

## Исследование уровня эритропоэтина и индуцированного гипоксией фактора 1-альфа в крови у детей и подростков с анемией на стадии C1–5 хронической болезни почек

Е.В. Леонтьева, Н.Д. Савенкова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

## Research of the level of erythropoietin and hypoxia-inducible factor 1-alpha in the blood of children and adolescents with anemia at stage C1–5 of chronic kidney disease

E.V. Leonteva, N.D. Savenkova

St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

**Цель исследования.** Изучить показатели дефицита железа, уровни гемоглобина, эритропоэтина, гипоксией индуцированного фактора 1-альфа (HIF-1 $\alpha$ ) в крови у детей с анемией при хронической болезни почек на стадии C1–5 до диализа и на его фоне, получающих и не получающих препараты железа и эритропоэтинстимулирующие препараты, для установления роли HIF-1 $\alpha$  в регуляции синтеза эритропоэтина и эритропоэза.

**Результаты.** Пациенты ( $n=80$ ) с анемией и хронической болезнью почек были разделены на 3 группы: 1-я – 32 пациента с хронической болезнью почек стадии C1–5 до диализа, не получающие терапию; 2-я – 18 больных до диализа с хронической болезнью почек стадии C2–5, получающие терапию препаратами железа и эритропоэтинстимулирующими препаратами; 3-я – 30 пациентов на диализе с хронической болезнью почек стадии C3–5, получающие препараты железа и эритропоэтинстимулирующие препараты. В 1-й группе выявлен повышенный по сравнению с нормой уровень эритропоэтина ( $28,65 \pm 3,66$  ММЕ/мл) и HIF-1 $\alpha$  ( $0,089 \pm 0,011$  нг/мл;  $p=0,014$  и  $p=0,005$  соответственно), во 2-й группе –  $63,01 \pm 14,84$  ММЕ/мл и  $0,138 \pm 0,025$  нг/мл;  $p=0,0088$  и  $p=0,005$  соответственно). В 3-й группе выявлен повышенный по сравнению с нормой уровень HIF-1 $\alpha$  ( $0,098 \pm 0,01$  нг/мл;  $p=0,005$ ).

**Заключение.** Повышение концентрации HIF-1 $\alpha$  у детей с анемией при стадии C1–5 хронической болезни почек до диализа и на его фоне, получающих и не получающих препараты железа и эритропоэтинстимулирующие препараты, подтверждает роль HIF-1 $\alpha$  в регуляции синтеза эритропоэтина и эритропоэза при анемии.

**Ключевые слова:** дети, анемия, хроническая болезнь почек, эритропоэтин, гипоксией индуцированный фактор 1-альфа, HIF-1 $\alpha$ .

**Для цитирования:** Леонтьева Е.В., Савенкова Н.Д. Исследование уровня эритропоэтина и индуцированного гипоксией фактора 1-альфа в крови у детей и подростков с анемией на стадии C1–5 хронической болезни почек. Рос вестн перинатол и педиатр 2020; 65:(1): 77–85. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-77-85

**Purpose.** To examine the indicators of iron deficiency, the levels of hemoglobin, erythropoietin, hypoxia-induced factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ) in the blood of children with anemia and chronic kidney disease C1-5 prior to the dialysis and on its background, receiving and not receiving iron preparations and erythropoietin-stimulating drugs to establish the role of HIF-1 $\alpha$  in the regulation of erythropoietin synthesis and erythropoiesis.

**Results.** The patients ( $n=80$ ) with anemia and chronic kidney disease were divided into 3 groups: Group 1: 32 patients with chronic kidney disease C1-5 prior to the dialysis, not receiving therapy; Group 2: 18 patients with chronic kidney disease C2-5 prior to the dialysis, receiving iron-containing preparations and erythropoietin-stimulating drugs; Group 3: 30 patients with chronic kidney disease C3-5 on dialysis, receiving iron preparations and erythropoietin-stimulating drugs. Group 1: we found the increased levels of erythropoietin ( $28.65 \pm 3.66$  MIU/ml) and HIF-1 $\alpha$  ( $0.089 \pm 0.011$  ng/ml;  $p=0.014$  and  $p=0.005$ , respectively); Group 2:  $63.01 \pm 14.84$  mIU/ml and  $0.138 \pm 0.025$  ng/ml;  $p=0.0088$  and  $p=0.005$ , respectively). Group 3: we found the increased level of HIF-1 $\alpha$  ( $0.098 \pm 0.01$  ng/ml;  $p=0.005$ ).

**Conclusion.** An increase in concentration of HIF-1 $\alpha$  in children with anemia and chronic kidney disease C1-5 prior and on dialysis receiving and not receiving therapy with iron-containing drugs and erythropoietin-stimulating agents confirms the role of HIF-1 $\alpha$  in the regulation of erythropoietin and erythropoiesis synthesis in anemia.

**Key words:** children, anemia, chronic kidney disease, erythropoietin, hypoxia inducible factor 1-alpha, HIF-1 $\alpha$ .

**For citation:** Leonteva E.V., Savenkova N.D. Research of the level of erythropoietin and hypoxia-inducible factor 1-alpha in the blood of children and adolescents with anemia at stage C1–5 of chronic kidney disease. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2020; 65:(1): 77–85 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-77-85

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: Леонтьева Елена Валентиновна – к.м.н., ст. медицинский лаборант кафедры факультетской педиатрии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, ORCID: 0000-0001-7752-7482

e-mail: lysovaelena2015@gmail.com

Савенкова Надежда Дмитриевна – д.м.н., проф., зав. кафедрой факультетской педиатрии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, ORCID: 0000-0002-9415-4785

194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

Анемией при хронической болезни почек считают снижение уровня гемоглобина в крови менее 110 г/л у взрослых и детей старше 2 лет и менее 105 г/л у детей младше 2 лет при снижении в течение 3 мес скорости клубочковой фильтрации (СКФ) до менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> или наличии симптомов анемии (усталость, затрудненное дыхание, вялость, сердцебиение) [1–3]. При хронической болезни почек анемия у детей развивается по причине уменьшения уровня синтеза эритропоэтина в почках и дефицита железа

из-за падения его кишечной абсорбции, что обусловлено повышенным уровнем гепсидина [4, 5]. В регуляции синтеза эритропоэтина почками у пациентов с анемией при хронической болезни почек на стадии С1–5 доказана роль гипоксией индуцированного фактора 1-альфа (HIF-1 $\alpha$ ) [5, 6]. По данным S.K. Sonkar, N.K. Singh и соавт. (2019) [7], у пациентов с хронической болезнью почек стадии С1–3 с функциональным дефицитом железа выявлен высокий уровень гепсидина наряду с другими параметрами воспаления.

У пациентов с анемией при хронической болезни почек на стадии С1–5 главную роль в регуляции синтеза эритропоэтина почками отводят HIF-1 $\alpha$  [5, 6, 8–12]. Ферменты пролилгидроксилазы осуществляют зависимое от кислорода регулирование гипоксией индуцированных факторов (HIFs), приводят к снижению их функции в условиях с нормальным содержанием кислорода. В состоянии гипоксии пролилгидроксилирование HIFs не происходит и активируется их функция [8]. HIF- $\alpha$  играет большую роль в регуляции синтеза эритропоэтина в почках и печени [5, 6, 8–12]. При нормоксии гидроксилирование HIF- $\alpha$  с помощью ферментов HIF-пролил-4-гидроксилаз снижает экспрессию эритропоэтина, поддерживая его циркулирующие уровни в пределах 10 МЕ/мл, а также регулирует белки транспорта железа в кишечнике. При гипоксии активность ферментов HIF-пролил-4-гидроксилаз снижается, тем самым стабилизируется уровень HIF- $\alpha$  и обеспечивается его транслокация в ядро, где он образует функциональный гетеродимер с субъединицей HIF- $\beta$ .

Этот активный HIF-гетеродимер связывается с элементом, чувствительным к гипоксии в генах-мишенях, таких как ген *EPO* (кодирующий эритропоэтин), и индуцирует их экспрессию [6]. У пациентов с хронической болезнью почек доставка кислорода в почку изменяется, в результате ткань органа адаптируется к потреблению меньшего количества кислорода [9]. Снижение потребления кислорода изменяет профиль парциального давления  $pO_2$  ткани до «псевдонормоксического» состояния, в котором содержится достаточное количество кислорода и поддерживается нормальный градиент кислорода  $O_2$ , что позволяет ферментам пролилгидроксилазам оставаться активными [10]. Следовательно, HIF- $\alpha$  не накапливается, HIF-гетеродимер не образуется, а ген *EPO* и другие гены, необходимые для эффективного эритропоэза, не транскрибируются [11]. Специализированные эритропоэтинпродуцирующие клетки не отвечают на развивающуюся анемию продукцией эритропоэтина. При хронической болезни почек модель экспрессии эритропоэтина отражает переход от почечного синтеза эритропоэтина к печеночному (рис. 1) [6].

**Цель исследования:** изучить уровень гемоглобина в крови, дефицита железа, уровня эритропоэтина и HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови у детей и подростков с анемией при хронической болезни почек на стадии С1–5 до диализа и на его фоне, получающих и не получающих препараты железа и эритропоэтинстимулирующие препараты, для установления роли HIF-1 $\alpha$  в регуляции синтеза эритропоэтина и в эритропоэзе.

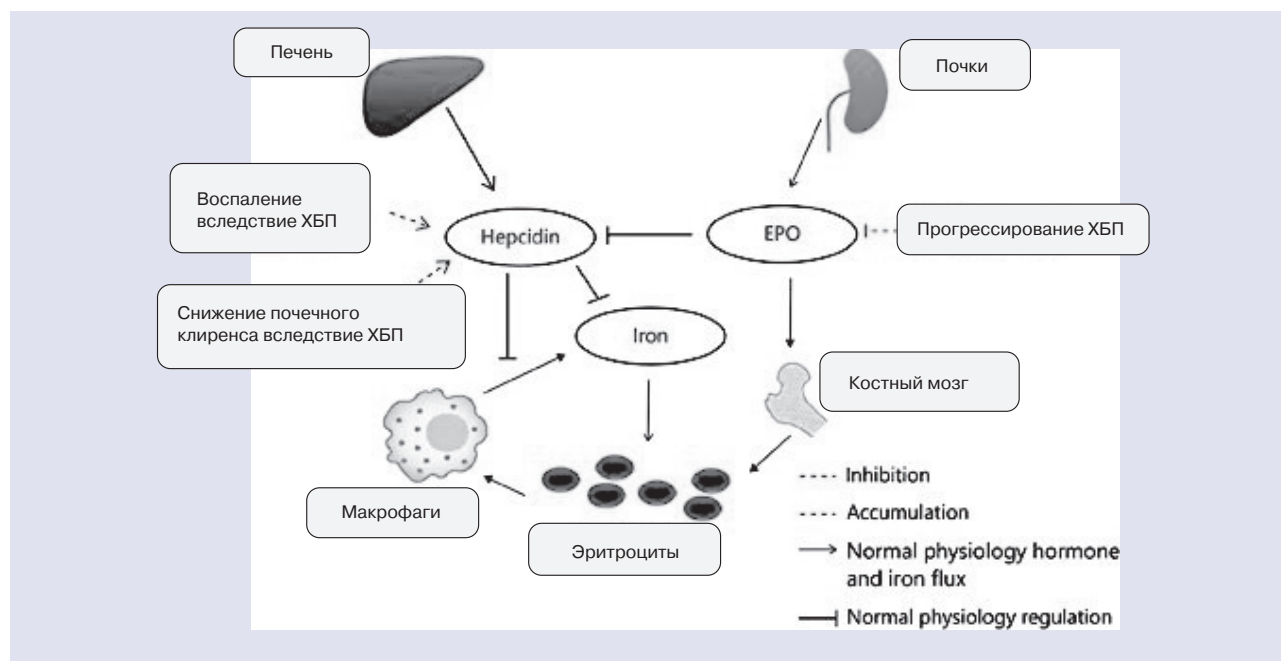


Рис. 1. Роль гепсидина, железа, эритропоэтина в эритропоэзе (адаптировано по [6]).

EPO (erythropoietin) – эритропоэтин; ХБП – хроническая болезнь почек; Hepcidin – гепсидин; Iron – железо; Inhibition – подавление (ингибирование); Accumulation – накопление; Normal physiology hormone and iron flux – нормальная физиология гормонов и потока железа; Normal physiology regulation – нормальная физиологическая регуляция.

Fig. 1. The role of hepcidin, iron, and erythropoietin in erythropoiesis (adapted according [6]).

## Характеристика детей и методы исследования

Критериями включения пациентов в исследование были возраст младше 18 лет; подписание информированного согласия на участие в исследовании; диагноз хронической болезни почек у детей и подростков, установленный в соответствии с критериями NKF-K/DOQI (2002), R. Hogg и соавт. (2003) [13, 14]; наличие повреждения почек в течение 3 мес или более (со структурными или функциональными нарушениями органа), манифестирующего одним признаком и более: нарушением в анализах крови или мочи, изменениями при визуализации почек, изменениями при биопсии почки, снижением СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в течение 3 мес и более, с наличием или отсутствием других признаков повреждения почек [14]. Критериями исключения пациентов из исследования служили патология почек без признаков хронической болезни почек; анемия непечечного генеза. Анемию при хронической болезни почек диагностировали у детей в возрасте от 6 мес до 5 лет, если концентрация гемоглобина в крови была менее 110 г/л; у детей 5–12 лет – менее 115 г/л; у больных 12–15 лет – менее 120 г/л; у подростков старше 15 лет – если концентрация гемоглобина в крови составляла менее 130 г/л у мальчиков и 120 г/л у девочек [1, 2].

В исследование были включены 80 детей и подростков с анемией при хронической болезни почек на стадии С1–5. Больные были разделены на 3 группы: 1-ю группу составили 32 пациента с анемией при хронической болезни почек стадии С1–5 до диализа, не получающие терапию препаратами железа и эритропоэтинстимулирующими препаратами. Во 2-ю группу вошли 18 пациентов с анемией при хронической болезни почек на стадии С2–5 до диализа, получающие терапию препаратами железа и эритропоэтинстимулирующими препаратами. В 3-ю группу включили 30 больных хронической болезнью почек на стадии С3–5, находящихся на диализе (из них 21 пациент – на заместительной терапии гемодиализом и 9 – на перитонеальном диализе), получающих терапию препаратами железа внутривенно и препаратами эритропоэтина.

Возрастной состав 80 детей: с 1 до 2 лет – 9 (12%)\*, с 2 до 7 лет – 18 (22%), с 7 до 12 лет – 18 (22%), с 12 до 18 лет – 35 (44%). Гендерный состав: 41 (51%) девочка и 39 (49%) мальчиков.

Все 18 пациентов 2-й группы получали препараты железа в дозе 2–6 мг/кг/сут в 2–3 приема (пероральные соли двухвалентного железа – препараты Актиферрин, Ферретаб, Фенюльс, Сорбифер и железосодержащие комплексы трехвалентного железа – препараты Мальтофер, Феррум ЛЕК, Ферлатум) и препараты эри-

\* Здесь и далее процент вычислен условно, так как число пациентов меньше 100.

тропоэтина в дозе от 50 до 200 МЕ/кг/нед подкожно в зависимости от массы тела (Эпоэтин альфа: Эпрекс, Эпокрин, Эпоэтин, Эральфон; и Эпоэтин бета: Рекормон, Эпостим, Эритростим). Все 30 пациентов 3-й группы с анемией при хронической болезни почек стадии С3–5, находившиеся на диализе, получали терапию препаратами железа внутривенно: железа сахарат (Венофер), железа III гидроксид полимальтозного комплекса (Феринжент) и эритропоэтинстимулирующие препараты (Эпоэтин альфа и бета). Целевая концентрация гемоглобина крови находилась в диапазоне 110–120 г/л.

СКФ рассчитывали по клиренсу креатинина по формуле Schwartz: СКФ (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) = L:Сг • К, где L – длина тела (см); Сг – концентрация креатинина в сыворотке крови мг/дл, К – коэффициент. Считали значение коэффициента К в формуле Schwartz с учетом содержания креатинина в сыворотке крови в микромолях на литр [14].

Абсолютный дефицит железа устанавливали при снижении ферритина сыворотки крови до 100 мкг/л и менее и уровне насыщения трансферрина от 20% и ниже; функциональный дефицит железа устанавливали при уровне ферритина выше 100 мкг/л, при этом насыщение трансферрина было ниже 20% [1–3]. Уровень сывороточного эритропоэтина определяли с использованием тест-системы «Biomerica EPO ELISA». Уровень эритропоэтина в сыворотке крови в норме составляет 3,22–31,9 ММЕ/мл, для сравнения использовали среднее значение (17,56 ММЕ/мл). Определение концентрации HIF-1α проведено методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA – Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay). В норме концентрация HIF-1α в сыворотке крови составляет 0,043±0,007 нг/мл, для сравнения HIF-1α использовано среднее значение нормальных показателей (0,043 нг/мл).

Для оценки силы связи между показателями использованы методы корреляционного анализа Спирмена. Сила связи по Спирмену определена с расчетом коэффициента ранговой корреляции (R). Коэффициент корреляции Rs=1 определяют прямую связь, при Rs= –1 – обратную связь; Rs=0,3 и менее отражает слабую связь, Rs более 0,4 и менее 0,7 – связь умеренной силы, Rs=0,7 и более – сильную связь.

## Результаты и обсуждение

Из 80 пациентов с хронической болезнью почек стадия С5 была диагностирована у 29 (36%), СКФ составила 10,07±0,46 мл/мин; стадия С4 – у 28 (35%) больных, СКФ 21,98±0,72 мл/мин; стадия С3 – у 12 (15%), СКФ 40,43±2,56 мл/мин; стадия С2 – у 8 (10%) детей, СКФ в пределах 72,56±3,16 мл/мин; стадия С1 – у 3 (4%), СКФ 99,44±3,73 мл/мин. Таким образом, у 80 детей с хронической болезнью почек стадии С4–5 выявлены в 71%, С1–3 – в 29% случаев.

Анализ этиологической структуры хронической болезни почек показал наличие врожденных и наследственных заболеваний почек в 75% случаев, приобретенных заболеваний почек – в 25%. САКУТ\*-синдром установлен у 34 (56%) из 60 пациентов с врожденными и наследственными заболеваниями почек. Результаты согласуются с данными других центров [15–22].

У обследованных детей с хронической болезнью почек средние уровень гемоглобина и количество эритроцитов в клиническом анализе крови составили на стадии С5  $83,79 \pm 2,55$  г/л и  $(2,8 \pm 0,11) \cdot 10^{12}$ /л, на стадии С4 –  $100,39 \pm 1,74$  г/л и  $(3,61 \pm 0,11) \cdot 10^{12}$ /л, на стадии С3 –  $104,92 \pm 1,86$  г/л и  $(3,69 \pm 0,15) \cdot 10^{12}$ /л, на стадии С2 –  $105,75 \pm 1$  г/л и  $(4,16 \pm 0,13) \cdot 10^{12}$ /л и на стадии С1 –  $106,67 \pm 3,53$  г/л и  $(4,66 \pm 0,09) \cdot 10^{12}$ /л соответственно. Средние уровень сывороточного железа, общая железосвязывающая способность сыворотки крови и насыщение трансферина достигали  $12,62 \pm 0,62$  мкмоль/л,  $50,33 \pm 1,44\%$  и  $31,73 \pm 1,6\%$  соответственно. Выявлено повышение среднего уровня эритропоэтина в сыворотке крови до  $38,24 \pm 4,87$  ММЕ/мл и HIF-1 $\alpha$  до  $0,1 \pm 0,01$  нг/мл.

В 1-й группе (32 ребенка с хронической болезнью почек на стадии С1–5 до диализа, не получающих препараты железа и эритропоэтин) СКФ составила в среднем  $42,89 \pm 4,89$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Хроническая болезнь почек стадии С5 определена у 3 (9%), стадии С4 – у 12 (38%), С3 – у 8 (25%), С2 – у 6 (19%), С1 у 3 (9%) больных; выявлено преобладание пациентов на стадиях С3–4. Анемия средней тяжести выявлена у 2 (6%) из 32 детей, легкой степени тяжести – у 30 (94%). В данной группе пациентов средние уровни гемоглобина и эритроцитов в клиническом анализе крови составили у 3 больных с хронической болезнью почек на стадии С1 –  $106,67 \pm 3,53$  г/л и  $(4,66 \pm 0,09) \cdot 10^{12}$ /л, у 6 пациентов на стадии С2 –  $106,83 \pm 1,87$  г/л и  $(4,18 \pm 0,17) \cdot 10^{12}$ /л, у 8 больных на С3 стадии –  $107,38 \pm 1,08$  г/л и  $(3,87 \pm 0,17) \cdot 10^{12}$ /л, у 12 детей на стадии С4 –  $101,25 \pm 1,92$  г/л и  $(3,57 \pm 0,18) \cdot 10^{12}$ /л и у 3 больных на стадии С5 –  $87,67 \pm 9,56$  г/л и  $(2,89 \pm 0,23) \cdot 10^{12}$ /л соответственно.

В 1-й группе абсолютный дефицит железа был установлен у 5 (16%) из 32 пациентов на основании снижения среднего уровня ферритина ( $62,5 \pm 19,9$  мкг/л) и насыщения трансферина сыворотки крови ( $12,1 \pm 5,3\%$ ), в том числе у 1 из 3 пациентов на стадии С5, у 2 из 12 – со стадией С4 и у 2 из 17 – со стадиями С1–3 хронической болезни почек. Дефицита железа у пациентов с анемией на стадии С1 хронической болезни почек не выявлено. Таким образом, частота формирования абсолютного дефицита железа у больных 1-й группы уве-

личивалась по мере прогрессирования хронической болезни почек. Полученные результаты соответствуют данным R. Вагоссо и соавт. (2011) [23].

В 1-й группе пациентов средний уровень эритропоэтина в сыворотке крови составил  $28,65 \pm 3,66$  ММЕ/мл, что достоверно ( $p=0,014$ ) превышало средний нормальный уровень ( $17,56$  ММЕ/мл). При сравнении среднего уровня эритропоэтина ( $36,54 \pm 5,62$  ММЕ/мл) в крови у 17 из 32 пациентов на ранних (С1–3) стадиях хронической болезни почек со средним нормальным уровнем эритропоэтина получено статистически достоверное его повышение ( $p=0,003$ ). Это может свидетельствовать об активации фактором HIF-1 $\alpha$  синтеза эритропоэтина на ранних стадиях хронической болезни почек до диализа. У 15 пациентов 1-й группы со стадиями С4–5 болезни уровень эритропоэтина в сыворотке крови был ниже ( $p=0,024$ ), чем у 17 больных на ранних стадиях:  $19,7 \pm 3,43$  и  $36,54 \pm 5,62$  ММЕ/мл соответственно (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют, что опосредованный HIF-1 $\alpha$  синтез эритропоэтина у детей 1-й группы остается сохранным при стадии С1–3 хронической болезни почек и снижен при стадии С4–5. Эти результаты сопоставимы с данными В.Б. Бородулина и соавт. (2013) [24], демонстрирующими, что уровень эритропоэтина у больных с хронической болезнью почек на стадии С1–3 достоверно выше, чем у здоровых лиц.

Средняя концентрация в сыворотке крови HIF-1 $\alpha$  ( $0,089 \pm 0,011$  нг/мл) у детей 1-й группы была достоверно выше ( $p=0,005$ ) среднего значения нормы ( $0,043$  нг/мл). У 17 пациентов этой группы с хронической болезнью почек на стадии С1–3 было выявлено достоверное превышение средней концентрации HIF-1 $\alpha$  ( $0,1 \pm 0,016$  нг/мл) в сыворотке крови по сравнению со средними значениями нормы ( $p=0,0022$ ). У 15 детей этой группы на стадии С4–5 также было установлено достоверное повышение среднего уровня HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови ( $0,074 \pm 0,013$  нг/мл) по сравнению со средними значениями нормы ( $p=0,037$ ). Средний уровень HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови у больных 1-й группы с хронической болезнью почек на стадии С1–3 ( $0,1 \pm 0,016$  нг/мл) статистически достоверно не отличался от аналогичного показателя у пациентов на стадии С4–5 (рис. 3). Полученные нами данные согласуются с результатами клинко-патоморфологического исследования, предпринятого Т.-W. Hung и соавт. (2013) [25] и продемонстрировавшего повышенную ренальную экспрессию HIF-1 $\alpha$  у пациентов на ранних стадиях хронической болезни почек, еще в отсутствие значительного повреждения почек.

В 1-й группе пациентов по ранговому коэффициенту корреляции Спирмена выявлены прямая умеренной силы связь между СКФ и уровнем гемогло-

\* Congenital anomalies of the kidney and urinary tract – врожденные аномалии почек и мочевых путей.

бина в крови ( $R=0,536$ ;  $p=0,0015$ ); прямая сильная связь между СКФ и количеством эритроцитов в клиническом анализе крови ( $R=0,738$ ;  $p=0,00001$ ).

Во 2-й группе (18 детей с хронической болезнью почек на стадиях С2–5 до диализа, получающих препараты железа и эритропоэтина) СКФ составила  $27,46 \pm 20,45$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. В данной группе стадия С5 хронической болезни почек диагностирована у 4, стадия С4 – у 10, стадия С3 – у 2 и стадия С2 –

у 2 пациентов, при этом выявлено преобладание больных на стадии С4.

Анемия средней степени тяжести была определена у 3 больных, легкой степени тяжести – у 15. Средние уровни гемоглобина в клиническом анализе крови у 2 детей при стадии С2 хронической болезни почек составляли  $102,5 \pm 3,5$  г/л, у 2 больных при стадии С3 –  $106 \pm 4$  г/л, у 10 пациентов со стадией С4 –  $102 \pm 2,56$  г/л, у 4 детей со стадией С5 –  $91 \pm 7,33$  г/л.

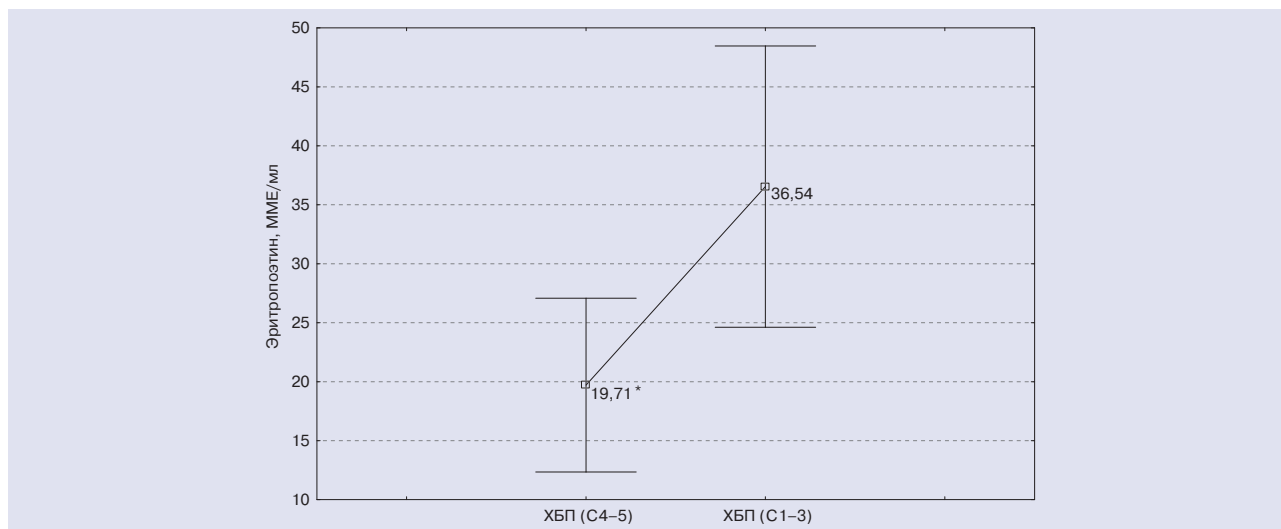


Рис. 2. Среднее значение, стандартное отклонение и 95% доверительные интервалы уровня эритропоэтина (ММЕ/мл) в крови пациентов 1-й группы с хронической болезнью почек (ХБП) на стадиях С1–3 ( $n=17$ ) и С4–5 ( $n=15$ ) до диализа, не получающих препараты железа и эритропоэтина.

\* – достоверные различия с больными хронической болезнью почек со стадией С1–3.

Fig. 2. Mean value, standard deviation and 95% confidence intervals of the level of erythropoietin (MME/ml) in the blood of patients of group 1 with chronic kidney disease on C1–3 stage ( $n=17$ ) and on C4–5 stage ( $n=15$ ) before dialysis who did not receive iron and erythropoietin.

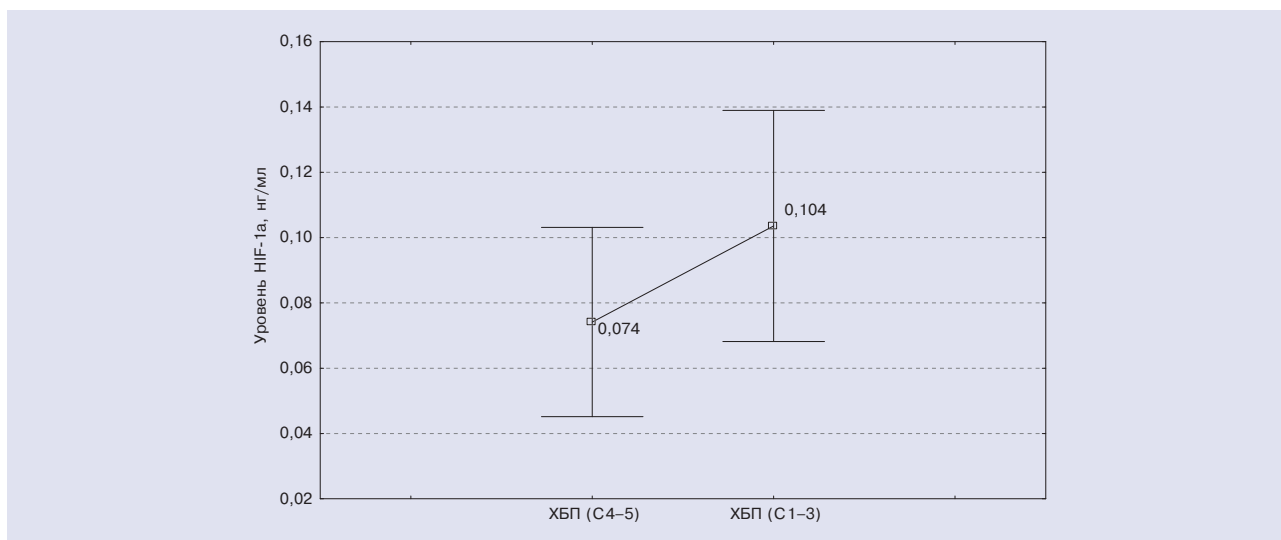


Рис. 3. Среднее значение, стандартное отклонение и 95% доверительные интервалы уровня HIF-1α, нг/мл в крови пациентов 1-й группы с хронической болезнью почек (ХБП) на стадиях С1–3 ( $n=17$ ) и С4–5 ( $n=15$ ) до диализа, не получающих препараты железа и эритропоэтина.

HIF-1α – гипоксией индуцированный фактор 1-альфа.

Fig. 3. Mean value, standard deviation and confidence intervals of HIF-1α level, ng/mL in blood of patients of group 1 with chronic kidney disease on C1–3 stage ( $n=17$ ) and on C4–5 stage ( $n=15$ ) before dialysis who did not receive iron and erythropoietin.

Абсолютный дефицит железа во 2-й группе пациентов установлен по снижению среднего уровня ферритина ( $28,4 \pm 12,8$  мкг/л) в сыворотке крови и насыщения трансферрина менее  $12,7 \pm 5,58\%$  у 3 больных. Из них 2 детей имели стадию С5 хронической болезни почек, 1 ребенок – стадию С4. Функциональный дефицит железа не обнаружен.

У пациентов этой группы на стадии С2–5 хронической болезни почек выявлено повышение среднего уровня эритропоэтина ( $63,01 \pm 14,84$  ММЕ/мл) по сравнению со средним значением нормы ( $17,56$  ММЕ/мл;  $p=0,0088$ ) и повышение средней концентрации HIF-1 $\alpha$  ( $0,138 \pm 0,025$  нг/мл) по сравнению со средним нормальным значением ( $0,043$  нг/мл;  $p=0,005$ ). В этой группе детей по коэффициенту корреляции Спирмена выявлена прямая умеренной силы связь между СКФ и содержанием HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови ( $R=0,684$ ;  $p=0,0017$ ), а также между СКФ и количеством эритроцитов ( $R=0,632$ ;  $p=0,004$ ); обратная умеренной силы связь между СКФ и уровнем железа в сыворотке крови ( $R=-0,479$ ;  $p=0,043$ ).

В 3-й группе (30 детей и подростков с хронической болезнью почек на стадии С3–5, находящихся на диализе и получающих препараты железа внутривенно и препараты эритропоэтина) средний возраст пациентов ( $11,93 \pm 0,77$  года) превышал таковой в 1-й и 2-й группах ( $7,76 \pm 0,97$  и  $8,48 \pm 1,35$  года соответственно). Средняя СКФ у пациентов 3-й группы составила  $13,47 \pm 1,15$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Стадия С5 хронической болезни почек диагностирована у 22 (73%), стадия С4 – у 6 (20%) и С3 – у 2 (7%) детей.

Анемия средней степени тяжести выявлена у 12 (40%) пациентов, легкой степени – у 12 (40%), тяжелой степени – у 6 (20%). Не было установлено различий между средним уровнем эритропоэтина в сыворотке крови ( $33,59 \pm 7,9$  ММЕ/мл) и средними нормальными значениями данного показателя ( $17,56$  ММЕ/мл). Достоверно установлено повышение средней концентрации HIF-1 $\alpha$  в крови ( $0,098 \pm 0,013$  нг/мл) по сравнению с нормой ( $0,043$  нг/мл;  $p=0,005$ ).

**Результаты оценки показателей обмена железа, уровня гемоглобина, эритропоэтина и HIF-1 $\alpha$  в 3 группах детей с хронической болезнью почек.** Средние уровни гемоглобина в клиническом анализе крови в 1-й группе у пациентов с хронической болезнью почек стадии С1–5 ( $103,06 \pm 1,52$  г/л) и во 2-й группе со стадией С2–5 заболевания ( $100,05 \pm 2,38$  г/л) были выше, чем в 3-й группе со стадией С3–5 болезни ( $85,56 \pm 2,61$  г/л). Уровень железа в сыворотке крови у детей 3-й группы оказался выше, чем в двух других группах, что можно объяснить внутривенным применением препаратов железа у пациентов 3-й группы.

Средний уровень эритропоэтина в крови у пациентов 2-й группы был выше, чем в 1-й группе ( $28,65 \pm 3,66$  и  $63,01 \pm 14,84$  ММЕ/мл соответственно;  $p=0,006$ ). Не было получено достоверных различий по уровню эритропоэтина в крови у детей 1-й и 3-й групп, а также у детей 2-й и 3-й групп (рис. 4).

Уровень HIF-1 $\alpha$  в крови (рис. 5) у пациентов 1-й группы ( $0,089 \pm 0,011$  нг/мл) был достоверно ниже, чем во 2-й группе ( $0,138 \pm 0,025$  нг/мл;  $p=0,049$ ).

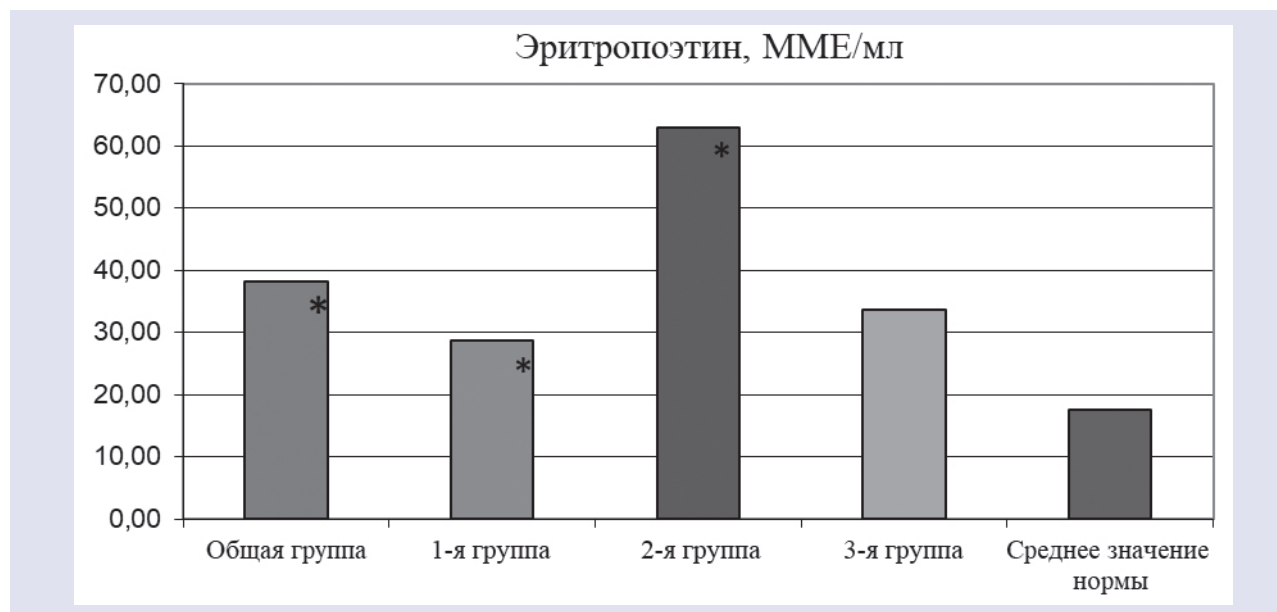


Рис. 4. Уровень эритропоэтина (ММЕ/мл) в сыворотке крови у детей и подростков в 1, 2 и 3-й группах с анемией при хронической болезни почек на стадии С1–5 в сравнении с нормой и общей группой пациентов.

Fig. 4. The level of erythropoietin (ММЕ/mL) in the blood of children and adolescents in the 1, 2 and 3 groups with anemia in chronic kidney disease on С1–5 stages compared with the norm and the general group of patients.

\* – статистически достоверные различия со средними значениями нормы.

Полученные результаты могут указывать на участие HIF-1 $\alpha$  в регуляции эритропоэза у пациентов с анемией при хронической болезни почек на стадиях С2–5 до диализа, получающих терапию препаратами железа и эритропоэтина. По данным Е.А. Named и соавт. (2012) [18], уровень HIF-1 $\alpha$  в крови у детей с анемией при хронической болезни почек до и после диализа был выше, чем у здоровых.

Повышение среднего уровня эритропоэтина по сравнению с нормой выявлено в общей группе пациентов с анемией при хронической болезни почек: в 1-й группе у 32 пациентов со стадиями С1–5 и во 2-й группе у 18 пациентов со стадиями С2–5. В 3-й группе у 30 пациентов на стадиях С3–5 средний уровень эритропоэтина статистически значимо не отличался от нормы.

Установленное в данном исследовании повышение концентрации в крови HIF-1 $\alpha$  по сравнению с нормальными значениями ( $p=0,005$ ) у детей 1-й группы может указывать на сохранный синтез эритропоэтина, опосредованный HIF-1 $\alpha$ , на всех стадиях хронической болезни почек. F. Locatelli и соавт. (2017) [6] считают, что при прогрессировании хронической болезни почек синтез эритропоэтина переходит от почечного преимущественно к печеночному. Мы полагаем, что полученные нами данные подтверждают регуляцию HIF почечного и печеночного синтеза эритропоэтина у детей с анемией на стадиях С1–5 хронической болезни почек до диализа, не получающих терапию препаратами железа и эритропоэтина. Обсуждать эти результаты затруднительно, так как ана-

логичных результатов исследований HIF-1 $\alpha$  у такого контингента больных нам не встретилось.

Выявленное у детей 2-й группы повышение среднего уровня эритропоэтина в сыворотке крови по сравнению со средним значением нормы ( $p=0,0088$ ) и повышение уровня HIF-1 $\alpha$  в крови по сравнению со средним значением нормы ( $p=0,005$ ) подтверждает опосредованную HIF-1 $\alpha$  регуляцию эритропоэза при анемии у детей с хронической болезнью почек на стадиях С2–5 до диализа, получающих терапию препаратами железа и эритропоэтина. У детей этой группы установлена прямая умеренной силы связь между СКФ и уровнем HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови ( $p=0,0017$ ) [26]. Полученные результаты также трудно обсуждать вследствие отсутствия в литературе данных аналогичных исследований.

У детей 3-й группы выявлено повышение среднего уровня HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови по сравнению с нормой ( $p=0,005$ ). Полученные результаты подтверждают участие HIF-1 $\alpha$  в эритропоэзе у детей и подростков с хронической болезнью почек стадии С3–5, находящихся на диализе и получающих препараты железа и эритропоэтина, что, вероятнее всего, можно объяснить внепочечным синтезом HIF. Это согласуется с данными F. Locatelli и соавт. (2017) [6] о преобладании печеночного синтеза эритропоэтина при хронической болезни почек.

Терапия препаратами железа и эритропоэтином в клинической практике при анемии у пациентов с хронической болезнью почек обеспечивает увеличение концентрации гемоглобина без риска

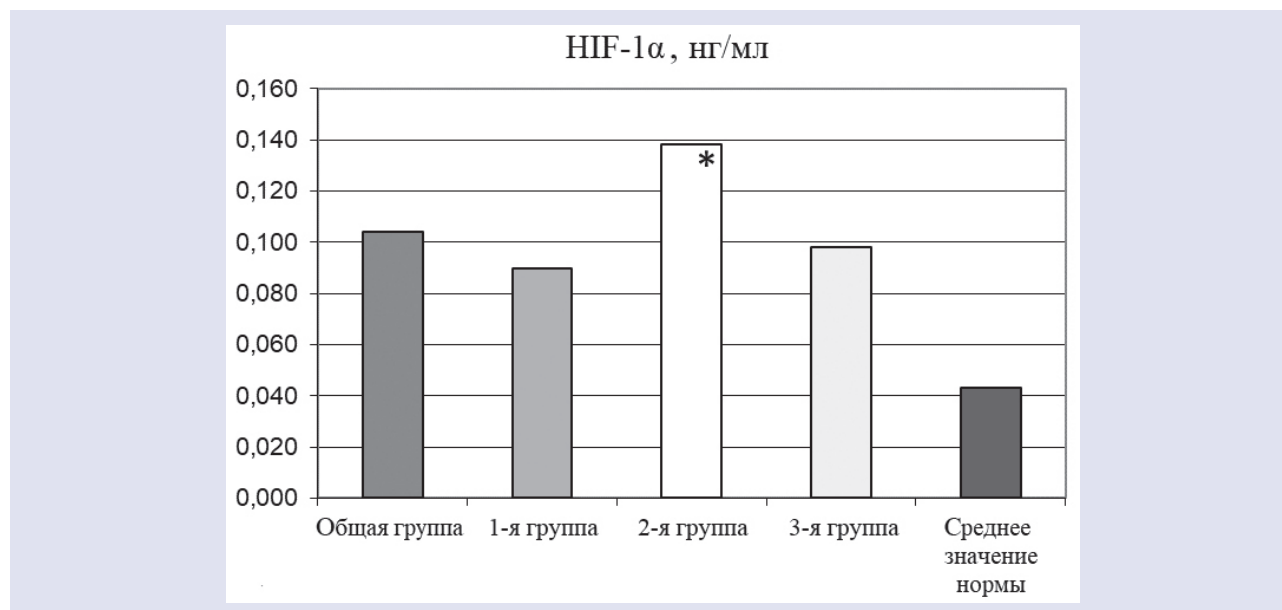


Рис. 5. Уровень HIF-1 $\alpha$ , нг/мл в крови у детей и подростков в 1, 2 и 3-й группах с анемией при хронической болезни почек на стадиях С1–5 в сравнении с нормой и общей группой пациентов.

HIF-1 $\alpha$  – гипоксией индуцированный фактор 1-альфа. \* – статистически достоверное различие с 1-й группой.

Fig. 5. The HIF-1 $\alpha$  level, ng/mL in the blood of children and adolescents in the 1, 2 and 3 groups with anemia in chronic kidney disease on C1–5 stages compared with the norm and the general group of patients.

повторных переливаний крови и улучшает качество жизни пациентов. Однако рекомбинантные эритропоэтинстимулирующие препараты имеют высокую стоимость и требуют парентерального введения.

Понимание роли HIF-1 $\alpha$  и его изоформы HIF-2 $\alpha$  в регуляции синтеза эритропоэтина в почках и печени у пациентов с анемией при хронической болезни почек послужило основой для разработки нового класса фармакологических препаратов — HIF-стабилизаторов. В настоящее время проходят III фазу клинических испытаний следующие HIF-стабилизаторы: Roxadustat (FG-4592/ASP1517), Vada-

dustat (AKB-6548), Daprodustat (GSK1278863), Molidustat (BAY 85-3934) [8, 27–31].

### Заключение

О роли HIF-1 $\alpha$  в синтезе эритропоэтина и активации эритропоэза свидетельствует повышение его уровня в крови у детей с анемией при хронической болезни почек на стадии C1–5 до диализа, не получающих терапию препаратами железа и эритропоэтина; на стадии C2–5 до диализа, получающих терапию препаратами железа и эритропоэтина; на стадии C3–5 у детей на диализе, получающих терапию препаратами железа и эритропоэтина.

### ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney International Supplements* 2012; 2(4): 279–335.
2. Anaemia management in people with chronic kidney disease overview. National Institute for health and care excellence. <https://pathways.nice.org.uk/pathways/anaemia-management-in-people-with-chronic-kidney-disease>
3. Шило В.Ю., Земченков А.Ю., Гуревич К.Я., Добронравов В.А., Лысенко (Козловская) Л.В., Ермоленко В.М. Российские национальные рекомендации по диагностике и лечению анемии при хронической болезни почек. *Нефрология и диализ* 2016; 18(1): 19–34. [Shilo V.Yu. Zemchenkov A.Ju. Gurevich K.Ja. Dobronravov V.A. Lysenko (Kozlovskaja) L.V., Ermolenko V.M. Russian national guidelines for the diagnosis and treatment of anemia in chronic kidney disease. *Nefrologiya i dializ* (Nephrology and dialysis) 2016; 18(1): 19–34. (In Russ.)]
4. Atkinson M.A. Hepcidin in anemia of chronic kidney disease: review for the pediatric nephrologist. *Pediatr nephrol* 2012; 27(1): 33–40. DOI: 10.1007/s00467-011-1832-y
5. Krishnan A.R., Trinder D., Chua A.C., Chakera A., Ramm G.A., Olynyk J.K. Anaemia of chronic kidney disease: what we know now. *J Ren Hepat Disord* 2017; 1(1): 11–19. DOI: 10.15586/jrenhep.2017.5
6. Locatelli F., Fishbane S., Block G.A., Macdougall I.C. Targeting Hypoxia-Inducible Factors for the Treatment of Anemia in Chronic Kidney Disease Patients. *Am J Nephrol* 2017; 45(3): 187–199. DOI: 10.1159/000455166
7. Sonkar S.K., Singh N.K., Sonkar G.K., Pandey S., Bhosale V., Kumar A. et al. Association of hepcidin and anemia in early chronic kidney disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2019; 30(2): 315–324. DOI: 10.4103/1319-2442.256838
8. Gupta N., Wish J.B. Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase Inhibitors: A Potential New Treatment for Anemia in Patients with CKD. *Am J Kidney Dis* 2017; 69(6): 815–826. DOI: 10.1053/j.ajkd.2016.12.011
9. Haase V.H. Hypoxia-inducible factor signaling in the development of kidney fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5(1): 1–16. DOI: 10.1186/1755-1536-5-S1-S16
10. Wegner R.H., Hoogewijs D. Regulated oxygen sensing by protein hydroxylation in renal erythropoietin-producing cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298: 1287–1296. DOI: 10.1152/ajprenal.00736.2009
11. Nangaku M., Inagi R., Miyata T., Fujita T. Hypoxia and hypoxia-inducible factor in renal disease. *Nephron Exp Nephrol* 2008; 110(1): e1–7. DOI: 10.1159/000148256
12. Лысова Е.В., Савенкова Н.Д. Механизмы развития и тяжесть синдрома анемии при хронической болезни почек у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2015; 60(3): 31–36. [Lysova E.V., Savenkova N.D. Mechanisms for development of anemia and its severity in children with chronic kidney disease. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii* (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics) 2015; 60(3): 31–36. (In Russ.)]
13. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (2 Suppl. 1): S1–266.
14. Hogg R.J., Furth S., Lemley K.V., Portman R., Schwartz G.J., Coresh J. et al. National Kidney Foundation’s Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics* 2003; 111(6): 1416–1421. DOI: 10.1542/peds.111.6.1416
15. Приходина Л.С., Длин В.В., Игнатова М.С. Структура хронической почечной недостаточности (ХПН) у детей: 5-летнее одноцентровое исследование. *Педиатр* 2011; 2(1): M31. [Prikhodina L.S., Dlin V.V., Ignatova M.S. The structure of chronic renal failure (CRF) in children: 5-year single-center study. *Pediatr* 2011; 2 (1): M31. (In Russ.)]
16. Ishikura K., Uemura O., Hamasaki Y., Nakai H., Ito S., Harada R. et al. Insignificant impact of VUR on the progression of CKD in children with CAKUT. *Pediatr Nephrol* 2016; 31(1): 105–112. DOI: 10.1007/s00467-015-3196-1
17. Ingelfinger J.R., Kalantar-Zadeh K., Schaefer F. World Kidney Day 2016: averting the legacy of kidney disease — focus on childhood. *Pediatr Nephrol* 2016; 31(3): 343–348. DOI: 10.1007/s00467-015-3255-7
18. Hamed E.A., El-Abaseri T.B., Mohamed A.O., Ahmed R.A., El-Metwally T.H. Hypoxia and oxidative stress markers in pediatric patients undergoing hemodialysis: cross section study. *BMC Nephrol* 2012; 13: 136. DOI: 10.1186/1471-2369-13-136
19. Mong Hiep T.T., Ismaili K., Collart F., Van Damme-Lombaerts R., Godefroid N., Ghuysen M-S. et al. Clinical characteristics and outcomes of children with stage 3–5 chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2010; 25(5): 935–940. DOI: 10.1007/s00467-009-1424-2
20. Kamath N., Iyengar A.A. Chronic Kidney Disease (CKD): an observational study of etiology, severity and burden of comorbidities. *Indian J Pediatr* 2017; 84(11): 822–825. DOI: 10.1007/s12098-017-2413-2
21. Harambat J., van Stralen K.J., Kim J.J., Tizard E.J. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol* 2012; 27(3): 363–73. DOI: 10.1007/s00467-011-1939-1
22. Игнатова М.С., Длин В.В. Приоритетные исследования в детской нефрологии (к 40-летию отделения наследственных и приобретенных болезней почек МНИИ педиатрии и детской хирургии). *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2020; 65:(1)



- натологии и педиатрии 2010; 6: 62–68. [Ignatova M.S., Dlin V.V. Priority studies in pediatric nephrology (on the occasion of the 40-th anniversary of the Department of Hereditary and Acquired Renal Diseases, Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery) Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics) 2010; 6: 62–68. (In Russ.)]
23. Baracco R., Saadeh S., Valentini R., Kapur G., Jain A., Mattoo T. K. Iron deficiency in children with early chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2011; 26(11): 2077–2080. DOI: 10.1007/s00467-011-1946-2
  24. Бородулин В.Б., Бычков Е.Н., Протопопов А.А., Ребров А.П., Шевченко О.В., Нестеренко О.В. и др. Эритропоэтин – маркер хронической болезни почек на доклинической стадии. Фундаментальные исследования 2013; 11–1: 22–26. [Borodulin V.B., Bychkov E.N., Protopopov A.A., Rebrov A.P., Shevchenko O.V., Nesterenko O.V. et al. Erythropoietin is a marker of chronic kidney disease at the pre-clinical stage. *Fundamental'nye issledovaniya (Fundamental research)* 2013; 11–1: 22–26. (In Russ.)]
  25. Hung T.W., Liou J.H., Yeh K.T., Tsai J.P., Wu S.W., Tai H.C. et al. Renal expression of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  in patients with chronic kidney disease: a clinicopathologic study from nephrectomized kidneys. *Indian J Med Res* 2013; 137(1): 102–110.
  26. Lysova E., Savenkova N. Interrelation of erythropoietin (EPO), hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and the glomerular filtration rate (GFR) by anemia in children with chronic kidney disease (CKD). Abstracts of the 50th Anniversary European Society for Paediatric Nephrology (ESPN) Meeting, Glasgow, September 2017. *Pediatr Nephrol* 2017; 32: 1709. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00467-017-3753-x.pdf>
  27. Zhong H., Zhou T., Li H., Zhong Z. The role of hypoxia-inducible factor stabilizers in the treatment of anemia in patients with chronic kidney disease. *Drug Des Devel Ther* 2018; 12: 3003–3011. DOI: 10.2147/DDDT.S175887
  28. Sakashita M., Tanaka T., Nangaku M. Hypoxia-Inducible Factor-Prolyl Hydroxylase Domain Inhibitors to Treat Anemia in Chronic Kidney Disease. *Contrib Nephrol* 2019; 198: 112–123. DOI: 10.1159/000496531
  29. Bonomini M., Del Vecchio L., Sirolli V., Locatelli F. New Treatment Approaches for the Anemia of CKD. *Am J Kidney Dis* 2016; 67(1): 133–142. DOI: 10.1053/j.ajkd.2015.06.030
  30. Besarab A., Provenzano R., Hertel J., Zabaneh R., Klaus S.J., Lee T. et al. Randomized placebo-controlled dose-ranging and pharmacodynamics study of roxadustat (FG-4592) to treat anemia in nondialysis-dependent chronic kidney disease (NDD-CKD) patients. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(10): 1665–1673. DOI: 10.1093/ndt/gfv302
  31. Kular D., Mabdougall I.C. HIF stabilizers in the management of renal anemia: from bench to bedside to pediatrics. *Pediatr Nephrol* 2019; 34: 365–378. DOI: 10.1007/s00467-017-3849-3

Поступила: 05.08.19

Received on: 2019.08.05

*Конфликт интересов:*

*Авторы этой статьи подтвердили отсутствие конфликтов интересов, финансовой или какой-либо иной поддержки, о которых необходимо сообщить.*

*Conflict of interest:*

*The authors of this article confirmed the absence conflict of interests, financial or any other support with should be reported.*