

Диагностика хронической болезни почек (ХБП) **589**  
диагностика острого повреждения почек (ОПП) **593**

*Альбумин (определение в кале, моче) / Альфа-1-микροглобулин / Альфа-2-макроглобулин (α2-МГ) в моче и сыворотке/плазме / Антитела к C1q компоненту комплемента / Антитела к базальной мембране клубочков (анти-GBM) / Антитела к миелопероксидазе / Антитела к протеиназе 3 (PR3) / Бета-2-микροглобулин (определение в моче) / p-Глутатион S-трансфераза (p-GST) (определение в моче) / α-Глутатион S-трансфераза в моче (α-GST) / Коллаген IV типа в моче / Липокалин 2/NGAL / Микроальбумин (определение в моче) / Ретинолсвязывающий белок / Свободные каппа и лямбда цепи иммуноглобулинов человека / Фетуин-A (Alpha2-HS Glycoprotein, AHSG) / Цистатин С / ANCA-скрининг (антигены PR3, MPO)*

**МАРКЕРЫ,  
ОПИСАННЫЕ  
В 1 ТОМЕ  
КАТАЛОГА**

#### сокращения раздела:

Л2 – липокалин-2

ОПП – острое повреждение почек

ПА – преренальная азотемия

СД – сахарный диабет

СКВ – системная красная волчанка

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

сКр – креатинин сыворотки

ТСПН – терминальная стадия почечной недостаточности

ХБП – хроническая болезнь почек

## ДИАГНОСТИКА ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК (ХБП)

Число больных с ХБП в странах Европы, США и Японии колеблется от 157 до 443 млн человек. Распространенность этой патологии в нашей стране среди населения старше 15 лет составляет 21,2 млн человек. Среди причин летальности ХБП занимает 11 место. Годовая летальность от терминальной стадии почечной недостаточности (ТСПН) для диализных пациентов превышает 20%. Признаки ХБП развиваются в результате прогрессирующей утраты всех почечных функций. Важнейшим показателем ХБП считается значительное снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) до 25% (<30 мл/ мин.).

В развитии ХБП наиболее важным моментом является постепенное и бессимптомное нарушение функции почек (признаки почечной недостаточности появляются лишь при гибели 60-75% нефронов). Изменения, происходящие в организме при нарушении функциональной способности почек, в настоящее время хорошо известны. Это позволяет выявить скрытую стадию в группах высокого риска и предпринять профилактические и лечебные мероприятия на ранних стадиях ХБП независимо от ее причины, направленные на предупреждение преждевременного развития ТСПН. Ранние бессимптомные стадии заболевания почек можно выявить лабораторными методами: в настоящее время чаще всего определяют креатинин сыворотки

(сКр) и рассчитывают СКФ. Кроме того, измерением экскреции альбумина с мочой можно выявить некоторых, но не всех пациентов с почечной патологией.

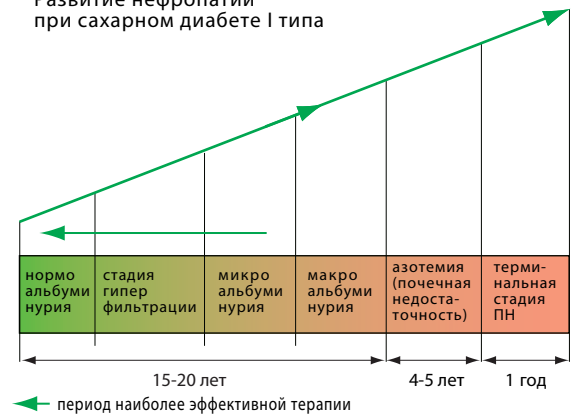
Многочисленные исследования подтверждают неадекватность используемых методов диагностики и лечения пациентов на ранних стадиях ХБП, несмотря на то, что доказана их эффективность (контроль гликемии при сахарном диабете (СД), строгий контроль артериального давления, применение ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента и блокаторов рецепторов ангиотензина, ограничение потребления белка) для улучшения исходов лечения. До последнего времени в рекомендациях по скринингу ХБП основное внимание уделялось лицам с гипертензией. Недавний анализ (эпидемиологическое исследование NHANES III – National Health and Nutrition Examination Survey) показал, что только 70% лиц с высоким уровнем сКр имеют артериальную гипертензию. Другое исследование (NKF-PARADE – Proteinuria, Albuminuria, Risk Assessment, Detection, Elimination) предлагает скрининг лиц с повышенным риском развития заболеваний почек, включая гипертензию и всех больных с СД, на обнаружение альбуминурии и креатининемии. К независимым факторам риска в последнее время отнесли: мужской пол, высокий уровень фосфатов в сыворотке, изменения уровней фактора роста фибробластов 23, апополипротеина А4, асимметричного диметиларгинина и натрийуретического пептида В-типа (BNP).

Другое важное обстоятельство, связанное с потребностью точной оценки почечной функции, заключается в том, что при дозировании большинства лекарств необходимо учитывать степень почечной недостаточности. Кроме того, даже умеренное снижение почечной функции является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). сКр не всегда чувствителен при легкой и средней степени нарушения почечной функции. Отсюда, существует потребность и острый интерес к поиску более точных маркеров, особенно ранних стадий нарушения почечной функции. В ряде работ, посвященных прогрессии ХБП, подчеркивается важнейшая роль белков, вовлеченных в повреждение почечных канальцев.

## Микроальбумин в моче

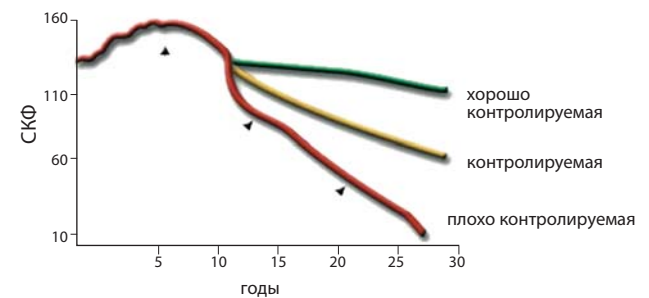
Скрининг на микроальбуминурию в настоящее время признан необходимым, т.к. он позволяет выявить пациентов группы риска, в том числе и с СД (см. рисунок), а также принять необходимые меры для замедления прогрессии заболевания и сердечно-сосудистых осложнений.

Развитие нефропатии при сахарном диабете I типа



Результаты программы DEMAND показали, что свыше 40% больных СД 2 типа во всем мире имеют повышенное количество белка в моче – микроальбуминурию. Программа DEMAND подтверждает целесообразность рекомендаций ежегодного скрининга больных СД для выявления микроальбуминурии (см. рисунок).

Оценка и прогноз диабетической нефропатии



СКФ – скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м<sup>3</sup>

Приняты следующие критерии для интерпретации результатов альбуминурии:

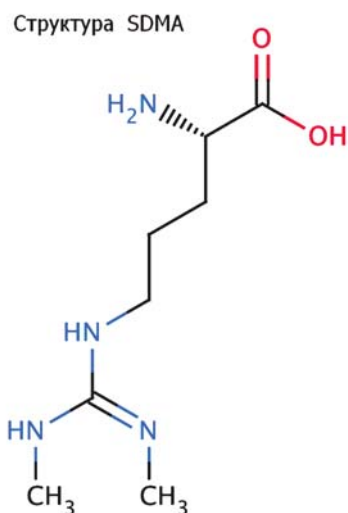
- <20 мг/день – нормальная экскреция альбумина
- 30-300 мг/день – микроальбуминурия
- >30 мг/г альбумин/креатинин, > 300 мг/день экскреция с мочой альбумина – альбуминурия

Рост соотношения альбумин/креатинин в 10 раз увеличивает риск смерти от ССЗ на 57%. Риск осложнений снижается при значимом снижении микроальбуминурии.<sup>•</sup>

### Цистатин С

Маркер повышен при тубулярной дисфункции, является предиктором плохого исхода в гетерогенной группе пациентов без начальной олигурии. В настоящее время цистатин С рекомендуют для скрининга ХБП (особенно в начальных стадиях, когда сКр малочувствителен) и оценки СКФ у пациентов со сниженной мышечной массой, у детей и пожилых лиц.<sup>•</sup>

### Симметричный диметиларгинин (SDMA)



SDMA является метилированным производным аминокислоты L-аргинина (симметричного диметиларгинина). Он выделяется преимущественно почками, поэтому его концентрация в плазме отражает почечную функцию. Повышенный уровень SDMA наблюдается при нарушении почечной функции и может указывать на риск развития в будущем ССЗ, а также смерти, связанной с почечной недостаточностью. В мета-анализе 18 клинических исследований с участием более чем 2100 пациентов (Kielstein J.T. и др. Symmetric dimethylarginine as endogenous marker of renal function – a meta-analysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006, 21: 2446-2451) показана высокая корреляция концентрации SDMA с референс-методом определения СКФ по клиренсу иноулина и лучше,

чем для сКр. Как взрослые, так и дети с ранними стадиями почечной недостаточности (2-3-й – от легкой до средней) имеют уже значительно повышенный уровень SDMA, который строго коррелирует с СКФ. Надо отметить, что концентрация SDMA снижена при нормальной беременности у женщин по сравнению с небеременными, предположительно, за счет гемодилюции и роста почечного клиренса. У пациентов с гепаторенальным синдромом уровень SDMA сильно повышен по сравнению со здоровыми лицами и с пациентами с циррозом и без гепаторенального синдрома ( $1,47 \pm 0,25$  против  $0,38 \pm 0,06$  и  $0,29 \pm 0,04$  мкмоль/л, соответственно;  $P < 0,05$ ), и коррелирует у этих пациентов с сКр. Таким образом, SDMA имеет характеристики достоверного маркера почечной функции. Было обнаружено, что повышенный уровень SDMA является прогностическим маркером риска ССЗ и смертности независимо от степени нарушения почечной функции.

### Кластерин

Кластерин (аполипопротеин J; SP-40,40; TRPM-2; SGP-2; pADHC-9; CLJ; T64; GP III; XIP8) – высококонсервативный секретируемый гликопротеин с м.м. 75-80 кДа; гетеродимер, связанный дисульфидными связями. Белок конституционно секретируется многими тканями, включая эпителиальные и нервные клетки. Белок способен связываться и формировать комплексы с иммуноглобулинами, липидами, гепарином, бактериями, компонентами комплемента, параоксоназой, бета-амилоидом, лептином и др.

Кластерин участвует во многих физиологических процессах: рекрутинге фагоцитов, индукции агрегации, ингибировании апоптоза; вовлечен в процессы ремоделирования мембран, участвует в транспорте липидов и гормонов, выполняет функции скавенджер-рецептора, ингибирует матриксные металлопротеиназы, является одним из факторов, гомологичных рестрикции. Предполагается, что кластерин действует как внеклеточный шаперон, стабилизирующий складчатую структуру белков. Его синтез повышается при многих нарушениях, связанных со стрессом, особенно при злокачественных процессах, таких как рак предстательной железы и яичников, анапластическая крупноклеточная лимфома<sup>••</sup>, а также при дегене-

• см. главу «Сахарный диабет» стр. 665 и I том каталога

•• см. главу «Онкомаркеры» I тома каталога

ративных заболеваниях почек, тубулярной недостаточности, регенерации органов, инфекционных заболеваниях, пигментном ретините и многих нейродегенеративных заболеваниях. При болезни Альцгеймера кластерин вовлечен в продукцию амилоида, связывая патологические прионы, белки теплового шока и снижая деградацию многих компонентов экстрацеллюлярного матрикса.

Недавние исследования показали, что уровень кластерина в сыворотке значительно повышается у пациентов при СД 2 типа и у больных с развивающейся коронарной болезнью или инфарктом миокарда. Эти данные подтверждают предположение о том, что повышенный уровень кластерина в сыворотке является показателем повреждения сосудов.

У пациентов, страдающих системной красной волчанкой (СКВ), снижение уровня кластерина обратно коррелирует с активностью заболевания. Падение уровня кластерина при СКВ может происходить за счет снижения защитных функций.

Другое интересное наблюдение, полученное на животных моделях, подтверждает, что концентрация кластерина в моче может быть полезным клиническим маркером тяжести повреждения почечных канальцев. Белок участвует в патогенезе гломерулонефрита и поликистоза почек. Более того, измерение уровня кластерина в моче может помочь в дифференциальной диагностике тубулярной и клубочковой форм протеинурии. Полученные на модели нокаутных мышей данные поддерживают гипотезу, что кластерин выполняет защитную функцию при хроническом гломерулонефрите, модифицирует метаболизм и распределение иммунных комплексов. В настоящее время появились дополнительные возможности исследовать метаболизм кластерина.

Наша компания предлагает наборы для определения циркулирующих иммунных комплексов, содержащих кластерин, и растворимого мембраноатакующего комплекса, содержащего этот белок. Возможные области исследований: ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, нейродегенеративные заболевания, дегенеративные заболевания почек, повреждение почечных канальцев, онкологические заболевания.

• см. главы «Маркеры репродукции» и «Кардиомаркеры» в I томе каталога

## Релаксин

Релаксин (Р) относится к суперсемейству инсулиновых белков. Рецепторы Р обнаружены во многих органах: в сердце, в гладких мышцах сосудов, в соединительной ткани, нервной системе и т.д. Р действует как агонист глюкокортикоидных рецепторов. Он вовлечен в реакции окислительного стресса. Под действием Р снижаются такие показатели окислительного стресса, как малоновый диальдегид и миелопероксидаза. Он защищает миокард при ишемии от окислительного стресса, в результате чего снижается повреждение миокарда при ишемии/реперфузии.

Почки являются и терапевтической мишенью при лечении Р, и его источником. Хотя экспрессия почечного Р низкая, он играет важную роль в гомеостазе соединительной ткани почек. Р является антифибротическим фактором с нефропротективными и регенеративными свойствами. Отсутствие эндогенного Р постепенно приводит к спонтанному фиброзу и ускоряет прогрессирующий фиброз, развивающийся после повреждения. Оба этих эффекта устраняются введением рекомбинантного Р: он устраняет проявления почечного фиброза на многих уровнях, интерферируя с действием TGF- $\beta$ 1. Определение уровня Р позволяет прогнозировать выживаемость пациентов при хронической почечной недостаточности.

Р обладает сосудорасширяющими свойствами, снижает артериальное давление. В настоящий момент рекомбинантный Р проходит клинические испытания как антифибротический фактор при лечении ССЗ и почечных заболеваний, благодаря его свойству ингибировать гиперпродукцию коллагена, приводящую к фиброзу, а также в качестве вазодилатора и средства, усиливающего почечную фильтрацию.\*

## Проренин

Проренин (ПР) – гликозилированная аспарагиновая протеаза, является предшественником ренина, состоящим из 2 гомологичных субъединиц. Ренин активирует ренин-ангиотензиновую систему (РАС), расщепляя ангиотензиноген, производимый печенью, до ангиотензина I, который затем конвертируется в ангиотензин II ангиотензинпревращающим ферментом, происходящим из

капилляров легких. Пр может оказывать действие, аналогичное действию ренина, за счет непротеолитической активации через связывание со специфическими рецепторами (ПР-Р). Это приводит к активации факторов фиброгенеза почки. Уровень циркулирующего Пр (но не ренина) увеличивается у лиц с СД и является фактором риска развития диабетической нефропатии. В почках ПР-Р расположены в гломерулярном мезангии и подоцитах, которые выполняют важную функцию поддержания гломерулярного фильтрационного барьера. ПР-Р вызывают интерес в качестве терапевтической мишени: у лиц с СД и гипертензией с повышенным уровнем ПР в плазме крови блокаторы ПР-Р, конкурентно связывающие рецептор, улучшают такие показатели, как протеинурия и гломерулосклероз в сравнении с традиционными ингибиторами РАС. См. также главу «Сахарный диабет»

### Нефрин

Нефрин – трансмембранный белок подоцитов. Его экстрацеллюлярные домены контактируют друг с другом, образуя единый слой. Белок необходим для формирования структуры фенестрированной мембраны – основного компонента почечного фильтра (порообразующий белок). Нефрин формирует комплексы с другими протеинами: подоцином и молекулой CD2AP. При целостности пор через барьер не могут пройти крупные белковые молекулы, например, сывороточный альбумин.

Мутации гена, ответственного за синтез нефрина, приводят к развитию подоцитопатии, которой отводится ключевая роль в генезе протеинурии. Мутация проявляется врожденным нефротическим синдромом финского типа (ВНСФТ). Это аутосомно-рецессивное заболевание. Распространенность среди финской популяции 1:8200 новорожденных. В основе лежит мутация гена NPHS1 [OMIM 2563000] 19q13, ответственного за синтез нефрина. Кроме того, мутации гена нефрина встречаются в 50-75% случаев изолированного нефротического синдрома нефинского типа. При нефротическом синдроме в разной степени повреждается клубочковый фильтр, нарушается его зарядно-селективное состояние. В зависимости от степени и характера повреждения меняется способность клубочкового барьера пропускать

в мочу белковые молекулы различной молекулярной массы. Электронная микроскопия и компьютерная томография выявляют сглаженность подоцитов, сужение щелей и отсутствие фенестрированности мембраны. Дефицит нефрина проявляется протеинурией. Типичны – гипоальбуминемия, гиперлипидемия, вздутие живота, отеки. Болезнь является летальной. В настоящее время радикально помочь таким больным может только трансплантация почки. У части больных после трансплантации наступает рецидив нефротического синдрома. По крайней мере у половины этих больных обнаруживают циркулирующие антинефриновые антитела, которым и приписывают роль в развитии рецидива.

Индуцированная гипергликемией активация РАС и повышение уровня ангиотензина II способствуют количественным и функциональным нарушениям подоцитов и снижению экспрессии вырабатываемого ими нефрина. Усиливающаяся в результате этих повреждений фильтрация белка, в свою очередь, может приводить к избыточной секреции эпителием проксимальных канальцев специфического почечного фактора фиброза МСР-1, экспрессия которого индуцируется гипергликемией. МСР-1 вызывает усугубление процессов воспаления и фиброза в почечных канальцах и интерстиции. Усиленная экскреция нефрина с мочой позволяет судить о подоцитопатии у больных СД и корректировать функцию нефрина и связанную с ней почечную фильтрацию ингибиторами РАС.\*

### ДИАГНОСТИКА ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК (ОПП)

Под ОПП понимают острое (часы/недели) потенциально обратимое повреждение почечной паренхимы различной этиологии и патогенеза со снижением или без снижения экскреторной функции почек.

#### Факторы риска ОПП

- ХБП (любого происхождения)
- Шок
- Нарушения гемокоагуляции
- Сепсис
- Аутоиммунные заболевания
- Травма
- Сердечная недостаточность

\* см. главу «Сахарный диабет» стр. 665



- Сахарный диабет
- Нефротоксины (в том числе нефротоксичные лекарства)
- Гемотрансфузии
- Кардиохирургическое вмешательство
- Беременность
- Нарушения электролитного гомеостаза
- Гиповолемия
- Инфекции и обструкция мочевых путей
- Гипоальбуминемия
- Множественная миелома
- Заболевания печени
- Острый инфаркт миокарда
- Пожилой возраст
- Расовая принадлежность

ОПП – распространенное осложнение почечной патологии, и его частота выросла на 11% в последние годы. Это быстро прогрессирующее заболевание с высокой морбидностью и смертностью (от 15% в общем случае до 50-80% в случае полиорганной недостаточности). ОПП – это 5% всех госпитализированных пациентов и 30% пациентов отделений интенсивной терапии. 20-60% всех пациентов с ОПП необходим гемодиализ. ОПП развивается у 4 из 10 пациентов после операций на сердце.

ОПП необходимо отличать от преренальной азотемии (ПА) – физиологического ответа почек на различные предрасполагающие факторы (снижение объема крови, использование диуретиков, ренин-ангиотензиновая блокада), которая быстро разрешается введением заместительных растворов, коррекцией лекарственной терапии и экстраренальных расстройств. В качестве критериев для определения стадии ОПП в настоящий момент используют значения сКр, СКФ и диуреза.

Очень важно дифференцировать ОПП от ПА и ХБП в момент первого обследования пациента, чтобы быстро принять меры: раннее вмешательство улучшает прогноз. Однако однократное измерение сКр не позволяет дифференцировать ОПП, ПА и ХБП. К тому же, оно не может отражать степень повреждения, т.к. этот показатель отстает по времени от момента повреждения. Даже сильное снижение СКФ может сопровождаться небольшими изменениями сКр, особенно в первые 48 ч после ОПП. сКр может также варьировать в зависимости

от возраста, расовой и половой принадлежности, мышечной массы, особенностей метаболизма, коморбидных состояний, гидратационного статуса, используемых лекарств, и, следовательно, не расти пропорционально тяжести повреждений. В результате, для постановки диагноза ОПП необходимы повторные измерения сКр.

Многочисленными исследованиями на животных моделях ОПП установлено, что эффективное предотвращение развития и лечение этого состояния возможно в самый ранний период – еще до роста сКр. Здесь нужно учесть и то обстоятельство, что ОПП является основным фактором риска для ряда внепочечных осложнений. Задержка в диагностике приводит к запаздыванию необходимых терапевтических вмешательств, таких как прекращение использования нестероидных противовоспалительных средств, уточнение доз лекарств, коррекция гемодинамического статуса и т.д. И даже повышение сКр не отвечает установленным критериям ОПП, что приводит к росту смертности, продленной госпитализации, снижению качества жизни, высоким расходам и выдвигает на первый план проблему нечувствительности сКр как диагностического теста.

Таким образом, ограниченные аналитические возможности сКр являются основной причиной поиска и изучения ранних почечных маркеров, которые экспрессируются в ответ на повреждение и более чувствительны и специфичны для диагностики ОПП, чем существующие диагностические тесты.

## Липокалин-2/NGAL

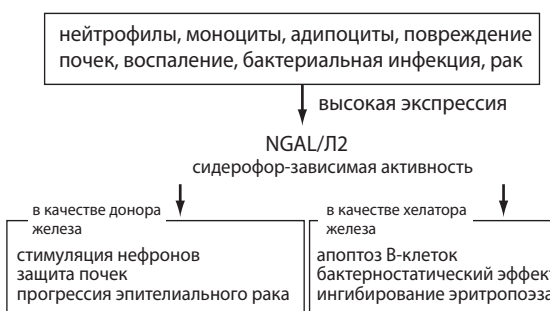
Липокалин-2 (Л2), также известный как ассоциированный с нейтрофильной желатиназой липокалин (NGAL) и сидерокалин, первоначально был идентифицирован в качестве компонента специфических нейтрофильных гранул. Л2 связан с реакциями врожденного иммунитета, дифференцировкой, пролиферацией и выживанием клеток. Этот белок, с м.м. 25 кДа, существует в виде мономера (в моче и нейтрофилах), гомо- и гетеродимера, и связан с матриксной металлопротеиназой 9 (ММР-9). Он экспрессируется многими тканями. Повышенная экспрессия белка связана с такими видами опухолей, как рак молочной и поджелудочной железы, яичников и колоректальный рак.

Синтез Л2 эпителиальными клетками, в том числе и в проксимальных канальцах почек, стимулируется при воспалении. Л2 является маркером ОПП. Уровни в моче и плазме коррелируют, если синтез Л2 повышен. Л2 секретируется в мочу толстой частью восходящей петли Генле и собирательными трубками, где он выполняет функцию антимикробной и антиокислительной защиты за счет хелатирования железа: основной лиганд Л2 – сидерофоры (связывающие железо молекулы). В моче (уЛ2) детектируют как свободную молекулу, так и в комплексе с MMP-9.

Плазменный Л2 свободно фильтруется гломерулами, большая его часть эффективно реабсорбируется в проксимальных канальцах мегалин-зависимым эндоцитозом, возвращая таким путем железо клеткам. В моче Л2 появляется только при повреждении проксимальных канальцев за счет роста синтеза Л2 *de novo* в дистальных отделах нефрона, что и происходит при ОПП. Высокий уровень именно за счет синтеза доказывает массивное увеличение (в 1000 раз) мРНК в толстой части восходящей петли Генле и собирательных трубках. У пациентов с ОПП при исследовании биоптатов Л2 аккумулируется в 50% кортикальной части петли Генле. В плазме Л2 может появляться из других органов, например, печени и легких. Кроме того, Л2 является острофазовым реактантом, высвобождаясь из нейтрофилов, макрофагов и других клеток иммунной системы (см. схему). Снижение гломерулярной фильтрации в результате ОПП приводит к аккумуляции Л2 в системной циркуляции. Относительный вклад разных источников в уровень Л2 еще предстоит выяснить. Из образца мочи для исключения мешающего влияния Л2 из нейтрофилов необходимо удалять лейкоциты, а для анализа крови по этой же причине предпочтительно использовать плазму.

уЛ2 экспрессируется пропорционально степени ООП, в то время как при ХБП он выявляется у пациентов с прогрессирующей, но не стабильной почечной недостаточностью. Уменьшение циркулирующего объема крови или диуретики не повышают уровень уЛ2, отражая специфичность данного маркера для тубулярной недостаточности. В связи с этим предполагают, что по уровню Л2 можно различать ОПП, ПА и ХБП. К тому же рост концентрации Л2 определяется раньше, чем рост СКР.

#### Регуляция экспрессии и биологической активности Л2



Особенно высокая концентрация в моче наблюдается при прямой секреции из поврежденных канальцев или при уротелиальной карциноме. Ранний и резкий подъем уровня Л2 в моче и сыворотке (сЛ2) наблюдается при повреждении канальцев, связанном с ишемией-реперфузией, при ишемическом повреждении почек после операции на сердце с подключением к аппарату искусственного кровообращения. Рост концентрации уЛ2 наблюдается при ОПП за счет острого тубулярного некроза или тубулоинтерстициальной нефропатии.

Исследования у детей и взрослых показывают, что уЛ2 быстро и выраженно экспрессируется в хорошо изученных случаях ОПП. Например, в проспективном исследовании детей после операции с сердечно-легочным шунтированием уровень уЛ2 выше 50 г/л через 2 ч после операции имел 100% чувствительность и 98% специфичность для последующего диагноза ОПП. И, наоборот, СКР в этом случае свидетельствовал об ОПП только через 1-3 дня после операции. Л2 у пациентов после операции с использованием сердечно-легочного шунтирования был основным предиктором длительности ОПП (AUC 0,79) и необходимости интенсивной терапии. Для взрослых после операции на сердце уровень уЛ2 130 мкг/г креатинина через 3 и 18 ч после операции имел чувствительность 74% и 80%, соответственно.

Л2 был оценен и как маркер ОПП при трансплантации почек, где он коррелировал с задержкой начала функционирования трансплантата (AUC 0,9) и необходимостью диализа через 2-4 дня. Концентрация уЛ2 росла у пациентов с трансплантированной почкой при субклиническом поражении канальцев, что позволяет использовать его для скрининга тубулоинтерстициальной болезни в первые месяцы после трансплантации.

Л2 позволяет предсказать тяжесть ОПП и необходимость диализа у детей с диарея-ассоциированным гемолитическим уремическим синдромом (cut-off 200 мкг/л). Необходимо помнить, что на концентрацию Л2 влияет ряд факторов, например, ХБП, хроническая гипертензия, системные инфекции, воспаление и малигнизация. Однако, рост в плазме Л2 при этих патологиях намного меньше, чем при ОПП.

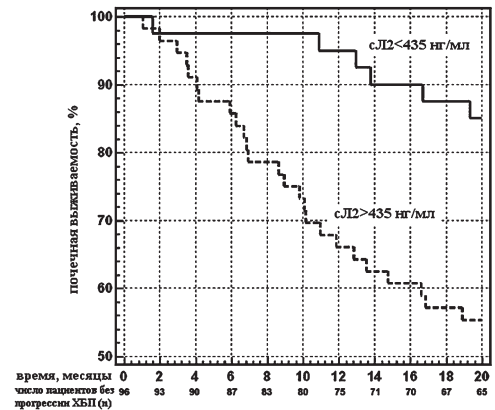
В результате интервенционных исследований Л2 **оказался прогностическим маркером нефротоксичности** с высокой предсказательной ценностью:

- для рентгеноконтрастных веществ, отражая контраст-индуцированную нефропатию через 2 ч после введения контраста (при cut-off 100 мкг/л AUC составил 0,92)
- показал преимущества гидроксиэтил крахмала по сравнению с альбумином и желатином у пожилых пациентов после операций на сердце
- те же преимущества для раствора бикарбоната натрия по сравнению с хлоридом натрия у взрослых пациентов после операций на сердце
- подтвердил нефротоксичность аprotинина в сердечной хирургии

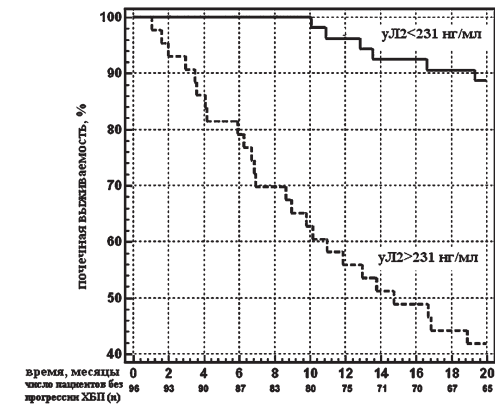
Таким образом, в отличие от однократного определения СКр, определение уЛ2 детектирует ОПП у широкого круга пациентов с разными механизмами повреждения. уЛ2 помогает дифференцировать ОПП/ПА/ХБП и предсказывает неблагоприятный исход у пациентов. Следовательно, он может быть использован в диагностике ОПП в момент первичного обследования пациента, даже когда изменения уровня СКр минимальны.

**Л2 – новый маркер прогрессии ХБП:** он обратно пропорционален СКФ при почечной дисплазии, обструктивной уропатии и гломерулярных заболеваниях почек. У больных с аутосомным доминантным поликистозом почек Л2 коррелирует со степенью остаточной СКФ и тяжестью заболевания. уЛ2 является ранним маркером хронического тубулоинтестинального повреждения у пациентов с IgA-нефропатией и волчаночным нефритом, и может повышаться при почечных инфекциях. Повышение уровня Л2 в плазме сильно коррелировало со снижением ренальной функции у пациентов с васкулитами с поражением почек.

Пациенты с прогрессирующей ХБП имеют повышенный сЛ2 и уЛ2 по сравнению с пациентами без прогрессии. ROC-анализ показал для СКФ, сЛ2 и уЛ2 AUC 0,64, 0,70 и 0,78, соответственно (см. рисунок – понятие «почечная выживаемость» означает переход ХБП в ТСПН). Разница между сЛ2 и уЛ2 была незначительной (для сЛ2 чувствительность 83,9%, специфичность 53,8%; для уЛ2 – 80,6% и 73,8% соответственно). Оба маркера предсказывали высокий риск ХБП независимо от СКФ и возраста: рост уЛ2 на 10 нг/мл повышал риск прогрессии ХБП на 3%. Очень важно, что это независимый от СКФ маркер.



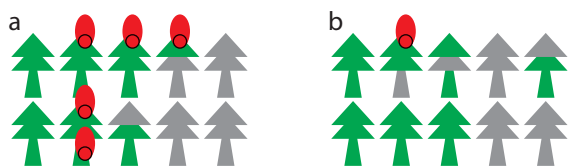
Кривые выживания Каплан-Мейера для пациентов с ХБП (ТСПН). По уровню сЛ2 выше и ниже оптимального (по ROC-анализу) значения cut-off=435 нг/мл. У пациентов с уровнем Л2 > 435 нг/мл ХБП быстрее прогрессировала до ТСПН (P=0.002, log-rank test), с отношением рисков 3,37



Кривые выживания Каплан-Мейера для пациентов с ХБП (ТСПН). по уровню сЛ2 выше и ниже оптимального (по ROC-анализу) значения cut-off=231 нг/мл. У пациентов с уровнем Л2 > 231 нг/мл ХБП быстрее прогрессировала до ТСПН (P<0.0001, log-rank test), с отношением рисков 7,45



Недавно предложена интересная теория «горящего леса» (см. рисунок), объясняющая связь между Л2 и СКФ (Mori K., Nakao K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. *Kidney Int.* 2007; 71 (10), 967-970. Epub 2007 Mar 7). Рост Л2, согласно этой теории, есть не только пассивное следствие снижения почечного клиренса, но результат «горящих» (поврежденных) тубулярных клеток, тогда как рост СКр и снижение СКФ есть всего лишь пассивный результат потери функционирующих нефронов. Отсюда, Л2 является индикатором в реальном времени активного повреждения почек при ХБП.



Теория «горящего леса» для оценки прогрессирующей почечной недостаточности. Лес (почки) состоит из деревьев (нефронов). Обе модели (а) и (б) имеют 60% живых деревьев (показаны зеленым цветом) и 40% сожженных деревьев (показаны серым цветом), соответствующая склерозу гломерул и атрофии канальцев. Однако, в модели (а) более сильный пожар (показан красным), что отражает продолжающееся повреждение нефронов, в отличие от модели (б). Предполагается, что уровень СКр или СКФ – маркеры числа функционирующих нефронов (зеленые деревья), тогда как Л2 или уЛ2 – индикаторы активности повреждения почек в настоящий момент (красный огонь в лесу).

### Интерлейкин 18 (IL-18)

Другой кандидат в маркеры ОПП – IL-18: цитокин, структурно подобный IL-1, оказывающий сильный эффект на активацию Т-клеток. Участвует в иммунном ответе Т-хелперных клеток 1 типа (Th1), в первую очередь, благодаря своей способности индуцировать продукцию IFN $\gamma$ . Кроме того, IL-18 конституционно экспрессируется в различных клетках, включая макрофаги, кератиноциты и остеобласты. IL-18 является модулятором опухолевых, инфекционных, аутоиммунных и воспалительных процессов. Повышенные уровни IL-18 в сыворотке определяются у пациентов с онкогематологическими заболеваниями при остром кризе отторжения трансплантата после трансплантации костного мозга, при сепсисе, воспалительных заболеваниях печени, аутоиммунных заболеваниях (СКВ и РА), при инфекции HIV-1 и других инфек-

ционных заболеваниях, при воспалительных заболеваниях ЦНС, болезни Крона, осложненной беременности, во время родов.

IL-18 в моче (uIL-18) секретируется эпителием проксимальных канальцев и повышается при ОПП у взрослых пациентов с респираторным дистресс-синдромом и детей после операции с легочно-сердечным шунтированием без сепсиса, достигая у них пика через 12 ч (AUC 0,75) и прогнозируя длительность ОПП. В этих же группах больных он является независимым предиктором смертности. У детей без сепсиса, находящихся на искусственной вентиляции легких, концентрация uIL-18 начинала расти за 2 дня до rRIFLE-критериев (критерии стадирования нарушения почечной функции) и ОПП (относительный риск 3,7,  $P = 0,008$ ), коррелируя с длительностью ОПП более 48 ч. Повышенный уровень uIL-18 предсказывал развитие ОПП за 24 ч до роста СКр (относительный риск 6,5, AUC 0,73,  $P = 0,008$ ). uIL-18 из образца мочи, собранной в день трансплантации, также как и уЛ2, предсказывал задержку начала функционирования трансплантата почки, определенную как необходимость диализа в первую неделю после трансплантации (AUC 0,9). IL-18 очень специфичен для ОПП – на его уровень не влияют большинство нефротоксинов, ХБП, инфекция мочевого тракта, нефротический синдром или ПА. Необходимо помнить о следующих ограничениях использования IL-18 в качестве маркера: на его уровень в моче влияют эндотоксемия, иммунное повреждение и токсическое воздействие препарата цисплатины. Связь высокой концентрации IL-18 в крови в различных патофизиологических условиях (артрит, воспалительные заболевания кишечника, СКВ, псориаз, гепатит, рассеянный склероз) с его концентрацией в моче еще предстоит определить.

### Молекула повреждения почек 1 (KIM-1)

KIM-1 (сокращение от английского «kidney injury molecule-1» – молекула повреждения почек 1, также TIM-1 – Т-клеточный иммуноглобулин-муцин и HAVcr-1 – клеточный рецептор-1 вируса гепатита А) – член семейства TIM суперсемейства иммуноглобулинов. Это трансмембранный гликопротеин с эктодоменом, содержащим Ig-подобный и муциновый домен.

KIM-1 не определяется в ткани здоровой почки, но синтезируется в очень высокой концентрации эпителиальными клетками проксимальных канальцев после ишемического или токсического повреждения в ответ на нефротоксины, такие как цисплатина, кадмий, гентамицин, ртуть, хром, фолиевая кислота или TFEC – основной метаболит тетрафлуорэтилена, йод-содержащие рентгеноконтрастные вещества, ванкомицин, охратоксин А, циклоспорин. В результате шеддинга эктодомен поступает в мочу. Известно также, что KIM-1 синтезируется в ушной улитке при повреждении, вызванном цисплатином.

Экспрессия KIM-1 у пациентов с тубулярным повреждением связана с нарушением дифференцировки проксимального тубулярного эпителия. Это нарушение и последующая высокая экспрессия белка обнаружены и у пациентов со светлоклеточной почечной карциномой. Наличие KIM-1 позволяет эпителиальным клеткам распознавать мертвые клетки и участвовать в их утилизации. Мертвые клетки появляются в постишемической почке и вносят свой вклад в обструкцию просвета канальцев, характерную для ОПП. KIM-1 является фосфатидилсериновым рецептором, распознающим апоптотические клетки. Он также служит рецептором для окисленных липопротеинов и, отсюда, распознает сигнал «съешь меня» апоптозирующих клеток. Эти свойства делают KIM-1 уникальным первым немиелоидным фосфатидилсериновым сквенджер-рецептором, который трансформирует эпителиальные клетки проксимальных канальцев в «полупрофессиональные» фагоциты. Вместе с функцией очистки просвета канальца от апоптотического дебриса, KIM-1 играет важную роль в ограничении аутоиммунного ответа (известно, что фагоцитоз апоптотических телец – один из механизмов ограничения провоспалительного ответа).

KIM-1 выявляет повреждение канальцев, вызванное протеинурией, у пациентов с ХБП с протеинурией и позволяет оценить успешность терапии. Маркер позволяет отличить ишемическое повреждение от ПА и ХБП.

При отравлении кадмием KIM-1 появляется в моче за 6 нед. до начала лечения и остается на высоком уровне еще 12 нед. во время лечения, показывая лучшие результаты по сравнению с уров-

нем альфа-глутатионтрансферазы и общего белка в моче. Эти результаты предполагают использование KIM-1 в качестве чувствительного маркера ранних стадий Cd-индуцированного тубулярного повреждения.

Показано, что через 3 и 12 ч после операции на сердце KIM-1 предсказывает ОПП (AUC 0,67), а в комбинации с Л2 прогностическая эффективность улучшается (AUC 0,82). KIM-1 – сильный предиктор конечной стадии диализа или смерти госпитализированных пациентов (AUC 0,61).

KIM-1 – перспективный новый маркер для раннего органоспецифического и неинвазивного определения повреждения трансплантированной почки. У пациентов после трансплантации почки высокий уровень KIM-1 связан с низким клиренсом креатинина, протеинурией, пожилым возрастом донора и предсказывает отторжение пересаженной почки независимо от этих показателей.

Таким образом, KIM-1 обладает свойствами идеального маркера почечного повреждения: его экспрессия отсутствует в здоровой почке и резко повышается в апикальной мембране проксимального тубулярного эпителия при повреждении, персистируя до полного восстановления функции канальцев. FDA и EMEA включили KIM-1 (вместе с Л2) в ограниченный список маркеров почечного повреждения, используемых в протоколах создания новых лекарств.

### **Белок, связывающий жирные кислоты, печеночная форма (L-FABP)**

Печеночная форма белка L-FABP экспрессируется не только в печени, а также и в почках (в извитой и прямой частях почечных канальцев). L-FABP в моче (uL-FABP) – чувствительный маркер повреждения. При ОПП, вызванном цисплатиной, L-FABP растет в первые 24 ч, а сКр – только через 72 ч. Концентрация L-FABP коррелирует с временем ишемии трансплантированной почки и перитубулярным капиллярным кровотоком (в обоих случаях  $P < 0,0001$ ), а также со временем госпитализации ( $P < 0,05$ ). L-FABP увеличивается с 20 до 1885 нг/мг креатинина за 4 ч у пациентов с ОПП после операции на сердце (AUC 0,81, cut-off 486 нг/мг).

Концентрация L-FABP в моче повышена у пациентов с недиабетической ХБП, ранней диабетической нефропатией, идиопатическим фокальным

гломерулосклерозом и поликистозом почки. Другое обстоятельство, связанное с его ограниченным применением как маркера ОПП, заключается в том, что белок значительно экспрессируется в печени, свободно фильтруется клубочками, как и Л2, но большая часть быстро реабсорбируется мегалин-зависимым механизмом в проксимальных канальцах. Появились первые обнадеживающие данные о том, что вклад L-FABP из плазмы при ХБП – только ~3%, что свидетельствует о специфичности определения маркера именно для повреждения почек. Так, в подтверждение этому у пациентов после операции на сердце с рано развившейся печеночной недостаточностью было обнаружено повышение концентрации сывороточного L-FABP через 12 ч. после операции, но не через 4 ч. И, наоборот, уL-FABP в этой группе пациентов, резко поднявшись в первые 4 часа, к 12 часу начал снижаться. Эти факты согласуются с гипотезой, что у пациентов с развившейся ОПП рост уL-FABP к 4-му часу после операции скорее связан с усиленным шеддингом белка в проксимальных канальцах, чем с растущей фильтрацией белка из плазмы.

### Интерферон у индуцибельный белок 10 (IP-10, CXCL10)

При уровне cut-off 100 пг/мл (чувствительность 86,4%; специфичность 91,3%) IP-10 имел диагностическое значение в дифференциации острой дисфункции трансплантата от других клинических состояний.\*

### Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF)

Уровень VEGF снижается в моче у пациентов с волчаночным нефритом, предсказывая снижение функции почек в долговременном прогнозе даже, несмотря на улучшение функции в среднесрочном прогнозе. Концентрация VEGF в моче (uVEGF) повышена при диабетической нефропатии.

Значительное повышение концентрации uVEGF у реципиентов связано с реакцией отторжения трансплантированной почки. uVEGF используется в диагностике реакции острого отторжения трансплантата (чувствительность 85,1, специфичность 74,8%,  $P < 0,001$ ). Пациенты со стероид-резистентным острым отторжением имели более высокий уровень uVEGF по сравне-

нию со стероид-чувствительным отторжением ( $42,09 \pm 10,00$  против  $9,74 \pm 2,63$  пг/мкмоль креатинина,  $P < 0,001$ ). Пациенты с потерей трансплантата после острого отторжения имели более высокий уровень uVEGF в сравнении с пациентами с обратимым острым отторжением ( $106,66 \pm 38,60$  против  $19,46 \pm 4,13$  пг/мкмоль креатинина,  $P = 0,001$ ). uVEGF полезен для прогноза потери трансплантата в результате реакции острого отторжения (чувствительность 85,7%, специфичность 78,3%,  $P = 0,001$ ). Таким образом, uVEGF полезен как неинвазивный маркер в диагностике острого отторжения, в том числе и субклинического, для оценки ответа на терапию и как прогностический фактор исхода после острого отторжения трансплантата. См. также главу «Цитокины» в I томе каталога.

Наиболее перспективные маркеры упоминаются в таблицах ниже, к ним относятся Л2, IL-18, KIM-1 и L-FABP. Нет сомнений, что каждый из маркеров по одиночке является недостаточным для диагностики ОПП. Поэтому предстоит еще оценить их совместное использование для диагностики этого состояния. Кроме ранней диагностики ОПП, эти маркеры могут служить для прогноза клинического исхода (тяжесть и длительность заболевания), необходимости заместительной терапии, дифференциальной диагностики субтипов ОПП, стратификации риска, мониторинга ответа на терапию. Например, комбинация Л2 и IL-18 может быть полезна в диагностике контраст-индуцированной нефропатии (Л2, но не IL-18 индуцируется рано в этих условиях).

Таким образом, в настоящее время ОПН переопределена как ОПП, включая субклинические повреждения и начальную фазу ОПН, которое представляет терапевтическое окно возможностей для потенциально эффективных профилактических и терапевтических вмешательств. Осознана необходимость ранней диагностики ОПП до роста сКр, а также необходимость валидации так называемой «Панели маркеров ОПП» – оптимальной комбинации нескольких перспективных ранних маркеров для ОПП. На основе валидации «Панели маркеров ОПП» предстоит разработать наиболее эффективные экспресс-тесты для использования «у постели больного». Так как ОПП является клиническим состоянием, связанным с неблагоприятным прогнозом, раннее вмешательство остро необходимо.

\* см. главу «Цитокины» в I томе каталога

## Сравнение аналитических характеристик определения различных маркеров ОПП в моче с использованием площади под кривой в ROC-анализе (AUC-ROC)

ОПП (n = 102) в сравнении с контролем (n = 102)				
Маркер*	AUC-ROC (95% CI)	Cut-off	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
Креатинин в моче (мг)	0,72	37	45	92
Цистатин С (мкг/мг)	0,85	0,12	78	83
HGF (нг/мг)	0,89	0,37	84	84
IL-18 (пг/мг)	0,83	2,74	68	95
IP-10 (нг/мг)	0,84	0,62	69	89
KIM-1 (нг/мг)	0,93	1,73	80	99
NAG (Е/мг)	0,83	0,015	80	65
Л2 (нг/мг)	0,89	82,7	80	96
Общий белок (мг/мг)	0,91	0,46	81	87
VEGF (нг/мг)	0,73	0,64	62	62

Контрольная группа: пациенты без ОПП после процедуры катетеризации сердца и пациенты отделения интенсивной терапии.

## Медианы концентрации нормализованных маркеров пациентов с ОПП согласно клиническим исходам.

	Летальный исход			Заместительная почечная терапия (46%)			Летальный исход или заместительная почечная терапия (60%)		
	Да	Нет	P	Да	Нет	P	Да	Нет	P
Цистатин С (мкг/мг)	1,19	0,72	0,63	1,21	0,69	0,87	1,03	0,85	0,60
HGF (нг/мг)	1,23	0,77	0,07	1,13	0,76	0,24	1,15	0,74	0,03
IL-18 (пг/мг)	16,89	6,12	0,27	16,22	5,90	0,29	15,19	4,93	0,29
IP-10 (нг/мг)	1,21	0,97	0,74	1,25	0,92	0,66	1,38	0,85	0,29
KIM-1 (нг/мг)	10,17	5,19	0,008	7,24	5,19	0,37	6,84	4,80	0,10
Общий белок (мг/мг)	2,20	1,51	0,13	2,21	1,14	0,02	2,20	1,13	0,02
Л2 (нг/мг)	5,38	3,113,2	0,94	12,88	2,06	0,14	6,39	2,04	0,40
NAG (Е/мг)	0,05	0,03	0,02	0,06	0,02	0,003	0,06	0,02	<0,001
VEGF (нг/мг)	1,63	0,91	0,07	1,24	0,95	0,11	1,55	0,75	0,008

## Госпитальный исход составил 36%.

\*Комментарии: Концентрация всех маркеров в моче нормализована: дана в пересчете на содержание креатинина. Значения «Р» представляют результаты логистического регрессионного анализа с использованием маркеров, уточненных по возрасту. NAG – N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза (Цитируется по Clin. Transl. Sci. 2008, 1(3): 200-208. Doi: 10.1111/j.1752-8062.2008.00053.x)

## Ранние маркеры ОПП (измерение в моче) в различных клинических ситуациях

Маркер/ AUC	Сердечно-легочное шунтирование	Контраст-индуцированная нефропатия	Задержка начала функционирования почечного трансплантата	Интенсивная терапия и реанимационные мероприятия
Л2	0,78-0,99 – 2 ч после операции, – за 2 дня до ОПП	0,91-0,92 – 2 ч после введения контрастного вещества, – за 1-2 дня до ОПП	0,90 – 12 ч после трансплантации, – за 2-3 дня до НД	0,78-0,95 За 2 дня до ОПП
IL-18	0,75 – 2 ч после операции, – за 1-2 дня до ОПП	не изменяется	0,90 – 12 ч после трансплантации, – за 2-3 дня до НД	0,73 За 2 дня до ОПП
KIM-1	0,83 – 2 ч после операции, – за 1-2 дня до ОПП	не измерялся	не измерялся	не измерялся

AUC – площадь под кривой в ROC-анализе, НД – необходимость диализа в первую неделю после трансплантации.

Ранние маркеры ОПП (измерение в моче) в прогнозе клинического исхода

Маркер	Сердечно-легочное шунтирование	Задержка начала функционирования почечного трансплантата	Интенсивная терапия и реанимационные мероприятия
Л2	Предсказывает длительность ОПП, тяжесть, необходимость диализа и смерть	Предсказывает длительность ОПП	Предсказывает длительность ОПП, тяжесть и необходимость диализа
IL-18	Предсказывает длительность ОПП	Предсказывает длительность ОПП	Предсказывает смерть
KIM-1	Не измерялся	Долгосрочный прогноз отторжения трансплантата	Предсказывает необходимость диализа и смерть

4

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат.№	Производитель	Наименование
REA203	BCM Diagnostics	Симметричный диметиларгинин, 96
194-0342	BCM Diagnostics	Кластерин, 96
S-9124	BCM Diagnostics	Кластерин-ЦИК (циркулирующие иммунные комплексы, содержащие кластерин), 96
S-9125	BCM Diagnostics	Кластерин-МАК (растворимый мембраноатакующий комплекс, содержащий кластерин), 96
K 9210	Immundiagnostik	Релаксин, 96
DRL200	BCM Diagnostics	Релаксин-2, 96
RMI001R	BioVendor	Проренин, 96
E0937h	BCM Diagnostics	Нефрин, 96
BMS267	Bender Medsystems	Интерлейкин 18 (IL-18), 96
DY1750	BCM Diagnostics	Молекула повреждения почек 1 (KIM-1/TIM-1/HAVCR DuoSet
HK404	HBT	Белок, связывающий жирные кислоты, печеночная форма (L-FABP), 96
KHG0111	BCM Diagnostics	Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), 96
BMS284	Bender Medsystems	Интерферон $\gamma$ индуцибельный белок 10 (IP-10, CXCL10), 96
K 6330	Immundiagnostik	Альбумин (определение в кале, моче), 96
416-4044	Orgentec	Микроальбумин (определение в моче), 96
K 6710	Immundiagnostik	Альфа-1-микроглобулин, 96
K 6610	Immundiagnostik	Альфа-2-макроглобулин ( $\alpha$ 2-МГ) в моче и сыворотке/плазме, 96
BIO83	BCM Diagnostics	Коллаген IV типа в моче, 96
BIO66NEPHA	BCM Diagnostics	$\alpha$ -Глутатион S-трансфераза в моче ( $\alpha$ -GST), 96
416-5005	Orgentec	Бета-2-микроглобулин (определение в моче), 96
BIO85	BCM Diagnostics	p-Глутатион S-трансфераза (p-GST) (определение в моче), 96
191-0091	BioVendor	Цистатин C, 96
416-5890	Orgentec	АНСА скрининг (антигены PR3, MPO), 96
416-6180	Orgentec	Антитела к протеиназе 3 (PR3), 96
416-5190	Orgentec	Антитела к миелопероксидазе, 96
416-5500	Orgentec	Антитела к базальной мембране клубочков (Anti GBM), 96
416-5490	Orgentec	Антитела к C1q компоненту комплемента, 96
191-0371	BioVendor	Фетуин-А (Alpha2-HS Glycoprotein, AHSg), 96
194-0881	BCM Diagnostics	Свободные каппа и лямбда цепи иммуноглобулинов человека, 96
191-1022	BCM Diagnostics	Липокалин 2/NGAL, 96
K 6110	Immundiagnostik	Ретинол-связывающий белок, 96
S-1269	BCM Diagnostics	Уротензин II-родственный пептид, 96
RD1911131OOR	BioVendor	Простагландин D синтаза (липокалинового типа), 96