

УДК 616-03

ВИТАМИН D И ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЧЕК

© Ф.И. Руснак

*Российский Государственный Медицинский Университет
Россия, Москва*

Аннотация. Рассмотрены новые данные о механизме действия активных метаболитов витамина D при хронических болезнях почек. Анализируются последние данные о влиянии кальцитриола на механизмы прогрессирования заболевания почек.

Ключевые слова: кальцитриол (1,25D), кальций, иммунитет, гломерулонефрит, ХПН, ПТГ, артериальная гипертензия, прогрессирование заболеваний почек.

Необходимым условием выполнения витамином D своих функций является его последовательное превращение в печени и почках с образованием 25-гидрокси-витамина D₃ (25D) и 1,25D или 24,25 дигидроксивитамина D₃ (24,25D). 25D является транспортной формой витамина D, а 1,25D - его гормональной формой, механизм действия которой аналогичен таковому других стероидных гормонов. Данные о физиологической роли 24,25D противоречивы, но он обладает также некоторыми свойствами гормона. Витамин D поступает в организм с пищей а также образуется в коже из 7-дегидрохолестерина. Витамин D переносится в печень, где осуществляется включение гидроксильной группы в C25 положении. Образующийся 25D является основной циркулирующей формой витамина D. Кроме того, этот метаболит в небольших количествах образуется в кишечнике, почках и легких. Механизм регуляции образования 25D не вполне ясен. Известны его сезонные и географические колебания, коррелирующие с интенсивностью инсоляции, возрастание его концентрации при дополнительном введении витамина D, что может свидетельствовать о нежесткой регуляции по механизму обратной связи. Так, при обследовании 15 детей с ХПН в результате тубулоинтерстициальных болезней почек (креатинин крови 2.3+1.3 мг%, клиренс креатинина 36+20 мл/мин), уровень 25D в крови в летние месяцы (июль-сентябрь) был в пределах 34 нг/мл (у здоровых - 30 нг/мл), в зимние (октябрь-май) - 20 нг/мл (у здоровых - 16 нг/мл), т.е. в зимние месяцы уровень 25D снижается примерно на 50%, как у здоровых детей, так и у пациентов с ХПН [53]. 1,25D снижает активность 25-гидроксилазы в печени и ускоряет деградацию 25D, что приводит к снижению его концентрации в крови. Образовавшийся 25D связывается в основном с альбуминами (витамин-D-связывающий белок-ВДБ) или подвергается энтерогепатической рециркуляции. Период полужизни 25D в крови - 20-30 суток. 25D используется как показатель обеспеченности организма витамином D.

При почечной патологии, сопровождающейся нефротическим синдромом, угнетение всасывания кальция в кишечнике, гипокальциемия, гипокальциурия, деминерализации костей связывают с нарушением обмена 25D. При болезнях почек, сопровождающихся нефротическим синдромом, повышенная проницаемость стенки клубочка для белков с общей молекулярной массой, близкой к молекулярной массе ВДБ, приводит к потере 25D с мочой. Вследствие этой потери происходит значительное снижение концентрации 25D в крови. При других хронических болезнях почек, не сопровождающихся нефротическим синдромом и без нарушений функций почек, концентрация метаболитов витамина D в крови остается в пределах нормы.

Поскольку 25D является источником дальнейшего образования активных метаболитов витамина D, при нефротическом синдроме существует возможность снижения в

крови уровня 1,25D и 24,25D. Действительно, многие авторы отмечают сниженный уровень всех трех метаболитов - 25D, 1,25D и 24,25D. Однако суждения об уровне метаболитов витамина D и причинах его снижения не однозначны. В частности, не только 25D, но и 1,25D и 24,25D циркулируют в крови, связанные с белком из группы альбуминов. Однако с белком связано лишь небольшое количество 1,25D, который циркулирует в крови в свободном состоянии. Снижение уровня метаболитов витамина D в крови связано с протеинурией.

Дальнейшее гидроксирование 25D, приводящее к образованию гормональной формы витамина D3, 1,25D или 24,25D, осуществляется в проксимальных канальцах почки - органе, являющемся основным физиологическим местом продукции дигидроксидных метаболитов витамина D. Хотя *in vitro* эти метаболиты образуются и в других тканях (костной, хрящевой, плаценте, слизистой оболочке тонкой кишки, эндотелиальных клетках сосудов, некоторых гематолимфоэпителиальных клетках), биологическая значимость экстракренальной продукции 1,25D и 24,25D остается неясной. Создается впечатление, что ренальная продукция 1,25D направлена на осуществление «классических» функций, а экстракренальная – на подавление клеточной пролиферации, стимулирование клеточной дифференциации и др. (Рис.1).

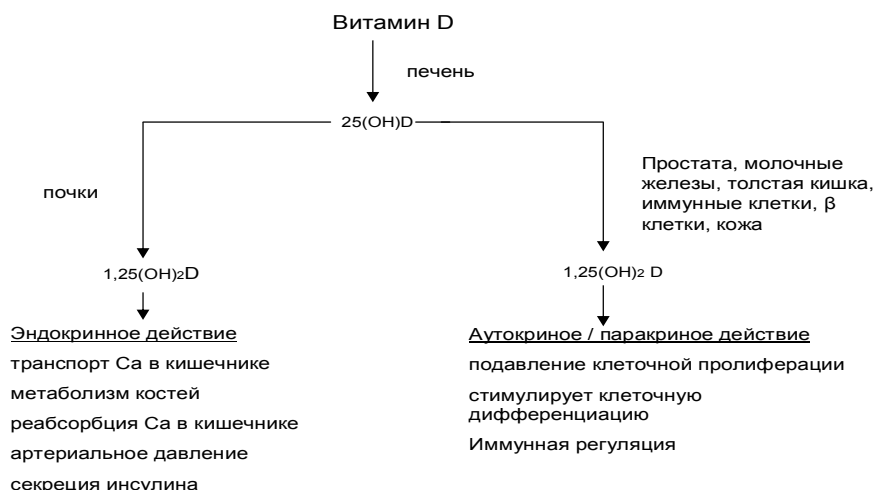


Рис. 1

Роль витамина D в иммунопатологических процессах.

В последнее десятилетие значительно продвинулись исследования «не классических» свойств 1,25D регулировать рост и дифференциацию многих типов клеток, среди которых нормальные и лейкемические миеломоноцитарные клетки которые индуцируются к дифференциации в моноцито/макрофагальную линию. Большинство исследований направлены на изучение способностей 1,25D и его аналогов тормозить рост клеток различных типов опухолей грудной железы, колоректальной области, простаты, поджелудочной железы. Эти исследования переросли стадию эксперимента и перенесены в клиническую практику. Очень широко в настоящее время используют аналог 1,25D – кальцитриол в лечении псориаза, ведутся исследования с 1,25D и его аналогами в трансплантологии.

У неактивированных Т- и В-лимфоцитов рецептор 1,25D отсутствует. Однако при активации этих клеток митогенами, антигенами, цитокинами, инфекционными

агентами наблюдается быстрая экспрессия рецептора, идентичного по своим физико-химическим свойствам рецептору 1,25D из классических органов-мишеней.

Точный механизм антипролиферативной активности 1,25D неизвестен, но торможение роста клеток 1,25D коррелирует с количеством рецепторов витамина D на клетке. У больных гломерулонефритом независимо от клинико-морфологического варианта обнаружена высокая экспрессия лимфоцитарных рецепторов 1,25D [7,8]. Инфекционно-аллергическая природа ревматоидного артрита способствует экспрессии лимфоцитарных рецепторов к 1,25D у 76% больных, тогда как среди здоровых людей их экспрессию обнаруживают только у 17% [39]. Количество рецепторов 1,25D дозозависимо увеличивается на фоне лечения глюкокортикоидами и самим гормоном [8,29].

1,25D связывается со своим внутриклеточным рецептором, который имеет ДНК связывающий домен. Комплекс 1,25D – рецептор и ДНК индуцирует транскрипцию гена. 1,25D может подавлять транскрипцию гена некоторых цитокинов, таких как IL-2 фактора некроза опухолей альфа (TNF α), интерферон гамма (INF γ) и гранулоцит – макрофаг стимулирующий фактор, а также усиливать продукцию IL-6 [43,54]. Это приводит к снижению пролиферации митоген стимулированных Т-клеток и подавлению клеточного иммунитета. 1,25D также снижает Т-хелперную продукцию Ig В-клетками [43].

В активной стадии нефропатии с минимальными изменениями (НМИ) наряду с гиповитаминозом D наблюдается повышение активности Т-хелперов, повышенный уровень растворимого рецептора к IL-2, INF γ [4,14,24,37], что не исключает взаимосвязь этих процессов. Также в активной стадии НМИ, в отличие от ремиссии, отмечается повышение активности CD8, имеющие супрессорно/цитотоксическое действие и CD4, продуцирующий фактор повышающий проницаемость сосудистой стенки [4].

Лечение рокалтролом (1,25D) женщин с постменопаузальным остеопорозом в дозе 1 μ г/день не влияло на уровень CD3, CD4 и CD8, тогда как в дозе 2 μ г/день увеличивал концентрацию фракций CD3 и CD8, не влияя на общее количество лимфоцитов и CD4 [57]. Этот эффект может быть объяснен тем, что при остеопорозе активируются лимфоциты CD3 и CD8 имеющие значение в остеогенезе, а активация CD лимфоцитов более характерна иммунным патологиям.

Значительный интерес представляют данные о способности моноцитов и макрофагов синтезировать 1,25D. Так, активация макрофагов здорового человека гамма-интерфероном или полисахаридом В усиливает продукцию ими 1,25D в 5-100 раз [9,45].

Продукция 1,25D макрофагами может иметь важное значение в связи с теми эффектами, которые этот гормон оказывает на пролиферацию и функциональную активность лимфоцитов, дифференциацию клеток моноцитарно-макрофагального ряда и активность самих макрофагов. В связи с высокой цитотоксичностью витамина D и его метаболитов, их способностью индуцировать свободнорадикальное перекисное окисление липидов не исключено, что 1,25D, продуцируемый активированными макрофагами, может являться одним из компонентов их цитолитической активности [9].

Известно, что фактор некроза опухолей TNF α стимулирует продукцию гемотактических факторов резидентными клетками (макрофаги и др.) почек. Panichi et al было показано, что 1,25D дозо-зависимо подавляет продукцию TNF α как у добровольцев так и у пациентов находящиеся на гемодиализе [42a].

В ряде работ сообщается о способности 1,25D снижать протеинурию и сывороточные титры anti-ss ДНК у мышей с моделью волчаночного нефрита [36a]. Применение 1,25D у крыс с моделью нефрита Naumann в дозе 0,5 мкг/кг снижало протеинурию. Степень снижения протеинурии было сравнимо с действием циклоспорина А [12a]. Рандомизированное, плацебо контролируемое исследование 220 пациентов с хроническими заболеваниями почек 3 и 4 стадии показало эффективность 1,25D снижать протеинурию [11a]. Лечение 1,25D снижает потерю подоцитов и подавляет их гипертрофию

у субтотально нефроэктомированных крыс, влияя тем самым на уровень протеинурии. У этих крыс снижена экспрессия десмина, повышена экспрессия p27, что свидетельствует о снижении активности в каскаде циклинах [32a].

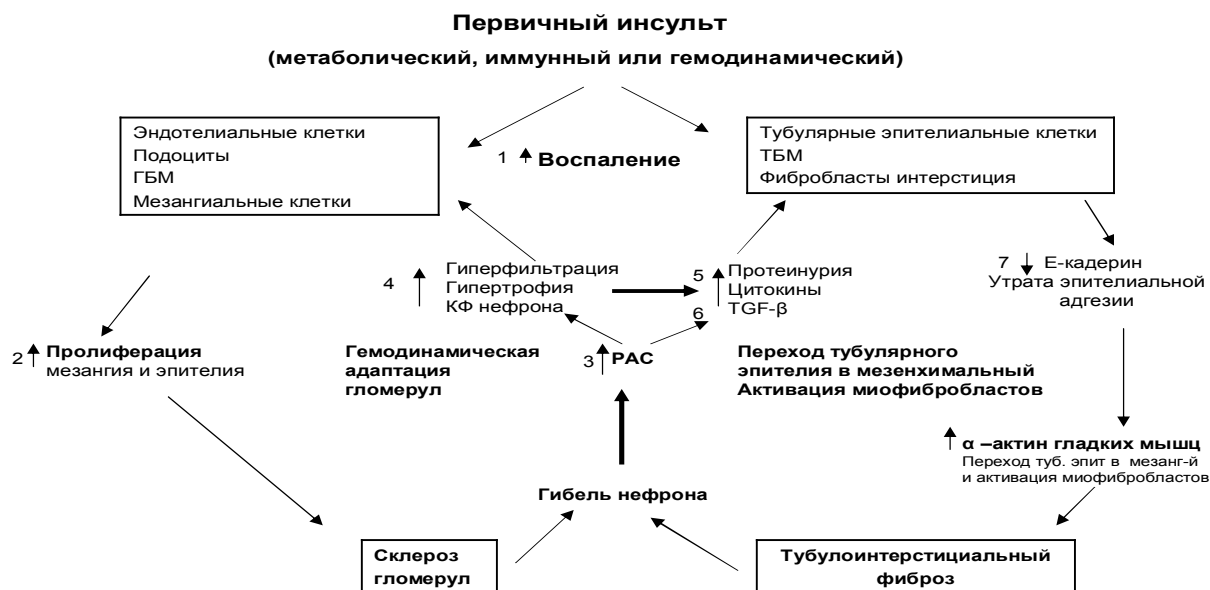
Нуклеарный фактор (NFκβ) играет основополагающую роль при хронических воспалениях в почках посредством регулирования генов цитокинов, хемокинов, молекул адгезии и ростовых факторов. Стероидные гормоны осуществляют свою противовоспалительную активность посредством блокирования продукции NFκβ. Аналогичное действие доказана и у 1,25D [55a]. Совместное применение 1,25D и стероидов более эффективно влияет на провоспалительные цитокины, хемокины и компоненты NFκβ, чем лечение только стероидами [53b].

Местное выделение 1,25D клетками моноцитарно-макрофагального ряда может быть направлено на нормализацию иммунопатологических процессов. Известно, что в мезангиуме нефробиоптатов у больных гломерулонефритом обнаруживают большое количество клеток моноцитарно-макрофагального ряда [11]. Кроме фагоцитарной активности, посредством выделения 1,25D они могут, по-видимому, тормозить пролиферацию мезангиальных клеток, что может иметь большое значение в замедлении прогрессирования и развития ремиссии гломерулонефрита.

Известно, что ренин-ангиотензиновая система (РАС) стимулирует продукцию целого ряда цитокинов способствующие нефросклерозу. В ряде работ показано, что 1,25D подавляет активность ренина механизмом не зависимо от уровня кальция и паратиреоидного гормона [37a]. 1,25D является отрицательным эндокринным регулятором РАС, напрямую и не зависимо подавляет экспрессию гена ренина [53a].

Мезангиальные клетки, так как и большинство других клеток, содержат рецепторы к витамину D. При создании модели anti thy-1 гломерулонефрита, 1,25D подавляет пролиферацию мезангиальных клеток (снижает экспрессию пролиферативного ядерного антигена клеток), снижает степень гломерулосклероза и альбуминурии а также коллагена I и IV типа по сравнению с животными не получавшие 1,25D [42b].

Снижение продукции 1,25D в проксимальных канальцах при хронических заболеваниях почек может привести к интерстициальному фиброзу в результате снижения антипролиферативного действия 1,25D на почечные клетки. Показано, что антифибротическая активность 1,25D осуществляется посредством подавления активности трансформирующего фактора роста (TGF-β)[37 b]. Другим механизмом антифибротической активности 1,25D в почках является индукция антифибротического фактора роста гепатоцитов (HGF), рецепторы к которому обнаружены не только в интерстициальных фибробластах, но и во всех тестированных почечных клетках [37c]. Благоприятный эффект 1,25D на тубуло-интерстициальный фиброз подтвержден на модели хронических заболеваний почек в результате односторонней обструкции уретры: мыши, которым вводили 1,25D, значительно меньше развивали нефросклероз по сравнению с контролем. Этот эффект был обусловлен подавлением активности фибронектина, коллагена I и II типа с восстановлением экспрессии E-кадгерина и рецепторов витамина D [51b]. Tian et all. приводят схему первичного инсульта с образованием нефросклероза, и во всех этих механизмах 1,25D прямо или опосредовано участвует в регуляции этих механизмов, подавляя нефросклероз. (Рис. 2).



Tian J., Liu Y., Williams, Zeeuw D. Nephrol Dial Transplant (2007) 22: 321-328

Рис. 2

Ретроспективный анализ 36 пациентов после трансплантации и с признаками хронической нефропатии алографта показал, что пациенты, получающие 1,25D, предъявляли более высокий процент выживаемости в течение 3 лет по сравнению с пациентами не получавшими это лечение [41a].

Влияние 1.25D на иммунокомпетентные клетки не сводится только к иммунодепрессивным эффектам. Характер этого влияния существенно зависит от концентрации гормонов, состава и исходного состояния исследуемых клеток и др. Так, в концентрации $10^{-15} - 10^{-11}$ М 1.25D стимулирует, а при увеличении концентрации до 10^{-7} М - подавляет секрецию ИЛ-2 культурой клеток Т-клеточной лимфомы, располагающей рецептором к этому гормону [21]. На чистом клоне Т-хелперов мыши, не содержащем примесей других клеток и ИЛ-1 (обычно продуцируемого макрофагами), 1.25D потенцировал митогенный эффект на эти клетки конковалина А и экспрессию ими рецептора ИЛ-2. При адекватном уровне ИЛ-1 в среде 1.25D тормозил пролиферацию активируемых Т-хелперов [33].

Противоречивы данные о значении уровня вне- и внутриклеточного кальция в осуществлении влияния 1.25D на пролиферацию клеток. Обработка человеческих лейкоцитарных клеток (HL-60) 1.25D, подавляет *in vitro* их рост и дифференциацию в макрофаги, посредством увеличения внутриклеточного Ca (BCa) и pH в клетках [47]. Активация В-лимфоцитов лимфотропными вирусами сопровождается повышением BCa, однако, активация не происходит при помещении клеток в среду без кальция, т.е. активация В-лимфоцитов зависит от внеклеточного кальция [15]. Синтез ИЛ-2 лейкоцитами под действием 1.25D зависит от BCa и внеклеточного кальция, тогда как экспрессия рецепторов ИЛ-2 на мембране лимфоцитов является кальций-независимой [34]. Дифференциация макрофагов под влиянием 1.25D пропорционально уменьшается при снижении уровня внеклеточного кальция [50].

В условиях целостного организма влияние метаболитов витамина D обусловлено взаимодействием большой группы факторов и не всегда идентичен эффектам, наблюдаемым на клеточных культурах *in vitro*.

Современная иммунология выдвинула концепцию о «полярности» иммунного ответа, который в значительной степени определяется соотношением Т-хелпер-1 (Th-1) и Т-хелпер 2 (Th-2) субпопуляций. При преобладании одной или другой субпопуляции секретируются те или иные лимфокины. При преобладании Th-1 повышена продукция IL-2, TNF β и INF γ , выявляются реакции гиперчувствительности замедленного типа, отложение фибрина и признаки склероза, что встречается при многих аутоиммунных заболеваниях, отторжение почечного трансплантата, быстро прогрессирующем гломерулонефрите с полулуниями. Th-2 определяются по их способности секретировать IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, индуцировать синтез IgG₄ и IgE. Эта субпопуляция клеток участвует в реакциях гиперчувствительности немедленного типа при аллергических заболеваниях [4,12,23]. 1,25D напрямую влиял на CD4+ Т лимфоцитов, увеличивая развитие Th2 клеток подавляющие иммунный ответ [13а].

Значительно наблюдение Lemire с соавт.[37], что 1.25D подавляет секрецию ключевого цитокина IL-12 секретируемого макрофагами и определяющий баланс продукции цитокинов между Th-1 и Th-2. [37,40]. Подавление IL-12 может представить значительную терапевтическую стратегию в Th-1 опосредованных заболеваний. 1.25D является сильным и селективным ингибитором IL-12 [37,40]. Хотя в сыворотке и моче больных с НС IL-12 не выявляется [49,55], не исключена местная секреция этого цитокина.

1.25D также способен модулировать аллергическую и противовоспалительную активность (высвобождение активных медиаторов воспаления) тучными клетками [31], что имеет большое значение при реакциях гиперчувствительности немедленного типа.

Выше перечисленные данные доказывают способность 1.25D и его аналогов выступать в роли иммуномодулирующих средств.

В иммунной терапии аутоиммунных заболеваний и в трансплантологической иммунологии по мнению S.Matieu с соавт. [40] «хороший» иммуномодулятор должен иметь следующие критерии: препарат должен быть эффективным, безопасным, иметь усиливающее или синергетическое взаимодействие с другими иммуномодуляторами, допускать короткие сроки применения (и это определяет толерантность) и наконец, иметь известный механизм действия. Так как, ни один из известных иммуномодуляторов не отвечает всем этим критериям, поиски идеальных иммуномодуляторов продолжаются.

Широкое клиническое применение природного 1.25D в качестве иммуномодулятора имеет ограничение из-за быстрого развития гиперкальциемии. Поэтому был синтезирован целый ряд синтетических аналогов 1.25D (кальпоцитриол, КН 1060, ЕВ 1089 и др.) у которых сохранили антипролиферативные свойства, но значительно снизили кальциемический эффект.

В эксперименте, раннее введение 1.25D предупреждает развитие аутоиммунного диабета, ревматоидного артрита [35,40], но когда уже присутствует деструкция β клеток поджелудочной железы, значительное влияние на процесс достигается только при совместном применении с циклоспорином А (СуА) [18,40].

1.25D и его аналоги, дозозависимо ингибируют пролиферацию стимулированных Т-лимфоцитов, как один, так и в комбинации с другими иммуномодуляторами (СуА, рапомидин, мофетил, хлорамбуцил и др.) [8,39,40].

Усиливающий эффект 1.25D при совместном применении с СуА описан при аутоиммунном диабете, отторжении почечного трансплантата, ревматоидном артрите, аллергическом энцефаломиелите и др. [13,39,40].

Развитие резистентности к действию цитостатиков в лечении гломерулонефрита (ГН) остается актуальной проблемой. Исследование *in vitro* лимфоцитов периферической крови детей с резистентной формой ГН доказало отсутствие антипролиферативного действия хлорамбуцила. Добавление в среду 1.25D восстанавливало и усиливало антипролиферативный эффект хлорамбуцила на 66%. Самостоятельно 1.25D проявлял антипролиферативный эффект только в дозе более 0,01 нМ, причем в дозе 1,0 нМ подавлял

пролиферацию лимфоцитов на 50% [7,46]. Полученные данные при исследовании *in vitro* позволили авторам провести ретроспективный анализ совместного применения $1\alpha\text{ОНD}$ (синтетический аналог 1.25D) с хлорамбуцилом и циклофосфаном. $1\alpha\text{ОНD}$ назначался 22 детям с ГН в течении 3-4 месяцев в связи с гипокальциемией и остеопорозом в дозе 0,75-1,5 мкг/день. Результаты анализа показали, что $1\alpha\text{ОНD}$ и в клинике восстанавливал чувствительность и усиливал действие цитостатиков: у 10 детей раннее резистентных к иммуносупрессивной терапии была достигнута длительная ремиссия. 17 пациентов получавших $1\alpha\text{ОНD}$ снизилась частота ОРВИ с 6-8 раз до 1-2 раз в год. За весь период лечения гиперкальциемия не наблюдалась [7,8].

Способность 1.25D элиминировать аутоиммунные эффекторные клетки путем восстановления их чувствительности к циклофосфамиду, показано также в эксперименте на мышцах с моделью аутоиммунного диабета [40].

Применение аналога 1.25D (МС 1288) приводило к снижению числа и выраженности острых эпизодов отторжения почечного трансплантата. Эффект 1.25D и СуА на СД 8 и СД28 был одинаковым, хотя эффект СуА был более выражен. 1.25D усиливал эффект СуА, причем механизм действия 1.25D возможно опосредован не только через подавление IL-2 [42]. СуА дозо-зависимо подавляет пролиферацию Т клеток. Если максимальный эффект СуА проявляется при дозе 100 нг/мл, то в комбинации с 1.25D - при дозе менее 1 нг/мл. Авторы делают вывод, что 1.25D может служить, как средство позволяющее уменьшить дозу СуА [51].

Совместное применение 1.25D и СуА позволит достигать эффект в более короткие сроки, что не маловажно в клинике из-за кумулятивного токсического эффекта препаратов. В эксперименте применение одного 1.25D или СуА не приводило к удлинению жизни трансплантата, тогда как их совместное применение, не только удаляло сроки отторжения, но и способствовало нормальному функционированию трансплантата в течение 30 дней после их отмены [40].

Таким образом, хотя точный механизм действия 1.25D и его аналогов полностью не расшифрован, но приведенные здесь данные позволяют предположить, что в ближайшем будущем аналоги витамина D найдут свое клиническое применение не только в онкологии и трансплантологии, но и в лечении гломерулонефритов, в сочетании с другими иммуномодуляторами особенно с СуА.

Участие витамина D и кальция в регуляции артериального давления.

Функции кальция (Ca) в организме разнообразны. Учитывая участие Ca в таких процессах, как мышечное сокращение, возбуждение и проводимость по нервным волокнам, секреция гормонов, можно говорить о жизненно важных его функциях в организме. Кроме того, кальций является универсальным передатчиком информации в клетке от рецептора на мембране на эффекторные структуры (информационные РНК и др.). Снижение уровня кальция в крови, развивающееся при ряде заболеваний, клинически проявляется болями в мышцах, астенией, тоническими судорогами мелких групп мышц по типу "руки акушера, карпо-педальным синдромом, ложным эписиндромом, нарушением сердечного ритма и др.

Большая часть внутриклеточного кальция (BCa) аккумулируется в митохондриях (60-70%), 10-20% находится в эндоплазматической сетке, столько же в плазматической мембране и покрывающем ее гликокаликсе. В покое в цитозоле очень низкая концентрация свободных ионов Ca (0.05-0.5 мкмоль), что более чем в 100 раз ниже общего содержания Ca в этой фракции клетки, где он связан с кальмодулином, фосфатом и рядом других веществ [5]. Концентрация внеклеточного Ca на несколько порядков выше, чем его содержание в цитозоле [2].

Первым барьером для избыточного тока кальция в цитоплазму является естественная непроницаемость фосфолипидных бислоев для заряженных частиц. Ca проникает через

мембрану, в состав которой входят специфические каналы, способные проводить Ca. Как только ионы Ca вошли в цитоплазму, они связываются с рядом белков, которые передают кальциевый сигнал или являются буферами для этих ионов.

Постоянство VCa обеспечивают многие механизмы, среди них наиболее важны: Na⁺/Ca⁺⁺ обмен, Ca⁺⁺/Ca⁺⁺ обмен, гормональный, Ca АТФ-аза, кальмодулин, pH среды, концентрация K⁺ и др. []. Выброс кальция из клеток и тканей осуществляется с помощью Ca, Mg АТФ-азы или Na⁺/Ca⁺⁺ обменника, локализованных в плазматической мембране.

В больших концентрациях VCa является клеточным ядом и приводит к нарушению функциональной активности клетки [2]. При острой почечной недостаточности ишемического или токсического генеза, в результате активации фосфолипаз усиливается вход Ca⁺⁺ в клетку. Применение у этих больных блокаторов кальциевых каналов (верапамила) позволяет снизить степень повреждения клеток и тем самым улучшить клиническое состояние больных [5].

Увеличение VCa в гладкомышечных клетках может способствовать повышению тонуса сосудов и соответственно росту артериального давления (АД). В связи с этим появилось предположение об участии Ca в патогенезе артериальной гипертензии (АГ).

У людей и экспериментальных животных с эссенциальной гипертензией (ЭГ) выявлена повышенная концентрация VCa в различных клетках [48], а также дефект в клеточном транспорте Ca (эритроциты, лимфоциты, тромбоциты, мышечные клетки, в почках, 12-перстной кишке). У них также обнаружены: снижение активности Ca, Mg АТФ-аз клеток; снижение всасывания кальция в кишечнике, гипокальциемия, гиперкальциурия; повышение уровня 1,25D и ПТГ [20,45,48]. Однако, другие авторы ставят под сомнение наличие подобных изменений при ЭГ [30,36]. Так, при перерасчете Ca на стандартный клиренс оказалось, что у взрослых спонтанно-гипертензивных крыс экскреция Ca с мочой даже снижена [36]. Однако обнаружение сниженного всасывания Ca в кишечнике может зависеть от того, какой отдел кишечника был изучен, так как в 12 перстной кишке и в нисходящей толстой кишке всасываемость Ca существенно различается. Снижение уровня ионизированного Ca в крови у больных с ЭГ с низким уровнем ренина в плазме и его повышение у больных с высоким содержанием ренина в плазме может быть обусловлено, соответственно, повышенным или сниженным внеклеточным объемом [36,45].

Четырехгодичное эпидемиологическое обследование 60 000 женщин позволило установить, что употребление в пищу более 800 мг/день кальция снижало на 23% риск возникновения гипертонической болезни, по сравнению с теми, кто принимал 400 мг кальция в день [56]. У людей, употребляющих менее 300 мг/день кальция АД на 2-3 мм рт. ст. выше, чем у употреблявших 800 и более мг/день [20].

Многие авторы, получившие гипотензивный эффект от дополнительного назначения в диету кальция, не учитывают роль других элементов, таких как калий, магний, фосфор, которые, как известно, также влияют на АД [36,48]. Например доказано, что гипотензивный эффект от дополнительного назначения кальция у спонтанно-гипертензивных крыс получен только в случаях отсутствия или низкого содержания в диете фосфора, при больших его количествах не выявлено влияния Ca на АД [36]. Этот эффект может быть обусловлен известной способностью фосфатов образовывать в кишечнике нерастворимые фосфорнокальциевые комплексы.

Большое содержание фосфатов в диете, значительная проблема для современного человека. Гиперфосфатемия, развивающаяся при избытке фосфора в пище, участвует в механизме возникновения остеопороза, атеросклероза, кальцификации мягких тканей, тормозит синтез 1.25D и усиливает продукцию ПТГ [9]. При хронических болезнях почек в стадии ХПН, гиперфосфатемия выступает, как уремический токсин. Перечень продуктов богатых кальцием очень ограничен. Практически только в молочных продуктах и в некоторых овощах содержание кальция преобладает над фосфором. Однако мало кто ежедневно употребляет около 1 л молочных продуктов в день. По- этому продукты питания

должны быть обогащены кальцием или дефицит восполняется приемом препаратов кальция. Для борьбы с гиперфосфатемией у пациентов с ХПН применяется гидроокись алюминия. Но, его длительное применение может привести к алюминиевому остеопорозу и алюминиевой деменции. Дополнительное назначение больших доз кальция (4-5 г) решает две задачи: часть связывает фосфаты в нерастворимые комплексы, часть обеспечивает организм кальцием. Самым эффективным является карбонат кальция, который содержит 400 мг элементарного кальция в 1 г (глюконат кальция только 150 мг). В настоящее время разработаны быстро растворимые препараты кальция не содержащие натрия, которые максимально всасываются в кишечнике за счет содержания в них 400МЕ витамина D и витамина С (кальций Седико).

В связи с существованием кальций-дефицитной теорией патогенеза артериальной гипертензии, особый интерес представляют данные, полученные у больных с ГН с сочетанием НС и артериальной гипертензией. Вопрос состоял в том, почему при одинаковых морфологических вариантах ГН и наличии нарушений фосфорно-кальциевого обмена, в одних случаях развивается АГ, а в других нет. Оказалось, что в тромбоцитах (модель гладкомышечных клеток) повышено содержание ВСа и снижена активность Са, Mg АТФ-азы, т.е в механизме АГ больных с ГН участвует возможно врожденный дефект клеточной мембраны, как и в случае ЭГ [7,8].

Кальций-дефицитная гипотеза о генезе АГ ставится под сомнение на основании того, что АД должно снижаться при применении средств, повышающих баланс кальция. Однако, хроническое внутривенное введение Са спонтанно-гипертензивным крысам не изменяет АД, тогда как назначение Са per os способствует его снижению [36].

В связи с тем, что 1.25D и ПТГ способны увеличивать концентрацию ВСа, им приписывают способность повышать АД. В доказательство гипертензионного эффекта ПТГ приводят опыт, поставленный на спонтанно-гипертензивных крысах: паратиреоидэктомия у этих животных способствует снижению АД [26]. Однако другие авторы получали антигипертензивный эффект от дополнительно назначенного Са, как в присутствии, так и в отсутствии повышенного уровня ПТГ, в связи с чем ставят под сомнение участие ПТГ в генезе гипертензии [36].

У людей с АГ, употребляющих много соли, отмечается повышенный уровень ПТГ в крови. Но при повышении количества кальция в диете, уровень ПТГ и АД нормализуется [56].

Для хронических болезней почек в стадии ХПН характерно развитие ренальной остеопатии, проявляющейся тоническими судорогами мышц, болями в мышцах и костях, нарушением походки, гипокальциемией, вторичным гиперпаратиреозом, дефицитом метаболитов витамина D, деминерализацией костей [6]. Другим характерным признаком ХПН является артериальная гипертензия.

Известно, что в условиях ХПН происходит накопление кальция внутри клеток почек и мышечной ткани, приводящее к появлению мышечных болей, судорог, снижению синтеза активных метаболитов витамина D в почках [1,19]. Повышение ВСа клеток при ХПН обусловлено, по-видимому, вторичным гиперпаратиреозом. ПТГ оказывает значительное влияние на вход кальция в клетки различных тканей, способствуя увеличению проницаемости плазматических мембран клеток, возможно за счет ингибирования Na⁺/K⁺ АТФ-азы [3]. На основании приведенных данных не исключается, что ПТГ, как уремический токсин участвует и в патогенезе гипертензии у пациентов с ХПН, особенно если учесть, что гладкомышечные клетки сосудов имеют рецепторы к ПТГ [22].

В физиологических условиях 1.25D и ПТГ взаимодействуют по типу обратной связи. В условиях ХПН вторичный гиперпаратиреоз (ВГПТ) и дефицит 1.25D активно участвуют в генезе левожелудочковой гипертрофии сердца и артериальной гипертензии, также и через регуляцию вазоактивных гормонов. ВГПТ способствует повышению активности симпатической, ренин-ангиотензин-альдостероновой систем, и предсердного

натрийуретического пептида (ANP), а паратиреоидэктомия устраняет эти нарушения [27,28], но не приводит к гипотензивному эффекту [25].

Терапию 1.25D применяют, как альтернативный вариант паратиреоидэктомии. На фоне лечения 1.25D снижается ANP, ренин и ангиотензин II [25,54]. 1.25D действует на АД опосредованно и его влияние всецело определяется уровнем секреции ПТГ. Низкая концентрация 1.25D может резко повысить АД через увеличение секреции ПТГ, а высокие концентрации 1.25D оказывают противоположное действие. Дефицит витамина D при ХПН может способствовать атерогенезу, вызывать пролиферацию миоцитов, усиливать продукцию коллагена, тем самым снижая эластичность и повышая ригидность сосудов. Этим и объясняется обнаруженная в нескольких исследованиях обратная связь между уровнем АД и концентрацией 1.25D [3,32,38].

Другим механизмом повышения ВСа при болезнях почек в стадии ХПН, может быть значительное снижение активности Са АТФ-азы клеток. Gaffer e.a. при обследовании концентрации кальция и активности Са.Mg АТФ-азы эритроцитов у 28 взрослых пациентов с ХПН различной этиологии (креатинин крови 10.2±0.9 мг%, мочевины - 150±5.9 мг%), установили высокую концентрацию ВСа и значительное подавление активности Са.Mg АТФ-азы эритроцитов при нормальном уровне кальция в крови, по сравнению с контрольной группой (24 здоровых людей)[16]. Авторы установили, что нормальная активность Са.Mg АТФ-азы эритроцитов здоровых людей значительно подавляется при инкубации клеток с сывороткой уремиических больных, а проведение сеанса гемодиализа пациентам с ХПН значительно повышает активность энзима, тогда как ВСа эритроцитов не меняется. Это исследование доказывает значение уремической интоксикации в нарушении внутриклеточного гомеостаза кальция. Подобные результаты получены и при исследованиях детей с ХПН [7].

Таким образом, спектр активности метаболитов витамина D и кальция очень широк: от традиционной регуляции минерального обмена до сложных иммунных и внутриклеточных воздействий на физиологические и патологические процессы. То, что 1.25D вырабатывается самим организмом и филогенетически он включен в регуляции жизненно важных процессов, дает большое преимущество его синтетическим аналогам перед другими иммуномодуляторами.

Литература

1. Бауман В.К. Биохимия и физиология витамина Д. Рига, 1989,480 с.
2. Болдырев А.А., Мельгунов В.И. Транспортные АТФ-азы. Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер.Биофизика. М., 1985, 241 с.
3. Волгина Г.В., Перепеченых Ю.В. Роль паратиреоидного гормона и витамина Д в развитии кардиваскулярных нарушений при хронической почечной недостаточности. Нефрология и диализ. 2000. т.2, №3, с.131-138
4. Москалева Е.С., Ружицкая Е.А., Катышева О.В., Малашина О.А. Состояние иммунной системы при идиопатическом нефротическом синдроме. Нефрология и диализ. 2000, т.2, №3, с.149-154
5. Наточин Ю.В. Гомеостаз кальция и почки. Тер.архив, 1987, т.59, №8, с.7-14
6. Руснак Ф.И. Метаболизм витамина Д и нарушения фосфорно-кальциевого обмена при хронических болезнях почек у детей. Дисс.канд.наук, М., 1984, 175с
7. Руснак Ф.И. Клеточные механизмы действия и терапевтическая эффективность кальцитриола при хронических болезнях почек у детей. Дисс.докт.наук, М., 1992, 185 с.
8. Руснак Ф.И., Наумова В.И. Влияние кальцитриола на иммунокомпетентные клетки у детей с хроническим гломерулонефритом в функционально-компенсированной стадии. Педиатрия, 1997, №3, с.37-39

9. Спиричев В.Б., Конь И.Я. Биологическая роль жирорастворимых витаминов. Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Физиология человека и животных. 1989, №37, с. 1-226
10. Цыгин А.Н. Патогенетические основы первичного нефротического синдрома и лечение его стероидрезистентных вариантов у детей. Дисс.докт.наук, М., 1996
11. Atkins R.C., Holdworth S.R., Hancock W.W. et al. Springer.Seminar Immunopatol., 1982, 5, 3: 269-296
- 11a. Agarwal R., Acharya M., Tian J. et al. *Kidney Int* 2005, 68,2823-2828
12. Baud L., Fouqueray B., Bellocq A. Switching off renal inflammation by antiinflammatory mediators: The facts, the promise and hope. *Kidney Intern.*, 1998, 53:1118-1126
- 12a. Branisteanu DD., Leenaerts P., van Damme B. et al. *Clin Exp Immunol* 1993, 94, 412-417
13. Branisteanu D.D., Mathieu C., Van Herck E., Verstuyl M., Bouillon R. Immunomodulatory effects of $1\alpha 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and its structure analog CD483 in an experimental model of multiple sclerosis In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. *Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone*, 1997, p. 531-532
- 13a. Boonstra A., Barrat FJ., Crain C. et al. *J Immunol* 2001, 167, 4974-4980
14. Daniel V., Trautmann Y., Konrad M., Nayir A., Scharer K. T-lymphocytes population cytokins and other growth factors in serum and urine of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Clinical Nephrology*, 1997, 47, 5:289-297
15. Dugas B., Mtnicia-Huerta JM, Braquet P. et al. E[tracellular but not intracellular Ca mobilization is required for Epstein-Barr viru-containing supernatant-induced B cells activation. *Europ.J.Immunol.*, 1989, 19:1867-1871
16. Gaffer U., Malachi T., Barak H et al. Red blood cells calcium homeostasis in patients with end stage renal disease. *J. Lab.Clin.Med.* 1989, 114:222-231
17. Geiger H., Bahnere U., Meisner M. et al. Parathyroid hormone modulates the release of atrial natriuretic peptide during volume expansion. *Am.J.Nephrol.* 1992, 12:259-264
18. Gerner P., Amor B., Fournier C. $1,25\text{D}$ as a synergistic agent of in vitro cyclosporin A induced suppressive activity in rheumatoid arthritis. *Proc. of 7 Workshop on vitaminD. USA*, 1988, p.662-663
19. Goligorsky MS, Chaimoritz C., Shang S. Varapamil improves defectiv intestinal calcium absorbtion in uremia. In: *Phosphate and mineral metab.* Masry S. eds, New York, 1985, p.153-161
20. Harlan W.K, Harlan L.C. An epidemiological perspective on dietary electrolytes and hypertension. *J.Hypertens.*,1986, 4, Suppl.50:334-339
21. Haverty T., Haddad JG, Neilson EG. $1,25\text{D}$ stimulates intraleukin 2 production by T-cell lymphome line (MLA-144) cultured in vitamin D deficient rat serum. *J.Leucocyte Biol.*, 1987, 41, 2:177-182
22. Hirata Y., Takata S., Takagi Y. et al. Parathyroid hormone receptor in vascular muscle and endorelium cells. *Proc.I.Int.Conf.Parathyroid hormone*, Kobe, Japon, 1987, 26
23. Holdsworth S.R., Kitching A.R., Tipping P.G. Th1 and Th2 T-helper cell subset affect patterns of injury and outcomes in glomerulonephritis. *Kidney Int.*, 1999, 55:1198-1216
24. Hulton S.A., Shan V., Burne M.R., Morgan G. et al. Lymphocytes subpopulation, interleukin-2 and interleukin-2 receptor expression in childhood nephritic syndrome. *Ped.Nephrol.*, 1994, 8:135-139
25. Isales C.M., Barrett PQ, Brines M, Bollay W, Rasmussen H. Parathyroid hormone modulates angiotensin II induced aldosterone secretion from the adrenal glomerular cell. *Endocrinol.*, 1991, 129:489-495
26. Iseki K, Massry SG, Campese VM. Effect of hypercalcemia and parathyroid hormone on blood pressure in normal and renal failure rats. *Am.J.Physiol.*, 1986, 250:924-939
27. Jespensen B, Fogo-Andersen N, Brock A. Parathyroid hormone in blood pressure and volume homeostasis in healthy subjects, hyperparathyroidism, liver cirrosis and

- glomerulonephritis. A possible interaction with angiotensin II and atrial natriuretic peptide. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.*, 1994, 54:531-541
28. Jespensen B, Petrsen EB, Charles P. et al. Elevated angiotensin II and vasopressin in primary hyperparathyroidism. Angiotensin infusion studies before and after removal of the parathyroid adenoma. *Acta Endocrinol.*, 1989, 120:362-368
29. Jonson CS, McElwain MC, Light BM et al. Anti-proliferative effects of vitamin D and its analogs in rodent tumor models. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. *Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone*, 1997, p. 451-458
30. Kaplan NM, Meese RB. The calcium deficiency hypothesis of hypertension: a critic. *Ann.Int.Med.*, 1986, 105, 6:947-955
31. Koren R, Ravid A, Shalita-Ohesner M, Mekori Y, Liberman UA. 1.25(OH)2D3 enhances exocytosis from rat basophilic leukemia. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. *Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone*, 1997, p. 535-536
32. Kristal-Bouch E, Fromm P, Harary G, Ribac J. Association of calcitriol and blood pressure in normotensive men. *Hypertension*, 1997, 30:1289-1294
- 32a. Kuhlmann A., Haas CS., Gross ML. et al *Am J Physiol Renal Physiol* 2004, 286, F526-F533
33. Lacey DL, Axelrod J, Chappel JC et al. Vitamin D affects proliferation of murine T helper cell clone. *J.Immunol*, 1987, 138, 6:1680-1686
34. Larsen CS, Christensen NO. Induced of high-affinity interleukin 2 receptors in human T-lymphocytes. The role of calcium and protein kinase C. *Scand.J.Immunol*, 1989, 30:285-294
35. Larsson P, Klateskog L, Jonsson C. MC1288 – A vitamin D analogue with immunosuppressive effects which suppress collagen arthritis. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. *Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone*, 1997, p. 537-538
36. Lau K, Thomas D, Eby B. The nature and role of disturbance in calcium metabolism in genetic hypertension. *Fed.Proc.*, 1985, 45, 12:2752-2757
- 36a. Lemire JM., Inca A., Takashima M. Autoimmunity 1992, 12, 143-148
37. Lemire JM, Beck L, Faherty D, Gately MK, Spiegelberg HL. In vitamin D, a pluripotent steroid hormone: structural studies, molecular endocrinology and clinical application. Norman AW, Bouillon R, Thomasset M. eds, 1994, Berlin p.531-539
- 37a. Li YC., Kong J., Wei M et al. *J Clin Invest* 2002, 110, 229-238
- 37b. Li Y., Sparatoro B.C., Yang J. et al *Kidney Int.* 2005, 68.1500-1510
38. Lind L, Hanni A, Lithell H et al. Vitamin related to blood pressure and other cardiovascular risk factors in middle-aged men. *Am.J.Hypertens.*, 1995, 8:894-901
39. Manolagas SC, Wernitz DA, Tsoucas KD et al. 1.25-dihydroxyvitamin D receptors in leucocytes from patients with rheumatic arthritis. *J.Lab.Clin.Med.* 1986, 108, 6:596-600
40. Mathieu C, Casteels K, Branisteanu D et al. Immunomodulatory effect of 1.25D and its analogues: mechanisms of action and possible clinical application. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. *Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone*, 1997, p. 507-512
41. Neubaus TJ, Wadhwa M, Callard R, Barrat TM. Increase IL-2, IL-4 and interferon gamma in steroid sensitive nephrotic syndrome. *Clin.Exp.Immunol.* 1995, 100:475-479
- 41a. O'Herrin J.K., Hullet D.A., Heisey D.M. et al *Am J Nephrol* 2002, 22, 515-520
42. Pakkala I, Rasisanen-Socolowski A, Kallio E et al. Vitamin D analogs in experimental transplantation. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. *Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone*, 1997, p. 513-520
- 42a. Panichi V., Lt Pitro S., Andreini B. et al *Kidney Int* 1998, 54, 1463-1469
- 42b. Panichi V., Migliori M., Taccola D. et al *Ridney Int* 2001, 60, 87-95

43. Panina-Bordignon P, D'Ambrosio D, Di Lucia P. et al. 1,25(OH)₂D₃ inhibits the development of T helper-1 cells by selective inhibition of interleukin-12 (IL-12) production. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone, 1997, p. 525-526
44. Reichel H, Koeffler HP, Norman AW. Synthesis in vitro of 1,25D and 24,25D by interferon-gamma stimulated normal human bone marrow and alveolar macrophages. J.Biol.Chem., 1987, 262, 23:10931-10937
45. Resnic LM, Nicholson JP, Laragh JH. Calcium metabolism in essential hypertension: relationship to altered rennin system activity. Fed.Proc., 1986, 45, 12:2739-2745
46. Rusnac TI, Pucalschi P, Calasnicova T. In vitro and in vivo synergistic action of 1,25D and chlorambucyl in patients with glomerulonephritis. Ped.Nephrol., 1992, 6:121
47. Shany S, Barnea E, Hazav P. et al. Involvement of intracellular free calcium and ph in the effect of 1,25D on leukemic cells. Proc.of 7 Workshop on vitamin D. USA, 1988, p.374-375
48. Sowers JR, Zemel MB, Standley PR et al. Calcium and hypertension. J.lab.Clin.Med., 1989, 114, 4:338-248
49. Stefanovic V, Golubovic E, Mitic-Zlatkovic M et al. Interleukin-12 and interferon-gamma production in childhood idiopathic nephrotic syndrome. Ped.Nephrol., 1998, 12:463-466
50. Suda T, Tanaka H, Jin CH et al. Mechanism of cell fusion induced by 1,25D. Proc.of 7 Workshop on vitamin D, USA, 1988, p.320-329
51. Takeuchi A, Reddy GS, Okano T, Kobayashi T, Sharma s. Nuclear factor of activated T cells (NFAT) as a molecular target for vitamin D₃-mediated immunosuppressive effects. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone, 1997, p. 521-522
- 51b. Tan X., Li Y., Liu Y. J.Am.Soc.Nephrol 2006, 17,3382-3393
52. Taylor A, Norman ME. Vitamin D metabolite profiles in moderate renal insufficiency of childhood. Ped.Nephrol., 1988, 2, 4:453-460
- 52a. Yu XP., Bellido T., Manolagas SC. Proc Natl Acad Sci USA 1999, 92, 10990- 94
53. Thien R, Willheim M, Bajna E. et al. Regulatory effects of 1,25dihydroxyvitamin D₃ on the cytokine production of human periferal blood lymphocytes. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone, 1997, p. 523-524
- 53a. Xiang W.,Rong J., Chen R. et al Am J Physiol Endocrinol Metab 2005, 288, E125-E132
- 53b. Xing N., Maldonado ML., Bachman LA et al Bioshem Biophys Res Comm 2002, 297, 645-652
54. Wu J, Garami M, Cao L, Gardner DG. 1.25(OH)₂D₃ suppress expression and secretion of atrial natriuretic peptide from cardiac myocytes. Am.J.Physiol.1995, 268:1108-1113
55. Yap HK, Cheung W, Murugasu B, Jordan SC. Down regulation of monokine genes in children with relapses of steroid-responsive nephritic syndrome. Abstr. 11th.Congr.of IPNA, London, 1998, 47:03
56. Zemel MB, Kraniak KJ, Standley PR. et al. Erythrocytes cation metabolism in salt sensitive hypertensive black as affected by dietary sodium and calcium. Am.J.Hypertens., 1988, 1:386-392
57. Zofkova I, Kancheva RL Does 1,25(OH)₂ vitamin D₃ stimulate immunoregulation? The effect on CD4⁺/CD8⁺ phenotype of T lymphocytes. In: Norman A.W., Bouillon R., Tomasset M., eds. Vitamin D Chemistry, Biology and Clinical Application of the steroid hormone, 1997, p. 539-540

Поступила: 28.09.09.