJE.org.

ЖУРНАЛ СТРУКТУРОВАНО ЗА 5 ОСНОВНИМИ РОЗДІЛАМИ:

1. Точка зору
2. Проблеми організації та економіки нефрологічної допомоги
3. Оригінальні наукові роботи
4. Школа нефролога
5. Редакційна інформація, інформація про наукові форуми, коментарі, рецензії, знаменні дати.

Перший розділ. В цьому розділі друкуються статті, які відображають точку зору на конкретну проблему автора чи авторів.

Другий розділ висвітлює можливі шляхи покращення організаційної складової діяльності нефрологічної служби в Україні на всіх етапах надання спеціалізованої медичної допомоги та її економічний аналіз.

У третьому розділі розміщуються статті, які знайомлять з результатами оригінальних досліджень.

Розділ “Школа нефролога” друкує роботи, метою яких є підвищення нефрологічної грамотності читачів.

Останній розділ інформує про основні науково-практичні події, публікує рецензії, редакційну інформацію і т.п.

Рукопис разом з дозволом на його використання направляється до редакції тільки в електронному варіанті через он-лайн систему, яка міститься на сайті журналу. У редакції здійснюється двостороннє сліпе (анонімність рецензента та автора) наукове рецензування і літературне редагування статей.

Дозвіл на використання рукопису можна завантажити за посиланням

Статті, оформлені без додержання правил не приймаються, авторам не повертаються.

У разі негативної наукової рецензії, статті не публікуються, авторам ел. поштою надсилається відгук з можливістю доопрацювання статті чи заміни її іншим матеріалом.

До публікації приймаються оригінальні роботи, огляди літератури, лекції, короткі повідомлення, рекомендації практичним лікарям, опис випадків з практики, інформація про наукові форуми.

Редакція не приймає раніше опубліковані роботи або статті, прийняті до друку в інших виданнях.

Статті публікуються українською, російською та англійською мовами. Файл зі статтею представляти у форматі Microsoft Word (розширення *.doc, *.docx, *.rtf).

ПОСЛІДОВНІСТЬ РОЗМІЩЕННЯ МАТЕРІАЛУ НАСТУПНА:

1. Ініціали та прізвища авторів англійською мовою;
2. Назва статті англійською мовою;
3. Назва установи та організації, в якій працюють автори англійською мовою;
4. Резюме статті англійською мовою;
5. Ключові слова (8-10 слів чи словосполучень, що розкривають зміст статті) англійською мовою;
6. УДК;
7. Ініціали та прізвища авторів мовою, якою написана стаття;
8. Назва статті (мовою оригіналу);
9. Назва установи та організації, в якій працюють автори, місто (мовою статті);
10. Ключові слова (8-10 слів чи словосполучень, що розкривають зміст статті) мовою статті;
11. Резюме мовою статті;
12. Текст статті;
13. Розкриття потенційних конфліктів інтересів;
14. Інформація про внесок кожного учасника;
15. Список використаних джерел під назвою «Література (References)», оформлений відповідно до стандарту Vancouver style;
16. Відомості про відповідального автора: ПІБ, наукове звання, посада та місце роботи; e-mail (обов'язково) та робочий телефон.

Формат тексту рукопису. Текст статті друкується шрифтом Times New Roman, розмір 14 pt, з полуторним міжрядковим інтервалом. Відступи з кожного боку сторінки 2 см. На всі ілюстрації, графіки і таблиці мають бути посилання в тексті.

Виділення в тексті можна робити курсивом або напівжирним шрифтом, НЕ підкресленням. З тексту слід видалити всі перенесення, повторювані пропуски, зайві розриви рядків (в автоматичному режимі через сервіс Microsoft Word “знайти і замінити”).

Файл з текстом статті містить всю інформацію для публікації, у тому числі рисунки і таблиці після їх першого згадування.

Структура рукопису має відповідати наведеному шаблону (залежно від типу роботи).

УДК розміщується у верхньому лівому куті.

Автори. Прізвище авторів вказувати після ініціалів (**О. С. Іванов, С. І. Петров**), жирним шрифтом, мовою оригіналу та англійською мовою, вирівнювання за центром. ПІБ авторів англійською необхідно вказувати відповідно з закордонним паспортом, або як в раніше опублікованих зарубіжних журнальних статтях. Авторі, які публікуються вперше і не мають закордонного паспорта, мають скористатися стандартом транслітерації КМУ—2010.

Багато додати посилання на власні офіційні інтернет сторінки автора(ів) (<https://.....>), Scopus ID, Researcher ID або ORCID ID для розміщення гіперпосилання на сайті журналу та pdf-версії статті.

Назва статті англійською мовою та мовою оригіналу розміщується за центром після прізвищ авторів жирним шрифтом («**Оцінка резидуальної функції нирок у хворих на ХХН VД СТ. та підходи до її збереження**»). Англійська назва має бути грамотною з точки зору англійської мови та повністю відповідати україно/російськомовній назві за змістом.

Установа. Необхідно наводити офіційну повну назву установи (без скорочень). Після назви установи через кому зазначити назву міста та країни. Якщо у дослідженні брали участь автори з різних установ, слід співвіднести назви установ і прізвища авторів за допомогою цифрових індексів у верхньому реєстрі. Під назвою необхідно додати інтернет адресу (<https://.....>) офіційної сторінки установи.

Реферат (якщо робота оригінальна) має бути структурованим: мета, матеріали і методи, результати, висновки. Реферат має повністю відповідати змісту роботи, **обсяг тексту не менше 1 800 знаків** (з пропусками). Резюме до публікацій, що подаються в інші розділи журналу (1,2,4,5) оформляється довільно, але з таким самим обсягом.

Англійська версія резюме статті за змістом і структурою (Aim, Methods, Results, Conclusions) повністю відповідає україно/російськомовній.

Ключові слова. Необхідно вказати ключові слова — від 3 до 10 для індексування статті в пошукових системах. Ключові слова повністю відповідають українською/російською та англійською мовою. Для вибору ключових слів англійською використовують тезаурус Національної медичної бібліотеки США (Medical Subject Headings — MeSH).

Текст статті (українською або російською мовою) структурований за розділами: вступ (актуальність), мета, матеріали і методи, результати, обговорення, висновки.

Розділ «Обговорення» є обов'язковим та має включати 3000–3500 знаків без пробілів.

Розкриття потенційних конфліктів інтересів

Автори повинні розкривати всі відносини або інтереси, які можуть мати прямий або потенційний вплив чи надати упередженість в роботі. Хоча автор, можливо, не відчуває, що існує який-небудь конфлікт, розкриття відносин і інтересів забезпечує більш повний і прозорий процес, що призводить до точної і об'єктивної оцінки роботи.

Усвідомлення реального або передбачуваного конфлікту інтересів - це перспектива, на яку мають право читачі. Це не означає, що фінансові відносини з організацією, яка спонсорувала дослідження або компенсацію, отриману за консультаційну роботу є недоречними.

Приклади потенційних конфліктів інтересів, які прямо або побічно пов'язані з дослідженням, можуть включати, але не обмежуються наступним:

- Наукові гранти від фінансових агентств (прохання надати дані про спонсора дослідження та номер гранту)
- Гонорари за виступи на симпозиумах
- Фінансова підтримка участі в симпозиумах
- Фінансова підтримка освітніх програм
- Зайнятість або консультації
- Підтримка з боку спонсора проекту
- Посада в консультативній раді або раді директорів або в інших відносинах управління
- Кілька філій
- Фінансові відносини, наприклад, пайову участь або інвестиційний інтерес
- Права інтелектуальної власності (наприклад, патенти, авторські права і роялті від таких прав)
- Утримання чоловіка і / або дітей, які можуть мати фінансовий інтерес до роботи

Крім того, слід розкривати інтереси, що виходять за рамки фінансових інтересів і компенсації (нефінансові інтереси), які можуть бути важливі для читачів. Вони можуть включати, але не обмежуються, особисті відносини або конкуруючі інтереси, прямо або побічно пов'язані з цим дослідженням, або професійні інтереси або особисті переконання, які можуть вплинути на ваше дослідження.

Відповідальний автор збирає форми розкриття конфлікту інтересів від усіх авторів. В авторській співпраці, де допускаються формальні угоди про представництво, для відповідного учасника досить підписати форму розкриття від імені всіх авторів.

Приклади розкриття інформації

Дослідження фінансувалося X (грант № X).

Конфлікт інтересів: автор А отримав дослідні гранти від компанії А. Автор В отримав гонорар доповідача від компанії X і володіє акціями в компанії Y. Автор С є членом комітету Z.

Конфлікт інтересів: автори заявляють, що у них немає конфлікту інтересів.

Подяка. Авторі можуть висловити подяку особам та організаціям, що сприяли публікації статті, але не її авторами.

Інформація про внесок кожного учасника (і осіб, зазначених у розділі "подяка").

Приклад: О.С. Іванов - концепція та дизайн дослідження, І.П. Петров - аналіз отриманих даних, оформлення тексту роботи.

Автори висловлюють подяку (Прізвище І. Б.) за оформлення ілюстрацій.

Список літератури. У бібліографії (пристатейному списку літератури) кожне джерело зазначають з нового рядка під порядковим номером. Вимоги до оформ-

лення літературних джерел за Vancouver style детально представлено на сайті журналу. **Після кожного джерела ОБОВ'ЯЗКОВИМ є додавання його інтернет адреси** (<https://ukrjnd.com.ua/index.php/journal/article/view/22>).

Перед відправкою автори мають здійснити **самоперевірку тексту наукової статті** на:

1. **Плагіат.** Україно та російськомовні тексти статті перевіряють на плагіат за допомогою програми eTXT Антиплагиат <https://www.etxt.ru/antiplagiat>, що є необхідною умовою для передачі статті для подальшого рецензування. Рівень індивідуальності дослідження має бути не нижчий 80%.
2. Науковий стиль викладення матеріалу.
3. Тавтологію – повторювання у тексті.
4. Універсальність викладення матеріалу (читабельність). Текст статті має легко та просто сприйматися, не бути переобтяженим аббревіатурами, спеціальною вузькопрофільною термінологією або такою, що не набула міжнародної адаптації. Речення мають бути простими, лаконічними і нести завершений зміст.
5. Кількість посилань на статті та наукові матеріали з ідентифікатором DOI (не менше 80 %).
6. Відповідність вимогам видання.

ПОМИЛКИ, ЩО НАЙЧАСТІШЕ ВИНΙΚЮТЬ У ПОДАНИХ РУКОПИСАХ:

1. Використовують у реченнях «зайві» слова і вирази. Усього зайвого треба уникати. Керуйтеся правилом: «Якщо слово з речення можна викинути і при цьому зміст не втрачено – слово треба викинути». Це саме стосується і більших за обсягом фрагментів тексту.
2. Не вірно вказують одиниці виміру. Системні одиниці виміру системи СІ наводять без крапки (м, г, га, моль), а нестандартизовані одиниці – за скороченнями.

3. Треба розрізняти символи «—», «-» та «-». Перший із них у рукописах не використовують.
4. Більшість редакторських правок обумовлені невірним вживанням слів «в», «у», «і», «та», «з», «із», «зі».
5. У статтях не використовують вирази «на протязі» – заміняємо «протягом», «найбільш потужний» – «найпотужніший», «при» – «у разі» і т. п.
6. Зайве використання слова «було». Треба уникати слова «було»: без нього, зазвичай, зміст речення не зміниться.
7. Скорочення наукових термінів у статті треба звести до мінімуму.
8. Назви таблиць і рисунків (та примітки до них) повинні бути «вичерпними». Читач не повинен додатково перечитувати «Матеріал і методи досліджень» або назву роботи, щоб розібратися у змісті таблиці чи рисунка.
9. Статті найчастіше відхиляються редколегією через відсутність статистичного опрацювання первинних даних (загальні вимоги до фахових публікацій).
10. Не рекомендовано вживати в тексті пасивний залог: «проби відбиралися», замість цього – «проби відбирали»; «дослідження здійснювалися» – «дослідження здійснили».
11. Якщо виникають питання щодо оформлення чи представлення певних даних у статті – можна брати зразок останнього номеру журналу.
12. Відсутня можливість редагування рисунків, таблиць, формул, наведених у роботі. Необхідно надати редакції змогу їх редагувати, тобто не використовувати нестандартні програми.

Статті, оформлені без додержання правил не приймаються, авторам не повертаються.

У разі негативної наукової рецензії, статті не публікуються, авторам ел. поштою надсилається відгук з можливістю доопрацювання статті чи заміни її іншим матеріалом.

