

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПОКАЛИНА, АССОЦИИРОВАННОГО С ЖЕЛАТИНАЗОЙ, ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

**В. Б. Бородулин, В. И. Горемыкин, А. С. Волков, О. В. Нестеренко, А. В. Саратцев**

*Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского,  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова*

Целью работы явилась разработка простого и точного способа диагностики стадий хронической болезни почек (ХБП). При определении коэффициента NGAL (липокалин, ассоциированный с желатиназой) / мочевины почти у половины пациентов была диагностирована более тяжелая степень ХБП, что потребовало изменения схемы терапии для замедления темпов прогрессирования поражения почек.

*Ключевые слова:* хроническая болезнь почек, липокалин, NGAL, мочевины.

## CLINICAL SIGNIFICANCE OF NEUTROFIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN IN CHRONIC KIDNEY DISEASE

**V. B. Borodulin, V. I. Goremykin, A. S. Volkov, O. V. Nesterenko, A. V. Saratzev**

The aim of the study was to develop a simple and accurate method of diagnosing stages of chronic kidney disease. When determining factor NGAL / urea almost half of the patients were diagnosed with more severe degrees of CKD, which required regimen changes to slow the progress of kidney damage.

*Key words:* chronic kidney disease, lipocalin, NGAL, urea.

Выявление хронической болезни почек, особенно в декомпенсированные стадии хронической почечной недостаточности (ХПН), не вызывает затруднений. Важно своевременно выявить начальные признаки хронической болезни почек и правильно распознать ее при латентном течении. Нередко наблюдается многолетнее бессимптомное течение ХПН, особенно характерное для хронического пиелонефрита, латентного нефрита. С другой стороны, в связи с полиморфизмом поражений внутренних органов при ХПН на первый план могут выходить ее неспецифические «маски»: анемическая, гипертоническая, астеническая, подагрическая, остеодистрофическая. Наличие у больного стойкой нормохромной анемии в сочетании с полиурией и артериальной гипертензией должно настораживать в отношении ХПН [2, 3, 6].

В настоящее время используются два основных показателя: скорость клубочковой фильтрации (СКФ < 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в течение 3 или более месяцев) и соотношение альбуминурия/креатинурия > 30 мг/г в 2 из 3 порций мочи в качестве скринингового теста (CKD classification: NFK KDOQI) [9].

Так, их сравнительная характеристика (то есть снижение скорости клубочковой фильтрации до 60 мл/мин и максимальной величины относительной плотности мочи менее 1,018) в течение 3 месяцев может говорить о хронической почечной недостаточности I степени, при этом креатининемия не должна превышать 350 мкмоль/л.

Наиболее достоверным маркером последующих стадий хронической почечной недостаточности является концентрация креатинина в крови: при ХПН II сте-

пени — 350—650 мкмоль/л, при ХПН III степени — свыше 650 мкмоль/л. На основании уровня креатинина определяют скорость клубочковой фильтрации. Для исключения ошибок в постановке диагноза следует ориентироваться на величины клубочковой фильтрации, которая при хронической почечной недостаточности II степени составляет 50—30 мл/мин, при ХПН III степени — 30—15 мл/мин. Также определяют уровень мочевины в крови, калия, кальция, фосфора, паратгормона, гемоглобина, эритроцитов для оценки функции почек [3, 9].

Но концентрация креатинина в крови не может служить идеальным маркером патологии почек, так как уровень креатинина варьирует в зависимости от многих неренальных факторов. Известно, что в организме креатинин образуется из креатина М-метилгуанидинуксусной кислоты, или метилгликоциамина, синтез которого происходит в 2 стадии с участием 3 аминокислот: аргинина, глицина и метионина. В почках из аргинина и глицина образуется гуанидинацетат при действии глицинамидинотрансферазы. Затем гуанидинацетат транспортируется в печень, где происходит реакция его метилирования с образованием креатина. Далее креатин с кровотоком переносится в мышцы, миокард и клетки мозга, где из него под действием креатинфосфокиназы образуется высокоэнергетическое соединение — креатинфосфат. И лишь после этого при участии дефосфорилазы из креатинфосфата образуется креатинин. Так, многостадийный синтез креатинина происходит в разных органах, зависит от их функционального состояния и не может быть эффективным маркером почечной дисфункции [4].

Чаще всего повышение креатинина начинается только после снижения скорости клубочковой фильтрации на 50 % и ниже и при ХПН обычно достигает от 30 до 50 % от расчетного уровня в результате удаления из крови 16—66 % всего креатинина за счет внеклубочковых механизмов: канальцевая секреция и элиминация в кишечнике достигает наибольших величин при снижении СКФ до 15 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Кроме того, уровень креатинина из-за большого функционального резерва почек может оставаться в пределах референтных значений при нарушении функции большей части почечной ткани. Иными словами, креатинин «не видит» ранних стадий снижения скорости клубочковой фильтрации. Таким образом, высокий сывороточный креатинин не специфичен для повреждений почек, а до 50 % ренальных функций может быть утрачено до повышения уровня креатинина [10].

Известен способ расчета скорости клубочковой фильтрации с использованием формулы MDRD (Modification of Diet in Renal Disease), на основании чего диагностируют стадии хронической болезни почек (ХБП) (табл. 1) [9].

Формула MDRD (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>)

СКФ =  $186 \times (C_r \text{ сыворотки, мг/дл})^{-1.154} \times (\text{возраст, годы})^{0.203}$ ,

где C<sub>r</sub> — креатинин сыворотки крови,

для женщин результат умножают на 0,742,

для лиц негроидной расы результат умножают на 1,210.

Для детей в настоящее время принята практически единственная формула — Шварца:

СКФ =  $K \cdot L / C_r$ , где C<sub>r</sub> — креатинин сыворотки в мг/дл

L — рост в см, K — коэффициент, равный 0,45 для детей до 1 года, 0,55 — для детей 0—18 лет и 0,70 для юношей с большой мышечной массой (Schwartz G. J., et al., 1987).

Однако, в связи с тем, что определение СКФ расчетным методом также базируется на уровне креатинина в крови, этот способ не является идеально точным и объективным.

Известен способ диагностики стадии хронической почечной недостаточности, основанный на инструментальном исследовании функционального состояния сердечно-сосудистой системы и измерения массы миокарда левого желудочка (ЛЖ) (см. патент РФ 2195162, МПК А61В 5/02, А61В 8/00, опубл.

27.12.2002), который имеет невысокую точность диагностики начальных стадий хронической почечной недостаточности. Это объясняется тем, что функциональное состояние сердечно-сосудистой системы является косвенным признаком раннего нарушения работы почек и не может полностью отражать ранние ренальные нарушения.

Достаточно информативными методами являются радионуклидные исследования — динамическая и статическая нефросцинтиграфия. Принцип метода основан на исследовании функционально-структурного состояния почечной паренхимы путем регистрации распределения меченого соединения, медленно выводящегося из почек.

Методика исследования заключается в регистрации радиоактивности над областью почек с помощью сканера через 40—60 мин после внутривенного введения тубулотропного препарата <sup>197</sup>Hg-промерана. Получаемое в процессе исследования на бумаге изображение почек позволяет выявить зоны повышенного или пониженного накопления меченого препарата. При проведении динамической нефросцинтиграфии определяется скорость клубочковой фильтрации, на основании чего диагностируется стадия ХБП. При проведении статической нефросцинтиграфии степень ХБП устанавливается на основании объема сохранных почечных функций — С1 — 100—80 %, С2 — 90—80 %, С3А — 80—50 %, С3Б 50—30 %, С4 — менее 30 %, С5 — менее 5 %. Однако недостатком данной методики является ее инвазивность, необходимость введения дорогостоящего радиоактивного препарата, наличие гамма-камеры для регистрации исследования [2, 7].

Наиболее близким к заявляемому является определение концентрации NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, липокалин, ассоциированный с желатиназой, липокалин-2) в крови. При развитии ренальных заболеваний уровни NGAL в сыворотке постепенно возрастают и коррелируют с тяжестью патологии [1, 5]. Однако этот белок не является высокоспецифичным маркером почечного повреждения, так как уровень его может повышаться и при стрессовой ситуации в других органах [8]. Несмотря на то, что его уровень повышается при ранней стадии заболевания, нельзя поставить диагноз из-за отсутствия специфичности. С другой стороны, нет данных об

Таблица 1

Стадии хронической болезни почек соответственно скорости клубочковой фильтрации

Стадия ХБП	Описание	СКФ, мл/мин
С1	Признаки нефропатии, нормальная СКФ	>90
С2	Признаки нефропатии, легкое снижение СКФ	60—89
С3А	Умеренное снижение СКФ	45—59
С3Б	Выраженное снижение СКФ	30—44
С4	Тяжелое снижение СКФ	15—29
С5	Терминальная хроническая почечная недостаточность	<15

уровне липокалина при различных стадиях ХБП. В связи с этим метод может рассматриваться лишь как качественный и не является точным. Таким образом, метод оказывается не высокоспецифичным, качественным и поэтому недостаточно точным, и появляется необходимость прибегать к более точным и сложным методам.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение простого и точного способа диагностики стадий ХБП. Техническим результатом, достигаемым в результате достижения поставленной задачи, является диагностирование стадий хронического заболевания почек. Поставленная задача решается тем, что после определения NGAL (липокалина-2) в сыворотке крови определяют концентрацию мочевины и вычисляют коэффициент: NGAL/мочевина.

NGAL экспрессируется и секретируется в кровь различными клетками, находящимися в состоянии стресса, например, вследствие воспалительного процесса, а также при ишемии, либо при неопластической пролиферации в тканях. При стрессе, связанном с ишемическим поражением почечной паренхимы на ранних стадиях ХБП у больных артериальной гипертензией, NGAL особенно активно синтезируется иммунными клетками и клетками почечных канальцев. Мочевина в организме человека является одним из конечных продуктов белкового обмена и образуется в ходе орнитинового цикла превращений белка. При распаде белковых молекул в организме человека образуется токсичное вещество — аммиак. В печени он превращается в мочевину и выводится из организма почками с мочой [4].

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании приняли участие больные хронической болезнью почек — ХБП: хронический пиелонефрит, хронический гломерулонефрит, интерстициальный нефрит. В исследование не включались больные с болезнями обмена веществ (сахарный диабет, подагра, амилоидоз), с врожденными заболеваниями почек, беременные, а также пациенты с

мочекаменной болезнью, гидронефрозом, злокачественными опухолевыми образованиями в почках, имеющие острую почечную недостаточность в анамнезе.

Способ может быть осуществлен набором для количественного определения липокалина-2 (NGAL) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных 96-луночных иммунологических планшетов «Human Lipocalin-2/NGAL ELISA» Набор для определения липокалина-2/NGAL методом ИФА фирмы «BioVendor Laboratory Medicine, Inc.», Чехия.

Группа контроля состояла из 30 добровольцев в возрасте от 20 до 75 лет без признаков поражения почек с концентрацией липокалина от 10 до 13 нг/мл, среднее значение 12,41 нг/мл. Отношение NGAL/мочевина у них составляло 1,20—2,50. Таким образом, мы впервые определили нормативы показателя NGAL/мочевина у здоровых людей.

Обследовано 70 пациентов с хроническими заболеваниями почек в возрасте от 18 до 76 лет  $51,7 \pm 13,4$ . Женщин было 40 (55,5 %), мужчин 30 (44,5 %) человека. Стадии ХБП от 1 до 5 ставили исходя из скорости клубочковой фильтрации, которую рассчитывают по формуле MDRD.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно NKF Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease (2002), 8 больных (11,1 %) имели 1-ю стадию, 23 (32,72 %) — 2-ю стадию, 21 (29,1 %) — 3-ю стадию, 15 (21 %) — 4-ю стадию, 3 человека (4,16 %) — 5-ю стадию ХБП. Согласно предлагаемому нами способу, если коэффициент NGAL/мочевина превышает 2,50, можно диагностировать ХБП С1, если он попадает в диапазон значений 2,91—3,50 ХБП С2, 3,51—4,00 соответствует ХБП С3, 4,01—4,50 ХБП С4 и более 4,51 — ХБП С5 (табл. 2).

При определении коэффициента NGAL/мочевина почти у половины пациентов была диагностирована более тяжелая степень ХБП, что потребовало изменения схемы терапии для замедления темпов прогрессирования поражения почек. Полученные нами результаты отражены в табл. 3.

Таблица 2

Лабораторные показатели обследованных больных и контрольной группы

MDRD	Креатинин, мкмоль/л	NGAL, нг/мл	Мочевина, ммоль/л	NGAL/ мочевина
к	70—100	10—13	2,5—8,3	1,20—2,50
С1	80—110	12—16	4,2—8,3	2,51—2,90
С2	85—115	17—30	5,5—8,3	2,91—3,50
С3А	120—170	31—45	8,5—11	3,51—3,80
С3Б	150—250	46—60	10—15	3,81—4,00з
С4	250—500	61—90	16—22	4,01—4,50
С5	>500	91—150	>23	>4,51

Таблица 3

## Результаты определения стадий ХБП по различным показателям

Стадия ХБП	По показателю СКФ, % (чел.)	По отношению NGAL/мочевина, % (чел.)
C1	11 (8)	5,7 (4)
C2	32,7 (23)	11 (8)
C3А	14 (10)	25,7 (18)
C3Б	15 (11)	24,3 (17)
C4	21 (15)	25,7 (18)
C5	4,2 (3)	7,1 (5)

Определяемые предложенным способом стадии подтверждались инструментальными методами — дуплексным сканированием сосудов, статической нефросцинтиграфией, динамической нефросцинтиграфией.

### Клинические примеры

1. Больной Алексей Д., 58 лет. Клинический диагноз: хронический интерстициальный нефрит. Состояние больного средней степени тяжести. Самочувствие хорошее, жалоб нет. Клинические признаки почечной недостаточности отсутствуют. Уровень мочевины крови 6,1 ммоль/л, креатинин 82,4 ммоль/л, СКФ расчетным методом 62,3 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, NGAL 16 нг/мл. Исходя из полученных данных, диагностирована ХБП 1. Однако при подсчете предлагаемого нами коэффициента мы получили данные (NGAL/мочевина = 3,12), соответствующие более тяжелой стадии — ХБП 2. Проведенные инструментальные методы диагностики состояния функции почек подтвердили наличие не только факторов риска потери почечных функций, но и участки необратимого поражения почечной паренхимы со степенью сохранности почечных функций 75 %, что соответствует 2 стадии ХБП.

2. Больная Валерия М., 14 лет. Клинический диагноз: наследственная нефропатия на фоне дизэмбриогенеза почечной ткани. ХБП С3А. ХПН 2.

Состояние средней степени тяжести. Самочувствие хорошее. Аппетит сохранен. Отмечаются умеренно выраженные признаки уремической интоксикации: бледность и сухость кожи, эпизодические подъемы АД. В анализе крови — снижение уровня ионизированного кальция. Уровень мочевины 10,7 ммоль/л, креатинина 146,4 ммоль/л. СКФ расчетным методом (по Шварцу) 45 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Уровень NGAL составил 62 нг/мл, соотношение NGAL/мочевина (4,2), что выявило более существенную степень поражения функции почек (55 %), соответствующую ХБП С3Б. Это потребовало изменения и интенсификации проводимой терапии. Степень утраты функции почек была подтверждена данн

ми дуплексного сканирования сосудов почек, статической и динамической нефросцинтиграфией.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из описания и приведенных примеров, предложенный способ позволяет диагностировать стадии хронической болезни почек, используя исследование коэффициента NGAL/мочевина в сыворотке крови. В отличие от существующих в настоящее время методов способ позволяет более точно диагностировать стадии ХБП, а также не подвергать больных дополнительному забору крови и инвазивным методам диагностики. Предлагаемый нами способ является количественным, а значит и точным и объективным, преимуществом его является быстрота и простота исполнения, отсутствие необходимости использования дорогостоящего оборудования, радиофармпрепарата, возможность выполнения в амбулаторных условиях.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Волков А. С., Шевченко О. В., Федотов Э. А. и др. // The Scientific & Educational Bulletin «Health & Educational Millennium». — 2012. — № 5 (14). — С. 1—4.
2. Детская нефрология / Под ред. М. С. Игнатовой. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2011.
3. Ермоленко В. М. Хроническая почечная недостаточность / Под ред. проф. И. Е. Тареевой. — М.: Медицина, 2000. — С. 596—698.
4. Клиническая биохимия / Под ред. В. А. Ткачука. — М., 2004.
5. Сафина А. И., Даминова М. А. // Педиатрия. — 2012. — № 91 (6). — С. 41—44.
6. Смирнов А. В., Есаян А. М., Каюков И. Г. и др. // Нефрология. — 2003. — № 8 (3). — С. 89—99.
7. Фомин Д. К., Яцык С. П., Лепашева Т. В. и др. // Вестник российского научного центра по радиологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи. — 2008. — № 8. — С. 61—67.
8. Devarajan P. // Scand J Clin Lab Invest Suppl. — 2008. — Vol. 241. — P. 89—94.
9. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Diabetes and CKD: 2012 update // Am J Kidney Dis. — 2012. — Vol. 60 (5). — P. 850—886.
10. Traynor J., Mactier R. // BMJ. — 2006. — Vol. 333 (7571). — P. 733—737.

### Контактная информация

**Нестеренко Оксана Валериевна** — к. м. н., доцент кафедры факультетской педиатрии, Саратовский государственный медицинский университет, e-mail: ronikia@gmail.com