

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский Государственный
медицинский университет имени академика И.П.Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

САГАНОВА ЕЛЕНА СЕРГЕЕВНА

Клинико-морфологическая оценка значимости биомаркеров в диагностике
клубочковых и тубулоинтерстициальных повреждений у больных с
гломерулопатиями

14.01.29 - Нефрология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук,
профессор А. В. Смирнов

Санкт-Петербург – 2020

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Понятие биомаркера	12
1.2. Маркеры гломерулярного повреждения и их диагностическое значение при первичной гломерулярной патологии.....	18
1.2.1. Цистатин С сыворотки крови: маркер почечной функции	18
1.2.2. Клинико-морфологическая оценка значения альбуминурии и протеинурии у пациентов с гломерулярной патологией	24
1.2.3. Клинико-морфологическая оценка значения экскреции трансферрина с мочой у пациентов с гломерулярной патологией.....	31
1.2.4. Клинико-морфологическая оценка значения экскреции иммуноглобулина G с мочой у пациентов с гломерулярной патологией	33
1.3. Маркеры тубулоинтерстициального повреждения и их диагностическое значение при первичной гломерулярной патологии	36
1.3.1. Диагностическая значимость экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов с мочой при гломерулярной патологии	37
1.3.2. Диагностическая значимость экскреции цистатина С с мочой у пациентов с гломерулярной патологией	42
1.3.3. Липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL): структура и функция	44
1.3.4. Диагностическая значимость экскреции нейтрофильного желатиназо- ассоциированного липокалина с мочой у пациентов с гломерулярной патологией.....	49
1.3.5. Диагностическая значимость экскретируемой фракции магния с мочой в оценке тубулоинтерстициальных повреждений у пациентов с гломерулярной патологией	53
ГЛАВА 2 ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	57
2.1. Дизайн клинического исследования	57
2.2. Методы исследования пациентов и их оценка.....	58
2.2.1. Основные клинико-лабораторные показатели	58

2.2.2. Методы определения скорости клубочковой фильтрации	59
2.2.3. Методы определения уровня биомаркеров в сыворотке крови и в моче ...	62
2.2.4. Оценка данных морфологического исследования нефробиоптата	64
2.3. Методы статистического анализа результатов	66
ГЛАВА 3. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НЕФРОБИОПТАТОВ	68
3.1. Оценка основных клинических показателей	68
3.2. Оценка основных лабораторных показателей	71
3.3. Оценка результатов морфологического исследования нефробиоптатов	75
3.4. Диагностическая значимость основных лабораторных показателей в оценке морфологических изменений	78
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	88
4.1. Определение диагностической ценности биомаркеров сыворотки крови в оценке клубочковых и канальцевых повреждений у пациентов с гломерулопатиями	88
4.1.1. Диагностическая значимость цистатина С сыворотки крови в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	88
4.1.2. Сравнительная оценка диагностической значимости креатинина и цистатина С сыворотки крови в отношении различных морфологических повреждений	94
4.1.3. Диагностическая значимость различных методик расчета СКФ в оценке клубочковых и канальцевых повреждений у больных с гломерулопатиями	97
4.1.4. Сравнительная оценка различных методик расчета СКФ в отношении морфологических повреждений	110
4.1.5. Диагностическая значимость уровня NGAL сыворотки крови в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	115
4.2. Определение диагностической ценности мочевой экскреции биомаркеров в оценке клубочковых и канальцевых повреждений у пациентов с гломерулопатиями	121
4.2.1. Диагностическая значимость мочевой экскреции трансферрина в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	121

4.2.2. Диагностическая значимость мочевой экскреции иммуноглобулина G в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	126
4.2.3. Диагностическая значимость мочевой экскреции цистатина C в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	132
4.2.4. Диагностическая значимость мочевой экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	137
4.2.5. Диагностическая значимость мочевой экскреции NGAL в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	148
4.2.6. Диагностическая значимость экскретируемой фракции магния с мочой в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	154
4.2.7. Оценка влияния протеинурии на экскрецию биомаркеров у пациентов с первичными гломерулопатиями.....	160
4.2.8. Сравнительная оценка пороговых значений экскреции различных биомаркеров и уровня суточной протеинурии, в качестве предикторов морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями	163
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ	170
5.1. Роль креатинина, цистатина C, NGAL сыворотки крови и величин СКФ, рассчитанных по различным методикам, в качестве предикторов морфологических повреждений	173
5.2. Роль протеинурии, мочевой экскреции трансферрина и IgG в качестве предикторов морфологических повреждений	176
5.3. Роль мочевой экскреции цистатина C, альфа1-, бета2-микроглобулина, NGAL и экскретируемой фракции магния с мочой в качестве предикторов морфологических повреждений	178
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	184
ВЫВОДЫ	186
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	188
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	189
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	193

Введение

Актуальность проблемы

В настоящее время «золотым» стандартом диагностики в нефрологии является нефробиопсия, которая позволяет, как установить патоморфологический диагноз, так и оценить характер и выраженность необратимых морфологических изменений, определяющих прогноз нефропатии, активность патологического процесса, а, следовательно, оказать безусловное влияние на выбор тактики ведения [1]. Однако, нефробиопсия оценивает лишь небольшой объем почечной паренхимы, может не отражать наличие фокальных процессов и, являясь инвазивной процедурой, не позволяет осуществлять динамический контроль за прогрессией необратимых морфологических изменений (гломеруло-, тубулоинтерстициальный склероз), за редким исключением выполнения повторных нефробиопсий в клинике [1, 2].

Современный набор неинвазивных инструментов для оценки динамики патологического процесса в почках весьма ограничен и в практической работе, главным образом, базируется на мониторинге СКФ и протеинурии. Однако, до настоящего времени остается нерешенным вопрос об оптимальном методе оценки СКФ с этой целью. Валидность практически всех, известных на сегодня, расчетных формул СКФ (по креатинину, цистатину С, их комбинации) доказывалась в проспективных исследованиях на основании корреляции со скоростью прогрессирования нефропатии [3–5].

Однако ни в одном из этих исследований не анализировалась связь между динамикой СКФ и степенью выраженности необратимых морфологических изменений в почечной паренхиме. В связи с этим, до сих пор остается не ясным, какая из формул определения СКФ способна лучше всего предсказывать характер морфологических изменений в почечной паренхиме и отражать их динамику в ходе течения болезни.

Примерно такая же ситуация сложилась в нефрологии и в отношении протеинурии, когда ее абсолютные значения или степень снижения в результате лечения пытаются коррелировать со скоростью прогрессирования гломерулопатии, оцениваемой по уровню той же рСКФ, а не по морфологической картине.

В последнее время все больше внимания уделяется исследованиям, в которых изучается полный набор протеинов мочи (протеомика) при различных нефропатиях [6–

8]. Первые результаты таких исследований свидетельствуют, что изменения в составе белкового профиля мочи коррелируют с отдельными морфологическими признаками нефропатий и могут отражать динамику патологического процесса, что послужило основанием для появления нового термина в нефрологии «жидкостная биопсия» [7, 9, 10]. Однако протеомные исследования сложны и дорогостоящи, требуют наличия специальной лабораторной и мультидисциплинарной команды квалифицированных специалистов. Поэтому наиболее рациональным представляется путь, когда по результатам протеомного анализа отбираются наиболее значимые в клинικο-морфологическом отношении молекулы (биомаркеры) и далее разрабатываются более простые и доступные для практики иммунологические методы их определения в биологических средах [11–13].

Естественно, что в последующем необходимы исследования для валидации биомаркеров в клинике. Большинство научных исследований, опубликованных на эту тему, рассматривает биомаркеры в качестве предикторов скорости прогрессирования ХБП, оцениваемой по расчетной СКФ, не принимая во внимание степень выраженности и динамику формирования необратимых морфологических изменений в почечной паренхиме, что объясняется невключением в дизайн исследования нефробиопсии [14–23].

Таким образом, вопрос о предиктивной роли рутинных показателей (протеинурия, СКФ) и специфических биомаркеров в отношении детекции склеротических изменений в различных компартментах почечной паренхимы, являющихся морфологическим субстратом прогрессии гломерулопатии, остаётся до настоящего времени окончательно не решенным и требует проведения дальнейших научных исследований в этом направлении.

Цель исследования:

Дать клинικο-морфологическую оценку диагностической значимости рутинных лабораторных и расчетных показателей, а также и некоторых специфических биомаркеров в характеристике степени выраженности необратимых склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях.

Задачи исследования:

1. При анализе нефробиоптатов провести полуколичественную оценку степени выраженности основных морфологических признаков (гломеруло-, тубулоинтерстициальный склероз, атрофия эпителия канальцев) с использованием общепринятой международной системы оценки степени выраженности повреждений в 25% и 50% у пациентов с первичными гломерулопатиями.
2. С помощью ROC-анализа дать оценку диагностической значимости рутинным показателям состояния почек (креатининемии, протеинурии и СКФ, оцененной по клиренсу креатинина и по расчетным формулам), в отношении предикции основных морфологических признаков различной степени выраженности, характеризующих формирование склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме.
3. С помощью ROC-анализа дать оценку диагностической значимости некоторым специфическим показателям состояния почек (цистатин С и NGAL в крови, моче, моче-экскреция трансферрина, IgG, NGAL, альфа1- и бета2-микроглобулина, экскретируемая фракция магния), в отношении предикции основных морфологических признаков различной степени выраженности, характеризующих формирование склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме.
4. На основе проведенного анализа из всего набора изученных традиционных показателей и специфических биомаркеров выбрать наиболее валидные, в отношении предикции основных морфологических признаков, характеризующих формирование склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме различной степени выраженности.

Научная новизна

Впервые показано, что традиционные показатели, используемые в клинической практике (концентрация креатинина в сыворотке крови, протеинурия) не являются ранними маркерами гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев у пациентов с первичными гломерулопатиями. Впервые установлен уровень креатинина сыворотки крови, свидетельствующий о наличии выраженных (50% и более) необратимых склеротических и атрофических изменений почечной паренхимы у пациентов с первичными гломерулопатиями.

Впервые приводятся доказательства того, что у пациентов с первичными гломерулопатиями величина клиренса креатинина на $1,73 \text{ м}^2$ поверхности тела, по своей значимости в плане выявления тяжести фибротических и атрофических процессов в почечной паренхиме превосходит результаты всех основных расчетных методик определения СКФ и позволяет диагностировать данные морфологические изменения уже со второй стадии ХБП.

Впервые показано, что концентрация NGAL, как в сыворотке крови, так и моче является ранним диагностическим маркером начальных стадий гломерулосклероза.

Впервые установлено, что мочевая экскреция трансферрина, IgG, альфа1- и бета2-микроглобулина, а также величина экскретируемой фракции магния с мочой, обладают умеренным предиктивным значением в отношении тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцевого эпителия.

Практическая значимость настоящего исследования заключается в выборе оптимальных значений как рутинных (креатинин, СКФ, суточная протеинурия), так и некоторых специфических биомаркеров (цистатин С, NGAL альфа1-микроглобулин, бета2-микроглобулин, трансферрин, IgG, NGAL, экскретируемая фракция магния) сыворотки крови и мочи, позволяющих использовать их не только в качестве важного дополнительного теста для интегральной персонализированной оценки выраженности фибротических и атрофических изменений различной степени выраженности в почечной паренхиме у пациентов с первичной гломерулярной патологией, но и проводить динамическую оценку гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза, атрофии канальцевого эпителия, в том числе на фоне проводимой терапии. Особое значение биомаркеры приобретают в тех клинических ситуациях, когда выполнение нефробиопсии невозможно.

Положения, выносимые на защиту

1. Предикторная способность рутинных показателей (креатинин сыворотки крови, суточная протеинурия, экскретируемая фракция магния с мочой), а также биомаркера цистатина С (сыворотки крови и мочи) в характеристике склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях ограничена и

диагностически значима лишь в отношении выраженных степеней морфологических изменений (50% и более)

2. Все варианты расчетных формул СКФ, рекомендованных для использования в клинической практике, обладают предикторной способностью в отношении склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме различной степени выраженности. Однако только СКФ, рассчитанная по клиренсу креатинина, обладает подобной предикторной способностью при самых высоких пороговых значениях СКФ, что позволяет диагностировать морфологические изменения на более ранних этапах течения гломерулопатии уже с ХБП 1-2 ст.

3. В качестве предиктора ранних стадий гломерулосклероза при всех вариантах первичных гломерулопатий наибольшее диагностическое значение принадлежит оценке NGAL сыворотки крови и мочи (пороговые уровни 100,26 нг/л и 1445,4 нг/сут, соответственно)

4. Различная степень выраженности тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев у всех пациентов с первичными гломерулопатиями может быть предсказана с помощью оценки уровней мочевого экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов (пороговые уровни 10,94 мг/сут и 0,224 мкг/сут, соответственно)

5. У пациентов с установленным иммуноморфологическим диагнозом IgA-нефропатии и уровнем суточной протеинурии, не превышающим 1,25 г/сут, в качестве дополнительных предикторов формирования тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев ранних степеней выраженности выступают уровни мочевого экскреции трансферрина и IgG (пороговые уровни 31,92 мг/сут и 22,59 мг/сут, а также 5,10 мг/сут и 10,67 мг/сут, соответственно).

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором лично обследовано 100 пациентов с первичной гломерулярной патологией и создана электронная база данных, включающая результаты клинических и научно-клинических исследований. Диссертантом был проведён отбор пациентов для включения в исследование, также осуществлялся процесс сбора проб биологического материала для измерения концентраций цистатина С, NGAL, трансферрина, IgG, альфа1-микроглобулина, бета2-микроглобулина, магния и выполнялась преаналитиче-

ская подготовка образцов для иммуноферментного и иммунотурбидиметрического анализов.

Внедрение результатов исследования

Основные результаты исследования внедрены в клиническую, научную, практическую деятельность Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Апробация работы

Результаты исследования и основные положения данной работы были представлены на заседаниях нефрологической секции Санкт-Петербургского общества терапевтов имени С.П.Боткина (Санкт-Петербург, 2013, 2017 и 2020 гг.), на Объединенном съезде научного общества нефрологов России (IX съезд НОНР) и ассоциации нефрологов (31 октября - 1 ноября 2019 г, Москва), на 50-м, 51-м, 54-м, 55-м и 56-м Конгрессах Европейской Почечной Ассоциации – Европейской Ассоциации Диализа и Трансплантации (ERA-EDTA 50th Congress, Стамбул, Турция, 18-21 мая 2013 г., ERA-EDTA 51th Congress, Амстердам, Нидерланды, 31 мая – 6 июня 2014 г., ERA-EDTA 54th Congress, Мадрид, Испания, 3 – 6 июня 2017 г., ERA-EDTA 55th Congress, Копенгаген, Дания, 24 – 27 мая 2018 г., ERA-EDTA 56th Congress, Будапешт, Венгрия, 13 – 16 июня 2019 г) и на Конгрессах Американского Общества Нефрологов (Kidney Week 2018, Сан Диего, Калифорния, 23-28 октября 2018 г, Kidney Week 2019, Вашингтон, 5-10 ноября 2019 г).

По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них четыре статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Работа включает введение, главу обзор литературы, одну главу по описанию пациентов и методов исследования, две главы, посвященные результатам собственного исследования, обсуждение результатов, выводы, практические рекомендации и список

литературы. Диссертация изложена на 221 страницах машинописного текста, иллюстрирована 80 таблицами, 32 рисунками и 1 схемой. Библиографический список содержит 240 источника, 12 отечественной и 228 зарубежной литературы.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Понятие биомаркера

С древних времен и по настоящее время медицинская наука находится в поиске объективно измеряемых параметров, позволяющих «заглянуть внутрь» физиологических и патологических процессов человеческого организма. В современной медицине и, в нефрологии в частности, все больше и больше приобретающей персонализированный, предиктивный, предсказательный, партнерский характер, важным диагностическим и прогностическим инструментом становится использование биомаркеров [24].

Согласно современным представлениям биологический маркер (биомаркер) - это объективно определяемый показатель, который может являться индикатором как нормального биологического, так и патологического процессов, а также фармакологического ответа на терапию. В то же время, существует и более «узкое» определение биомаркера как физиологического или лабораторного показателя, отражающего определенный патологический процесс, и обладающий прогностической и диагностической ценностью [25].

Биомаркеры в целом классифицируются на антецендентные (идентифицирующие риск возникновения заболеваний), скрининговые (использующиеся для верификации субклинических стадий заболевания), диагностические (позволяющие уточнить наличие определенного заболевания), так называемые биомаркеры состояния (standing biomarkers), характеризующие тяжесть заболевания, и прогностические биомаркеры, отражающие эволюцию развития заболевания, в том числе позволяющие прогнозировать ожидаемый ответ на терапевтическое вмешательство и проводить мониторинг эффективности лечения (таблица 1). [26]

Таблица 1- Классификация биомаркеров в соответствии с рекомендациями и номенклатурой Biomarkers Definitions Working Group (2001)

Название	Цель применения
Антецендентные	Идентификация риска возникновения заболевания

Продолжение таблицы 1

Скрининговые	Верификация субклинических стадий заболевания
Диагностические	Идентификация наличия определенного заболевания
Биомаркеры состояния	Характеристика тяжести заболевания
Прогностические	Оценка прогноза развития заболевания, ответа на лечение/терапевтическое вмешательство или мониторинг его эффективности

Существует ряд характеристик, которым должен соответствовать любой биомаркер (так называемый, «идеальный» биомаркер):

1. Быть не инвазивным, недорогим, легко измеряемым и доступным из такого биоматериала как кровь или моча;
2. Обладать высокой чувствительностью, позволяющей проводить раннюю диагностику заболевания, оценивать эффективность проводимой терапии на основании изменения концентрации биомаркера, а также высокой специфичностью по отношению к определённой нозологии или стадии патологического процесса;
3. Быть полезным в стратификации рисков и понимании патогенеза развития заболевания;
4. Обладать прогностической ценностью в отношении прогрессирования или рецидива заболевания. [25, 27].

То есть, любой биомаркер должен соответствовать концепции SMART: быть чувствительным и специфичным (**S**-specific and sensitive), измеряемым (**M** – measureable), доступным (**A** – available and affordable), воспроизводимым (**R** – responsive and reproducible), своевременным (**T** – timely) [26].

В литературе приводятся многочисленные сведения о различных молекулах (как органических, так и неорганических), претендующих на роль биомаркеров в нефрологии. К основным «традиционным» принято относить такие показатели, как креатинин сыворотки, клиренс креатинина, расчетная СКФ, протеинурия и альбуминурия. Широкое распространение и применение эти показатели получили, прежде всего, ввиду

простоты и дешевизны определения. Однако они имеют ряд недостатков: не отражают этапность повреждения почечных структур, приводящего к нарушению функции, не указывают на раннее и незначительное снижение СКФ, а соответственно не дают возможность своевременно начать терапию; зависят от сопутствующих факторов таких как пол, возраст, мышечная масса, расовая принадлежность, прием ряда медикаментов [28–31]; не позволяют точно оценить СКФ на поздних стадиях ХБП (из-за увеличения канальцевой секреции креатинина) [32, 33]; лишь косвенно отражают состояние тубулоинтерстициального компартмента, не способны дать комплексную оценку степени повреждения почечной паренхимы [31]. Известно, что протеинурия может служить предиктором снижения функции почек как при гломерулярной патологии, так и при других нозологиях ХБП, однако отсутствие специфичности и тесная взаимосвязь протеинурии с внутриклубочковой гемодинамикой ограничивают возможности ее использования в качестве идеального биомаркера гломерулярного повреждения [14, 34].

В то же время, общепринятым стандартом в большинстве научных исследований является сравнение данных об очередном «новом биомаркере», именно с предиктивным значением протеинурии и расчетной СКФ для того, чтобы понять какой объем дополнительной информации может дать данный «новый биомаркер» в отношении характера и степени повреждения почечных структур [35].

Маркеры хронического повреждения почек целесообразно разделить на функциональные (креатинин, цистатин С, сыворотки, СКФ, нарушения электролитного обмена), а также структурные, свидетельствующие о повреждении того или иного отдела нефрона. В свою очередь, структурные маркеры подразделяют на биомаркеры гломерулярного (подоцин, нефрин, протеинурия, альбуминурия) и канальцевого повреждения (NGAL, KIM-1, L-FABP и др.) (таблица 2).

**Таблица 2 – Структурные и функциональные биомаркеры
хронического повреждения почек**

		Биомаркер
Маркеры гломерулярного повреждения	Функциональные	Креатинин, цистатин С сыворотки Бета-следовой протеин (или L-PGDS), СЛЦ сыворотки
	Структурные	Подоцин, нефрин, подокалексин, протеинурия, альбуминурия, трансферрин, IgG
Маркеры тубулоинтерстициального повреждения (структурные)		NGAL, KIM-1, NAG, L-FABP, α 1-микроглобулин, β 2-микроглобулин, цистатин С мочи, уромодулин.

Примечания: L-PGDS - Простагландин-Д-синтаза липокалинового типа; NGAL – нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин; KIM1 – молекула почечного повреждения 1; NAG – Н-ацетил-бета-Д-глюкозаминидаза; L-FABP – печеночный белок, связывающий жирные кислоты; СЛЦ – свободные легкие цепи иммуноглобулинов.

Помимо традиционных маркеров функции почек, таких как креатинин и цистатин С сыворотки крови, в настоящее время существуют данные о возможности использования концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов в сыворотке крови для оценки не только функционального состояния проксимальных канальцев. Так, было показано, что уровень СЛЦ тесно коррелирует не только с величиной СКФ, но и ассоциирован с риском развития ТПН, а, следовательно, косвенно может отражать развитие необратимых склеротических изменений различных компартментов нефрона [36, 15, 37, 38].

Одним из интересных и перспективных биомаркеров представляется уромодулин, впервые описанный в 1873 году итальянским врачом Carlo Roviда, как вещество, продуцируемое тубулярными клетками почек и названное «цилиндрина», ввиду способности образовывать гиалиновые цилиндры в просвете канальцев. Позднее Igor Tamm и Frank Horsfall выделили мукопротеин из мочи здоровых лиц, который был назван белком Тамма-Хорсфала (ТХ) [39–41]. Было установлено, что белок ТХ образуется в толстом восходящем отделе петли Генле, а мРНК уромодулина обнаруживается только в почках. Известно, что уромодулин участвует в водно-электролитном обмене,

препятствует камнеобразованию, развитию инфекции МВП, является защитным фактором при ОПП, что объясняется его способностью связывать провоспалительные и хемоаттрактантные молекулы, способствующие инвазии нейтрофилов. Кроме того, он является маркером внутриутробного развития канальцев и ОПП у новорожденных детей. В настоящее время существуют работы посвященные исследованию уромодулина в качестве маркера тубулоинтерстициального повреждения [39, 42].

В зависимости от характера типового патологического процесса и повреждающего фактора выделяют: маркеры воспаления, фиброза, эндотелиальной дисфункции, оксидативного стресса (таблица 3) [16].

Таблица 3 - Классификация биомаркеров хронического повреждения почек по характеру основного патологического процесса

	Биомаркер
Эндотелиальная дисфункция	ADMA
Оксидативный стресс	Ох-LDL, AOPP, TBARS, F2-изопростаны крови и мочи, MDA, AGE, активность антиоксидантных ферментов (супероксид дисмутаза, глутатионпероксидаза, атолаза), GGT и др.
Воспаление	СРБ, вч-СРБ, РТХЗ, sTNF α II, IL-18, TIMP-1 и др.
Фиброз	TGF- β 1

Примечания: ADMA – асимметричный диметиларгинин; Ох-LDL – окисленные липопротеиды низкой плотности; AOPP – продукты избыточного окисления белков; TBARS - реактивные соединения тиобарбитуровой кислоты; MDA – малоновый диальдегид; AGE – конечные продукты гликозилирования; GGT - гамма-глутамил трансфераза; СРБ – С-реактивный белок; вч-СРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; РТХЗ – пентраксин-3; sTNF α ii – растворимый рецептор фактора некроза опухоли II; IL-18 – интерлейкин-18; TIMP-1 – тканевой ингибитор металлопротеиназы-1; TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста - β 1;

Известно, что хроническое повреждение почек вызывает в организме целый ряд системных сдвигов, приводя к кардиоваскулярной дисфункции и метаболическим изменениям, которые также могут быть идентифицированы по биомаркерам (таблица 4)

Таблица 4 - Биомаркеры сопутствующих изменений в организме

	Биомаркер
Кардиоваскулярная дисфункция	ANP BNP и NT-proBNP, сTnT, адреномедуллин
Метаболический нарушения	Адипонектин, FGF-23, ApoA-IV

Примечания: ANP – предсердный натриуретический пептид; BNP – мозговой натриуретический пептид; NT-proBNP – N-концевой мозговой натриуретический пептид; сTnT – тропонин Т; FGF-23 – фактор роста фибробластов –23; ApoA-IV – аполипопротеины A-IV;

Традиционно принято считать, что снижение функции почек при хронических гломерулопатиях в большей степени ассоциировано с выраженностью тубулоинтерстициального, но не гломерулярного повреждения [43–45, 31]. При этом, характерными морфологическими чертами тубулоинтерстициального повреждения являются: атрофия эпителия канальцев, облитерация перитубулярных капилляров, накопление внеклеточного матрикса, приводящая к интерстициальному фиброзу, потеря маркеров дифференциации клетками эпителия канальцев, экспрессия *de novo* мезенхимальных маркеров на поверхности эпителиоцитов, возникновение воспалительных инфильтратов в тубулоинтерстиции, приводящее к значительному увеличению объема интерстиция [31].

В свою очередь, гломерулярное повреждение само способно инициировать различные патологические процессы, и контррегуляторные механизмы, приводящие к развитию воспаления и фиброза тубулоинтерстиция [31]. Так, по результатам одного из исследований было установлено, что застой крови в перитубулярных капиллярах, нисходящих из эфферентной артериолы гломерул, индуцирует хроническую гипоксию с последующим развитием тубулоинтерстициального фиброза. Также, было показано, что увеличение резистентности эфферентной артериолы и снижение перитубулярного кровотока ассоциированы с обратимым снижением функции почек и тубулярной дисфункцией у пациентов с тяжелой гломерулярной патологией [31].

Таким образом, использование более чувствительных и специфичных биомаркеров в оценке структурных изменений различных отделов нефрона (как гломерулярного, так и канальцевого), являющихся морфологическим субстратом развития и прогрес-

сирования ХБП, может служить важным диагностическим и прогностическим инструментом.

Валидность некоторых из биомаркеров, вошедших в данную работу, например $\alpha 1$ - и $\beta 2$ -микроглобулинов, трансферрина, иммуноглобулина G, в отношении предсказания морфологических изменений была установлена в единичных работах в начале 90-х годов [46–48, 17, 49]. Однако в то время для их определения применялись трудоемкие биохимические методы, что затрудняло не только использование их в научных исследованиях (поэтому работы носят единичный характер), но и внедрение в широкую клиническую практику. В настоящее время наличие иммуноферментного анализа данных субстанций облегчило выполнение научных исследований, сделало их доступными для практического использования, что, в свою очередь, потребовало вернуться к проблеме валидности различных биомаркеров в отношении детекции динамики развития фибротических процессов в почечной паренхиме. Кроме того, согласно одному из исследований была установлена низкая предсказательная способность альбуминурии, наиболее изученного и широко применяемого в клинической практике маркера, в отношении фиброзных изменений почечной паренхимы [50]. Данное обстоятельство, вероятно, объясняется тем, что при первичных гломерулопатиях отмечается высокая протеинурия, в том числе нефротического уровня, которая содержит белки различной молекулярной массы, а не только альбумин. Исходя из этих соображений, в нашей работе мы ориентировались на уровень протеинурии, являющейся предиктором выраженности склеротических изменений различных отделов нефрона [51, 18].

1.2. Маркеры гломерулярного повреждения и их диагностическое значение при первичной гломерулярной патологии

1.2.1. Цистатин С сыворотки крови: маркер почечной функции

1.2.1.1. Структура и функция цистатина С

Цистатин С или цистатин 3 (пост-гамма-глобулин, основной нейроэндокринный пептид) впервые выявлен в 1961 году в спинномозговой жидкости здоровых людей, затем обнаружен в моче у пациентов с канальцевой патологией, а позднее и в сыво-

ротке крови больных с почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе [52–54].

Цистатин С - негликозилированный пептид, состоящий из 122 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 13 кДА (13343-13359 Да) и изоэлектрической точкой при рН 9,3, принадлежащий ко второму типу суперсемейства цистатинов. Цистатины являются основными эндогенными экстрацеллюлярными ингибиторами цистеиновых протеиназ, (в особенности катепсинов Н, В, L и кальпаинов), осуществляющих деградацию внеклеточного матрикса [55, 56].

Зрелая, активная форма человеческого цистатина С состоит из одной негликозилированной полипептидной цепи, содержащей четыре характеристических участка, образованных парами цистеиновых остатков, соединенных дисульфидными мостиками [57, 58].

Ген, отвечающий за синтез цистатина С (*CST3*-ген), расположен на 20-й хромосоме, является геном «домашнего хозяйства», то есть необходим для поддержания важнейших жизненных функций организма и экспрессируется практически во всех тканях и ядродержащих клетках на относительно постоянном уровне. Данное свойство и определяет стабильность синтеза как цистатина С, так и всех ингибиторов цистеиновых протеиназ, а также обеспечивает защиту организма от неконтролируемого протеолиза [59].

Цистатин С свободно фильтруется в гломерулах, попадая в тубулярный просвет реабсорбируется посредством внутриклеточного рецептора мегалина и практически полностью метаболизируется клетками эпителия проксимального извитого канальца [60].

1.2.1.2. Цистатин С и СКФ

Точность определения СКФ, в том числе с использованием цистатина С, является одной из важнейших задач, ввиду прямой ассоциации и зависимости величина СКФ от массы действующих нефронов. Логично предполагать, что величина СКФ может являться прямым отражением выраженности гломерулосклероза, а возможно и тубулоинтерстициального склероза. Однако большинство исследований посвящено не оценке взаимосвязи величины СКФ с выраженностью основных морфологических

изменений, а сопоставлению расчётных методик определения СКФ с «золотым стандартом» (клиренсовые методы).

В отличие от креатинина, цистатин С не подвергается канальцевой секреции, в связи с чем, может считаться если не идеальным, то близким к нему маркером СКФ. Концентрация цистатина С в сыворотке крови строго обратно связана с величиной СКФ [57].

Предположение высказанное впервые в 1979 году, об использовании цистатина С как маркера для расчета СКФ, было основано на обнаружении его высоких концентраций в плазме крови пациентов, находящихся на гемодиализе (уровень цистатина С был в 13 раз выше, чем у здоровых лиц) [61]. Однако, его использование для оценки СКФ было начато лишь в 1985 году [62].

Было установлено, что сывороточная концентрация цистатина С лучше коррелирует с величиной СКФ, чем креатинин сыворотки [63–68]. Кроме того, по результатам большого числа исследований, в том числе данных мета-анализа 2002 года (включившего 54 исследования и 4492 пациента), было показано, что концентрация цистатина С сыворотки крови обладает большей чувствительностью и специфичностью в отношении определения СКФ (с использованием клиренсовых методик), чем концентрация креатинина (как по результатам линейного корреляционного, так и ROC-анализа) [63, 65–67, 69, 70].

Эти данные навели исследователей на мысль о том, что при достижении определенной степени снижения СКФ, уровень цистатина С имеет более высокую вероятность возрастания, чем значения креатинина, что важно для более ранней диагностики ХБП, а, следовательно, может быть использовано для оценки прогноза течения нефропатии. Так, было доказано преимущество не только цистатина С при сравнении с креатинином сыворотки крови [71], но и величины СКФ, рассчитанной по цистатину С в качестве предиктора неблагоприятного прогноза и развития ТПН у пациентов с ХБП [71–74].

С 2004 г. FDA (США) официально одобрило использование цистатина С как показателя для расчета СКФ. В настоящее время он является потенциальной альтернативой сывороточному креатинину [29, 75]. Кроме того, валидность и доступность методики определения цистатина С сыворотки крови значительно улучшились после раз-

работки рекомендаций по калибровке лабораторных исследований и появления менее дорогих методик для автоматизированных анализаторов [76, 77].

Ранее считалось, что концентрация цистатина С сыворотки не подвержена влиянию экстраренальных факторов, однако по результатам дополнительных исследований установлено, что уровень цистатина С сыворотки все же зависит от возраста, пола и расовой принадлежности, хотя и в меньшей степени, чем значения креатинина [63, 64, 78–81]. Помимо вышеуказанных экстраренальных факторов, влияющих на уровень цистатина С сыворотки, доказано, что он зависит от наличия воспалительного процесса, онкологических заболеваний, функции щитовидной железы, приема некоторых лекарственных препаратов и ряда других факторов (таблица 5) [30, 82, 79, 81, 83–85]. Эти особенности снижают точность методики определения СКФ с использованием данного пептида.

Таким образом, принимая во внимание представленные данные, при использовании цистатина С в качестве маркера СКФ необходимо учитывать конкретную клиническую ситуацию, для исключения возможных ошибок при определении СКФ [79].

Таблица 5 – влияние экстраренальных факторов на сывороточную концентрацию креатинина и цистатина С

Фактор	Влияние		Источник
	На креатинин	На цистатин С	
Возраст	↑	↓*	[28–30]
Женский пол	↓	↓*	[28–30]
Потребление жидкости	↓	↓	[86]
Объем мышечной массы	↑	↑*	[28, 87]
Объем жировой ткани	НВ	↑	[88]
Расовая принадлежность (афро-американцы)	↑	↓*	[28, 29]
Потребление мясной пищи	↑	НВ	[89–91]
Физическая активность	↑	НВ	[89]

Продолжение таблицы 5

Похудание, недостаточность питания, ампутация	↑	↑*	[28, 92]
Онкопатология			
Рак яичника	НВ	↑	[93]
Рак толстой кишки и меланома	НВ	↑	[94]
Патология эндокринной системы			
Сахарный диабет	↑**	↑	[29]
Гипертиреоз	↓**	↑	[95]
Другие факторы			
Повышение СРБ	↓**	↑	[28]
Гипоальбуминемия	↓**	↑	[28]
Лекарственные препараты			
Циметидин	↑	НВ	[96]
Триметоприм-сульфаметоксазол	↑	НВ	[97]
Глюкокортикостероиды	НВ	↑	[82]

Примечания: * - влияние меньшее, чем на креатинин сыворотки; **влияние меньшее, чем на цистатин С сыворотки; НВ – не влияет или незначимо влияет; СРБ – С-реактивный белок; ↑ - повышение концентрации креатинина/цистатина С сыворотки; ↓ - понижение концентрации креатинина/цистатина С сыворотки

Известно, что уравнения, основанные на применении цистатина С, слегка завышают величину СКФ при ее уровне более 90 мл/мин/1,73м², в то время как значения СКФ, с использованием креатинина в этом же случае остаются стабильным. Учитывая вышеуказанные особенности рядом авторов было предложено применять цистатин С в качестве альтернативного маркера для расчета СКФ, в тех клинических ситуациях, которые могут обуславливать возникновение погрешности при использовании креатинина сыворотки крови для расчета СКФ из-за влияния таких факторов, как мышечная масса (избыточное развитие, кахексия, рабдомиолиз), диета (с ограничением или большим содержанием белка), разведение плазмы крови (в/в введение растворов), медикаменты (триметоприм-сульфаметоксазол, циметидин) и др. [79, 78].

В дальнейшем, было показано, что сочетанное использование в уравнениях для расчета СКФ цистатина С и креатинина сыворотки крови, дополненное такими факторами как пол, возраст и раса обеспечивает более точную оценку СКФ [78]. В связи с этим, в 2008 году в предварительном исследовании были разработаны уравнения как с использованием только цистатина С, так и комбинации цистатина С и креатинина (СКД-ЕРІ) для оценки СКФ в популяции больных с ХБП (до стандартизации методики определения цистатина С). Результаты исследования продемонстрировали примерно одинаковую точность в определении СКФ с использованием креатинина и цистатина С в отдельности. Однако, применение комбинированной формулы, с использованием обоих маркеров в уравнении, показало более точные значения СКФ. В качестве «золотого стандарта» определения СКФ в этих исследованиях был использован мочевой клиренс ^{125}I -йодталамата и ^{51}Cr -ЭДТА [78].

В 2011 году после стандартизации методики определения цистатина С, уравнение СКД-ЕРІ 2008 было модифицировано [3]. По результатам анализа Inker L.A. и соавт. (2012), включившего в себя 13 исследований и 5352 участника из различных популяций, было разработано уравнение для расчета СКФ, как с использованием только цистатина С (СКД-ЕРІCys 2012), так и цистатина С в сочетании с креатинином (СКД-ЕРІCrCys 2012). Этой же группой исследователей была доказана большая точность комбинированной формулы для определения СКФ, чем при использовании каждого показателя в отдельности (в качестве метода уровня «золотого стандарта» в оценке СКФ были использованы мочевой или плазменный клиренс экзогенных веществ, таких как ^{125}I -йодталамат, йогексол и ^{51}Cr -ЭДТА). Интересно отметить, что определение СКФ с применением только цистатина С сыворотки не показало своего преимущества при сравнении с формулами расчета СКФ, в основе которых лежит креатинин сыворотки, что позволило сделать вывод о том, что экстраренальные факторы, влияющие на концентрацию креатинина и цистатина С сыворотки в целом схожи. А преимущество цистатина С заключается лишь в том, что он в меньшей степени подвержен влиянию возраста, пола и расы. Формула с использованием обоих маркеров, обеспечивает более точную оценку СКФ во всем диапазоне ее значений, а также в подгруппах, различающихся по демографическим и клиническим характеристикам. Авторы полагают, что такая точность комбинированного уравнения объясняется тем,

что ошибки при расчете СКФ, обусловленные внепочечными факторами, в данной формуле независимы и выражены в меньшей степени, чем при использовании методик, основанных на креатинине и цистатине С в отдельности [4].

Таким образом, в настоящее время, согласно большому числу исследований, цистатин С - это надежный альтернативный маркер для оценки СКФ, особенно в комбинации с креатинином сыворотки. Однако при этом необходимо учитывать конкретную клиническую ситуацию, вследствие возможного влияния экстраренальных факторов на сывороточную концентрацию цистатина С и креатинина. В затруднительных ситуациях следует использовать клиренсовые методики с введением экзогенных веществ (^{125}I -йодталамат, йогексол, ^{51}Cr -ЭДТА). Кроме того, учитывая тесную ассоциацию цистатина С сыворотки крови с величиной СКФ, характеризующей состояние гломерулярного отдела нефрона, в том числе выраженность его склеротических изменений, можно предполагать, что цистатин С также может отражать наличие и выраженность гломеруло-, а возможно и тубулоинтерстициального склероза, однако, исследований на этот счет в настоящее время нет.

1.2.2. Клинико-морфологическая оценка значения альбуминурии и протеинурии у пациентов с гломерулярной патологией

Согласно большому числу исследований, протеинурия является независимым предиктором почечного прогноза, в том числе развития ТПН при различных нефропатиях, а снижение уровня протеинурии, в свою очередь, ассоциировано со снижением темпов нарастания почечной дисфункции [98–100, 19]. В одном из исследований большой группы пациентов с первичной гломерулярной патологией (574 человек с IgA-нефропатией, 175 - МН, 177 – FSGS) было установлено, что уровень протеинурии менее 1 г/сут ассоциирован с низким риском прогрессирования почечной дисфункции не только при IgA-нефропатии, но и при МН и ФСГС [101]. В то же время, существует небольшое число работ, подтверждающих роль протеинурии не только в качестве прогностического маркера, но и предиктора характера и тяжести морфологических изменений. Так, при IgA-нефропатии увеличение уровня протеинурии было ассоциировано с более продвинутыми гистологическими стадиями (II-IV по классифи-

кации Haas), а также со степенью тубулоинтерстициального фиброза и сегментарного склероза клубочков [102, 103].

Одним из наиболее изученных и широко применяемых маркеров нарушения гломерулярной проницаемости, так и раннего повреждения эпителия канальцев не только в научных исследованиях, но и клинической практике является в настоящее время оценка экскреции альбумина с мочой.

Альбумин - основной плазменный белок (молекулярная масса 69 кДа, молекулярный радиус $r = 36\text{\AA}$). Он фильтруется в небольшом количестве (2-6 г/сут) в гломерулах [104] и в дальнейшем реабсорбируется клетками проксимальных канальцев посредством рецепторов кубилина и мегалина на апикальной поверхности эпителиоцитов проксимальных канальцев [105]. При хронической гломерулярной патологии, альбуминурия традиционно считается маркером структурного повреждения клубочка, приводящего к увеличению порозности гломерулярного фильтра и потери им селективности [31].

По результатам одного из исследований, было показано, что при длительном наблюдении (около 7 лет) у пациентов с первичной гломерулярной патологией, подтвержденной морфологически, экскретируемая фракция альбумина (но не соотношение альбумин/креатинин мочи и не уровень общей протеинурии) являлась предиктором неблагоприятных исходов гломерулопатий (ТПН, потребность в ЗПТ и летальный исход). Возможной причиной такой ассоциации авторы считают, что экскретируемая фракция альбумина является более точным индикатором нарушения селективной проницаемости гломерулярного фильтра [106].

При морфологической оценке значения альбуминурии было показано, что у пациентов с IgA-нефропатией более высокие уровни соотношения альбумин/креатинин мочи коррелировали с выраженностью мезангиальной гиперклеточности, гломерулосклероза, а также тубулоинтерстициального повреждения. Однако по результатам ROC-анализа экскреция альбумина с мочой являлась независимым маркером лишь мезангиальной гиперклеточности (чувствительность – 82%, специфичность – 74%, AUC – 0,79), но не гломерулосклероза или тубулоинтерстициального повреждения [50].

Высокая селективность гломерулярного барьера обеспечивается за счет его сложной организации. Первичную структурную поддержку сосудистого клубочка, обеспечивает гломерулярная базальная мембрана (ГБМ). С внутренней стороны ее покрывают фенестрированные эндотелиальные клетки, в то время как с наружной стороны выстилают подоциты. Именно ножковые отростки соседних подоцитов, тесно контактируя друг с другом, образуют узкое пространство между собой, называемое щелевидной диафрагмой, покрывающей фильтрационные щели шириной 30-50 нм, и обеспечивая окончательный барьер для белков плазмы. Кроме того, клеточная мембрана подоцита, в том числе ножковые отростки в области щелевидной диафрагмы, имеют отрицательный заряд, поскольку покрыты гликокаликсом, как и все другие составляющие гломерулярного фильтра [56, 107, 108], что обеспечивают дополнительный барьер для белковых молекул плазмы крови. Установлено, что гломерулярный фильтрационный барьер пропускает белки в зависимости от размера (не более 4 нм) или радиуса молекулы, заряда, а также молекулярной массы (не более 70 кДа) [109].

По мере прогрессирования повреждения гломерулярного фильтра, а следовательно и увеличения его порозности изменяется и характер протеинурии [110]. Так, помимо небольшого количества низкомолекулярных белков (таких как альфа1- и бета2-микроглобулины, легкие цепи иммуноглобулинов, ретинол-связывающий белок и др.), в норме свободно фильтрующихся, в ультрафильтрате увеличивается количество среднемолекулярных пептидов (альбумин, трансферрин), а также появляются белки с высокой молекулярной массой (иммуноглобулины G, M, альфа2-макроглобулин и др.) [110]. Плазменные белки различной молекулярной массы, попадающие в ультрафильтрат в результате повреждения гломерулярного барьера, не могут полностью реабсорбироваться клетками проксимальных канальцев ввиду ряда причин: во-первых, это перенасыщение механизмов реабсорбции (рецепторов ответственных за связывание с белками), во-вторых, это конкуренция между белками с различной молекулярной массой за связывание с рецепторами (обусловлена разной афинностью белков к рецепторам), в-третьих - непосредственное структурное повреждение клеток проксимальных канальцев при гломерулярной патологии [104].

Учитывая вышеизложенные обстоятельства оценка протеинурии, как таковой, а не альбуминурии может более точно отражать характер и выраженность морфологиче-

ских изменений. На основании оценки характера протеинурии можно судить не только о степени гломерулярного повреждения, но и о состоянии эпителия проксимальных канальцев. Так, например, на основании оценки величины экскреции IgG с мочой определяется индекс селективности (ИС) протеинурии, который рассчитывается как отношение клиренса IgG к альбумину или трансферрину. Значения индекса селективности при высоко-, умеренно- и неселективной протеинурии составляют: $ИС \leq 0,1$; $ИС = 0,1-0,2$; $ИС \geq 0,21$ (соответственно) [110, 109].

При исследовании взаимосвязи между ИС и характером гистологических изменений у пациентов с первичными гломерулопатиями (мембранозная нефропатия, ФСГС, болезнь минимальных изменений) и нефротическим синдромом было установлено, что степень тубулоинтерстициального повреждения выражена в меньшей степени при селективной или умеренно селективной протеинурии при сравнении с неселективным ее характером. При этом, связи с глобальным гломерулосклерозом и индексом селективности обнаружено не было [51]. Помимо взаимосвязи с гистологическими изменениями была показана значимость индекса селективности, при высоком его уровне, как предиктора прогрессии заболевания, а его снижение предвещало скорую ремиссию гломерулопатии [51].

Ряд авторов для оценки индекса селективности предложили использовать соотношение клиренса иммуноглобулина М (вместо IgG) к уровню альбумина (вместо трансферрина), предполагая, что иммуноглобулин М, белок с большей молекулярной массой (970 кДа), может отражать более тяжелое повреждение гломерулярного барьера [18]. Так, разделив пациентов с первичной гломерулярной патологией (IgA-нефропатия, мембранозная нефропатия и мезангиально-пролиферативный гломерулонефрит) на 2 группы в зависимости от индекса селективности, рассчитанного по иммуноглобулину М (больше/меньше 0,002), было установлено, что в конце периода наблюдения в группе пациентов с низким индексом селективности (медиана периода наблюдения 43 мес.) снижение клиренса креатинина было меньше, несмотря на исходно более высокий уровень суточной протеинурии. При множественном регрессионном анализе данных, факт предиктивного значения ИС (но не альбуминурии) в отношении прогрессии гломерулопатии (снижение клиренса креатинина) подтвердился. Кроме того, в нефробиоптатах этой же группы пациентов, количество полностью

склерозированных клубочков и степень выраженности тубулоинтерстициального фиброза также были значительно меньше, чем в группе пациентов с исходно более низкой суточной протеинурией, но с высоким ИС [18]. Взаимосвязи альбуминурии с морфологическими изменениями получено не было [18].

Таким образом, по качественной характеристике протеинурии (наличию белков различной молекулярной массы и радиуса), интегрально оцениваемой в клинике по ИС, можно судить о тяжести повреждения гломерулярного фильтра, степени его порозности, а, следовательно, и высказываться в отношении степени выраженности глобального гломерулосклероза и фиброза интерстиция в нефробиоптате.

В последнее время появились данные о том, что протеинурия ассоциирована не только с тубулоинтерстициальным, но и гломерулярным повреждением. Как было показано, чрезмерная белковая нагрузка на подоциты приводит к избыточной продукции ими TGF- β , уровень которого в моче напрямую коррелирует с выраженностью протеинурии [111]. В исследованиях *in vitro* установлено, что в результате избыточной продукции TGF- β подоцит может подвергаться эпителиально-мезенхимальной трансформации, апоптозу и отслойке, происходящей в результате подавления экспрессии $\alpha 3\beta 1$ – интегрин, обеспечивающего связь подоцита и ГБМ [112]. Кроме того, под влиянием TGF- β происходит утолщение ГБМ в результате избыточной выработки белков внеклеточного матрикса (фибронектин, $\alpha 3$ -цепь коллагена IV типа) [112]. Также, под воздействием TGF- β , главного стимулятора мезангиальных клеток, происходит их пролиферация и гипертрофия, увеличение продукции ими коллагена I, III, IV типов, фибронектина, протеогликанов и подавление деградации мезангиального матрикса [112].

Все эти процессы способствуют не только увеличению гломерулярной проницаемости, но и уменьшению числа подоцитов, активации мезангиальных клеток, что является ключевыми звеньями в развитии и прогрессировании гломерулосклероза [113, 112].

В результате этого, гломерулярный ультрафильтрат, богатый плазменными белками и связанными с ними другими молекулами (цитокины, ростовые факторы, жирные кислоты и др.) попадает в мочевое пространство и вызывает чрезмерное поглощение белка клетками проксимальных канальцев [114]. Данный процесс индуцирует актива-

цию множественных патологических путей, приводящих к апоптозу, стрессу эндоплазматического ретикулума, интерстициальному воспалению, фиброзу, а также к эпителиально-мезенхимальной трансформации эпителиальных клеток канальцев, что обуславливает развитие тубулоинтерстициального фиброза и прогрессирование гломерулопатии [114–116].

Наиболее ранним видом повреждения клеток канальцев в ответ на протеинурию, приводящим впоследствии к развитию атрофии, является апоптоз [114]. В исследованиях *in vivo* и *in vitro* было установлено, что альбумин вызывает апоптоз в культуре клеток проксимальных канальцев через каспаза-9-индуцированный митохондриальный патологический путь [117]. По данным экспериментальных работ, именно апоптоз клеток проксимальных канальцев приводит к развитию атрофии и гломерулярно-тубулярной диссоциации в ответ на протеинурию [118]. Так, у пациентов с первичным ФСГС были обнаружены апоптотические клетки в проксимальных и дистальных канальцах, а их количество позитивно коррелировало со степенью протеинурии [119].

В тоже время, существует мнение о том, что тубулоинтерстициальное повреждение при протеинурических заболеваниях индуцируется не самим альбумином, а жирными кислотами, связанными с ним [120]. Эта гипотеза согласуется с данными экспериментальных исследований о наличии более выраженной макрофагальной инфильтрации и апоптоза клеток канальцев при введении альбумина интраперитонеально, нежели его свободной формы [120]. Так, комплекс альбумина с пальмитиновой кислотой вызывает изменение жизнеспособности митохондрий, мембранного потенциала и высвобождение цитохрома C, а с линоленовой кислотой - способен индуцировать пероксидопосредованный апоптоз [121]. На основании приведенных данных некоторые авторы полагают, что снижение содержания циркулирующих в сыворотке крови жирных кислот может играть важную роль в сохранении окислительно-восстановительного баланса и уменьшение повреждения тубулярных клеток [122].

Как уже говорилось, в результате повреждения гломерулярного фильтра, увеличения его порозности и нарушения проницаемости, большое количество белков плазмы крови, попадая в ультрафильтрат, подвергается рецептор-индуцированному эндоцитозу на апикальном полюсе клеток проксимальных канальцев [100]. В результате, ре-

абсорбируемые протеины повышают экспрессию различных генов и продукцию в эпителиоцитах канальцев вазоактивных веществ, медиаторов воспаления и фиброза, вазоконстрикторного пептида, эндотелина-1, хемокинов, таких как MCP-1, RANTES, TGF- β [100, 114].

По данным транскриптомного анализа эпителиальных клеток проксимальных канальцев, взятых во время нефробиопсии у больных с протеинурическими гломерулопатиями (ФСГС, БМИ и IgA-нефропатия), было выделено 168 дифференциально-регулируемых генов, отвечающих за продукцию протеинов-регуляторов прохождения внутриклеточных сигналов, проапоптотических факторов, провоспалительных цитокинов, при сравнении с клетками пациентов без протеинурии [123]. В последующем *in vitro* было установлено, что альбумин способен регулировать экспрессию более чем 200 генов эпителиоцитов проксимальных канальцев [124]. В биоптатах пациентов с IgA-нефропатией был исследован тубулоинтерстициальный отдел нефрона и обнаружено, что экспрессия подмножества 11 генов непосредственно связана с выраженностью протеинурии [124]. При попытке экстраполировать полученные данные на другие формы первичной гломерулярной патологии (БМИ и ФСГС) было установлено, что все формы гломерулопатий отличны от контрольной группы на основании экспрессии этих 11 генов. Авторы цитируемой работы резюмировали, что протеинурия обладает универсальным «почерком» (сигнатурой), состоящим из 11 экспрессированных генов, вне зависимости от морфофизиологической характеристики первичной гломерулопатии (таблица 6) [124].

Таблица 6 – Гены, экспрессируемые под воздействием протеинурии при первичных гломерулопатиях

Название гена	Биологическое значение
<i>COL1A1</i>	Развитие скелета, развитие эпидермиса
<i>EGR1</i>	Регуляция транскрипции, дифференцировка Т-клеток
<i>ELF3</i>	Регуляция транскрипции, развитие эпидермиса, морфогенез
<i>IER3</i>	Анти- / апоптоз, морфогенез

Продолжение таблицы 6

<i>HBEGF</i>	Передача сигнала, сигнальный путь EGFR, пролиферация клеток гладкой мускулатуры
<i>MAFF</i>	Регуляция транскрипции, дифференцировка эпидермальных клеток
<i>MCL1</i>	Регуляция апоптоза, дифференцировки клеток
<i>SAMD4A</i>	Регуляция трансляции генов
<i>SERPINE1</i>	Коагуляция крови, фибринолиз, регуляция ангиогенеза
<i>STEAP1</i>	Транспорт электронов
<i>TYMS</i>	Метаболизм / биосинтез нуклеиновых кислот, репликация/восстановление ДНК.

Также было установлено, что клетки проксимальных канальцев экспрессируют рецепторы для цитокинов и факторов роста, попадающих в ультрафильтрат при нефропатиях с высокой протеинурией. Фактор роста гепатоцитов и TGF- β были обнаружены в канальцевой жидкости у животных с протеинурией, вызывая в культуре эпителиоцитов проксимальных канальцев изменения их фенотипа, с последующим повышением продукции фибронектина, коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса ответственных за развитие интерстициального фиброза, а, следовательно, и прогрессированию гломерулопатии [125].

Таким образом, протеинурия является одним из важнейших медиаторов активации различных путей патогенеза, обуславливающих формирование гломеруло- и тубуло-интерстициального фиброза и прогрессирование гломерулопатии, однако, роль протеинурии и возможность ее использования в детекции развития и прогрессирования данных морфологических изменений не вполне однозначна в настоящее время.

1.2.3. Клинико-морфологическая оценка значения экскреции трансферрина с мочой у пациентов с гломерулярной патологией

Трансферрин представляет собой гликозилированный белок плазмы крови, осуществляющий транспорт железа. Он относится к среднемолекулярным пептидам (молекулярная масса около 80 кДа, молекулярный радиус $r = 15,8 \text{ \AA}$), имеет сферическую

форму молекулы [126]. Учитывая меньший анионный заряд, трансферрин, в отличие от альбумина, более свободно фильтруется в клубочках и в дальнейшем реабсорбируется посредством рецептора кубилина клетками проксимальных канальцев [127].

Известно, что экскреция трансферрина повышается вследствие повреждения ГББ при различных, не только первичных, гломерулопатиях, однако, достоверной связи между трансферринурией и снижением СКФ у пациентов с различной гломерулярной патологией выявлено не было [128].

Существует лишь небольшое число исследований, оценивающих взаимосвязь экскреции трансферрина с характером и выраженностью морфологических изменений у пациентов с первичными гломерулопатиями. Так, по результатам работы Yanhong Li и соавт. 2012, исследовавших 98 детей с IgA-нефропатией было установлено, что экскреция трансферрина с мочой выше у пациентов с более выраженной мезангиальной гиперклеточностью, гломерулосклерозом и тубулоинтерстициальным повреждением (тубулоинтерстициальный фиброз и атрофия эпителия канальцев). Примечательно, что величина экскреции трансферрина с мочой при этом была одним из независимых предикторов тяжелого гломерулосклероза, тубулоинтерстициального повреждения и выраженной мезангиальной гиперклеточности. По результатам ROC-анализа трансферрин оказался единственным маркером доказавшим свою диагностическую значимость в отношении всех исследуемых морфологических изменений: мезангиальной гиперклеточности (пороговый уровень – 45 мг/гСг мочи, чувствительность – 88%, специфичность – 74%, AUC – 0,86), гломерулосклероза (пороговый уровень - 136 мг/гСг мочи, чувствительность – 100%, специфичность – 74%, AUC – 0,82) и тубулоинтерстициального повреждения (пороговый уровень - 97 мг/гСг мочи, чувствительность – 75%, специфичность – 77%, AUC – 0,74) [50].

В другом исследовании была продемонстрирована высокая прогностическая значимость мочевой экскреции трансферрина в отношении риска развития ТПН у пациентов с первичной мембранозной нефропатией (пороговый уровень – 350 мкг/мин, чувствительность – 80%, специфичность – 84%, AUC – 0,906) [20]. У больных с системной красной волчанкой уровень трансферрина мочи ассоциировался с мезангиальной и экстракапиллярной пролиферацией, а также с образованием клеточных полулуний [129].

Согласно ряду экспериментальных работ, железосодержащий фрагмент трансферрина проявляет токсичность в отношении клеток канальцевого эпителия крыс вследствие активации железом перекисного окисления липидов. Косвенным доказательством подобного процесса выступала взаимосвязь между уровнем экскреции железа и выраженностью тубулоинтерстициального повреждения [130, 47].

Необходимо отметить, что белковый фрагмент трансферрина также может оказывать цитотоксическое действие [46], путем увеличения экспрессии м-РНК MCP-1 [131]. Кроме того, трансферрин и апотрансферрин в равной степени повышают продукцию C3 фракции комплемента клетками проксимальных канальцев и инициируют синтез ряда хемокинов (IL-8, MCP-1, MIF), что в конечном итоге, приводит к повреждению тубулоинтерстициального компартмента [132, 133].

Таким образом, результаты немногочисленных клинических и экспериментальных работ позволяют предполагать, что оценка экскреции трансферрина с мочой может служить не только маркером нарушения гломерулярной проницаемости, но и выступать в качестве предиктора тубулоинтерстициального повреждения и ренальной дисфункции. Однако к текущему моменту недостаточно данных для того, чтобы однозначно рассматривать трансферрин в качестве биомаркера вышеупомянутых морфологических изменений при всех, без исключения, формах первичной гломерулопатий, что, в свою очередь, придает актуальность обсуждаемой теме и обуславливает необходимость дальнейших научных изысканий.

1.2.4. Клинико-морфологическая оценка значения экскреции иммуноглобулина G с мочой у пациентов с гломерулярной патологией

Иммуноглобулин G (IgG) является плазменным белком с высокой молекулярной массой (150 кДа, молекулярный радиус $r = 55\text{\AA}$), в связи с чем, появление его в моче свидетельствует о тяжелом повреждении гломерулярного барьера. Наиболее хорошо изучено значение экскреции IgG в качестве диагностического и прогностического показателя при некоторых формах первичных гломерулопатий, а также при сахарном диабете [134]

Так, экскреция IgG с мочой при нефротическом синдроме на фоне первичных гломерулопатий была ассоциирована со степенью выраженности тубулоинтерстициаль-

ного повреждения, что позволяет использовать данный показатель для оценки прогноза прогрессирования заболевания [135]. В другом проспективном исследовании авторы пришли к выводу, что IgG в разовой порции мочи (соотношение IgG/креатинин мочи более 5 мг/ммольCr) при идиопатических гломерулопатиях является надежным предиктором развития ТПН [136].

При длительном наблюдении больных (медиана наблюдения около 7 лет) с первичными гломерулопатиями без нефротического синдрома, не получавших иммуносупрессивную терапию, экскретируемая фракция IgG (но не его суточная экскреции или соотношение с креатинином мочи) оказалась наиболее значимым предиктором развития неблагоприятного исхода (ТПН, летальный исход) [106].

В различных исследованиях было установлено, что IgG-урия при первичной мембранозной нефропатии ассоциирована с тяжестью тубулоинтерстициального повреждения и является предиктором прогрессии заболевания, почечной дисфункции, а также ответа на иммуносупрессивную терапию, вне зависимости от значений альбуминурии и СКФ [17, 137, 20]. В свою очередь, низкий уровень мочевой экскреции данного пептида – факт, свидетельствующий о потенциально обратимых гломерулярных изменениях и о возможно скорой ремиссии заболевания [17, 137, 20]. Была установлена высокая диагностическая значимость мочевой экскреции IgG в отношении риска развития ТПН у пациентов с первичной мембранозной нефропатией (пороговый уровень – 250 мг/сут, чувствительность – 88%, специфичность – 88%, AUC – 0,876) [20].

В одном из пилотных исследований впервые было показано, что базовый уровень экскреции IgG при идиопатическом ФСГС с нефротическим синдромом, может быть использован в качестве предиктора в отношении как ремиссии, так и прогрессии заболевания с развитием ТПН, а также предсказывать ответ на терапию ГКС или комбинацию ГКС с ЦФА [138]. Позднее те же авторы подтвердили тесную взаимосвязь между величиной экскретируемой фракции IgG и степенью сегментарного гломерулосклероза, свидетельствующего о потере селективной проницаемости гломерулярного барьера [139]. Однако корреляций с другими морфологическими параметрами, указывающими на хронизацию и прогрессирование патологического процесса, выявлено не было (глобальный гломерулосклероз и тубулоинтерстициальные изменения).

Данное обстоятельство, по мнению авторов, было обусловлено коротким сроком (4 месяца от момента развития нефротического синдрома до выполнения нефробиопсии) наблюдения, недостаточным для развития таких тяжелых морфологических изменений [139]. По результатам ROC-анализа была продемонстрирована высокая диагностическая значимость экскретируемой фракции IgG в качестве предиктора развития ТПН (пороговый уровень – $\geq 0,112$, чувствительность – 100%, специфичность – 90%, AUC – 0,973) [139]. Однако в другом исследовании связи между высоким уровнем экскретируемой фракции IgG и плохим прогнозом при первичном ФСГС установлено не было [140].

Тем не менее, длительное наблюдение (96 ± 67 месяцев) за больными с идиопатическим ФСГС, получавшими иммуносупрессивную терапию в различных режимах (ГКС с/без ЦФА), позволило сделать заключение о том, что низкий уровень экскреции высокомолекулярных белков (прежде всего IgG) является показателем потенциального развития в будущем продолжительной ремиссии гломерулопатии [139]. Таким образом, проблема диагностического и прогностического значения мочевой экскреции IgG при таких формах идиопатических гломерулопатий как МН и ФСГС, остается до конца не изученной.

Существует лишь небольшое число исследований, посвященных оценке диагностической и прогностической ценности экскреции иммуноглобулина G при наиболее распространенной форме первичной гломерулярной патологии – болезни Берже (IgA-нефропатия). У пациентов с IgA-нефропатией без полулуний в клубочках уровень мочевой экскреции IgG коррелировал с рядом значимых морфологических изменений (глобальный и сегментарный гломерулосклероз, гиалиноз сосудов, тубулоинтерстициальное повреждение) и ассоциировался с прогрессией заболевания [141].

Подобные результаты были получены и для IgA-нефропатии с экстракапиллярными проявлениями (полулуниями) в клубочках. Так, была выявлена корреляция между степенью глобального гломерулосклероза, клеточными полулуниями, выраженностью тубулоинтерстициального повреждения и величиной экскретируемой фракции IgG [142]. А одновременное использование двух показателей: IgG мочи и креатинина сыворотки, позволило со 100% чувствительностью стратифицировать пациентов на группы с высоким и низким риском прогрессии заболевания. [141, 143, 142]. По дан-

ным других авторов, экскреция иммуноглобулина G с мочой (соотношение IgG/креатинин мочи) была выше у пациентов с более выраженной мезангиальной гиперклеточностью, гломерулосклерозом и тубулоинтерстициальным повреждением. Однако в дальнейшем прогностическая значимость данного показателя была подтверждена только лишь в отношении мезангиальной гиперклеточности (пороговый уровень – 65 мг/г Сг мочи, чувствительность – 77%, специфичность – 74%, AUC – 0,770) [50].

Таким образом, определение мочевой экскреции иммуноглобулина G может иметь важное значение в оценке риска прогрессирования гломерулопатий и развития ТПН, ответа на различные варианты терапии (нефропротективная при IgA-нефропатии, иммуносупрессивная при МН и ФСГС), однако необходимы дополнительные клинические исследования с морфологической оценкой валидности этого биомаркера.

1.3. Маркеры тубулоинтерстициального повреждения и их диагностическое значение при первичной гломерулярной патологии

Молекулами, претендующими на роль маркеров структурного повреждения тубулоинтерстициального компартмента почечной паренхимы, традиционно считают низкомолекулярные белки (альфа1-, бета2-микроглобулины, цистатин С мочи, ретинол-связывающий белок и др.). Согласно современным представлениям данные протеины в норме свободно фильтруются через гломерулярный барьер, а в последующем практически полностью реабсорбируются на апикальной поверхности эпителиоцитов проксимальных канальцев посредством ряда рецепторов: мегалина, кубилина и амнионлесса [105], неонатального Fc-рецептора [144], а также CD36-рецептора [145].

Еще в 1987 году, в группе больных с IgA-нефропатией было показано, что экскреция низкомолекулярных белков с мочой коррелировала с уровнем креатинина сыворотки крови и ассоциировалась с тубулоинтерстициальным повреждением [146]. В дальнейшем, при исследовании 145 пациентов с первичной гломерулярной патологией (ФСГС, МН, мембрано-пролиферативный гломерулонефрит) было показано, что экскреция белков с молекулярной массой менее 20 кДа отражает степень выраженности интерстициального фиброза и атрофии эпителия канальцев, коррелирует с проте-

инурией и креатининемией, предсказывает низкий ответ на иммуносупрессивную терапию и служит предиктором развития ТПН [49].

Однако высказываться определенно о предиктивной роли уровня экскреции с мочой каких-либо отдельных молекул в отношении тубулоинтерстициальных изменений при первичных гломерулопатиях, сегодня затруднительно из-за крайне ограниченных и зачастую противоречивых научных данных, имеющих в современной литературе, которые суммированы ниже.

1.3.1. Диагностическая значимость экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов с мочой при гломерулярной патологии

α 1-микроглобулин (α 1-МГ) (или альфа1-микрогликопротеин) – низкомолекулярный гликопротеин (24-31 кДа), впервые описан в 1975 году. Синтезируется печенью и состоит из 183 аминокислотных остатков. Принадлежит к суперсемейству липокалинов – гидрофобно лиганд-связывающих белков. После секреции в кровь, α 1-микроглобулин существует как в свободной форме, так и в составе разнообразных высокомолекулярных комплексов. Около 50% плазменного α 1-МГ формирует комплекс с мономерной молекулой иммуноглобулина А, около 7% связано с альбумином и 1% – с протромбином, оставшаяся часть α 1-МГ циркулирует в крови в свободной форме. За исключением ЦНС, данный протеин присутствует во всех тканях, а также в периваскулярной соединительной ткани большинства органов, защищая их от действия иммунной системы [147].

Основные иммунопротективные/противовоспалительные свойства альфа1-микроглобулина заключаются в следующем: в комплексе с коллагеном протеин связывает свободные радикалы и подавляет продукцию провоспалительного цитокина – интерлейкина-1 β периферическими мононуклеарами, а также ингибирует антиген-индуцированное деление лимфоцитов периферической крови, миграцию лейкоцитов, хемотаксис и образование интерлейкина-2 Т-хелперами [148, 147, 149].

Кроме того, данный пептид внеклеточно связывает гем и участвует в его деградации, препятствуя таким образом токсическому и разрушающему действию последнего на клетки [150].

В норме несвязанный $\alpha 1$ -МГ свободно фильтруется в клубочках и затем практически полностью реабсорбируется клетками проксимальных канальцев посредством рецепторов мегалина и кубилина [116]. Интересно отметить, что комплекс IgA с $\alpha 1$ -МГ является своеобразным депо для последнего, а также защищает его от гломерулярной ультрафильтрации и потери из кровотока [151].

Важной отличительной особенностью $\alpha 1$ -МГ является его стабильность в моче (при комнатной температуре с/без добавления консервантов в течение 7 дней, до 21 дня при температуре +4, -20, -70°C), вне зависимости от величины pH, что облегчает использование его в качестве маркера структурного и функционального состояния эпителия проксимальных канальцев. Однако отмечается значительное снижение концентрации $\alpha 1$ -МГ в образце мочи через 12 месяцев хранения при t -20°C [147, 152, 153].

$\beta 2$ -микроглобулин ($\beta 2$ -МГ) – низкомолекулярный белок (молекулярная масса 11,8 кДа, молекулярный радиус 11,8А), состоящий из одиночной полипептидной цепи (99 аминокислотных остатка и один дисульфидный мостик). Впервые выделен из мочи пациента с болезнью Вильсона и хронической кадмиевой интоксикацией в 1968 году [154]. Входит в состав легкой цепи главного комплекса гистосовместимости (МНС I), представленного на поверхности всех ядродержащих клеток. МНС I клеточной мембраны эритроцитов и тромбоцитов, как безъядерных клеток, не содержат $\beta 2$ -МГ. $\beta 2$ -МГ нековалентно присоединен к тяжелой цепи МНС I и определяет его серологическую специфичность. В случае метаболизма и деградации главного комплекса гистосовместимости, молекула данного пептида появляется во внеклеточной жидкости в свободной форме. Кроме того, он может синтезироваться и высвобождаться из клеток при их разрушении и регенерации. Около 95% $\beta 2$ -микроглобулина присутствует в сыворотке в виде свободного мономера и лишь небольшая часть ассоциирована с другими молекулами [155].

$\beta 2$ -МГ имеет топографическое сходство с иммуноглобулином, в особенности с его легкой цепью (что определило его название), между данными молекулами также существуют гомологичные последовательности аминокислот [156]. $\beta 2$ -МГ обнаруживается не только в сыворотке крови и моче, но также в слюне, цереброспинальной и плевральной жидкостях. Установлено, что за сутки у взрослого человека синтезиру-

ется с постоянной скоростью 0,11-0,18 мг/кг/час данного протеина (в среднем 150-200 мг/сут), а период полувыведения составляет - 2,1 часа [154].

Продукция β 2-МГ увеличивается при патологических состояниях, сопровождающихся активацией иммунной системы, например, при некоторых аутоиммунных заболеваниях (системная красная волчанка, болезнь Крона и др.), бактериальных и вирусных инфекциях (ВИЧ, цитомегаловирус, вирус Эпштейн-Барра), отторжении трансплантата, а также онкогематологической патологии (Ходжкинская лимфома, множественная миелома, и др.). При миеломной болезни определение β 2-МГ в сыворотке крови играет важную роль в рестадировании заболевания [154].

Выводится β 2-МГ на 95% почками, свободно фильтруется и практически полностью реабсорбируется клетками проксимальных канальцев посредством рецептора мегалина. В норме лишь следовое его количество может быть обнаружено в моче [154, 116]. β 2-МГ появляется в моче в тех случаях, когда реабсорбционная способность клеток проксимальных канальцев снижается, что может служить мерой оценки их функционального состояния [154].

Однако одним из серьезных недостатков определения концентрации β 2-МГ в моче, является его нестабильность при комнатной температуре и $\text{pH} < 5,5$. Кроме того, быстрая и необратимая деградация данного протеина происходит при нормальной температуре тела и $\text{pH} < 6,0$, а также под воздействием ферментов, выделяемых лейкоцитами (например, при инфекции мочевыводящих путей) [154].

Наибольшее число исследований посвященных диагностической значимости мочевой экскреции α 1- и β 2-микроглобулинов было проведено среди пациентов с идиопатической мембранозной нефропатией. Так, еще в 1995 году Reichert и соавт. установили, что высокая экскреция β 2-МГ с мочой может быть предиктором развития ТПН, что позволяет стратифицировать пациентов высокого риска, нуждающихся в иммуносупрессивной терапии при первичной МН с нефротическим синдромом [48].

В дальнейшем было показано, что величина экскреции с мочой как α 1-МГ, так и β 2-МГ при МН отражает тяжесть тубулоинтерстициального повреждения, выраженность гломерулосклероза и гиалиноза артериол (последнее преимущественно для α 1-МГ), а, следовательно, может использоваться в качестве предиктора прогрессирования почечной дисфункции (при нарастании концентрации в моче) и развития ТПН.

[137, 20]. Так, была установлена высокая диагностическая значимость мочевой экскреции как альфа1-микроглобулина (пороговый уровень – 40 мкг/мин, чувствительность – 84%, специфичность – 94%, AUC – 0,956), так и бета2-микроглобулина (пороговый уровень – 0,5 мкг/мин, чувствительность – 88%, специфичность – 91%, AUC – 0,947) в отношении риска развития ТПН у пациентов с мембранозной нефропатией, а при использовании комбинации маркеров (β 2-МГ и IgG мочи) специфичность (в отношении риска развития ТПН) повышалась до 97% [20]. Между уровнем экскреции бета2-микроглобулина и концентрацией иммуноглобулина G в моче была установлена тесная взаимосвязь, что могло означать непосредственное участие IgG в формировании тубулоинтерстициального повреждения тогда, как β 2-МГ в этой ситуации играл лишь роль маркера степени тяжести морфологических изменений. Авторами цитируемой работы была также найдена высокосignимая корреляция между мочевыми концентрациями β 2- и α 1-МГ, что могло свидетельствовать о равноценности их диагностического значения при МН. Однако с учетом большей стабильности α 1-МГ в моче, некоторые авторы отдают ему предпочтение в качестве диагностического маркера [20, 137].

Van den Brand J.A. и соавт. (2011) показали, что прогнозировать развитие ТПН при МН можно не только по данным суточной экскреции β 2- и α 1-МГ, но и использовать для этой цели определение отношения концентрации β 2- и α 1-МГ к уровню креатинина в разовой порции мочи, что облегчает применение данных показателей в клинической практике (для альфа1-микроглобулина: пороговый уровень – 75 мг/10 ммольСг, чувствительность – 65%, специфичность – 83%, AUC – 0,8; для бета2-микроглобулина: пороговый уровень – 1 мкг/10 ммольСг, чувствительность – 75%, специфичность – 73%, AUC – 0,8), при этом точность прогноза повышается при повторных замерах через 6 и 12 месяцев [157].

У пациентов с IgA-нефропатией диагностическая и прогностическая ценность мочевой экскреции α 1- и β 2-микроглобулинов не столь однозначна. Так, по данным исследования Peters H.P.E. и соавт. (2009), было показано, что оценка мочевой экскреции данных маркеров не является предиктором развития ТПН при IgA-нефропатии [158]. Однако позднее было установлено, что при IgA-нефропатии уровень β 2-МГ мочи тесно взаимосвязан с протеинурией и поэтому косвенно может отражать фор-

мирование почечной дисфункции. В то же время, по результатам данной работы статистически значимых различий в экскреции бета2-микроглобулина в зависимости от степени выраженности как гломерулярных (согласно классификации Lee H.S.), так и тубулоинтерстициальных изменений (оценивались фиброз и воспаление) получено не было [159].

В отношении идиопатического ФСГС имеются лишь единичные работы, согласно которым низкая концентрация β 2-МГ в моче ассоциировалась с хорошим почечным функциональным прогнозом, что лишь косвенно может указывать на наличие взаимосвязи между величиной экскреции данного низкомолекулярного белка и выраженностью гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза [140]

Интересно отметить, что при иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании нефробиоптатов пациентов с различной почечной патологией (в том числе больных с первичными гломерулопатиями) было установлено, что уровень мочевой экскреции β 2-микроглобулина коррелирует с отложениями KIM-1 и депозицией CD133-позитивных клеток в области проксимальных канальцев. Как известно, KIM-1 экспрессируется только в поврежденных эпителиоцитах, а CD133-позитивные костномозговые клетки-предшественники начинают активно мигрировать и пролиферировать в области проксимальных канальцев лишь при деструкции эпителиоцитов. Данные результаты весома указывают на то, что β 2-МГ имеет все основания для того, чтобы рассматриваться в качестве маркера повреждения эпителия проксимальных канальцев при гломерулопатиях [160, 161].

Однако, как в отношении β 2-МГ, так и α 1-МГ остаются открытыми вопросы о том, какой морфологический субстрат они отражают, не объясняется ли их способность предсказывать развитие ТПН тесной связью с протеинурией? Является ли их предиктивная значимость универсальной, свойственной всем морфологическим формам гломерулопатий или она уникальна лишь для некоторых из них (МН и IgA-нефропатия)? Все эти вопросы будут находиться в центре внимания настоящего исследования.

1.3.2. Диагностическая значимость экскреции цистатина С с мочой у пациентов с гломерулярной патологией

Учитывая особенности метаболизма цистатина С в организме (свободно фильтруется в гломерулах, практически полностью реабсорбируется клетками проксимальных канальцев и не секретируется), экскреция его с мочой может использоваться в качестве маркера повреждения проксимальных канальцев как при остром, так и при хроническом повреждении. В норме, в моче определяются лишь следовые количества цистатина С (референтный диапазон - 0,03-0,18 мг/л) и уровень его экскреции с мочой не зависит от времени суток [162] [163].

Было показано, что цистатин С стабилен в моче при $\text{pH} \geq 5$ и температуре -20°C , а при 4°C – в течение 7 дней, при $+20^{\circ}\text{C}$ – 48 ч. Важно отметить, что цикл «замораживание-оттаивание» не влияет на концентрацию цистатина С в биологических жидкостях [164]. Молекула цистатина С не подвергается разрушению под воздействием лейкоцитарных ферментов при инфекции мочевыводящих путей, как это происходит в случаях с $\beta 2$ -микроглобулинурией [165]. У здоровых лиц концентрация цистатина С мочи не изменяется с возрастом и не зависит от объема мышечной массы, что определяет преимущества данного маркера при сравнении с другими низкомолекулярными белками [165].

По результатам исследования, включавшего в себя здоровых лиц ($n=1670$), пациентов с протеинурией более 300 мг/сут ($n=2170$) и больных с почечной дисфункцией ($n=52$), было показано, что экскреция цистатина С с мочой достоверно коррелирует с креатинином мочи, а также с экскрецией $\alpha 1$ - и $\beta 2$ -микроглобулинов во всех обследованных группах [165]. Также было отмечено, что у больных с протеинурией соотношение цистатин С/креатинин мочи положительно коррелирует с активностью внутриклеточных лизосомальных ферментов клеток проксимальных канальцев (НАГ и гамма-глутамилтранспептидаза) [165]. Результаты данной работы свидетельствуют о наличии патофизиологического обоснования возможности использования мочевого экскреции цистатина С в качестве маркера структурно-функционального повреждения эпителия проксимальных канальцев.

Согласно данным одного из мета-анализов, включавшего в себя 6 исследований, посвященных оценке диагностической значимости цистатина С мочи у пациентов с

различными причинами ОПП (после кардиохирургических вмешательств, находящихся в отделениях ОРИТ и др.), было установлено, что данный маркер обладает весьма умеренной диагностической ценностью в отношении ранней диагностики ОПП (чувствительность – 52% , специфичность – 70%, AUC – 0,64) [166]. В то же время, он проявил себя, как хороший предиктор в отношении потребности в заместительной почечной терапии при уже установленном диагнозе ОПП, обусловленным острым канальцевым некрозом (чувствительность – 92% , специфичность – 83%, AUC – 0,92) [167].

При исследовании пациентов с различной хронической нефрологической патологией было показано, что мочевая экскреция цистатина С, представленная в виде соотношения цистатин С/креатинин мочи, ассоциирована с канальцевой протеинурией, тубулоинтерстициальными болезнями (острый и хронический тубулоинтерстициальный нефрит, миеломная нефропатия, хронический рецидивирующий пиелонефрит, нефрокальциноз, поликистоз почек), что позволяет предположить возможность использования мочевого экскреции цистатина С в качестве маркера необратимых склеротических изменений тубулоинтерстициального компартмента почки [168].

Так, Mendes F.C. и соавт. (2015), изучая валидность использования мочевого экскреции цистатина С с целью оценки тубулоинтерстициального повреждения в трансплантированной почке, ссылаясь на одну из наших ранних работ, подчеркнули, что экскреция данного маркера ассоциирована с выраженностью фиброза тубулоинтерстиция и атрофией канальцев и может являться важным параметром в мониторинге функции почечного трансплантата [169].

Однако, определяя уровень цистатина С в моче и значения этого показателя в отношении оценки тубулоинтерстициального повреждения, следует учитывать величину протеинурии, вследствие ее влияния на реабсорбцию в проксимальных канальцах низкомолекулярных белков, в том числе цистатина С [170]. В пользу данного обстоятельства свидетельствуют и результаты одного из исследований, в котором авторы отметили, что при болезни минимальных изменений, на фоне отсутствия повреждения тубулоинтерстиция (по данным нефробиопсии), отмечается высокая экскреция цистатина С мочи с последующей ее нормализацией при наступления ремиссии заболевания [168].

По мнению некоторых авторов, цистатин С мочи остается хорошим маркером канальцевой дисфункции как при тубулоинтерстициальных заболеваниях, так и вторичных изменениях данного отдела нефрона на фоне первичной гломерулярной патологии [165, 163, 168]. Вместе с тем, обращая внимание на актуальность настоящей работы, подчеркнем, что прямых исследований, посвященных морфологической оценке и взаимосвязи уровня экскреции цистатина С с мочой с характером и выраженностью морфологических изменений в доступной нам литературе не встретилось.

1.3.3. Липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL): структура и функция

Липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL - Neutrophil gelatinase associated lipocalin, липокалин 2, сидерокалин, онкогенный протеин 24p33 и т.д.), как и альфа1-микроглобулин, относится к суперсемейству липокалинов, основной функцией которых, является связывание и транспортировка гидрофобных молекул, в частности сидерофоров, как наиболее важных лигандов NGAL. Сидерофоры – это небольшие железосвязывающие молекулы, с одной стороны синтезирующиеся бактериями для захвата железа из окружающей среды, а с другой – эукариотами для осуществления NGAL-опосредованного транспорта данного микроэлемента, который имеет решающее значение в пролиферации и дифференцировке клеток [171].

Мономер NGAL является низкомолекулярным белком (22 кДа, гликозилированная форма – 25 кДа, 178-аминокислотных остатка), состоит из сигнального пептида, соединённого с N-концевой частью «липокалинового» домена. Последний, в свою очередь, представляет из себя 8 разно направленных бета-нитей, организованных в 8 бета-цилиндров. Именно данный домен и обеспечивает связывание с различными лигандами [172]. Впервые данный протеин был обнаружен в комплексе с желатиназой нейтрофилов (матриксная металлопротеиназа 9 (ММП-9), что и определило его название [173].

В норме NGAL в небольшом количестве образуется во многих тканях: протоках молочных желез, печени, легких, трахеи, костном мозге, кишечнике, предстательной железе, адипоцитах, макрофагах и полностью отсутствует в головном мозге, сердце, скелетных мышцах, селезенке. В почках преимущественно в ответ на повреждение

синтезируется мономер NGAL в дистальном отделе нефрона (толстый восходящий отдел петли Генле, собирательные трубочки) [174–176].

Циркулирующий в крови NGAL свободно фильтруется в клубочке и затем реабсорбируется эпителием проксимальных канальцев посредством рецептора мегалина. В моче может присутствовать в небольшом количестве (около 5 мг/мл) [116].

В настоящее время известно о существовании мономера NGAL (25 кДа), образующегося преимущественно в эпителиоцитах почечных канальцев, гомодимера NGAL (45 кДа) и гетеродимера, ковалентно связанного с желатиназой (135 кДа). Последние две формы образуются и высвобождаются активированными нейтрофилами [176].

В физиологических условиях данный протеин обладает бактериостатическим действием, защищая организм от грам (-) микроорганизмов, а также микобактерий туберкулеза. Этот процесс осуществляется посредством связывания NGAL с сидерофорами бактерий, в результате чего блокируется рост и пролиферация бактериальных клеток за счет ограничения поступления железа, необходимого для их нормальной жизнедеятельности [177, 178].

Кроме того, NGAL выступает в роли хемоаттрактанта для нейтрофилов, ингибитора оксидативного стресса, а также способствует восстановлению поврежденного эпителия. Существует большое количество исследований (преимущественно экспериментальных), посвященных регуляции экспрессии мРНК NGAL. Установлено, что различные цитокины, гормоны, витамины, лекарственные препараты влияют на его образование (таблица 7), а также на активацию гена *LCN2*, ответственного за синтез данного белка [174, 179].

Таблица 7 – Влияние различных веществ на синтез NGAL

Фактор	Эффект на экспрессию липокалина 2
Цитокины	
ГМ-КСФ (Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор)	↑
ИЛ-1α (Интерлейкин 1 альфа)	↑

Продолжение таблицы 7

ИЛ-1 β (Интерлейкин 1 бета)	↑
ИЛ-6 (Интерлейкин 6)	↔
ИЛ-17 (Интерлейкин 17)	↑
ИЛ-22 (Интерлейкин 22)	↑
TGF- α (Трансформирующий фактор роста альфа)	↑
ФНО- α (Фактор некроза опухоли альфа)	↔/↓*
bFGF (Основной фактор роста фибробластов)	↔
Факторы роста	
IGF-1 (Инсулиноподобный фактор роста 1)	↑
EGF (Эпидермальный фактор роста)	↑/↓*
Лекарственные препараты	
Дексаметазон	↑
Дефероксамин	↑
Диэтилстильбэстрол	↑
Азацидин	↑
Гормоны	
Инсулин	↑
Эстрогены	↑/↓*
Прогестерон	↔
Бактериальные компоненты	
Липополисахариды (Компонент клеточной стенки грам (-) бактерий)	↑
Липотейхоевая кислота (Компонент клеточной стенки грам (+) бактерий)	↑
Пептидогликан (Компонент клеточной стенки грамм (+) бактерий)	↑
Другие вещества	
HIV-tat (Тат-белок вируса иммунодефицита человека)	↑
Флагеллин (входит в состав феламентов бактериальных жгутиков)	↑
Кальций	↑

Примечания: ↑ - повышает экспрессию липокалина 2; ↓ - уменьшает экспрессию липокалина 2; ↔ - не оказывает влияния; *- может оказывать противоположное действие в зависимости от конкретной ситуации.

В значительной степени продукция NGAL увеличивается при повреждении эпителия почечных канальцев, легких, печени. Кроме того, являясь белком острой фазы, он может высвобождаться в плазму из активированных нейтрофилов, макрофагов и других иммунных клеток [179]. Анемия и гипоксия способствуют увеличению синтеза NGAL в гепатоцитах, что приводит к повышению его сывороточной концентрации [179]. Также, его экспрессия заметно нарастает при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта (пищевода, желудка, поджелудочной железы, печени и желчных протоков), легких, эндокринной системы (щитовидная железа, яичники), молочных желез и даже кожи, что, в свою очередь, является предиктором неблагоприятного прогноза у таких пациентов [179, 174].

NGAL может играть двойственную, как положительную, прежде всего протективную, так и отрицательную роль в организме (схема 1).

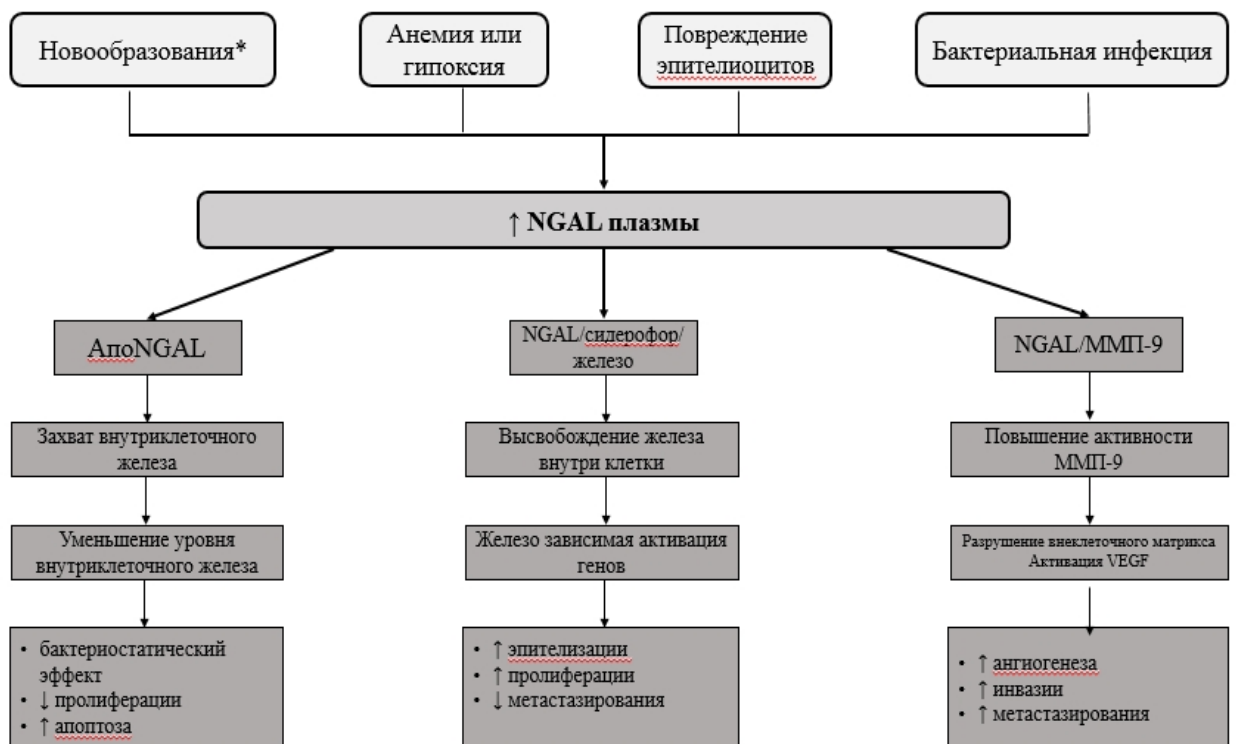


Схема 1: влияние различных факторов на сывороточную концентрацию NGAL и его биологическая роль в зависимости от типа лиганда. MMP-9 – матриксная металлопротеиназа 9; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; NGAL – липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов; * - новообразования желудочно-кишечного тракта (пищевода, желудка, поджелудочной железы, печени и желчных

протоков), легких, эндокринной системы (щитовидная железа, яичники), молочных желез;

Известно, что транспорт NGAL внутрь эпителиальной клетки осуществляется при помощи рецептора мегалина, с последующим его захватом эндосомами. В свою очередь, дальнейший путь протеина зависит от того, с какой молекулой он образует соединение. АпоNGAL (свободный NGAL) быстро связывает внутриклеточное железо, в результате чего, снижается пролиферативная способность клеток и индуцируется апоптоз. С другой стороны, NGAL, ассоциированный с сидерофорами и железом, способствует усилению пролиферации и эпителиальной трансформации за счет высвобождения железа и активации соответствующих молекулярных путей. И наконец, комплекс NGAL и ММП-9 увеличивает проонкогенное действие данного фермента, за счет его избыточной активности, что приводит к разрушению базальных мембран, внеклеточного матрикса и способствует ангиогенезу, инвазии и метастазированию опухоли (схема 1) [179].

Было показано, что данный протеин вовлечен в эмбриональное развитие почек. При добавлении очищенного NGAL к ранним эпителиальным клеткам-предшественникам, отмечался выраженный пролиферативный эффект с последующей дифференциацией мезенхимальных предшественников в нефроно-подобные структуры с экспрессией на их поверхности специфических маркеров, характерных для гломерул, проксимальных, дистальных канальцев, петли Генле [171]. Кроме того, данный пептид может индуцировать пролиферацию/дифференцировку клеток у взрослого человека, так при внесении NGAL к культивируемым клеткам собирательных трубочек, происходит преобразование эпителиальных клеток в тубулярные структуры [180]. Однако молекулярные механизмы, при помощи которых этот пептид влияет на дифференцировку и рост клеток-предшественников, до конца не известны. Одним из возможных механизмов является активация внеклеточных киназ или связывание NGAL с ММП-9, которые также могут определять эффект данного белка на рост/дифференцировку клеток [181].

В эпителиоцитах канальцев почек экспрессия мРНК NGAL увеличивается уже через несколько часов после воздействия повреждающего фактора, что позволяет отне-

сти данный белок не только к «стресс-индуцированным» почечным биомаркерам, но и к молекулам непосредственно вовлеченным в патофизиологический процесс при ОПП [171]. Некоторые исследователи считают, что повышение уровня NGAL в ответ на повреждающий фактор носит защитный характер, направленный на предотвращение нарушения структуры тканей. Так, было показано, что в почке, подвергающейся ишемии, NGAL усиливает антиапоптотический эффект и поддерживает экспрессию N-кадгерина в эпителии канальцев, а также активирует ренальный фермент гем оксигеназу 1, которая оказывает антиоксидантный эффект [182]. Цитопротективное действие NGAL также зависит от его ассоциации с железосодержащими сидерофорами. [181].

1.3.4. Диагностическая значимость экскреции нейтрофильного желатиназо-ассоциированного липокалина с мочой у пациентов с гломерулярной патологией

В настоящее время подтверждена как диагностическая значимость NGAL в качестве маркера ОПП, так и его прогностическая ценность в отношении дальнейшего прогноза течения ОПП и, в частности, потребности в ЗПТ при различных клинических ситуациях [183–186]. В то же время, лишь единичные исследования посвящены клинико-морфологической значимости NGAL при хронических, в том числе первичных гломерулопатиях.

По результатам ряда исследований было показано, что NGAL тесно ассоциирован с прогрессией ХБП и развитие ТПН у пациентов с хронической гломерулярной патологией. Так, Bolignano D. и соавт. (2009), показали, что у пациентов с ХБП 2-4 ст. с различной почечной патологией (первичные гломерулопатии, СД, аутосомно-доминантный поликистоз почек и др.) уровень NGAL как сыворотки, так и мочи, определенный в момент включения в исследование, является предиктором быстрого последующего снижения СКФ и прогрессии ХБП (нарастание креатинина сыворотки в два раза или развитие ТПН при наблюдении в течение 18 мес.) [22]. Позднее схожие результаты были получены и в других работах [187, 188]. По результатам наблюдения 92 пациентов с 2-4 ст. ХБП с первичными гломерулонефритами в течение 2-х лет, была также подтверждена высокая диагностическая значимость NGAL сыворотки в

качестве предиктора прогрессии заболевания (удвоение креатинина сыворотки, снижение СКФ до 15 мл/мин, потребность в ЗПТ) пороговый уровень составил – 246 нг/мл, чувствительность – 85,2%, специфичность – 81,5, AUC – 0,872 [189].

При обследовании 240 человек с ХБП 1-5 ст. (первичные и вторичные гломеруло-нефриты, диабетическая нефропатия, хронический интерстициальный нефрит, поликистоз почек) уровни NGAL сыворотки (sNGAL) и мочи (uNGAL), обратно коррелировали с величиной СКФ, и положительно - с соотношением альбумин/креатинин мочи. [190].

По результатам регрессионного анализа данных 158 пациентов с ХБП 3-4 стадий (30% больных с артериальной гипертензией, 19% - хроническая гломерулярная патология, 6% - обструктивная нефропатия или врожденная патология, 8% - васкулиты) было установлено, что наличие сердечно-сосудистой патологии, снижение СКФ в течение года на 5 мл/мин/1,73 м², нарастание уровня триглицеридов сыворотки на 1 ммоль/л, соотношения белок/креатинин мочи на 10 мг/ммоль Сг и NGAL/креатинин мочи на 5 нг/ммоль Сг являлись предикторами развития в течение ближайших 2 лет неблагоприятных исходов: ТПН, ЗПТ или летальный исход. При этом, данная модель оказалась статистически более значима в группе пациентов с наиболее низким уровнем протеинурии (<28 мг/ммоль креатинина), а показатель NGAL/креатинин мочи в большей степени ассоциировался с ТПН, а не с общей смертностью [191].

По результатам проспективного исследования, включавшего более 3000 участников с ХБП 2-4 ст. (средний срок наблюдения за пациентами 3,2 года), более высокая концентрация NGAL мочи была ассоциирована с женским полом, неевропеоидной расой, наличием СД и повышенного артериального давления, а также с большей протеинурией и низкими значениями СКФ. Также было установлено, что увеличение экскреции NGAL с мочой является независимым фактором риска прогрессирования ХБП (снижение СКФ в 2 раза или развитие ТПН) по окончании наблюдения за больными. Однако предиктивная роль данного маркера в отношении развития неблагоприятных исходов значительно снижалась при включении в модель величины суточной протеинурии, в то время как другие факторы риска (индекс массы тела, наличие СД, уровень систолического артериального давления, прием препаратов, блокирующих РААС и др.), не оказывали на нее влияния. [192].

Учитывая результаты данных работ, можно утверждать, что NGAL может использоваться в качестве предиктора прогрессии ХБП и развития ТПН, что косвенно позволяет предполагать тесную ассоциацию данного маркера с необратимыми морфологическими изменениями, такими как гломеруло- и тубулоинтерстициальный склероз. Однако прямые исследования, подтверждающие данное предположение, носят немногочисленный характер.

Так, в работе Nickolas T.L. и соавт. (2012), оценивали экскрецию NGAL-мономера (25кДа) [193]. Авторы цитируемой работы, базируясь на литературных данных экспериментальных исследований, изначально выдвинули гипотезу, что именно мономерная молекула данного пептида синтезируется в эпителиоцитах канальцев под действием стресс-агентов, а, следовательно, может достоверно свидетельствовать об их повреждении. В противоположность этому, источником других высокомолекулярных ассоциаций NGAL (ди-, тримерные формы, а также комплекс с желатиназой нейтрофилов), которые могут идентифицироваться в моче, служат праймированные нейтрофилы [176, 194]. В исследование были включены пациенты с нефротическим синдромом - 49,5% (мембранозная нефропатия, ФСГС, БМИ, амилоидоз), нефритическим синдромом - 31% (IgA-нефропатия, волчаночный нефрит, мезангиально-пролиферативный гломерулонефрит, фибриллярная и иммунотактоидная гломерулопатия), 10% - с диабетической нефропатией и 9% - с другими нозологиями. При изучении диагностической значимости экскреции мономера NGAL в отношении морфологических изменений, у исследуемой группы больных было установлено, что данный протеин отражает преимущественно хронические морфологические изменения, такие как тубулярная атрофия, интерстициальный фиброз, глобальный гломерулосклероз, наличие фиброзных полулуний, расширение мезангиального матрикса, но не морфологическую активность процесса при гломерулярных заболеваниях (гломерулярная лейкоцитарная инфильтрация, мезангиальная пролиферация, наличие клеточных полулуния, фибриноидного некроза, инфильтрации интерстиция). На основании отсутствия корреляций между экскрецией с мочой NGAL-мономера, с одной стороны, и лейкоцитарной инфильтрацией тубулоинтерстиция, и уровнем лейкоцитарной миелопероксидазы в моче – с другой, авторы пришли к выводу, что NGAL-мономер в моче не является продуктом нейтрофильных лейкоцитов [193]. В данной работе авто-

ры впервые дали оценку диагностической значимости мочевой экскреции NGAL-мономера, подтвердив его роль в качестве маркера тубулоинтерстициального повреждения при различных хронических гломерулопатиях. Однако осталась невыясненной роль системного пула NGAL, который может обеспечивать высокую концентрацию этого пептида в моче (в том числе мономера) в результате нарушения реабсорбции в эпителиоцитах проксимальных канальцев профильтровавшегося в клубочке NGAL. Нарушение реабсорбции NGAL в эпителиоцитах проксимальных канальцев, с одной стороны, может быть обусловлена ишемией данного отдела нефрона из-за прогрессирующего гломерулосклероза, а, с другой стороны, может объясняться конкуренцией NGAL с альбумином за связывание с рецептором мегалином на клеточной мембране эпителиоцитов. Представляется не случайным, что авторы данной работы продемонстрировали наличие прямой корреляции протеинурии с уровнем NGAL в моче.

При изучении экспрессии гена NGAL (*LCN2*) в нефробиоптатах, полученных от пациентов с ХБП на фоне различных гломерулопатий (МН, IgA-нефропатия, МПГН, БМИ, волчаночный нефрит и др.) было установлено, что уровень его экспрессии коррелирует со степенью выраженности тубулоинтерстициального фиброза и морфологическими признаками повреждения эпителия проксимальных канальцев. Данные результаты позволили сделать вывод о том, что NGAL является не только маркером, но и хорошим предиктором тяжелых повреждений тубулоинтерстиция при гломерулярной патологии [195–197].

По мере утяжеления тубулоинтерстициальных изменений в нефробиоптатах отмечалось увеличение мочевой концентрации NGAL, которая превышала норму в 3 (IgA-нефропатия II стадии по классификации Lee) и в 14 раз (IgA-нефропатия III стадии по классификации Lee). При ИГХ исследовании идентифицировались депозиты NGAL в области проксимальных канальцев. Оптимальный предиктивный уровень NGAL в моче в отношении степени выраженности тубулоинтерстициальных изменений составил 20,5 мкг/мл (чувствительность – 90,2%, специфичность - 67,9%, AUC – 0,780). Авторы данной работы заключили, что при IgA-нефропатии уровень мочевой экскреции NGAL отражает степень выраженности тубулоинтерстициальных изменений и с этой точки зрения может претендовать на роль их предиктора [198, 199].

Однако далеко не все исследователи придерживаются такой точки зрения на оценку диагностической значимости мочевой экскреции NGAL при IgA-нефропатии. В одной из последних работ на этот счет было высказано мнение, что высокие концентрации NGAL как в крови, так и в моче отражают наиболее ранние стадии повреждения эпителия проксимальных канальцев, а поэтому ассоциируются с более быстрым прогрессированием IgA-нефропатии. Вместе с тем, по мере формирования фиброза тубулоинтерстиция и атрофии эпителиоцитов, экспрессия мРНК NGAL падает, а концентрация пептида в моче снижается [200].

Мочевая экскреция NGAL ассоциирована с морфологическими изменениями в биоптате, которые, скорее, отражают остроту, чем хронизацию процесса. Однако данный факт очевиден для пациентов с IgA-нефропатией и остается невыясненным при других нозологических формах гломерулопатий, при которых процессы склерозирования носят более торпидный и отсроченный характер (МН, БМИ), а в патогенезе повреждения тубулоинтерстиция преобладают протеинурический и ишемический факторы (МН, ФСГС, МПГН), а не воспалительная инфильтрация, как при IgA-нефропатии.

1.3.5. Диагностическая значимость экскретируемой фракции магния с мочой в оценке тубулоинтерстициальных повреждений у пациентов с гломерулярной патологией

Магний является вторым наиболее распространенным внутриклеточным катионом и выступает в роли кофактора более чем 300 ферментативных реакций в организме, он является также ингибитором кальцификации костей, мягких тканей, а также сосудов [201], что может иметь значение у пациентов с ТПН на ЗПТ [23, 202, 203].

Радиус его гидратированной молекулы в 16 раз больше, чем гидратированного кальция, что, вероятно объясняет затрудненный его транспорт через узкие биологические каналы [201]. Баланс магния определяется его потреблением с пищей, абсорбцией в костях, депозицией в мягких тканях, утечкой из клеток и почечной экскрецией. Большая часть иона всасывается в тонкой кишке парацеллюлярно посредством пассивного транспорта, который усиливается под действием 1,25Д3, возможно, за счет

регуляции белков клаудинов 2 и 12. Активная трансцеллюлярная абсорбция происходит в толстой кишке через специфические магниевые каналы (TRPM6) [201, 204]

В норме ионы магния беспрепятственно фильтруются в клубочках, при этом фильтрационная нагрузка магнием составляет 2400 мг в сутки, но при этом лишь 5% магния выделяется с мочой [205]. Данный факт свидетельствует о высокой реабсорбционной способности канальцевого аппарата почки в отношении ионов магния. В настоящее время установлено, что от 10 до 25% магния реабсорбируется в проксимальных канальцах [205], 70% - в толстом восходящем отделе петли Генле парацеллюлярно, причем движущей силой является трансцеллюлярный градиент, а белки клаудины 16 и 19 формируют тесные катион-селективные межклеточные соединения и являются своеобразными «привратниками» для ионов магния [204]. Оставшаяся часть магния (примерно 10%) реабсорбируется в дистальных собирательных трубочках с помощью активного трансцеллюлярного транспорта через TRPM6 каналы на апикальной поверхности эпителиальных клеток. Активность TRPM6 каналов регулируется эпидермальным фактором роста, экспрессия клеточного рецептора к которому, контролируется эстрогенами, сывороточной концентрацией магния, ацидозом, алкалозом, ингибиторами кальциневрина (циклоспорин/такролимус) [206].

Учитывая специфичность, напряженность и интенсивность процессов внутрипочечной обработки ионов магния, участия в них эпителиоцитов как проксимальных канальцев, так и дистального отделов нефрона, рядом автором была высказана оригинальная идея использовать показатели эффективности внутрипочечного транспорта магния (в толстом восходящем отделе петли Генле парацеллюлярно, в дистальных собирательных трубочках – активный трансцеллюлярный транспорт через TRPM6) в качестве косвенной оценки морфо-функциональной активности тубулоинтерстициального компартмента почки при различной нефрологической патологии [207] [208]

Согласно предположению о том, что нарушение внутриканальцевого транспорта некоторых молекул (натрий, кальций, магний, мочева кислота, фосфор) может отражать состояние тубулоинтерстициального компартмента, Futracul P. и соавт. (1999) впервые провели оценку морфофункционального состояния тубулоинтерстиция у пациентов с гломерулярной патологией с использованием данных показателей. Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от наличия/отсутствия тубулоин-

терстициального фиброза по данным нефробиопсии. Оказалось, что лишь экскретируемая фракция магния была достоверно выше в группе больных с признаками интерстициального фиброза в биоптате [207]. Также, в группе пациентов с ФСГС при множественном регрессионном анализе получена линейная зависимость между экскретируемой фракцией магния и выраженностью склероза тубулоинтерстиция [207].

Авторы высказали предположение о том, что функциональное состояние тубулоинтерстициального отдела нефрона может отражать и морфологическую целостность данного компартмента. При этом, наиболее чувствительным и ранним маркером фиброза тубулоинтерстиция является экскретируемая фракция магния у пациентов с первичными гломерулопатиями [207].

Согласно высказанной гипотезе тесная морфофункциональная взаимосвязь может быть обусловлена несколькими факторами. Во-первых, на фоне снижения перитубулярного кровотока возникает хроническая ишемия тубулоинтерстиция, приводящая к повреждению внутриклеточной структуры и функции эпителиоцитов канальцев и, как следствие, развитию фиброза, что, в свою очередь, неизбежно ведет к нарушению реабсорбции магния, как одного из главных внутриклеточных катионов. Во-вторых, нарушения постгломерулярного кровотока, возникающие при прогрессировании фиброзных изменений, приводят к распаду комплекса магний-АТФ, одного из основных источников энергии для ряда внутриклеточных ферментативных реакций и, следовательно, потере магния почками [207]. В дальнейшем этой же группой исследователей было установлено, что снижение перитубулярного кровотока предшествует развитию тубулоинтерстициального фиброза, что, по мнению авторов, и объясняет обратную корреляцию этих показателей между собой [209].

Позднее, при исследовании группы больных с гломерулопатиями (мезангиально-пролиферативный гломерулонефрит, ФСГС, острый постстрептококковый гломерулонефрит, СД тип 2 и пациенты с ХБП, неустановленной этиологии) была продемонстрирована обратная зависимость между величиной экскретируемой фракции магния и перитубулярным кровотоком (рассчитывался как разность между эффективным плазменным почечным потоком и СКФ, измеренными при помощи радиоизотопных методик с использованием гиппурана и ^{99m}Tc -ДТПА, соответственно), и наиболее выражена данная взаимосвязь оказалась в группе больных с ФСГС [210].

При изучении небольшой группы пациентов с СКВ ($n=36$) также было показано, что экскретируемая фракция магния была достоверно выше в группе больных с наличием фиброза тубулоинтерстиция по данным нефробиопсии [211]. Также, при исследовании пациентов с нефротическим синдромом при различных гломерулопатиях (БМИ, ФСГС, мезангиально-пролиферативный гломерулонефрит, IgM-нефропатия) были выявлены более высокие значения экскретируемой фракции магния в группе пациентов со стероид-резистентным нефротическим синдромом, при сравнении с пациентами, ответившими на терапию ГКС. Данное обстоятельство позволило высказать предположение о том, что экскретируемая фракция магния может являться простым и доступным предиктором ответа на терапию ГКС при первичной гломерулярной патологии [212].

Таким образом, на основании результатов немногочисленных клинических исследований можно заключить, что оценка экскретируемой фракции магния с мочой может служить не только маркером функционального состояния тубулоинтерстициального компартмента, но и выступать в роли предиктора развития фиброза данного отдела нефрона, а, следовательно, и прогрессирования ренальной дисфункции. Однако в настоящее время недостаточно данных, чтобы однозначно рассматривать экскретируемую фракцию магния в качестве биомаркера данных морфологических изменений при всех, без исключения, формах первичной гломерулярной патологии.

Глава 2 Пациенты и методы исследования

2.1. Дизайн клинического исследования

В поперечное обсервационное исследование были включены пациенты, находящиеся в клинике Научно-исследовательского института Нефрологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (директор клиники д.м.н., профессор А.В. Смирнов) в период с 01.2011 по 09.2013 гг., которым во время госпитализации была выполнена диагностическая нефробиопсия. Всего было обследовано 100 человек с первичной гломерулярной патологией: болезнь минимальных изменений (n=9), идиопатический фокально-сегментарный гломерулосклероз (n=28), мембранозная нефропатия (n=26) и IgA-нефропатия (n=37).

Отбор пациентов проводился согласно критериям включения и невключения, представленным в таблице 8.

Таблица 8 – Критерии включения и невключения пациентов, использованные в работе

Критерии включения	Критерии невключения
Нозологическая форма: первичная гломерулярная патология Отсутствие данных за вторичный генез нефропатии Наличие не менее 10 клубочков, пригодных для анализа в нефробиоптате Отсутствие данных за ОПП (клинических, лабораторных и морфологических)	Сердечная недостаточность III-IV ф.к. Дыхательная недостаточность II ст. и более Онкопатология Острые инфекционные заболевания Дисфункция щитовидной железы pH мочи < 6 Злоупотребление алкоголем Проведение рентгенконтрастных исследований менее чем за 1 неделю до исследования Доза ГКС > 10 мг/сут по преднизолону

Критериями включения, помимо нозологической формы, подтвержденной в период госпитализации по данным световой, иммунофлуоресцентной и электронной микроскопии нефробиоптата, были: отсутствие клинических и/или лабораторных признаков вторичного генеза нефропатии, наличие по крайней мере 10 клубочков, пригодных

для анализа в биоптате, а также отсутствие клинико-лабораторных и морфологических проявлений ОПП в соответствии с критериями KDIGO 2012 [213].

Критериями невключения были: наличие онкологических заболеваний, тяжелой сердечной (III-IV стадии по NYHA) и дыхательной недостаточности (более II ст.), текущих инфекционных заболеваний, клинических проявлений ИБС (стенокардия напряжения III-IV ф.к., острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия), гемодинамически значимых нарушений сердечного ритма, а также, проведение заместительной почечной терапии как в анамнезе, так и на момент включения в исследование, злоупотребление алкоголем, выполнение рентгеноконтрастных процедур в течение 1 года до момента обследования. Кроме того, учитывая возможное влияние дисфункции щитовидной железы, приема высоких доз ГКС (по преднизолону более 10 мг/сут) на концентрацию цистатина С сыворотки, а также разрушение бета-микроглобулина в моче при pH <6,0, данные параметры также являлись критериями невключения.

Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на проведение обследования. Исследование было одобрено этическим комитетом при ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова Минздрава России и выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и принципами Хельсинской Декларации.

2.2. Методы исследования пациентов и их оценка

2.2.1. Основные клинико-лабораторные показатели

Клинико-лабораторное обследование пациентов проводилось в период госпитализации и выполнения нефробиопсии, с последующим ретроспективным анализом данных медицинской документации. Оценивался клинический вариант течения нефропатии: длительность заболевания, наличие и длительность азотемии, артериальная гипертензия ее длительность и степень, наличие мочевого синдрома и его характер, наличие нефротического синдрома и продолжительность последнего. Учитывались антропометрические данные пациентов (рост, вес, индекс массы тела), пол, возраст.

Выполнялись стандартные клинические лабораторные методы обследования (клинический анализ крови, общий анализ мочи), а также биохимические исследования

сыворотки крови – креатинин, мочевины, общий белок, альбумин, холестерин, глюкоза.

Так же, у всех пациентов в сыворотке крови и моче, собранной за сутки, определялось содержание электролитов (калия, натрия, кальция, фосфора). В последующем проводился расчет экскретируемой фракции вещества по формуле (1):

$$EF_x = (urX \cdot sCr) / (sX \cdot urCr) \cdot 100 (\%) \quad (1)$$

где EF_x – экскретируемая фракция вещества, %; urX – концентрация вещества в моче, мг/л; sX – концентрация вещества в сыворотке, мг/л; $urCr$ – концентрация креатинина мочи, ммоль/л; sCr – концентрация креатинина сыворотки, ммоль/л.

Для оценки уровня креатинина в крови/моче применялся энзиматический метод, реактивы фирмы «Beckman Coulter» (США) на анализаторе Uni Cel DxС 800 PRO «Beckman Coulter» (США). Исследование суточной протеинурии (г/сут) проводилось методом с пирогаллоловым красным (реактивы «Вектор Бест», Россия), на анализаторе «Белур» (Россия).

Содержание фосфора в сыворотке крови и моче определялось количественным методом с молибденово-кислым аммонием наборами фирмы «Abbott» (США), на анализаторе ARCHITECT cSystems фирмы «Abbott» (США). Диапазон измерения для фосфора в сыворотке крови 0,07 мг/дл (0,023 ммоль/л) - 0,62 мг/дл (0,201 ммоль/л), в моче - 1,80 мг/дл (0,582 ммоль/л) - 4,39 мг/дл (1,418 ммоль/л).

Данные исследования выполнялись в центре лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им.И.П.Павлова Минздрава России. Лаборатория является участником программы по контролю качества по общепринятым и сертифицированным методикам.

2.2.2. Методы определения скорости клубочковой фильтрации

Расчет СКФ проводился по нескольким методикам:

I. Расчет СКФ с использованием креатинина сыворотки крови:

1. Клиренс креатинина (мл/мин)

$$C_{cr} = (V/1440) \times urCr/sCr \quad (2)$$

где CCr – клиренс креатинина мл/мин; uCr – креатинин мочи, ммоль/л; V – объем мочи, собранной за сутки, мл; sCr – концентрация креатинина сыворотки, ммоль/л).

Проводилась стандартизация полученного результата на площадь поверхности тела пациента, которая рассчитывалась по формуле Дюбуа [214]

Стандартизация СКФ на площадь поверхности тела пациента (Стела):

$$СКФ_{\text{станд.}} = СКФ \times 1,73 / \text{Стела, мл/мин/1,73 м}^2 \quad (3)$$

где, S – площадь поверхности тела по формуле Дюбуа ($S = 0,0007184 \times \text{вес(кг)}^{0,425} \times \text{рост(см)}^{0,725}$, м^2);

СКФ – скорость клубочковой фильтрации, мл/мин.

2. Формулы MDRD (мл/мин/1,73м²) [215]

Таблица 9 – Формулы MDRD для расчета СКФ

Пол	Формула для расчета СКФ, мл/мин/1,73м ²
Женский	$175 \times (sCr)^{-1.154} \times (\text{возраст(годы)})^{-0.203} \times 0,742$
Мужской	$175 \times (sCr)^{-1.154} \times (\text{возраст(годы)})^{-0.203}$

Примечания: sCr – концентрация креатинина сыворотки, ммоль/л.

3. Формулы СКД-EPI 2009 с использованием креатинина (мл/мин/1,73м²) [216].

Таблица 10 – Формулы СКД-EPI 2009 с использованием креатинина сыворотки для расчета СКФ

Пол	sCr , ммоль/л	Формула для расчета СКФ, мл/мин/1,73м ²
Женский	$\leq 0,062$	$144 \times (sCr/0,7)^{-0,329} \times 0,993^{\text{возраст}}$
Женский	$> 0,062$	$144 \times (sCr/0,7)^{-1,209} \times 0,993^{\text{возраст}}$
Мужской	$\leq 0,080$	$141 \times (sCr/0,9)^{-0,411} \times 0,993^{\text{возраст}}$
Мужской	$> 0,080$	$141 \times (sCr/0,9)^{-1,209} \times 0,993^{\text{возраст}}$

Примечания: sCr – концентрация креатинина сыворотки, ммоль/л.

II. Расчет СКФ с использованием цистатина С сыворотки крови

1. Формула Ноек, мл/мин [63]

$$СКФ = 80,35/sCysC - 4,32 \quad (4)$$

где, sCysC – концентрация цистатина С сыворотки, мг/л

2. Формула СКD-EPI 2012 для расчета СКФ с использованием цистатина С сыворотки крови [3].

Таблица 11 – Формулы СКD-EPI 2012 с использованием цистатина С сыворотки для расчета СКФ

Пол	sCysC, мг/л	Формула для расчета СКФ, мл/мин
Женский	$\leq 0,8$	$133 \times (sCysC/0,8)^{-0,499} \times 0,996^{\text{возраст}} \times 0,932$
Женский	$> 0,8$	$133 \times (sCysC/0,8)^{-1,328} \times 0,996^{\text{возраст}} \times 0,932$
Мужской	$\leq 0,8$	$133 \times (sCysC/0,8)^{-0,499} \times 0,996^{\text{возраст}}$
Мужской	$> 0,8$	$133 \times (sCysC/0,8)^{-1,328} \times 0,996^{\text{возраст}}$

Примечание: sCysC – концентрация цистатина С сыворотки, мг/л

III. Расчет СКФ с использованием креатинина и цистатина С сыворотки крови

Таблица 12 – Формулы СКD-EPI 2012 для расчета СКФ по креатинину и цистатину С [4]

Пол	sCr, ммоль/л	sCysC, мг/л	Формула для расчета СКФ, мл/мин
Женский	$\leq 0,062$	$\leq 0,8$	$130 \times (sCr/0,7)^{-0,248} \times (sCysC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{возраст}}$
		$> 0,8$	$130 \times (sCr/0,7)^{-0,248} \times (sCysC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{возраст}}$
Женский	$> 0,062$	$\leq 0,8$	$130 \times (sCr/0,7)^{-0,601} \times (sCysC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{возраст}}$
		$> 0,8$	$130 \times (sCr/0,7)^{-0,601} \times (sCysC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{возраст}}$
Мужской	$\leq 0,080$	$\leq 0,8$	$135 \times (sCr/0,7)^{-0,207} \times (sCysC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{возраст}}$
		$> 0,8$	$135 \times (sCr/0,7)^{-0,207} \times (sCysC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{возраст}}$
Мужской	$> 0,080$	$\leq 0,8$	$135 \times (sCr/0,7)^{-0,601} \times (sCysC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{возраст}}$
		$> 0,8$	$135 \times (sCr/0,7)^{-0,601} \times (sCysC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{возраст}}$

Примечание: sCr – концентрация креатинина сыворотки, ммоль/л; sCysC – концентрация цистатина С сыворотки, мг/л.

Стадия ХБП определялась по СКФ в соответствии с классификацией ХБП, представленной в таблице 13 [214].

Таблица 13 – Стратификация стадий ХБП по величине СКФ

Стадии по СКФ, описание и границы (мл/мин/1,73 м ²)	Обозначение	Характеристика	Уровень СКФ
	C 1	Высокая или оптимальная	>90
	C 2	Незначительно сниженная	60–89
	C 3a	Умеренно сниженная	45–59
	C 3b	Существенно сниженная	30–44
	C 4	Резко сниженная	15–29
	C 5	Терминальная почечная недостаточность	<15

2.2.3. Методы определения уровня биомаркеров в сыворотке крови и в моче

Исследование уровня биомаркеров проводилось в сыворотке крови и моче, собранной за сутки. Спектр исследуемых биомаркеров представлен в таблице 14

Таблица 14 – Биомаркеры, исследуемые в работе

Определение биомаркеров	
Сыворотка крови	Моча
Цистатин С	Цистатин С
Магний	Магний
NGAL	NGAL
	Трансферрин
	Иммуноглобулин G
	Альфа1-микроглобулин
	Бета2-микроглобулин

Забор крови для определения уровня биомаркеров проводился утром через 30 минут после пробуждения, сидя, натощак и до приема лекарственных препаратов, в сте-

рильные пробирки без консерванта. Сбор суточной мочи проводился накануне выполнения нефробиопсии. После завершения сбора измерялось общее количество мочи, выделенной за сутки, после чего моча тщательно перемешивалась, затем отбиралось 50 мл в стерильные контейнеры без консерванта. В течение 15 мин образцы крови и мочи доставлялись в лабораторию, где биоматериал центрифугировался при 1000 об/мин в течение 10 мин, после чего выполнялось исследование. При необходимости часть биоматериала аликвотировалась (в пластиковые одноразовые пробирки типа эппендорф по 0,5 мл) и хранилась при температуре -70°C до момента проведения методики (холодильник Thermo Scientific™ Forma 8600 Series -86°C , USA).

Уровень цистатина С сыворотки крови определялся методом иммунотурбидиметрии (наборы фирмы Alfresa Pharma Corporation, Japan) на приборе Furuno CA-90 (Furuno Electric Co., Ltd., Japan). Оптическая плотность образцов измерялась на полуавтоматическом ридере планшетного типа (ImmunoChem 2100, USA).

На автоматическом биохимическом анализаторе Furuno CA-90 (Furuno Electric Co., Ltd., Japan) проводилось исследование экскреции трансферрина, иммуноглобулина G, цистатина С, альфа1-микроглобулина, бета2-микроглобулина методом иммунотурбидиметрии наборами фирмы «Aptec» (Бельгия). Экскреция NGAL в моче определялась методом иммуноферментного анализа (наборы фирмы BioVendor, Czech Republic).

Концентрация магния определялась в сыворотке крови и моче количественным колориметрическим методом без депротеинизации, наборами фирмы «Витал Девелопмент Корпорейшен» (Россия) на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Виталон» Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd (Шензен, Китай). Диапазон измерения 0,2 – 2 ммоль/л (0,5 – 5,0 мг/дл).

Исследования выполнялись на базе научно-исследовательской лаборатории биохимического гомеостаза Научно-исследовательского института Нефрологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им.И.П.Павлова Минздрава России (зав. лабораторией, к.б.н. Галкина О.В.). Лаборатория является участником программ по контролю качества, по общепринятым и сертифицированным методикам.

2.2.4. Оценка данных морфологического исследования нефробиоптата

Для патогистологического исследования фрагменты почечной паренхимы фиксировались незамедлительно после получения образцов ткани в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере, рН 7,4, в течение 24 ч, при комнатной температуре. После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезвоживание и пропитка) из парафиновых блоков приготавливались серийные срезы толщиной 4-5 мкм. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа (PAS), трихромальной окраской (Masson), по Джонсу, по Вейгерту (Veigert), Конго красным. Изучение патоморфологических изменений проводилось в светооптическом микроскопе Carl Zeiss Imager Z 2 (Германия).

При патоморфологическом исследовании определялось общее число клубочков, доля клубочков с фокальным, тотальным склерозом (количественно), степень фиброза тубулоинтерстиция, клеточной инфильтрации тубулоинтерстиция, атрофии эпителия канальцев, зернистой, гиалиново-капельной и вакуольной дистрофии эпителия канальцев полуколичественно: 0 - нет изменений, 1 – до 25% анализируемых срезов нефробиоптата, 2 - до 50%, 3 – более 50 % анализируемого объекта [217].

Для комплексной оценки гломерулосклероза использовался показатель общего гломерулосклероза, рассчитанный, как сумма доли клубочков с фокальным и тотальным склерозом от общего числа клубочков в исследуемом нефробиоптате [217]:

$$\text{Гломерулосклероз общ} = (\text{ФС}/\text{N}) + (\text{ГС}/\text{N}) \quad (5)$$

где ФС – количество клубочков с фокальным склерозом, ГС - количество клубочков склерозированных клубочков, N – общее число клубочков в биоптате.

Иммунофлуоресцентное исследование (прямая флуоресценция) осуществлялось на криостатных срезах с использованием FITC меченых антител, производство ДАКО (Дания). Во всех биоптатах анализировалась депозиция в структурах нефрона IgA, IgM, IgG, C3c, C1q, фибриногена, каппа и лямбда легких цепей. Локализация и интенсивность продукта реакции оценивались полуколичественно по интенсивности свечения флюорохрома (FITC – от 0 до +++).

На первом этапе анализа данных для проведения ROC-анализа, а также для выявления различий в уровне различных маркеров сыворотки крови или мочевой экскреции маркеров в зависимости от выраженности морфологических изменений все пациенты общей группы были разделены на группы по степени выраженности морфологических изменений:

I. Общего гломерулосклероза

- 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

II. Склероза тубулоинтерстиция

- 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 25\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате.

III. Атрофии эпителия канальцев

- 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

На втором этапе для проведения ROC-анализа, а также для выявления различий в уровне различных маркеров сыворотки крови или мочевой экскреции маркеров, в зависимости от выраженности морфологических изменений, все пациенты общей группы были разделены на группы по степени выраженности морфологических изменений:

I. Общего гломерулосклероза

- 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 50\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

II. Склероза тубулоинтерстиция

- 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 50\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате.

III. Атрофии эпителия канальцев

- 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 50\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

Исследования проводились на базе научно-исследовательской лаборатории клинической иммунологии и морфологии Научно-исследовательского института Нефроло-

гии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им.И.П.Павлова Минздрава России (зав. лабораторией, к.м.н., доцент Сиповский В.Г.).

2.3. Методы статистического анализа результатов

Клиническо-демографические данные пациентов, характер течения заболевания, лабораторные, морфологические параметры были представлены с помощью описательной статистики.

Все полученные данные заметно отличались от нормального распределения, в связи с чем количественные значения были представлены в виде медианы с минимальным и максимальным значениями или 25-75% межквартильным размахом (IQR), а категориальные данные – в виде значений и процентов.

Для оценки различий между двумя независимыми группами (например, различия в уровне биомаркеров, суточной протеинурии, содержания креатинина, цистатина С сыворотки, СКФ между морфологическими формами гломерулярной патологии и т.д.) использовался U критерий Манна-Уитни [218, 219]

Для оценки корреляций между количественными переменными (например, между величиной биомаркеров и морфологическими изменениями) вычислялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена [220].

Для качественной оценки значимости биомаркеров в диагностике морфологических изменений проводился ROC-анализ [221]. ROC-кривые строились отдельно для каждого показателя биомаркеров (креатинин и цистатин С сыворотки, суточная протеинурия, а также экскреция с мочой трансферрина, иммуноглобулина G, альфа1-микроглобулина, бета2-микроглобулина, цистатина С, NGAL и экскретируемая фракция магния) относительно морфологических показателей (гломерулосклероза, тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев).

Оценка площади под кривыми и их сравнение проводилось при помощи оценки стандартной ошибки, рассчитанной по методике Хэнли и Макнил, и точного 95% доверительного интервала (ДИ) на основе биномиального распределения [222, 223]. О клинической эффективности диагностического теста судили на основании полученных значений чувствительности (ЧВ), специфичности (СП), диагностической точности (ДТ), положительной (ППЦ) и отрицательной прогностической ценности (ОПЦ),

положительного (ПОП) и отрицательного отношения правдоподобия (ООП). Определение оптимального порога отсечения (cut-off value) проводилось на основании критериев требования максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели с учетом индекса Йодена [224][225, 225, 226].

Сопоставление ROC-кривых для исследуемых диагностических критериев проводилось на основании оценки разницы площадей с учетом стандартной ошибки по методике ДеЛонг и уровня статистической значимости [227].

Окончательно, на основании полученных результатов с учетом исследовательского характера данной работы значения $p < 0,05$ принимались статистически значимыми.

Полный статистический анализ был проведен с использованием статистических программ Statistica v.12 (Statsoft Inc., USA) и MedCalc Statistical Software v.15.2 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium).

Глава 3. Клинико-лабораторная характеристика пациентов и оценка результатов морфологического исследования нефробиоптатов

3.1. Оценка основных клинических показателей

Всего в исследование было включено 100 человек. Среди них 48 женщин (48%) и 52 мужчины (52%). Статистически значимых различий по возрасту между мужчинами и женщинами в общей группе получено не было ($p>0,05$). Среди обследованных 34% составили пациенты молодого возраста (от 20 до 30 лет), в целом минимальный возраст пациентов составил 18 лет, максимальный – 83 года, медиана – 39 лет.

Распределение больных по морфологической форме представлено на рисунке 1.

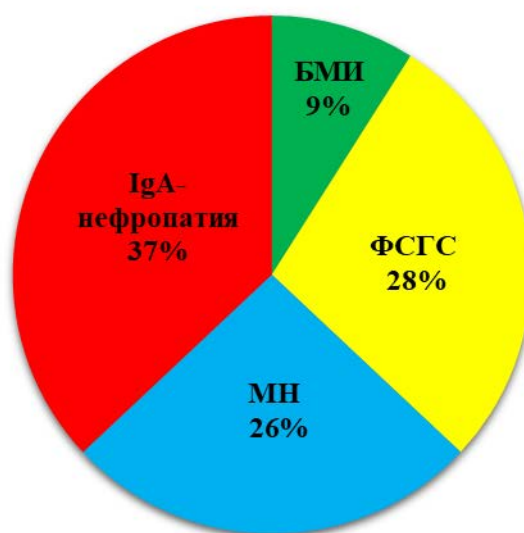


Рисунок 1. Распределение пациентов по морфологической форме гломерулярной патологии: БМИ – болезнь минимальных изменений, $n=9$; ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, $n=28$; МН - мембранозная нефропатия, $n=26$, IgA - нефропатия, $n=37$;

Основные клинические показатели пациентов в общей группе, а также при отдельных формах гломерулярной патологии представлены в таблице 15 (данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me (25-75%) ввиду того, что их распределение заметно отличалось от нормального).

Таблица 15 – Основные клинические показатели

Морфологическая форма ГП		БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA-нефропатия (N=37)	Общая группа (N=100)	Межгрупповые различия p
		1	2	3	4	5	
Показатели	Мужской	2(77,8*)	15(53,6*)	17(65,4*)	18(48,6*)	52(52*)	НЗ
	Женский	7(22,2)	13(46,4)	9(34,6)	19(51,4)	48(48)	
Возраст, годы, Me (25-75%)		27 (21; 29)	36 (28; 54)	56 (41; 65)	33 (25; 48)	39 (27; 54)	p(2/3) = 0,030 p(3/4)<0,001
Длительность заболевания, мес., Me (25-75%)		2 (2; 60)	29 (5,5; 57,5)	12 (4; 19)	48 (20; 108)	24 (4,5; 62)	p(2/3)=0,027 p(3/4)<0,001
Длительность АГ (АД>140/90 мм.рт.ст.), мес., Me (25-75%)		1 (0; 1)	28 (6; 56,5)	11 (0; 120)	19 (0; 96)	12 (0; 72)	p(1/2)<0,001 p(1/3)=0,007 p(1/4)=0,009
Нефротический синдром	Есть	9 (100)	16 (57,1)	19 (73,1)	7 (18,9)	51 (51)	p(1/2)=0,021 p(1/3)=0,031 p(1/4)<0,001 p(2/4)=0,002 p(3/4)<0,001
	Нет	0 (0)	12 (42,9)	7 (26,9)	30 (81,1)	49 (49)	
Длительность нефротического синдрома, мес., Me (25-75%)		2 (1; 2)	3 (1; 16,5)	3 (2;8)	1 (1; 6)	2 (1; 2)	p(1/3)=0,008 p(3/4)=0,010

Примечания: *В скобках указан % от общего числа больных; Me (25-75%) – медиана и межквартильный размах; НЗ – не значимо ($p>0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Пациенты с МН были более пожилого возраста (Me=56) по сравнению с группами больных с ФСГС (Me=36; $p=0,030$) и IgA-нефропатией (Me=33; $p < 0,001$). Продолжительность заболевания (период от момента появления мочевого синдрома до момента настоящего исследования и выполнения нефробиопсии) варьировала от 1 до 348 мес., медиана – 24 мес., в общей группе. Как видно из представленных данных, продолжительность заболевания была одинакова среди групп пациентов с БМИ и МН, и оказалась значимо меньше при МН (Me=12 мес.) при сравнении с ФСГС (Me=29; $p=0,027$) и IgA-нефропатией (Me=48; $p < 0,001$)

На момент включения в исследование у 51 (51%) пациента был диагностирован нефротический синдром, у 49 (49%) – он отсутствовал. Группу с нефротическим синдромом преимущественно (44 человека (44%)) составили больные с непролиферативными гломерулопатиями (БМИ, ФСГС, МН), причем среди данных морфологических форм нефротический синдром отмечался чаще у пациентов с БМИ при сравнении с остальными гломерулопатиями.

Следует отметить, что в группе пациентов с IgA-нефропатией в 7 случаях (18,9%) был диагностирован нефротический синдром. Среди данной когорты больных (IgA-нефропатия с нефротическим синдромом) было 3 мужчин и 4 женщины, минимальный возраст составил – 21 год, максимальный – 64 года, медиана – 33 года. Продолжительность заболевания от 1 до 96 месяцев (Me = 37 месяцев), длительность нефротического синдрома не превышала 6 месяцев. У 5 пациентов отмечалась в анамнезе АГ, продолжительность которой варьировала от 1 до 96 месяцев (Me = 9 месяцев).

По длительности нефротического синдрома (от момента его развития до проведения нефробиопсии) статистически значимые различия были получены между больными с БМИ и МН ($p = 0,008$), а также IgA-нефропатией и МН ($p = 0,010$). Наибольшая продолжительность заболевания при МН, вероятно, была обусловлена более длительным «диагностическим» обследованием этой группы пациентов на амбулаторном этапе, обусловленной ошибочной диагностикой генеза отеочного синдрома и, как следствие, госпитализацией в непрофильное отделение (кардиологическое), несмотря на «яркую» клиническую симптоматику данной нозологии.

Длительность артериальной гипертензии (уровень АД $\geq 140/90$ мм.рт.ст.) в общей группе составила от 0 до 576 мес., медиана – 12 мес. У 3 пациентов с БМИ отмечалось

наличие артериальной гипертензии не более 2 месяцев, что совпало с началом заболевания и развитием нефротического синдрома и, возможно, было обусловлено ретенцией натрия и воды в дебюте заболевания. Достоверных различий по продолжительности артериальной гипертензии между остальными формами первичной гломерулярной патологии (ФСГС, МН, IgA-нефропатия) выявлено не было.

В таблице 16 представлено распределение больных по стадиям ХБП в общей группе и в группах с различными формами гломерулярной патологии. Статистически значимые различия по стадиям ХБП получены лишь между БМИ и ФСГС ($p=0,033$).

Таблица 16 – Распределение пациентов по стадиям ХБП (N=100)

Морфологическая форма ГП Стадия ХБП		БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=100)
1		7 (77,78*)	5 (17,8*)	9 (34,6*)	11 (29,7*)	32 (32*)
2		2 (22,22)	10 (35,7)	8 (30,8)	13 (35,2)	33 (33)
3	3а	0 (0,0)	6 (21,4)	6 (23,1)	6 (16,2)	18 (18)
	3б	0 (0,0)	1 (3,6)	2 (7,7)	1 (2,7)	4 (4)
4		0 (0,0)	5 (17,8)	1 (3,8)	5 (13,5)	11 (11)
5		0 (0,0)	1 (3,6)	0 (0,0)	1 (2,7)	2 (2)

Примечания: *в скобках указан % от общего числа больных; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия; НЗ-не значимо; СКФ определялась по формуле CKD-EPICr 2009.

В исследуемой группе преобладали (таблица 16) пациенты с ранними стадиями ХБП (ХБП С1-2) – 65 человек (65%). Напротив, поздние стадии ХБП (С4-5) диагностированы были только в 13 случаях (13%).

3.2.Оценка основных лабораторных показателей

Результаты исследования основных лабораторных показателей пациентов с первичной гломерулярной патологией, включенных в исследование, представлены в таб-

лице 17 (данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me (25-75%)) ввиду того, что их распределение заметно отличалось от нормального).

У пациентов с БМИ ($p < 0,001$), ФСГС ($p < 0,001$), МН ($p = 0,001$) при сравнении с IgA-нефропатией были выявлены более высокие уровни холестеринемии, суточной протеинурии и более низкие значения общего белка и альбумина сыворотки, что объяснялось преобладанием в этих группах пациентов с нефротическим синдромом. Следует отметить, что среди непролиферативных форм гломерулопатий суточная экскреция белка была ниже у больных с МН, что обусловлено разнородностью данной группы (наличие пациентов с умеренной протеинурией: у 7 пациентов (27%) уровень протеинурии составил менее 3,5 г/сут).

Таблица 17 – Основные лабораторные показатели

Морфологическая форма ГП Показатели	БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA-нефропатия (N=37)	Общая группа (N=100)	Межгрупповые различия p
	1	2	3	4	5	
Общий белок сыворотки крови, г/л Me (25-75%)	39 (37; 51)	54 (38,5; 64,5)	50 (41; 60)	65 (58; 70)	57 (44; 66)	$p(1/4) < 0,001$ $p(2/4) = 0,001$ $p(3/4) < 0,001$
Альбумин сыворотки крови, г/л Me (25-75%)	11,8 (9,6; 19)	26 (14,05; 33)	23,5 (16; 32,5)	35 (30; 38)	29,1 (17; 35,8)	$p(1/2) = 0,018$ $p(1/3) = 0,018$ $p(1/4) < 0,001$ $p(2/4) < 0,001$ $p(3/4) < 0,001$

Продолжение таблицы 17

Общий холестерин сыворотки крови, ммоль/л Me (25-75%)	11,61 (7,38; 14,33)	7,83 (6,71; 10,22)	8,08 (6,16; 10,65)	5,45 (4,98; 6,84)	7,02 (5,55; 9,00)	p(1/3)=0,030 p(1/4)<0,001 p(2/4)<0,001 p(3/4)=0,001
Креатинин сыворотки крови, ммоль/л Me (25-75%)	0,063 (0,055; 0,086)	0,115 (0,083; 0,160)	0,102 (0,075; 0,114)	0,092 (0,077; 0,150)	0,101 (0,076; 0,129)	p(1/2)=0,005 p(1/3)=0,015 p(1/4)=0,005
СКФ (клиренс креатинина), мл/мин Me (25-75%)	116,48 (108,48; 126,45)	83,62 (44,17; 113,87)	95,84 (68,58; 111,09)	99,93 (63,07; 126,33)	96,69 (64,75; 116,5)	p(1/2)=0,029 p(1/3)=0,025
СКФ (MDRD), мл/мин Me (25-75%)	113,00 (82,00; 116,12)	61,00 (37,50; 86,50)	68,50 (53,00; 84,00)	70,00 (49,00; 85,00)	71,00 (49,00; 89,00)	p(1/2)=0,005 p(1/3)=0,006 p(1/4)=0,003
СКФ (CKD-EPICr-2009), мл/мин Me (25-75%)	120,00 (88,00; 128,72)	61,28 (38,27; 86,39)	70,99 (51,01; 95,97)	72,07 (50,96; 90,24)	72,99 (50,13; 95,83)	p(1/2)=0,002 p(1/3)=0,004 p(1/4)=0,001
Суточная потеря белка, г/сут Me (25-75%)	9,54 (5,76; 13,00)	7,20 (3,89; 15,23)	5,59 (3,43; 12,00)	2,30 (1,22; 3,92)	4,82 (1,82; 10,86)	p(1/3)=0,029 p(1/4)<0,001 p(2/4)<0,001 p(3/4)=0,008

Примечания: НЗ – не значимо ($p>0,05$); Me (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Уровень креатининемии был выше в группах с ФСГС ($p=0,005$), МН ($p=0,015$), IgA-нефропатией ($p=0,005$), чем при БМИ, что подтверждает представление о благоприятном течении БМИ в отношении развития почечной дисфункции и ТПН. Различия между морфологическими формами гломерулярной патологии по величине СКФ, определенной с использованием креатинина (MDRD и CKD-EPICr 2009), соответ-

сравнивали результаты сравнения между группами по уровню креатинина сыворотки (т.е. величина СКФ была выше при БМИ, чем при других нозологиях). Исключение составила формула расчета СКФ по клиренсу креатинина, по данным которой отмечались различия по величине СКФ лишь между БМИ и ФСГС ($p=0,029$), БМИ и МН ($p=0,025$).

В таблице 18 представлено распределение больных по стадиям ХБП в зависимости от методики определения СКФ. Как видно из представленных данных, для методик определения СКФ с использованием только креатинина у исследуемой группы больных преобладали (более 60%) ранние стадии ХБП (1-2 ст.), тогда как для формул с применением цистатина С, а также комбинированной формулы большую часть составили более поздние стадии ХБП (3-5 стадии). Также, наличие 1 стадии ХБП статистически значимо чаще встречалось при использовании клиренса креатинина для определения СКФ, по сравнению со всеми остальными методиками расчета.

Таблица 18 – Частота распределения пациентов с гломерулопатиями общей группы по стадиям ХБП, в зависимости от методики расчёта СКФ (N=100)

СКФ, мл/мин Стадия ХБП	CCr	MDRD	CKD- EPICr	Hoek CysC	CKD-EPI CysC	CKD- EPI CrCysC	Различие в группах при $p<0,05$
	1	2	3	4	5	6	
1	54 (54*)	25 (25)	32 (32)	10 (10)	16 (16)	19 (19)	$p(1/2)<0,001$ $p(1/3)=0,002$ $p(1/4)<0,001$ $p(1/5)<0,001$ $p(1/6)<0,001$ $p(2/4)=0,005$ $p(3/4)<0,001$ $p(3/5)=0,008$ $p(3/6)=0,035$

Продолжение таблицы 18

2	24 (24)	38 (38)	34 (34)	37 (37)	28 (28)	36 (36)	$p(1/2)=0,032$ $p(1/4)=0,046$
3	3а	8 (8)	19 (19)	17 (17)	14 (14)	16 (16)	$p(1/2)=0,023$
	3б	7 (7)	6(6)	5 (5)	21 (21)	13 (13)	$p(1/4)=0,004$ $p(2/4)=0,002$ $p(3/4)=0,001$
4	6 (6)	11 (11)	10 (10)	15 (15)	22 (22)	14 (14)	$p(1/4)=0,038$
5	1 (1)	1 (1)	2 (2)	3 (3)	5 (5)	5 (5)	НЗ

Примечания: *в скобках указан % от общего числа больных; НЗ-не значимо ($p>0,05$);

Таким образом, если принять определение СКФ по клиренсу креатинина за референсные значения, то придётся констатировать, что практически все расчетные формулы СКФ усугубляют стадию ХБП.

3.3. Оценка результатов морфологического исследования нефробиоптатов

В таблице 19 представлены результаты морфологического исследования нефробиоптатов у пациентов с первичными гломерулопатиями (данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Ме (25-75%) ввиду того, что их распределение заметно отличалось от нормального).

По данным морфологического исследования нефробиоптатов, наименьшая доля глобального, гломерулосклероза отмечалась у пациентов с БМИ и МН, при сравнении с группами с ФСГС ($p < 0,001$ и $p < 0,001$, соответственно) и IgA-нефропатией ($p=0,003$ и $p < 0,001$), соответственно. В свою очередь, значимых различий по выраженности гломерулосклероза как глобального, так и сегментарного между БМИ и МН по данным светоптического исследования не выявлено.

Таблица 19 – Результаты морфологического исследования

Морфологическая форма ГП Параметры морфологического исследования	БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA-нефропатия (N=37)	Общая группа (N=100)	Различие в группах при $p < 0,05$
Доля полностью склерозированных клубочков Me (25-75%)	0 (0,0; 0,0)	0,158 (0,064; 0,279)	0,045 (0,0; 0,105)	0,125 (0,056; 0,308)	0,098 (0,0; 0,250)	$p(1/2)=0,005$ $p(1/4)=0,006$ $p(2/3)=0,002$ $p(3/4)=0,004$
Доля клубочков с сегментарным склерозом Me (25-75%)	0 (0,0; 0,0)	0,131 (0,089; 0,194)	0 (0,0; 0,0)	0,095 (0,044; 0,154)	0,057 (0; 0,135)	$p(1/2) < 0,001$ $p(1/4)=0,006$ $p(2/3) < 0,001$ $p(2/4)=0,028$ $p(3/4) < 0,001$
Суммарная доля склерозированных клубочков Me (25-75%)	0 (0; 0)	0,342 (0,162; 0,50)	0,052 (0,0; 0,125)	0,25 (0,129; 0,60)	0,167 (0,048; 0,380)	$p(1/2) < 0,001$ $p(1/4)=0,003$ $p(2/3) < 0,001$ $p(3/4) < 0,001$
Склероз тубулоинтерстиция* Me (25-75%)	0,1 (0; 0,1)	0,375 (0,25; 0,50)	0,25 (0,10; 0,30)	0,25 (0,20; 0,40)	0,25 (0,10; 0,50)	$p(1/2) < 0,001$ $p(1/3)=0,006$ $p(1/4) < 0,001$ $p(2/3)=0,005$
Клеточная инфильтрация тубулоинтерстиция*	0 - 88,9** 1 - 11,1 2 - 0,0 3 - 0,0	0 - 35,71 1 - 50,00 2 - 14,29 3 - 0,00	0 - 69,23 1 - 30,77 2 - 0,00 3 - 0,00	0 - 37,84 1 - 43,24 2 - 18,92 3 - 0,00	0 - 50,0 1 - 39,0 2 - 11,0 3 - 0,0	$p(1/2)=0,020$ $p(1/4)=0,022$ $p(2/3)=0,020$ $p(3/4)=0,014$
Вакуолярная дистрофия эпителия канальцев*	0 - 44,4 1 - 33,3 2 - 22,2 3 - 0,0	0 - 42,86 1 - 42,86 2 - 14,29 3 - 0,00	0 - 23,08 1 - 46,15 2 - 30,77 3 - 0,00	0 - 37,84 1 - 48,65 2 - 13,51 3 - 0,00	0 - 36,0 1 - 45,0 2 - 19,0 3 - 0,00	НЗ

Продолжение таблицы 19

Атрофия эпите- лия канальцев*	0 - 55,56	0 - 10,71	0 - 23,08	0 - 10,81	0 - 18,0	p(1/2)=0,008
	1 - 44,44	1 - 32,14	1 - 57,69	1 - 51,35	1 - 47,0	p(1/4)=0,012
	2 - 0,00	2 - 50,0	2 - 19,23	2 - 24,32	2 - 28,0	p(2/3)=0,034
	3 - 0,00	3 - 7,15	3 - 0,0	3 - 13,52	3 - 7,0	

Примечания: НЗ – не значимо ($p > 0,05$); Ме (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия; *- полуколичественная оценка патоморфологических изменений: 0 - нет изменений, 1 – до 25% анализируемых срезов нефробиоптата, 2 - до 50%, 3 – более 50 % анализируемого объекта; **указан % от общего числа больных в данной группе.

При исследовании тубулоинтерстициального отдела нефрона выраженность склероза тубулоинтерстиция была достоверно меньше в группе БМИ, при сравнении с остальными морфологическими формами, а также при МН при сравнении с ФСГС. Следует отметить, что у пациентов с ФСГС и МН степень склероза тубулоинтерстиция не отличалась от таковой в группе с IgA-нефропатией, что вероятно, было обусловлено разнородностью последней по клиническому течению и длительности заболевания.

Наименьшая клеточная инфильтрация тубулоинтерстиция выявлялась при БМИ и МН при сравнении с ФСГС ($p=0,020$ и $p=0,020$, соответственно) и IgA-нефропатией ($p=0,022$ и $p=0,014$, соответственно), что отражало классическое представление о не-пролиферативных (БМИ и МН) и пролиферативных (ФСГС и IgA-нефропатия) формах первичных гломерулопатий.

При оценке изменений канальцевого эпителия, статистически значимых различий между исследуемыми группами по степени вакуольной дистрофии не выявлялось. В тоже время, выраженная атрофия канальцев обнаруживалась в группе с ФСГС при сравнении с БМИ ($p=0,008$) и МН ($p=0,034$). Статистически значимых различий по данному морфологическому параметру между IgA-нефропатией и ФСГС, а также между МН и БМИ получено не было.

Таким образом, среди представленных морфологических форм первичной гломерулярной патологии наиболее выраженные склеротические изменения различных отделов нефрона выявлялись при ФСГС и IgA-нефропатии.

3.4. Диагностическая значимость основных лабораторных показателей в оценке морфологических изменений

Для оценки взаимосвязи основных лабораторных показателей и морфологических изменений из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

При оценке взаимоотношений между суточной протеинурией и морфологическими изменениями (общий гломерулосклероз, тубулоинтерстициальный склероз, атрофия эпителия канальцев) в общей группе статистически значимые прямые корреляции были получены лишь между величиной суточной протеинурии и склерозом тубулоинтерстиция ($r=0,24$, $p=0,024$).

Статистически значимых корреляций протеинурии при ФСГС и МН с морфологическими изменениями выявлено не было.

Для пациентов с IgA-нефропатией выявлены следующие корреляции (таблица 20): более высокий уровень протеинурии ассоциировался с наибольшей выраженностью фиброза различных отделов нефрона и атрофией канальцевого эпителия (оценка диагностического значения протеинурии будет разобрана далее в главе 3.4, с учетом результатов ROC анализа).

Таблица 20 – Корреляции величины суточной протеинурии с морфологическими изменениями при IgA-нефропатии

Морфологическая характеристика Лабораторный показатель	Гломерулосклероз	Склероз тубулоинтерстиция	Атрофия эпителия канальцев
	1	2	3
Суточная потеря белка, г/сут	$p=0,015$ $r=0,40$	$p<0,001$ $r=0,61$	$p<0,001$ $r=0,56$

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p>0,05$);

При оценке корреляций креатининемии с морфологическими изменениями выявлены высоко значимые прямые корреляции со всеми исследуемыми морфологическими параметрами во всех группах, что представлено в таблице 21.

Таблица 21 – Корреляции уровня креатинина сыворотки с морфологическими изменениями при гломерулопатиях

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
Гломерулосклероз	p=0,003 r=0,54	p<0,001 r=0,64	p=0,005 r=0,45	p<0,001 r=0,52
Склероз тубулоинтерстиция	p=0,007 r=0,50	p=0,001 r=0,60	p<0,001 r=0,70	p<0,001 r=0,64
Атрофия эпителия канальцев	p<0,001 r=0,64	p<0,001 r=0,64	p<0,001 r=0,63	p<0,001 r=0,65

Примечания: r – коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ – не значимо ($p>0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Таким образом, можно полагать, что креатинин сыворотки остается надежным и простым маркером, отражающим необратимые морфологические изменения при ФСГС, МН и IgA-нефропатии.

Для выявления различий в уровне креатинина сыворотки, а также величине суточной протеинурии в зависимости от степени выраженности морфологических изменений (менее или более 25% от исследуемого биоптата) на первом этапе исследования все пациенты общей группы были стратифицированы следующим образом:

I. Общий гломерулосклероз

- 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате;
- 1 – соответствовало $\geq 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

II. Склероз тубулоинтерстиция

- 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате;

1 – соответствовало $\geq 25\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате.

III. Атрофия эпителия канальцев

0 – соответствовало $<25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате;

1 – соответствовало $\geq 25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

При сравнении величины суточной экскреции белка с мочой в группах в зависимости от выраженности глобального гломерулосклероза, а также атрофии эпителия канальцев, статистически значимых различий получено не было ($p > 0,05$). Уровень суточной протеинурии был значимо выше в группе пациентов с более выраженными ($\geq 25\%$ в исследуемых биоптатах) признаками склероза тубулоинтерстиция ($p = 0,004$).

Величина креатинина сыворотки была значимо ниже в группах с меньшей степенью глобального гломерулосклероза ($p < 0,001$), тубулоинтерстициального склероза ($p < 0,001$) и атрофии эпителия канальцев ($p < 0,001$).

На втором этапе для выявления различий в уровне креатинина сыворотки, а также величине суточной протеинурии в зависимости от выраженности морфологических изменений (менее или более 50% от исследуемого биоптата) все пациенты общей группы были стратифицированы следующим образом:

I. Общий гломерулосклероз

0 – соответствовало $<50\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате;

1 – соответствовало $\geq 50\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

II. Склероз тубулоинтерстиция

0 – соответствовало $<50\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате;

1 – соответствовало $\geq 50\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате.

III. Атрофия эпителия канальцев

0 – соответствовало $<50\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате;

1 – соответствовало $\geq 50\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

Статистически значимых различий в величине суточной протеинурии между группами в зависимости от степени гломерулосклероза ($p > 0,05$), а также склероза тубулоинтерстиция ($p > 0,05$) получено не было. В свою очередь, уровень экскреции белка

с мочой был значимо выше у пациентов с атрофией канальцев $\geq 50\%$ в исследуемых биоптатах ($p=0,040$).

Величина креатинина сыворотки была значимо выше в группах с более выраженными признаками глобального гломерулосклероза ($p < 0,001$), тубулоинтерстициального склероза ($p < 0,001$) и атрофии эпителия канальцев ($p < 0,001$).

В последующем для оценки диагностической значимости и определения пороговых значений суточной протеинурии, а также креатининемии в отношении выраженности морфологических изменений и определения пороговых значений данных показателей был проведен ROC-анализ (таблицы 22,23 и рисунки 2,3).

Таблица 22 – Анализ диагностической ценности уровня суточной протеинурии в отношении различных морфологических изменений, выраженностью до 25%, при первичных гломерулопатиях

Суточная протеинурия (общая группа N=91)										
	ПЗ СПБ, г/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломерулосклероз 25% (0/1)*	1,25	90,0	27,5	54,9	0,578	49,3	77,8	1,24	0,26	0,199
ТИ склероз 25% (0/1)**	1,82	81,8	48,4	70,3	0,684	75,4	57,7	1,58	0,38	0,002
Атрофия каналь- цев 25% (0/1)***	1,69	75,6	38,5	70,3	0,529	88,1	19,2	1,19	0,70	0,752

Примечания: p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало $< 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало $< 25\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало $< 25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

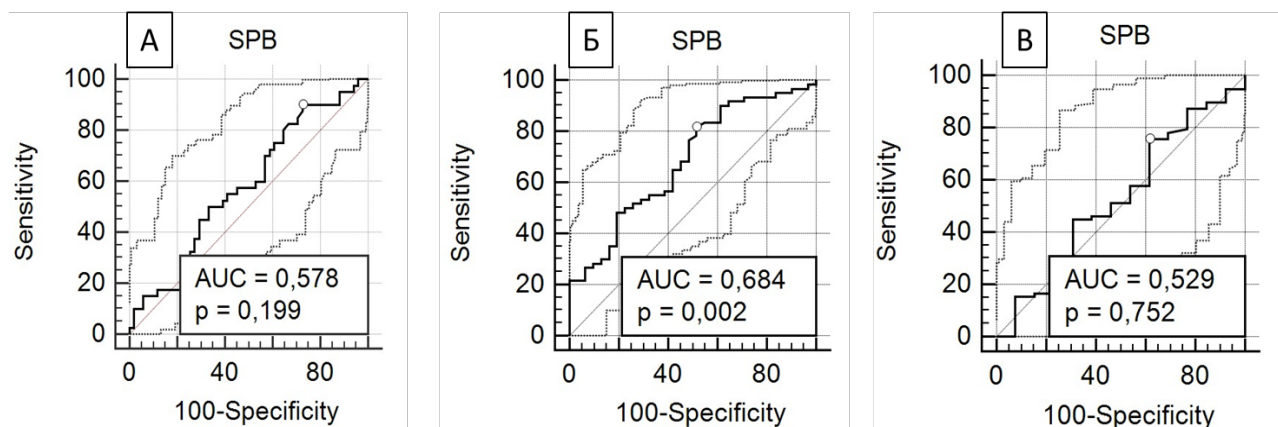


Рисунок 2. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для суточной протеинурии относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б –склероза тубулоинтерстиция 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 23 – Анализ диагностической ценности уровня суточной протеинурии в отношении различных морфологических изменений, выраженностью до 50%, при первичных гломерулопатиях

Суточная протеинурия (общая группа N=91)										
	ПЗ СПБ, г/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОП Ц	ПО П	ОО П	p
Гломерулосклероз 50% (0/1)*	1,32	94,7	27,8	41,8	0,554	25,7	95,2	1,31	0,19	0,420
ТИ склероз 50% (0/1)**	2,76	76,9	41,5	51,6	0,575	34,5	81,8	1,32	0,56	0,259
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	6,10	51,4	73,2	64,8	0,626	54,5	70,7	1,92	0,66	0,036

Примечания: СПБ – суточная потеря белка, г/сут, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП– специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 50\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

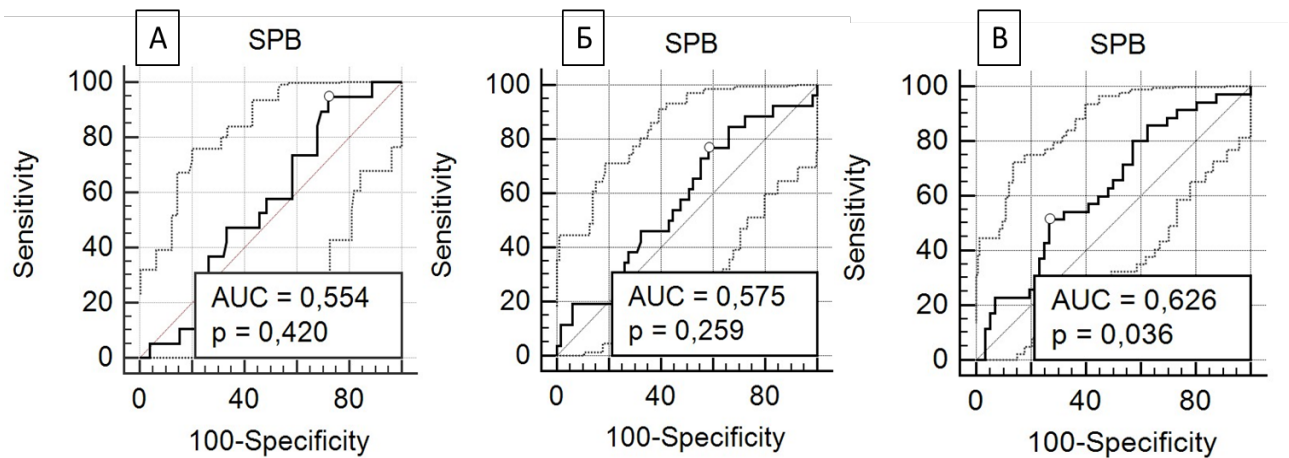


Рисунок 3. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для суточной протеинурии относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

Как видно из полученных данных, умеренная суточная протеинурия (1,82 г/сут) отражает ранние склеротические изменения тубулоинтерстиция (чувствительность – 81,8%, специфичность – 48,4%, AUC - 0,684), а более выраженная нефротическая протеинурия (6,10 г/сут) может свидетельствовать об изменениях канальцевого эпителия, в виде его атрофии (чувствительность – 51,4%, специфичность – 73,2%, AUC – 0,626). При детальной оценке результатов, можно говорить о том, что исследование суточной протеинурии с высокой чувствительностью (81,8%) позволяет говорить о наличии склероза тубулоинтерстиция в 25%, однако данный факт указывает и на наличие большого числа ложноположительных результатов. А оценка ППЦ и ОПЦ (75,4% и 57,7%) указывает на то, что протеинурия более 1,82 г/сут с умеренной достоверностью может указывать на наличие склероза тубулоинтерстиция в 25%. В то же время, оценка ППЦ и ОПЦ протеинурии в качестве маркера атрофии канальцев 50% (54,5% и 70,7%, соответственно), позволяет говорить о том, что при ее уровне менее 6,10 г/сут с умеренной вероятностью можно отвергнуть наличие данных морфологических изменений, а судить об их наличии с использованием данного маркера не представляется возможным.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что суждение о наличии необратимых морфологических изменений по уровню суточной протеинурии не представляется возможным, а суточная экскреция белка, превышающая 1,82 г/сут, лишь с умеренной достоверностью указывает на наличие начальных проявлений склероза тубулоинтерстиция и может использоваться для скринингового обследования.

Оценка диагностической значимости креатинина сыворотки (ROC-анализ), в качестве маркера различных морфологических изменений представлен в таблицах 24, 25, и на рисунках 4,5.

Таблица 24 – Анализ диагностической ценности уровня креатинина сыворотки крови в отношении различных морфологических, выраженностью до 25% изменений, при первичных гломерулопатиях

Креатинин сыворотки крови (общая группа N=91)										
	ПЗ Сг, ммоль/л	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеруло- склероз 25% (0/1)*	0,115	62,5	86,3	75,8	0,730	78,1	74,6	4,55	0,43	<0,001
ТИ склероз 25% (0/1)**	0,107	61,7	90,3	71,4	0,767	92,5	54,9	6,37	0,42	<0,001
Атрофия ка- нальцев 25% (0/1)***	0,089	66,7	84,6	69,2	0,804	96,3	29,7	4,33	0,39	<0,001

Примечания: Сг – креатинин сыворотки крови, ммоль/л, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

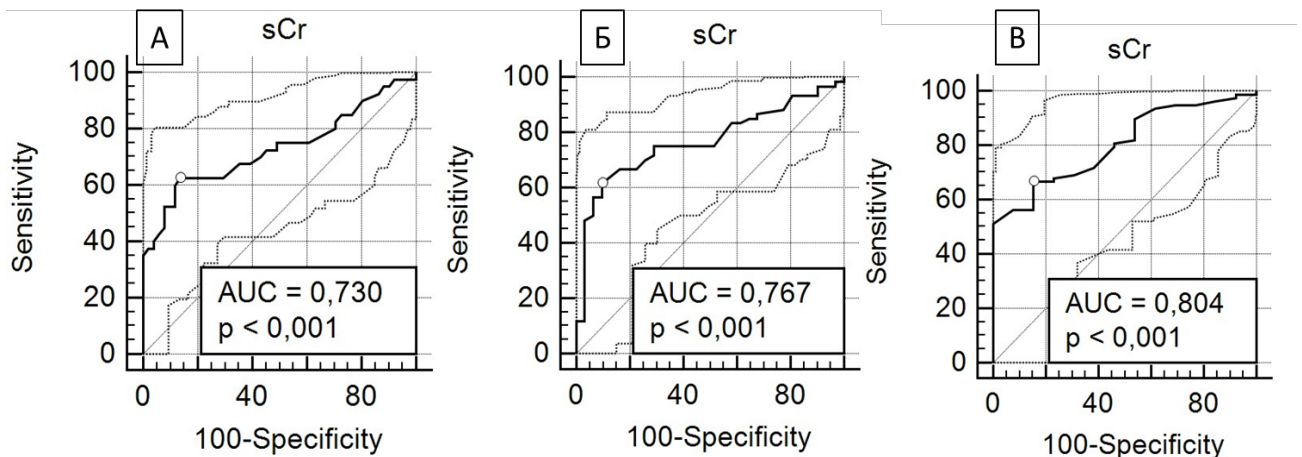


Рисунок 4. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для креатинина сыворотки крови относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

С учетом полученных результатов, как по данным анализа сравнения групп, так и ROC-анализа креатинин сыворотки крови с высокой диагностической значимостью отражает состояние различных компартментов нефрона.

Анализ полученных результатов ROC-анализа позволяют говорить о том, что креатинин сыворотки крови является специфичным маркером необратимых морфологических изменений как 25%, так и 50% выраженности. В тоже время, пороговый уровень креатинина сыворотки крови равный 0,115 ммоль/л с приемлемой для практических целей достоверностью может указывать на наличие ГСК 25% (ППЦ 78,1% ПОП 4,55) и позволяет отвергать ГКС выраженностью 50% и более (ОПЦ 93,2%, ООП 0,25). Также, креатинин сыворотки является достоверным маркером ранних изменений тубулоинтерстиция, таких как склероз и атрофия канальцевого эпителия при пороговых значения 0,107 и 0,089 ммоль/л, соответственно (ППЦ 95,25%; 96,3%; ПОП 6,37; 4,33, соответственно). Также следует отметить, что при уровне креатинина сыворотки крови более 0,115 ммоль/л, можно с высокой вероятностью предполагать наличие атрофии канальцев более 50% выраженности, а при меньших значения данного маркера – отвергнуть присутствие в биоптате выраженных (50% и более) необратимых измене-

ний тубулоинтерстиция (склероза: ОПЦ 91,5%, ООП 0,23; атрофии: ОПЦ 83,1%, ООП 0,33).

Таблица 25 – Анализ диагностической ценности креатинина сыворотки крови в отношении различных морфологических изменений, выраженностью до 50%, при первичных гломерулопатиях

Креатинин сыворотки крови (общая группа N=91)										
	ПЗ Cr, ммоль/л	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	0,115	78,6	76,4	76,9	0,811	46,9	93,2	3,34	0,25	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	0,115	80,8	83,1	82,4	0,867	65,6	91,5	4,77	0,23	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	0,115	71,4	87,5	81,3	0,857	78,1	83,1	5,71	0,33	<0,001

Примечания: Cr – креатинин сыворотки крови, ммоль/л, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

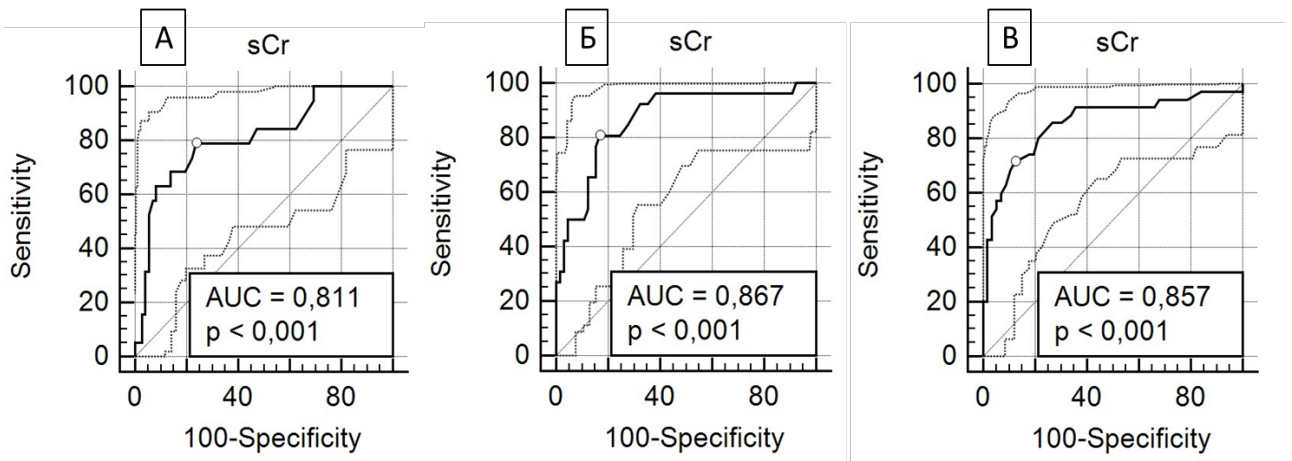


Рисунок 5. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для креатинина сыворотки крови относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

Таким образом, можно заключить, что в практической работе, следует ориентироваться на пороговый уровень креатинина сыворотки крови более 0,115 ммоль/л, который будет достоверно говорить о наличии в биоптате ГКС в 25%, атрофии канальцев 50%, а при меньшем уровне – указывать на отсутствие ГСК в 25% и склероза тубулоинтерстиция выраженностью 50%.

Глава 4. Результаты собственного исследования

4.1. Определение диагностической ценности биомаркеров сыворотки крови в оценке клубочковых и канальцевых повреждений у пациентов с гломерулопатиями

4.1.1. Диагностическая значимость цистатина С сыворотки крови в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

Результаты определения уровня цистатина С сыворотки крови, а также величины расчетной СКФ, с использованием данного показателя, при различных формах гломерулярной патологии представлены в таблице 26 (данные указаны в виде медианы и межквартильного размаха (Ме (25-75%)) ввиду того, что их распределение заметно отличалось от нормального).

Таблица 26 – Результаты исследования цистатина С сыворотки и формул СКФ с использованием цистатина С сыворотки у пациентов с гломерулярной патологией

Морфологическая форма ГП Показатели	БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=100)	Межгрупповые различия p
	1	2	3	4	5	
Цистатин С сыворотки крови, мг/л Ме (25-75%)	1,02 (0,88; 1,22)	1,65 (1,30; 2,70)	1,44 (1,13; 1,95)	1,17 (1,03; 0,30)	1,29 (1,03; 2,19)	p(1/2)=0,004 p(1/3)=0,010
СКФ формула Ноек, мл/мин Ме (25-75%)	74,46 (61,54; 86,99)	44,47 (25,57; 67,35)	51,50 (36,89; 66,79)	64,36 (30,62; 73,69)	57,73 (32,46; 73,69)	p(1/2)=0,004 p(1/3)=0,010
СКФ (CKD-EPI-Cys 2012), мл/мин Ме (25-75%)	81,00 (64,00; 100,00)	40,50 (23,50; 73,50)	49,00 (35,00; 68,00)	62,00 (29,00; 80,00)	58,00 (28,00; 76,50)	p(1/2)=0,004 p(1/3)=0,003

Продолжение таблицы 26

СКФ (СКD-EPICr-Cys 2012), мл/мин Me (25-75%)	91,41 (69,00; 113,00)	48,26 (26,50; 83,83)	60,23 (39,00; 80,00)	67,00 (41,00; 81,00)	64,12 (39,50; 83,97)	p(1/2)=0,003 p(1/3)=0,003 p(1/4)=0,015
СКФ (клиренс креатинина), мл/мин Me (25-75%)	116,48 (108,48; 126,45)	83,62 (44,17; 113,87)	95,84 (68,58; 111,09)	99,93 (63,07; 126,33)	96,69 (64,75; 116,5)	p(1/2)=0,029 p(1/3)=0,025

Примечания: НЗ – не значимо ($p > 0,05$); Me (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Статистически значимые различия по уровню цистатина С сыворотки выявлены лишь между ФСГС ($p=0,004$), МН ($p=0,010$) и БМИ. Различия между морфологическими формами гломерулярной патологии по величине СКФ, определенной с использованием цистатина С (формулы Ноек и СКD-EPICr-Cys 2012) соответствовали результатам сравнения между группами по уровню цистатина С сыворотки. В свою очередь, величина СКФ по формуле СКD-EPICr-Cys 2012 была значимо выше лишь в группе БМИ при сравнении с остальными первичными гломерулопатиями.

Для оценки взаимосвязи основных лабораторных показателей и морфологических изменений из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

В таблице 27 представлены результаты корреляций уровня цистатина С сыворотки и морфологических изменений при различных формах гломерулярной патологии.

При всех нозологиях уровень цистатина С сыворотки крови положительно коррелировал со степенью выраженности морфологических изменений, как гломерулярных, так и канальцевых. Причем, корреляция уровня цистатина С сыворотки крови и атрофии эпителия канальцев у пациентов с IgA-нефропатией была статистически более значима при сравнении с МН: сравнение коэффициентов корреляции $r_{\text{IgA-ГМН}}$ – $p=0,008$.

Таблица 27 – Корреляции уровня цистатина С сыворотки крови с морфологическими изменениями у пациентов с гломерулярной патологией

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
Гломерулосклероз	p=0,003 r=0,67	p=0,002 r=0,58	p=0,001 r=0,58	p<0,001 r=0,53
Склероз тубулоинтерстиция	p=0,007 r=0,64	p=0,003 r=0,56	p<0,001 r=0,74	p<0,001 r=0,68
Атрофия эпителия канальцев	p<0,001 r=0,65	p=0,034 r=0,42	p<0,001 r=0,83	p<0,001 r=0,68

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

С целью поиска статистически значимых различий между коэффициентами корреляции креатинина сыворотки и цистатина С сыворотки с морфологическими изменениями, был выполнен анализ сравнения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена: статистически значимых различий между коэффициентами ранговой корреляции выявлено не было ($p > 0,05$).

Таким образом, по результатам корреляционного анализа и сравнения коэффициентов ранговой корреляции, нам не удалось установить преимущества определения цистатина С сыворотки крови в оценке морфологических изменений по сравнению с креатинином сыворотки у исследуемой выборки пациентов.

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем цистатина С сыворотки и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев.

По результатам сравнения групп было установлено, что у пациентов с $\geq 25\%$ выраженностью глобального гломерулосклероза в исследуемых биоптатах ($p < 0,001$),

склероза тубулоинтерстиция ($p < 0,001$) и атрофией эпителия канальцев ($p < 0,001$) концентрация цистатина С сыворотки была значимо выше, при сравнении с группой пациентов со степенью данных морфологических изменений $< 25\%$. Схожие результаты были получены и при сравнении групп с выраженностью данных морфологических изменений менее или более 50% в исследуемых биоптатах: концентрация цистатина С сыворотки была значимо выше при выраженности гломерулосклероза ($p < 0,001$), склероза тубулоинтерстиция ($p < 0,001$) и атрофии эпителия канальцев ($p < 0,001$) более 50% .

В последующем для оценки диагностической значимости и определения пороговых значений цистатина С сыворотки крови в отношении выраженности морфологических изменений и определения пороговых значений данного показателя был проведен ROC-анализ. Результаты представлены в таблицах 28, 29 и на рисунках 6,7.

Таблица 28 – Анализ диагностической ценности уровня цистатина С сыворотки крови в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

Цистатин С сыворотки крови (общая группа N=91)										
	ПЗ sCysC мг/л	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	1,82	60,0	84,3	73,6	0,751	75,0	72,9	3,82	0,47	<0,001
ТИ склероз 25% (0/1)**	1,26	76,7	74,2	75,8	0,810	85,2	65,2	2,97	0,31	<0,001
Атрофия ка- нальцев 25% (0/1)***	1,26	60,3	84,6	54,9	0,790	95,9	26,2	3,92	0,47	<0,001

Примечания: sCysC – цистатин С сыворотки крови, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

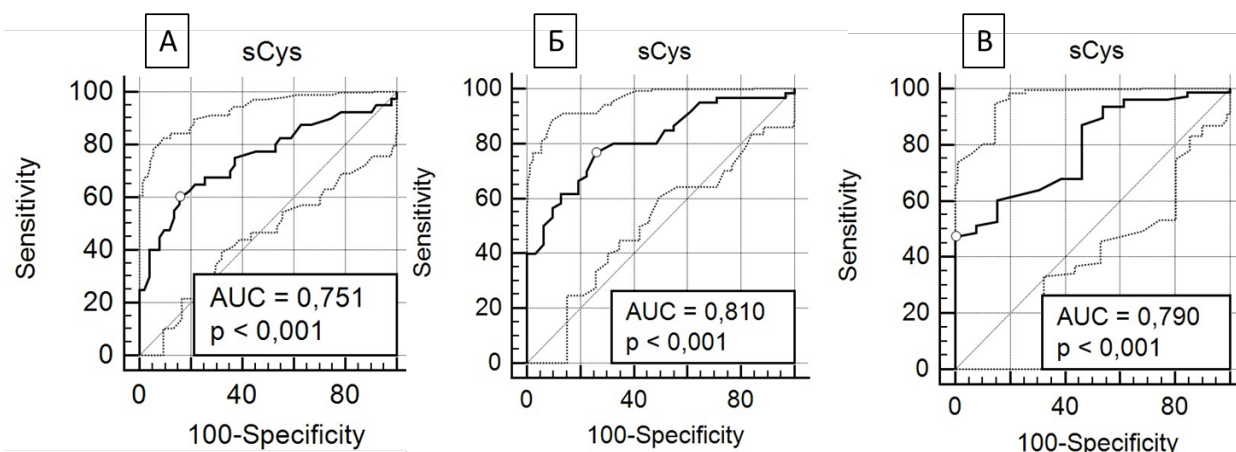


Рисунок 6. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для цистатина С сыворотки крови относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 29 – Анализ диагностической ценности цистатина С сыворотки крови в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

Цистатин С сыворотки крови (общая группа N=91)										
	ПЗ sCysC мг/л	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	1,82	79,0	76,4	75,8	0,824	46,9	93,2	3,34	0,28	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	1,66	88,5	75,4	79,1	0,872	59,0	94,2	3,59	0,15	<0,001

Продолжение таблицы 29

Атрофия канальцев 50% (0/1)***	1,26	94,3	71,4	80,2	0,891	67,3	95,2	3,30	0,08	<0,001
---	------	------	------	------	-------	------	------	------	------	--------

Примечания: sCysC – цистатина С сыворотки крови, ммоль/л, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

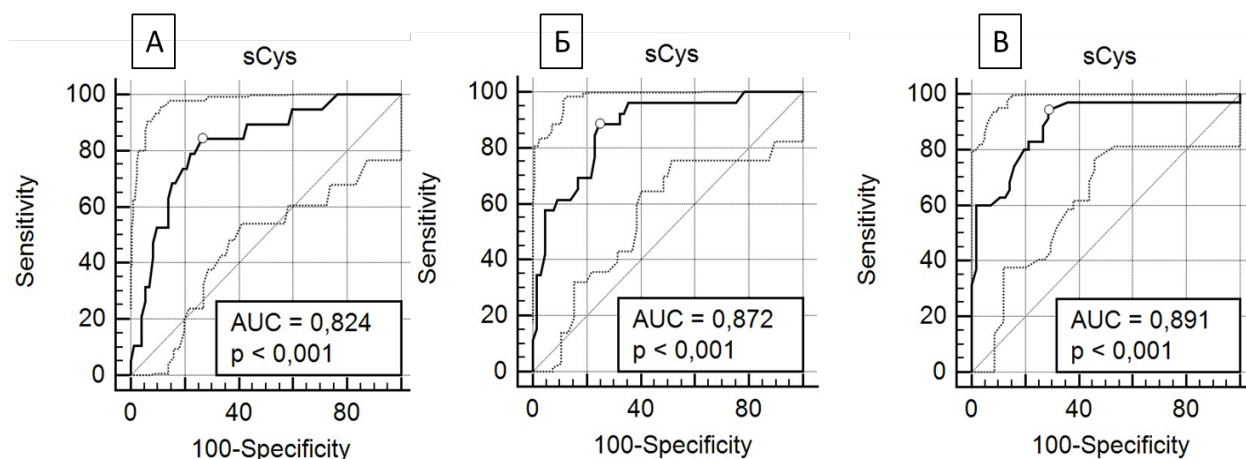


Рисунок 7. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для цистатина С сыворотки крови относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

По результатам ROC-анализа цистатин С сыворотки крови, как и креатинин, обладает умеренной специфичностью в отношении гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза, атрофии канальцев выраженность 25 и менее % и высокочувствительным показателем при оценке более продвинутых стадий (50 и более %) данных морфологических изменений. В то же время умеренные значения ППЦ (45,7%, 59%, 67,3%) позволяют предполагать наличие ложноположительных результатов. При значении

цистатина С сыворотки более 1,82 мг/л с умеренной достоверностью можно говорить о наличии гломерулосклероза 25% (ППЦ 75%, ПОП 3,82), а при меньшей его концентрации – отвергнуть присутствие в биоптате гломерулосклероз 50% и более (ОПЦ 94,6%).

Кроме того, оценка положительной и отрицательной прогностической ценности цистатина С в отношении изменений тубулоинтерстициального компартмента позволяют сделать вывод о том, что при концентрации данного маркера равной или превышающей 1,26 мг/л в сыворотки крови с высокой достоверностью можно говорить о наличии интерстициального склероза и атрофии канальцев не более 25%, а при меньшем уровне данного маркера с высокой достоверностью можно исключить наличие атрофии канальцев выраженностью 50% и более. Также, пороговый уровень менее 1,66 мг/л с высокой вероятностью позволяет отвергнуть (ОПЦ 94,2%) присутствие в биоптате выраженных признаков тубулоинтерстициального склероза (50% и более)

Таким образом, можно заключить, что сывороточная концентрации цистатина С равная 1,82 мг/л является пороговой величиной в оценке выраженность гломерулосклероза, а для оценки атрофии канальцевого эпителия разной степени выраженности и тубулоинтерстициального склероза не более 25% необходимо ориентироваться на уровень 1,26 мг/л.

4.1.2. Сравнительная оценка диагностической значимости креатинина и цистатина С сыворотки крови в отношении различных морфологических повреждений

С целью поиска статистически значимых различий между коэффициентами корреляций креатинина и цистатина С сыворотки с морфологическими изменениями, был выполнен анализ сравнения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена: статистически значимых различий между коэффициентами ранговой корреляции выявлено не было ($p > 0,05$).

По результатам ROC-анализа было установлено, что и креатинин, и цистатин С обладают высокой диагностической значимостью в отношении необратимых морфологических изменений разной степени выраженности как гломерулярного, так и тубу-

лоинтерстициального отдела нефрона. После вычисления значений площади под ROC-кривыми было проведено их попарное сравнение (таблицы 30-35) по методу ДеЛонг для креатинина и цистатина С относительно морфологических изменений.

Таблица 30 – Попарное сравнение площадей ROC-кривых креатинина и цистатина С сыворотки крови относительно выраженности гломерулосклероза 25% в общей группе больных (N=91)

	Cr	Цистатин С
	Различия между площадями под ROC-кривыми	
Cr		0,021*
Цистатин С	0,595**	
	p*	

Примечания: p – уровень статистической значимости; * - математическая разница площадей под ROC-кривыми; ** - величина p при оценке разницы площадей под ROC-кривыми

Таблица 31 – Попарное сравнение площадей ROC-кривых креатинина и цистатина С сыворотки крови относительно выраженности гломерулосклероза 50% в общей группе больных (N=91)

	Cr	Цистатин С
	Различия между площадями под ROC-кривыми	
Cr		0,014*
Цистатин С	0,749**	
	p*	

Примечания: p – уровень статистической значимости; * - математическая разница площадей под ROC-кривыми; ** - величина p при оценке разницы площадей под ROC-кривыми

Таблица 32 – Попарное сравнение площадей ROC-кривых креатинина и цистатина С сыворотки крови относительно выраженности склероза тубулоинтерстиция 25% в общей группе больных (N=91)

	Cr	Цистатин С
	Различия между площадями под ROC-кривыми	
Cr		0,043*
Цистатин С	0,311**	
	p*	

Примечания: p – уровень статистической значимости; * - математическая разница площадей под ROC-кривыми;
 ** - величина p при оценке разницы площадей под ROC-кривыми

Таблица 33 – Попарное сравнение площадей ROC-кривых креатинина и цистатина С сыворотки крови относительно выраженности склероза тубулоинтерстиция 50% в общей группе больных (N=91)

	Cr	Цистатин С
	Различия между площадями под ROC-кривыми	
Cr		0,004*
Цистатин С	0,877**	
	p*	

Примечания: p – уровень статистической значимости; * - математическая разница площадей под ROC-кривыми;
 ** - величина p при оценке разницы площадей под ROC-кривыми

Таблица 34 – Попарное сравнение площадей ROC-кривых креатинина и цистатина С сыворотки крови относительно выраженности атрофии эпителия канальцев 25% в общей группе больных (N=91)

	Cr	Цистатин С
	Различия между площадями под ROC-кривыми	
Cr		0,014*
Цистатин С	0,849**	
	p*	

Примечания: p – уровень статистической значимости; * - математическая разница площадей под ROC-кривыми;
 ** - величина p при оценке разницы площадей под ROC-кривыми

Таблица 35 – Попарное сравнение площадей ROC-кривых креатинина и цистатина С сыворотки крови относительно выраженности атрофии эпителия канальцев 50% в общей группе больных (N=91)

	Cr	Цистатин С
	Различия между площадями под ROC-кривыми	
Cr		0,034*
Цистатин С	0,290**	
	p*	

Примечания: p – уровень статистической значимости; * - математическая разница площадей под ROC-кривыми;
 ** - величина p при оценке разницы площадей под ROC-кривыми

Как видно из представленных данных, статистически значимых различий между площадями под ROC-кривыми для цистатина С и креатинина в отношении различных морфологических изменений получено не было.

Таким образом, можно заключить, что и креатинин, и цистатин С сыворотки крови обладают в равной степени высокой диагностической значимостью в отношении морфологических изменений различных компартментов нефрона. Также, мы показали отсутствие преимуществ цистатина С в качестве маркера выраженности морфологических изменений у пациентов с первичной гломерулярной патологией.

4.1.3. Диагностическая значимость различных методик расчета СКФ в оценке клубочковых и канальцевых повреждений у больных с гломерулопатиями

Для оценки взаимосвязи различных методик расчета СКФ и морфологических изменений из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи с отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

При поиске корреляций между величиной СКФ, вне зависимости от методики ее расчета с различными морфологическими показателями использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена в связи с тем, что исследуемые показатели заметно отличались от нормального распределения.

При проведении корреляционного анализа между выраженностью общего гломерулосклероза и СКФ, рассчитанной по различным формулам, выявлены значимые обратные корреляции для всех методик, что представлено в таблице 36.

Таблица 36 – Корреляции различных методик расчета СКФ с выраженностью глобального гломерулосклероза

Морфологическая форма ГП Формула расчета СКФ	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA-нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)

Продолжение таблицы 36

CCr	p=0,001 r=-0,57	p=0,008 r=-0,51	p=0,004 r=-0,46	p<0,001 r=-0,44
MDRD	p=0,004 r=-0,52	p=0,002 r=-0,58	p=0,001 r=-0,51	p<0,001 r=-0,49
СКДЕPI	p=0,002 r=-0,56	p=0,002 r=-0,58	p<0,001 r=-0,54	p<0,001 r=-0,52
CysHoek	p<0,001 r=-0,67	p=0,002 r=-0,58	p<0,001 r=-0,58	p<0,001 r=-0,53
CysEPI	p<0,001 r=-0,65	p=0,002 r=-0,58	p<0,001 r=-0,57	p<0,001 r=-0,51
CysCrEPI	p<0,001 r=-0,67	p=0,002 r=-0,59	p<0,001 r=-0,57	p<0,001 r=-0,54

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p>0,05$); ГП – гломерулярная патология; ССг – клиренс креатинина, MDRD – СКФ, рассчитанная по формуле MDRD, СКДЕPI – СКФ, рассчитанная по формуле СКДЕPI 2009 с использованием креатинина, CysHoek – СКФ, рассчитанная по формуле Hoek, CysEPI – СКФ, рассчитанная по формуле СКДЕPI 2012 с использованием цистатина С, CysCrEPI - СКФ, рассчитанная по формуле СКДЕPI 2012 с использованием креатинина и цистатина С;

*При сравнении коэффициентов корреляции: $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CCr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{MDRD}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CysHoek}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CrCys}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICys}}$: $p>0,05$

Согласно полученным результатам, выявлены высокосignимые обратные корреляции величины СКФ (вне зависимости от методики расчета) и выраженностью гломерулосклероза в общей группе, а также при ФСГС, МН и IgA-нефропатии. Несмотря на более высокие значения коэффициентов корреляции для формул СКД-EPI в различных ее вариантах, статистически значимых различий с другими методиками при сравнении коэффициентов корреляции получено не было ($\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CCr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{MDRD}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysC}} - \Gamma_{\text{CysHoek}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CrCys}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICys}}$: $p>0,05$).

Данное обстоятельство позволяет высказать предположение о том, что ни одна из представленных формул не имеет достоверного преимущества в качестве оценки степени выраженности гломерулосклероза у пациентов с первичными гломерулопатиями.

Оценка взаимосвязи различных методик расчета СКФ и выраженности тубулоинтерстициального склероза представлена в таблице 37.

Как видно из таблицы 37, при проведении корреляционного анализа между выраженностью тубулоинтерстициального склероза и СКФ, рассчитанной по различным формулам, выявлены значимые обратные корреляции для всех методик. Значимых различий коэффициентов корреляции относительно склероза тубулоинтерстиция между различными методиками расчета СКФ выявлено не было, как в общей группе, так и при отдельных морфологических формах ($\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CCr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{MDRD}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CysHoek}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CrCys}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICys}}$; $p > 0,05$).

Таблица 37 – Корреляции различных методик расчета СКФ с выраженностью склероза тубулоинтерстиция

Морфологическая форма ГП Формула расчета СКФ	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
CCr	$p=0,006$ $r=-0,50$	$p=0,008$ $r=-0,51$	$p<0,001$ $r=-0,65$	$p<0,001$ $r=-0,59$
MDRD	$p=0,012$ $r=-0,47$	$p<0,001$ $r=-0,66$	$p<0,001$ $r=-0,73$	$p<0,001$ $r=-0,64$
CKDEPI	$p=0,007$ $r=-0,50$	$p<0,001$ $r=-0,77$	$p<0,001$ $r=-0,77$	$p<0,001$ $r=-0,69$
CysHoek	$p<0,001$ $r=-0,63$	$p=0,003$ $r=-0,56$	$p<0,001$ $r=-0,74$	$p<0,001$ $r=-0,68$
CysEPI	$p<0,001$ $r=-0,60$	$p<0,001$ $r=-0,63$	$p<0,001$ $r=-0,74$	$p<0,001$ $r=-0,68$
CysCrEPI	$p<0,001$ $r=-0,59$	$p<0,001$ $r=-0,74$	$p<0,001$ $r=-0,79$	$p<0,001$ $r=-0,73$

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; CCr – клиренс креатинина, MDRD – СКФ, рассчитанная по формуле MDRD, CKDEPI – СКФ, рассчитанная по формуле CKDEPI 2009 с использованием креатинина, CysHoek – СКФ, рассчитанная по формуле Ноек, CysEPI – СКФ, рассчитанная по формуле CKDEPI 2012 с использованием цистатина С, CysCrEPI - СКФ, рассчитанная по формуле CKDEPI 2012 с использованием креатинина и цистатина С;

*При сравнении коэффициентов корреляции: $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CCr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{MDRD}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CysHoek}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CrCys}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICys}}$; $p > 0,05$

Оценка взаимосвязи различных методик расчета СКФ и выраженности атрофии эпителия канальцев представлена в таблице 38.

Согласно полученным результатам, выявлены высоко значимые обратные корреляции между выраженностью атрофии эпителия канальцев и всеми исследуемыми методиками расчета СКФ. Значимых различий коэффициентов корреляции относительно атрофии канальцевого эпителия между различными методиками расчета СКФ выявлено не было, как в общей группе, так и при отдельных морфологических формах ($\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CCr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{MDRD}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICr}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CysCr}} - \Gamma_{\text{CysHoek}}$; $\Gamma_{\text{CKD-EPI-CrCys}} - \Gamma_{\text{CKD-EPICys}}$: $p > 0,05$).

Таблица 38 – Корреляции различных методик расчета СКФ с выраженностью атрофии эпителия канальцев

Морфологическая форма ГП Формула расчета СКФ	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
CCr	$p < 0,001$ $r = -0,63$	$p = 0,008$ $r = -0,51$	$p < 0,001$ $r = -0,65$	$p < 0,001$ $r = -0,61$
MDRD	$p < 0,001$ $r = -0,61$	$p < 0,001$ $r = -0,66$	$p < 0,001$ $r = -0,73$	$p < 0,001$ $r = -0,68$
CKDEPI	$p < 0,001$ $r = -0,63$	$p < 0,001$ $r = -0,77$	$p < 0,001$ $r = -0,77$	$p < 0,001$ $r = -0,70$
CysHoek	$p < 0,001$ $r = -0,65$	$p = 0,003$ $r = -0,56$	$p < 0,001$ $r = -0,74$	$p < 0,001$ $r = -0,68$
CysEPI	$p < 0,001$ $r = -0,63$	$p < 0,001$ $r = -0,63$	$p < 0,001$ $r = -0,74$	$p < 0,001$ $r = -0,69$
CysCrEPI	$p < 0,001$ $r = -0,62$	$p < 0,001$ $r = -0,74$	$p < 0,001$ $r = -0,79$	$p < 0,001$ $r = -0,73$

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; CCr – клиренс креатинина, MDRD – СКФ, рассчитанная по формуле MDRD, CKDEPI – СКФ, рассчитанная по формуле CKDEPI 2009 с использованием креатинина, CysHoek – СКФ, рассчитанная по формуле Хока, CysEPI – СКФ, рассчитанная по формуле CKDEPI 2012 с использованием цистатина С, CysCrEPI - СКФ, рассчитанная по формуле CKDEPI 2012 с использованием креатинина и цистатина С;

*При сравнении коэффициентов корреляции: $\Gamma_{CKD-EPI-CysCr}-\Gamma_{Cr}$; $\Gamma_{CKD-EPI-CysCr}-\Gamma_{MDRD}$; $\Gamma_{CKD-EPI-CysCr}-\Gamma_{CKD-EPI-Cr}$; $\Gamma_{CKD-EPI-CysCr}-\Gamma_{CysHoek}$; $\Gamma_{CKD-EPI-CrCys}-\Gamma_{CKD-EPI-Cys}$: $p > 0,05$

В последующем для оценки взаимосвязи между величиной СКФ, рассчитанной по различным методикам и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

По результатам сравнения групп, уровень СКФ был значимо выше в группах пациентов с меньшей выраженностью гломерулосклероза, склероза тубулоинтерстиция или атрофии эпителия канальцев (как при сравнении групп с наличием $<25\%$ и $\geq 25\%$ данных морфологических изменений от исследуемого биоптата, так и при сравнении групп с наличием $<50\%$ и $\geq 50\%$ данных морфологических изменений от исследуемого биоптата) ($p < 0,001$). Результаты представлены на рисунках 8, 9 и 10.

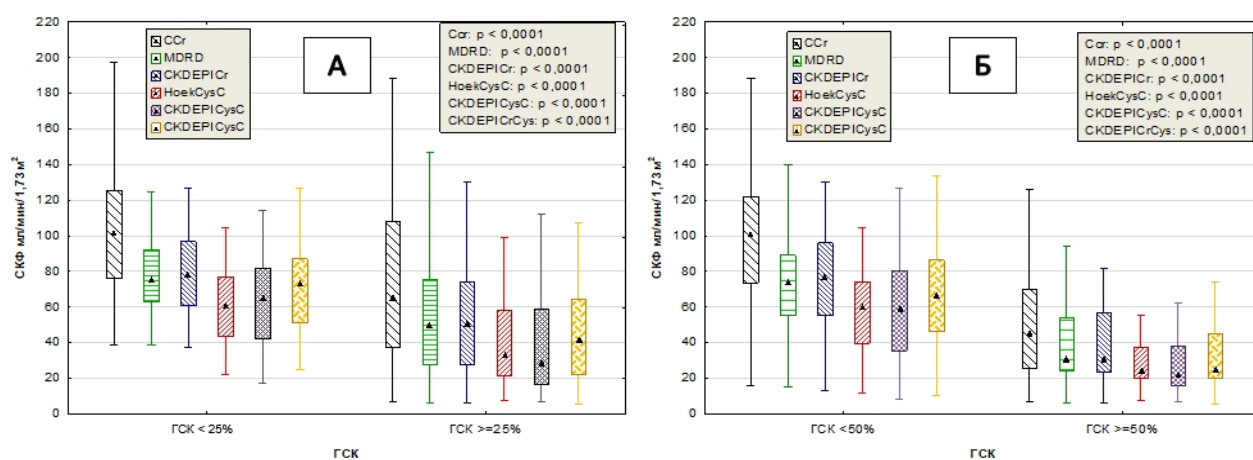


Рисунок 8. Сравнение величины СКФ в зависимости от выраженности гломерулосклероза (ГСК): А – в группах с выраженностью ГСК $<25\%$ и $\geq 25\%$; Б - в группах с выраженностью ГСК $<50\%$ и $\geq 50\%$.

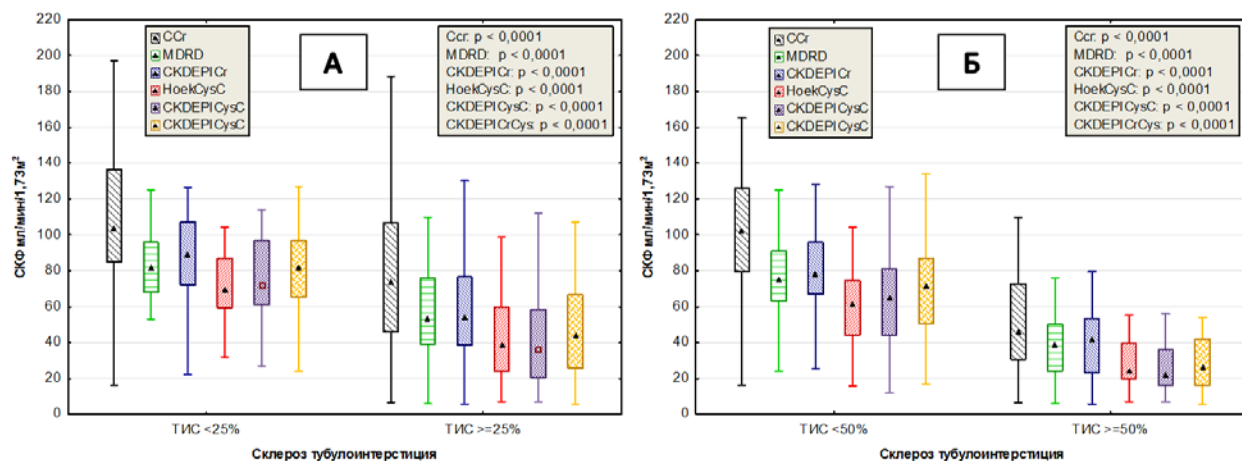


Рисунок 9. Сравнение величины СКФ в зависимости от выраженности склероза тубулоинтерстиция (ТИС): А – в группах с выраженностью ТИС <25% и ≥25%; Б - в группах с выраженностью ТИС <50% и ≥50%.

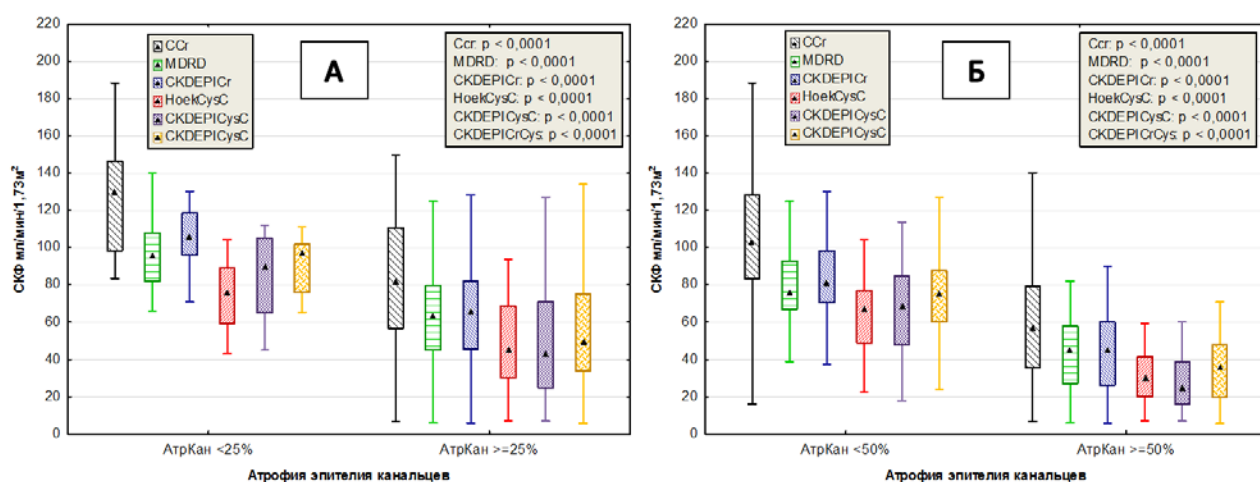


Рисунок 10. Сравнение величины СКФ в зависимости от выраженности атрофии эпителия канальцев (АтрКан): А – в группах с выраженностью АтрКан <25% и ≥25%; Б - в группах с выраженностью АтрКан <50% и ≥50%.

Таким образом, величина СКФ вне зависимости от метода ее определения (по клиренсу креатинина или рассчитанная по формулам), отрицательно и статистически значимо коррелирует с выраженностью склеротических (глобальный гломерулосклероз, тубулоинтерстициальный склероз) и атрофических (атрофия эпителия канальцев) процессов в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях.

С целью оценки диагностической ценности основных формул для расчета СКФ в отношении морфологических изменений, а также поиска пороговой величины СКФ,

позволяющей оценить наличие и выраженность глобального гломерулосклероза, склероза тубулоинтерстиция и атрофии эпителия канальцев, был выполнен ROC-анализ.

Результаты ROC-анализа представлены в таблицах 39, 40

Таблица 39 – Анализ диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

CCr (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	65	55,0	88,2	73,6	0,703	78,6	71,4	4,67	0,51	<0,001
ТИ склероз 25% (0/1)**	79	56,7	87,1	67,0	0,736	89,5	50,9	4,39	0,50	<0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	94	58,9	92,3	63,7	0,809	97,9	27,3	7,67	0,44	<0,001
MDRD (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	51	57,5	88,2	74,7	0,739	79,3	72,6	4,89	0,48	<0,001

Продолжение таблицы 39

ТИ склероз 25% (0/1)**	65	61,7	87,1	70,3	0,754	90,3	54,0	4,78	0,44	<0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	65	52,6	100, 0	59,3	0,834	100,0	26,0	-	0,47	<0,001
СКД-EPICr (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/ми н	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	53	57,5	84,3	72,5	0,750	74,2	71,7	3,67	0,50	<0,001
ТИ склероз 25% (0/1)**	68	65,0	90,3	73,6	0,801	92,9	57,1	6,72	0,39	<0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	83	79,5	84,6	80,2	0,863	96,9	40,7	5,17	0,24	<0,001
HoekCysC (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/ми н	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	38	60,0	84,3	73,6	0,751	75,0	72,9	3,82	0,47	<0,001

Продолжение таблицы 39

ТИ склероз 25% (0/1)**	60	76,7	74,2	75,8	0,810	85,2	62,2	2,97	0,31	<0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	42	47,4	100, 0	54,9	0,787	100	24,1	-	0,53	<0,001
СКД-EPICys (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	32	57,5	76,3	73,6	0,746	76,7	72,1	4,19	0,49	<0,001
ТИ склероз 25% (0/1)**	60	80,0	77,4	79,1	0,817	87,3	66,7	3,54	0,26	<0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	44	51,3	100, 0	58,2	0,810	100,0	25,5	-	0,49	<0,001
СКД-EPICrCys (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	49	70,0	78,3	74,7	0,765	71,8	76,9	3,25	0,38	<0,001

Продолжение таблицы 39

ТИ склероз 25% (0/1)**	62	73,3	83,9	76,9	0,835	89,8	61,9	4,55	0,32	<0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	64	64,1	100, 0	69,2	0,876	100,0	31,7	-	0,36	<0,001

Примечания: р – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП– специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

По результатам ROC-анализа величина СКФ, вне зависимости от методики ее расчета, позволяет с высокой диагностической значимостью (AUC 0,7-0,8) дифференцировать пациентов, как по наличию ранних ($<25\%$ или $\geq 25\%$ изменений от исследуемого биоптата), так и более поздних ($<50\%$ или $\geq 50\%$ изменений от исследуемого биоптата) признаков гломерулосклероза, тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев.

Таблица 40 – Анализ диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении морфологических изменений, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

CCr (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p

Продолжение таблицы 40

Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	57	68,4	88,9	84,6	0,818	61,9	91,4	6,16	0,36	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	75	80,8	78,5	79,1	0,839	60,0	90,1	3,75	0,25	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	79	77,1	80,4	79,1	0,821	71,7	84,9	3,93	0,28	<0,001
MDRD (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	54	79,0	75,0	75,8	0,802	45,5	93,1	3,16	0,28	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	50	76,9	87,7	84,6	0,858	71,4	90,5	6,25	0,26	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	64	82,9	80,4	81,3	0,859	72,5	88,2	4,22	0,21	<0,001
СКД-EPICr (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/мин	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p

Продолжение таблицы 40

Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	62	84,2	69,4	72,5	0,833	42,1	94,3	2,76	0,26	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	62	88,5	76,9	80,2	0,865	60,50	94,3	3,83	0,15	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	62	82,7	83,9	83,5	0,863	76,3	88,7	5,16	0,20	<0,001
НоеkCysC (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/ми н	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	40	84,2	73,4	75,8	0,823	45,7	94,6	3,19	0,21	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	44	8,5	75,4	79,1	0,871	59,0	94,2	3,59	0,15	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	58	94,3	71,4	80,2	0,890	67,3	95,2	3,30	0,08	<0,001
СКD-EPICys (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/ми н	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p

Продолжение таблицы 40

Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	27	73,7	84,7	82,4	0,825	56,0	92,4	4,82	0,31	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	41	88,5	77,0	80,2	0,867	60,5	94,3	3,83	0,15	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	41	80,0	82,1	81,3	0,882	73,7	86,8	4,48	0,24	<0,001
СКД-EPICrCys (общая группа N=91)										
	ПЗ СКФ, мл/ми н	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	46	84,2	73,6	75,8	0,846	45,7	94,6	3,19	0,21	<0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	48	88,5	80,0	82,4	0,885	63,9	94,5	4,42	0,14	<0,001
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	54	91,4	80,4	84,6	0,892	74,4	93,7	4,65	0,11	<0,001

Примечания: p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

Так же, следует отметить, что диагностическая значимость всех методик определения СКФ выше при более выраженных признаках гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза или атрофии канальцев (при сравнении групп с $<50\%$ или $\geq 50\%$ изменений от исследуемого биоптата величина AUC составляет $> 0,8$).

Таким образом, как по результатам линейного корреляционного анализа, ROC-анализа, а также сравнения групп, величина СКФ, вне зависимости от методики ее расчета, тесно обратно взаимосвязана со всеми исследуемыми морфологическими параметрами (гломерулосклероз, склероз тубулоинтерстиция, атрофия эпителия канальцев) и обладает высокой диагностической значимостью. Однако оценка полученных пороговых значения СКФ по различным методикам позволяет заключить, что лишь клиренс креатинина является наиболее ранней методикой и отражающей наличие начальных изменений уже на 2 стадии ХБП.

4.1.4. Сравнительная оценка различных методик расчета СКФ в отношении морфологических повреждений

В предыдущей главе было показано, что все формулы, как с использованием креатинина или цистатина С, а также их комбинация с высокой диагностической значимостью отражают наличие как ранних (25% выраженности), так и умеренных (50% выраженности) морфологических изменений, таких как гломеруло-, тубулоинтерстициальный склероз, атрофия канальцевого эпителия. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении морфологических изменений представлено на рисунках 11-16.

При проведении попарного сравнение площадей под ROC-кривыми по методу Де-Лонг, статистически значимых различий между площадями под ROC-кривыми для всех исследуемых нами формул относительно гломерулосклероза (вне зависимости от степени его выраженности), а также склероза тубулоинтерстиция и атрофии эпителия канальцев, выраженностью 50% выявлено не было. В отношении же склероза тубулоинтерстиция в 25% выявлены различия между клиренсом креатинина ($p=0,010$), формулой MDRD ($p=0,004$) и комбинированной формулой (CKD-EPI_{CysCr}). Также, установлены значимые различия в площадях под ROC-кривыми между комбинированной формулой и другими методиками расчета СКФ с использованием только цистатина С,

в отношении атрофии канальцевого эпителия, выраженностью в 25% (формула Ноек - CKD-EPICysCr: $p=0,023$; CKD-EPICys - CKD-EPICysCr: $p=0,034$).

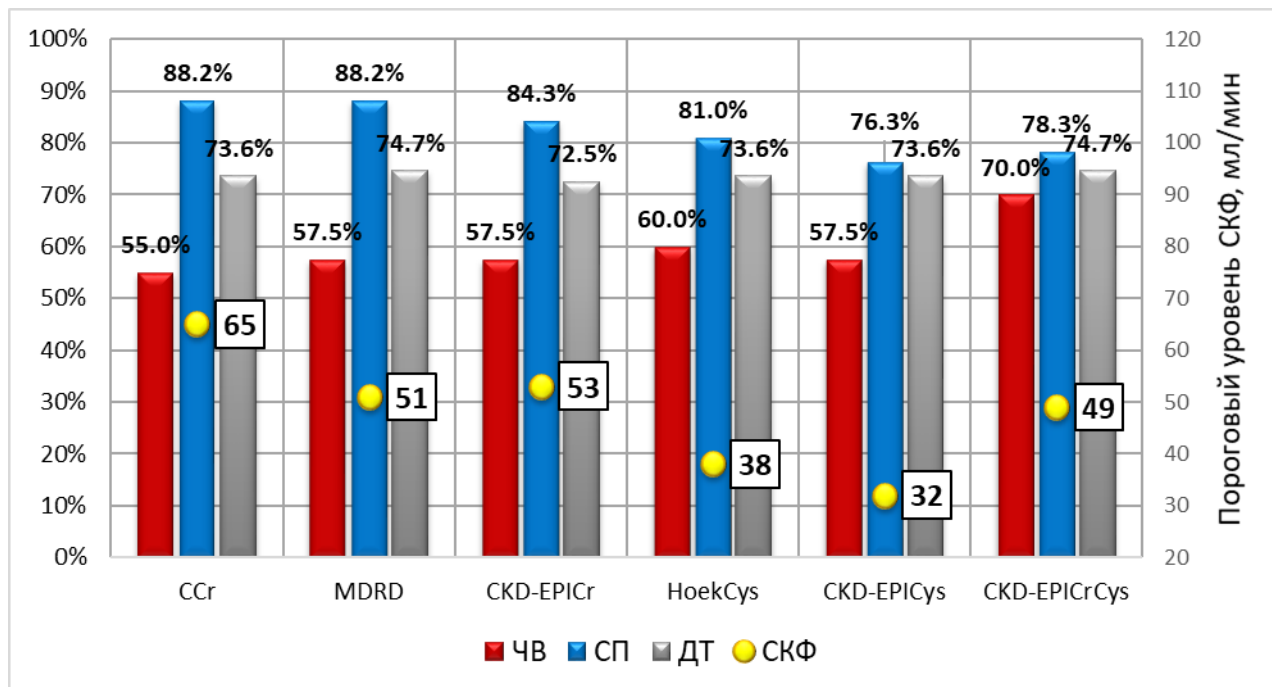


Рисунок 11. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении глобального гломерулосклероза, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

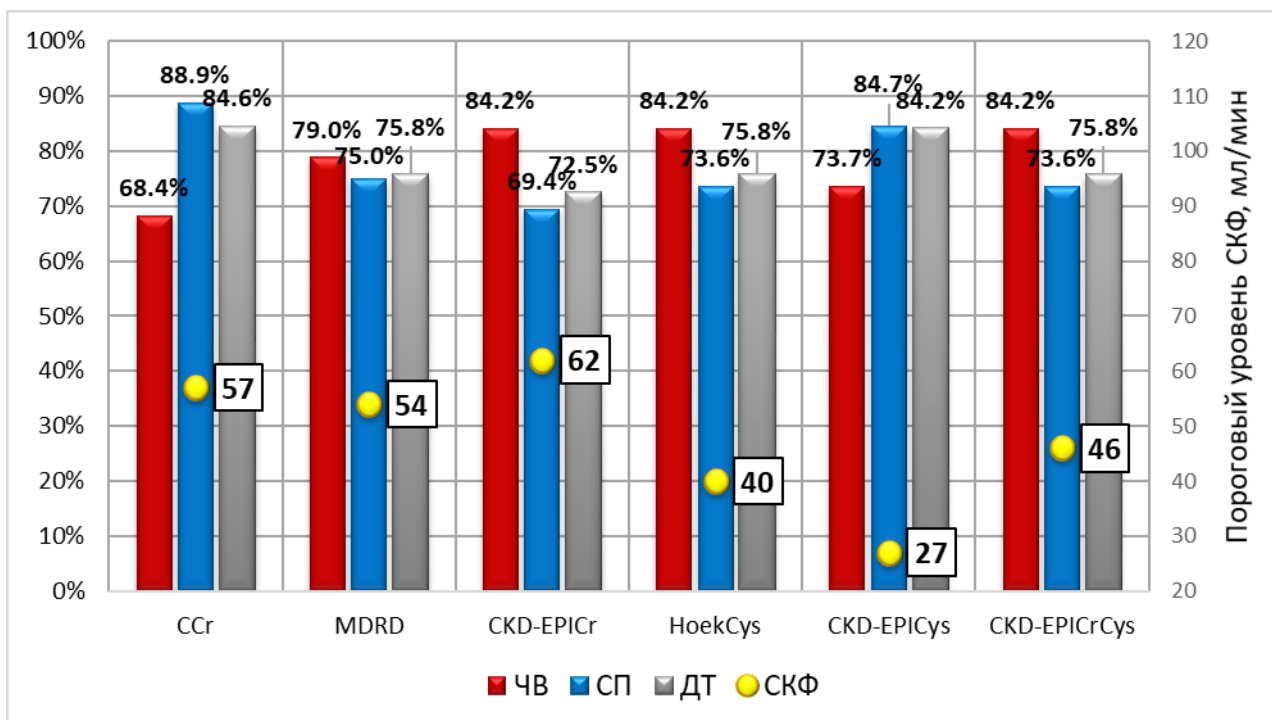


Рисунок 12. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении глобального гломерулосклероза, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

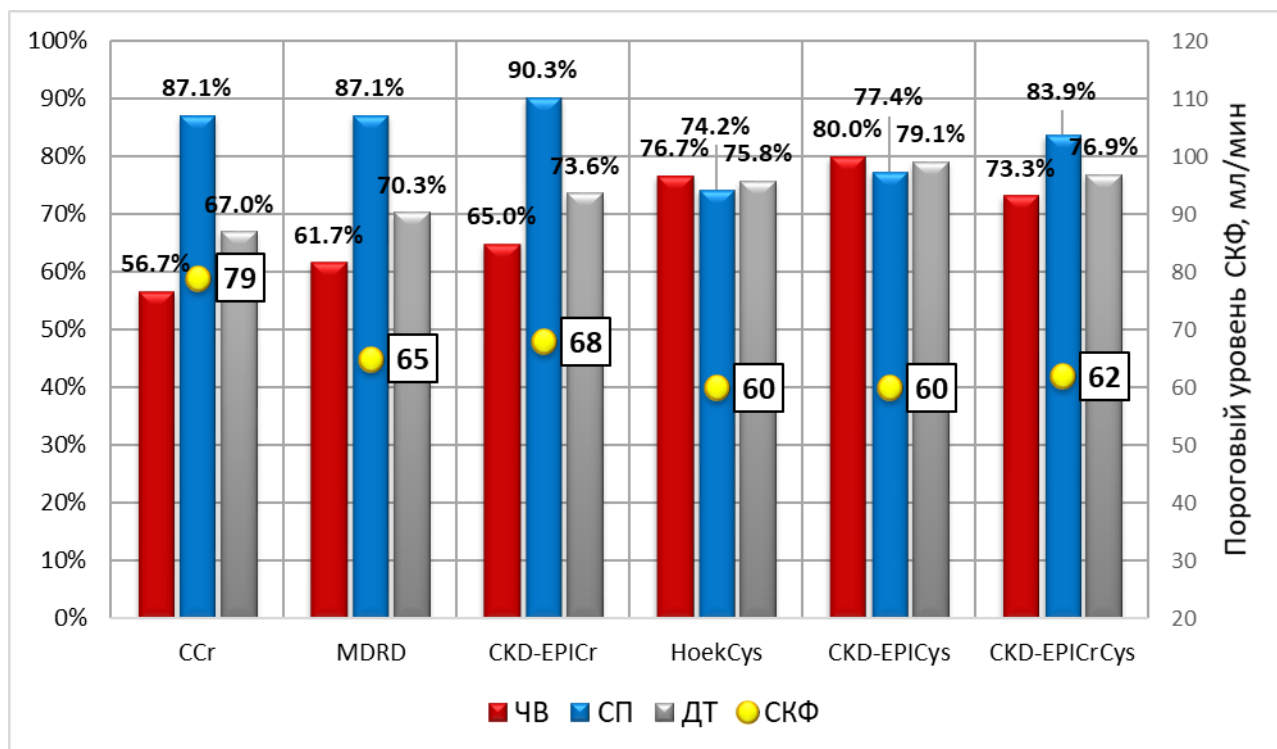


Рисунок 13. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении склероза тубулоинтерстиция, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

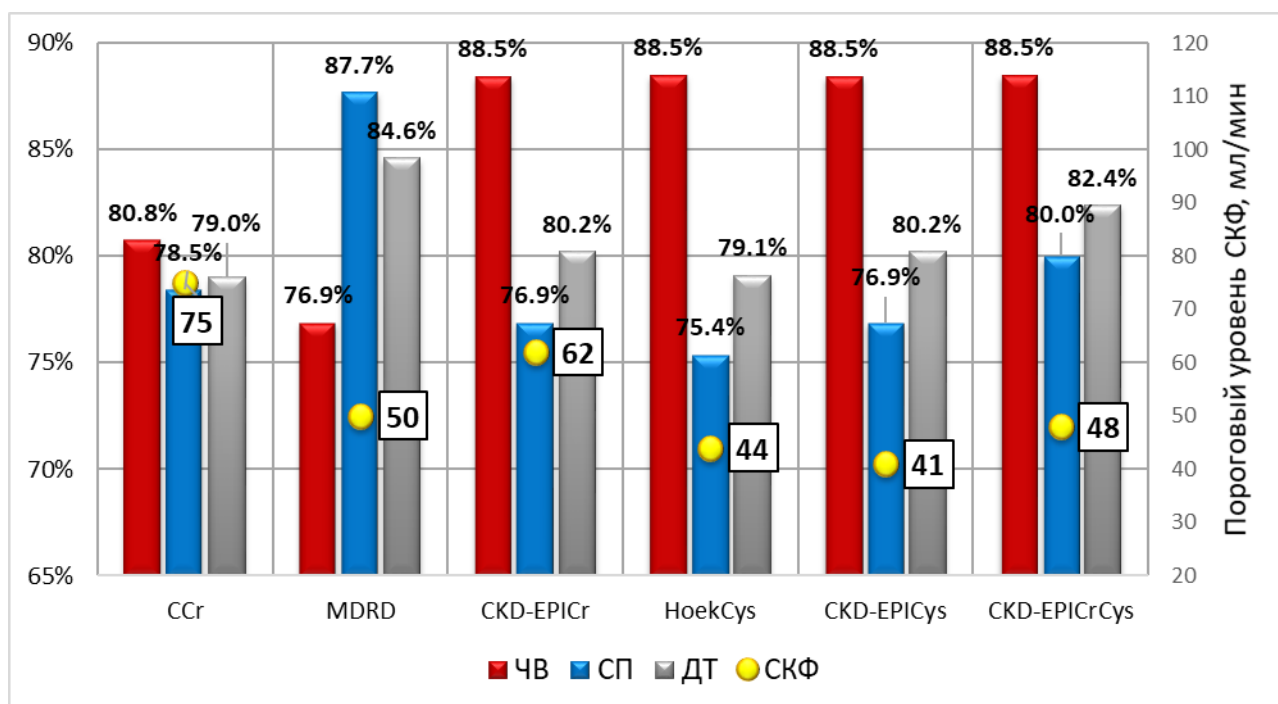


Рисунок 14. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении склероза тубулоинтерстиция, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

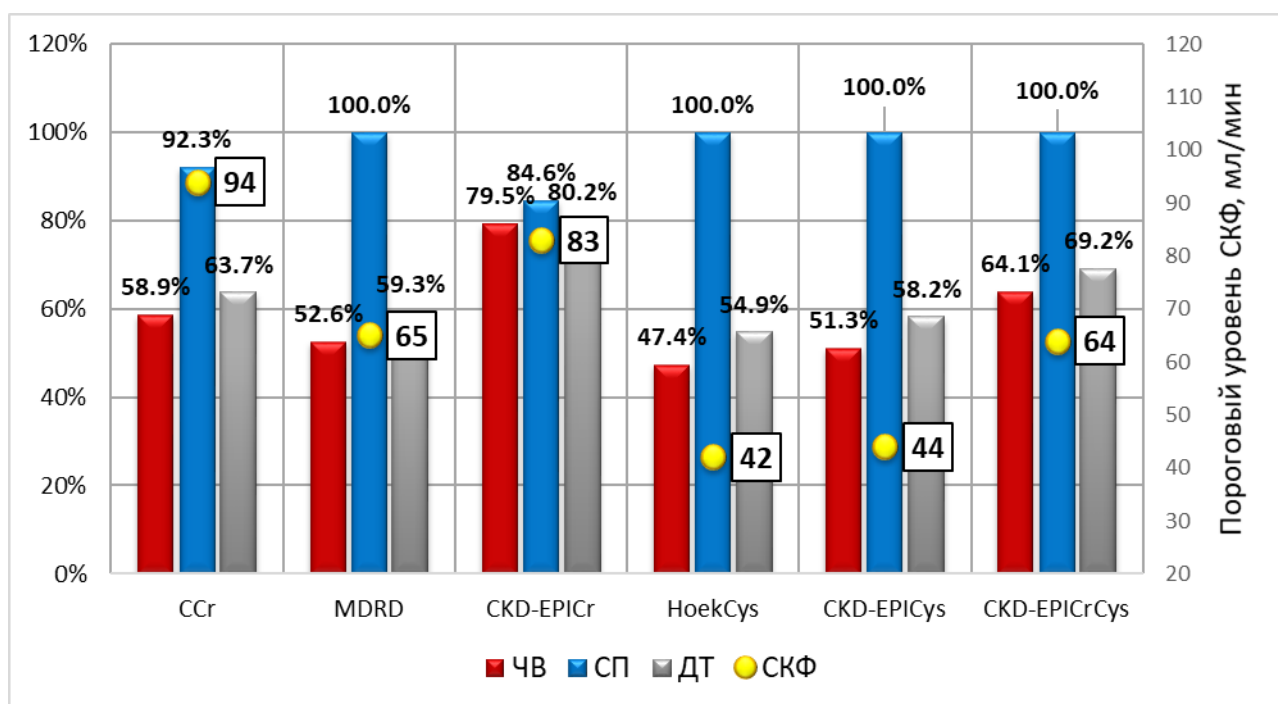


Рисунок 15. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении атрофии канальцевого эпителия, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

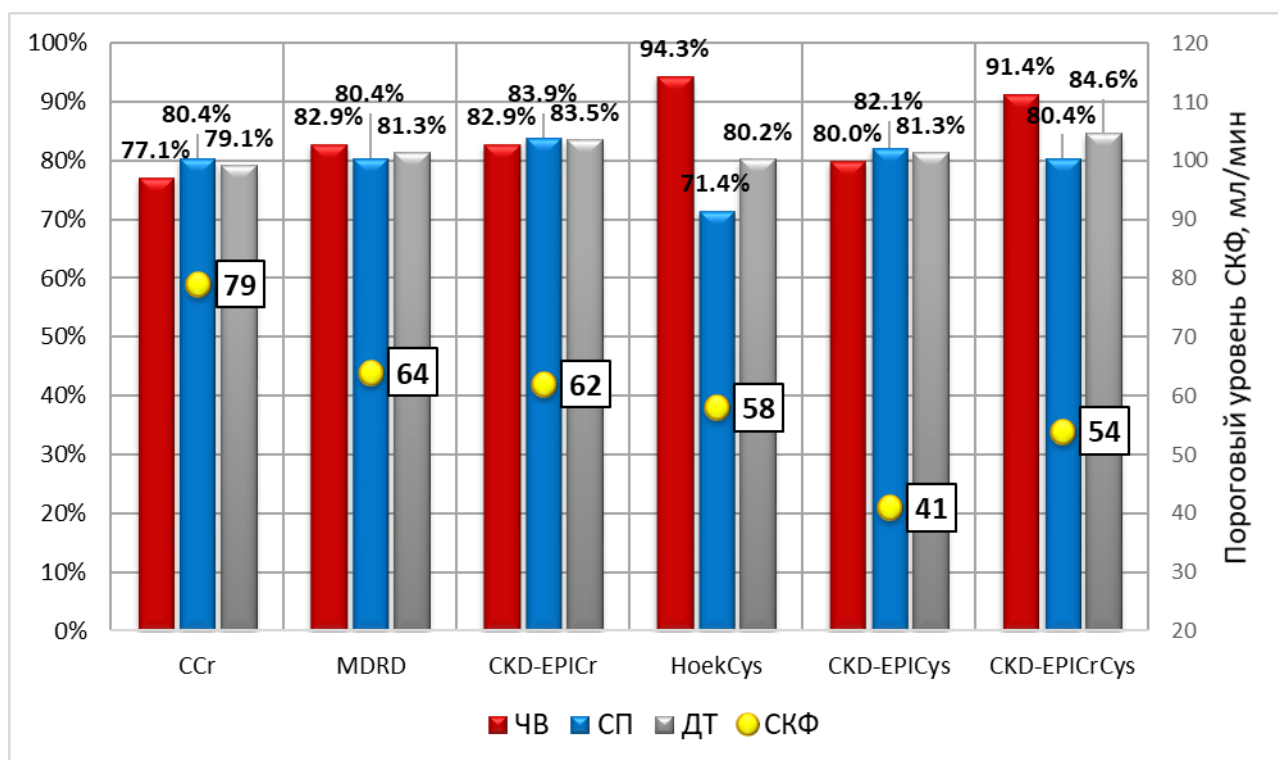


Рисунок 16. Сравнение диагностической ценности различных методик расчета СКФ в отношении атрофии канальцевого эпителия, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

Таким образом, величина СКФ вне зависимости от методики ее расчета обладает высокой диагностической значимостью в отношении оценки как склеротических, так и атрофических процессов в почечной паренхиме различной степени выраженности при первичных гломерулопатиях. Однако анализ пороговых значений уровня СКФ, рассчитанных по различным методикам, ориентируясь на которые можно достоверно судить о различной степени выраженности морфологических изменений в почечной паренхиме, позволил выявить существенные диагностические различия между ними. Так, только СКФ, рассчитанная по клиренсу креатинина, позволяет вынести достоверное суждение о различной степени выраженности склеротических и атрофических изменений в почечной паренхиме при более высоких значениях показателя СКФ, соответствующего преимущественно ранним стадиям ХБП (1-ой и 2-ой), результаты представлены в таблице 41.

Таблица 41 – Пороговые значения СКФ в мл/мин, рассчитанной по различным методикам, в диагностике склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме различной степени выраженности

Формула расчета СКФ	ГСК		ТИС		Атрофия эпителия канальцев	
	25%	50%	25%	50%	25%	50%
CCr	65	57	79	75	94	79
MDRD	51	54	65	50	65	64
CKD-EPICr	53	62	68	62	83	62
HoekCysC	38	40	60	44	42	58
CKD-EPICys	32	27	60	41	44	41
CKD- EPICrCys	49	46	62	48	64	54

Примечания: ГСК – гломерулосклероз; ТИС – тубулоинтерстициальный склероз.

При использовании других формул расчета СКФ (таблица 42), те же диагностические задачи решаются на основании более низких значений СКФ, соответствующих более продвинутым стадиям ХБП (3а и более). При ориентировке врача на данные формулы в вынесении суждения о степени выраженности морфологических изменений в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях, могут возникнуть существенные затруднения и даже ошибки в принятии решения о тактике ведения и терапии пациента.

4.1.5. Диагностическая значимость уровня NGAL сыворотки крови в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

Концентрация NGAL сыворотки крови была определена у 78 пациентов с первичной гломерулярной патологией, включившей в себя 46 мужчин (59%) и 32 женщины (41%), медиана возраста 39,5 (29; 56) лет.

Распределение по морфологическим формам, а также уровень сывороточного NGAL пациентов с различной гломерулярной патологией представлены в таблице 42.

**Таблица 42 – Результаты исследования NGAL сыворотки у пациентов с
гломерулярной патологией**

Морфологи- ческая форма ГП	БМИ (N=14)	ФСГС (N=19)	МН (N=21)	IgA- нефропа- тия (N=24)	Общая группа (N=78)	Межгруппо- вые разли- чия p
Показатели	1	2	3	4	5	
NGAL сыво- ротки крови, нг/л m (25-75%)	139,7 (99,7; 167,7)	143,6 (103,2; 191,3)	133,7 (104,3; 164,3)	110,7 (75,3; 138,7)	123,93 (91,2; 167,7)	p(2/4)=0,048

Примечания: НЗ – не значимо ($p > 0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах;

ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Как видно из таблицы 42, концентрация NGAL в крови была несколько выше в группе с ФСГС при сравнении с больными с IgA-нефропатией ($p=0,048$).

По результатам линейного корреляционного анализа уровень NGAL сыворотки обратно коррелировал с СКФ (вне зависимости от методики расчета СКФ): для ССг в общей группе ($p=0,008$, $r=-0,33$), при ФСГС ($p=0,013$, $r=-0,56$) и IgA-нефропатии ($p=0,002$, $r=-0,60$).

В свою очередь, взаимоотношений между уровнем NGAL сыворотки крови и суточной протеинурией выявлено не было ни при одной из исследуемых морфологических форм гломерулярной патологии.

Для оценки взаимосвязи NGAL сыворотки крови с морфологическими изменениями из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

Величина NGAL сыворотки крови коррелировала со всеми исследованными нами морфологическими параметрами у пациентов с IgA-нефропатией (см таблицу 43), в общей группе – с гломерулосклерозом и атрофией эпителия канальцев, а в группе пациентов с ФСГС – с гломерулосклерозом. При МН корреляций уровня NGAL сыворотки крови и морфологическими изменениями выявлено не было.

Таблица 43 – Корреляции NGAL сыворотки крови с морфологическими параметрами

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=19)	МН (N=21)	IgA- нефропатия (N=24)	Общая группа (N=64)
Гломерулосклероз	p=0,023 r=0,52	H3	p=0,017 r=0,48	p=0,018 r=0,30
Склероз тубулоинтерстиция	H3	H3	p=0,038 r=0,43	H3
Атрофия эпителия канальцев	H3	H3	p=0,002 r=0,59	p=0,035 r=0,27

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; H3 - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем NGAL сыворотки крови и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

У пациентов, с выраженностью гломерулосклероза более 25% от исследуемого биоптата, концентрация NGAL сыворотки была значимо выше при сравнении с группой пациентов, у которых степень гломерулосклероза составила менее 25% от исследуемого биоптата ($p < 0,001$).

Статистически значимых различий между группами пациентов с разной степенью выраженности склероза тубулоинтерстиция получено не было ($p > 0,05$).

Наличие незначительных признаков (<25% от исследуемого биоптата) атрофии эпителия канальцев, также значимо не сказывалась на величине sNGAL ($p > 0,05$).

В свою очередь, в группе с выраженными признаками атрофии канальцевого эпителия (≥ 50 % от исследуемого биоптата) содержание NGAL в сыворотке было значимо ниже, при сравнении с группой пациентов с атрофией эпителия канальцев <50% от исследуемого биоптата ($p=0,001$).

Для оценки диагностической значимости NGAL сыворотки крови в качестве маркера морфологических изменений и определения пороговых значений был выполнен ROC-анализ. Результаты представлены в таблицах 44, 45 и на рисунках 17, 18.

Таблица 44 – Анализ диагностической ценности NGAL сыворотки крови в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

NGAL сыворотки крови (общая группа N=64)										
	ПЗ sNGAL нг/л	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	р
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	100,26	90,6	53,1	71,9	0,737	65,9	85,00	1,93	0,18	<0,001
ТИ скле- роз 25% (0/1)**	89,58	85,9	37,9	62,5	0,614	61,7	64,7	1,33	0,45	0,269
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	100,17	32,7	88,9	40,6	0,584	94,7	17,8	2,95	0,76	0,396

Примечания: sNGAL – NGAL сыворотки крови, р – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

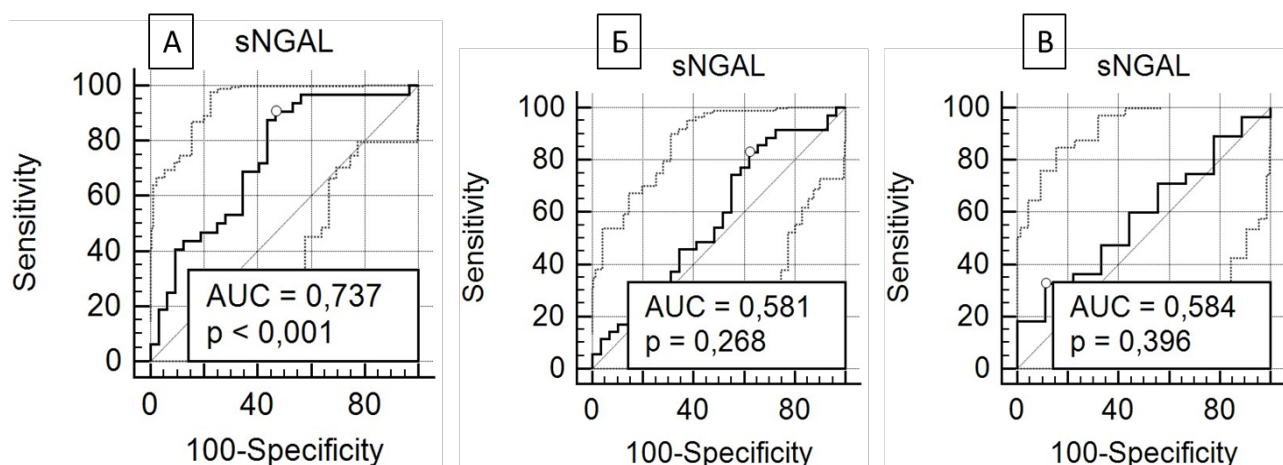


Рисунок 17. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=64) для NGAL сыворотки крови относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 45 – Анализ диагностической ценности NGAL сыворотки крови в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

NGAL сыворотки крови (общая группа N=64)										
	ПЗ sNGAL нг/л	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	89,58	100	30,0	45,3	0,614	28,6	100,0	1,43	0,0	0,133
ТИ скле- роз 50% (0/1)**	100,26	93,3	38,8	51,6	0,660	31,8	95,0	1,52	0,17	0,049
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	107,73	90,9	52,4	65,6	0,737	50,0	91,7	1,91	0,17	<0,001

Примечания: sNGAL – NGAL сыворотки крови, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП– специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь

под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq$ 50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq$ 50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq$ 50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

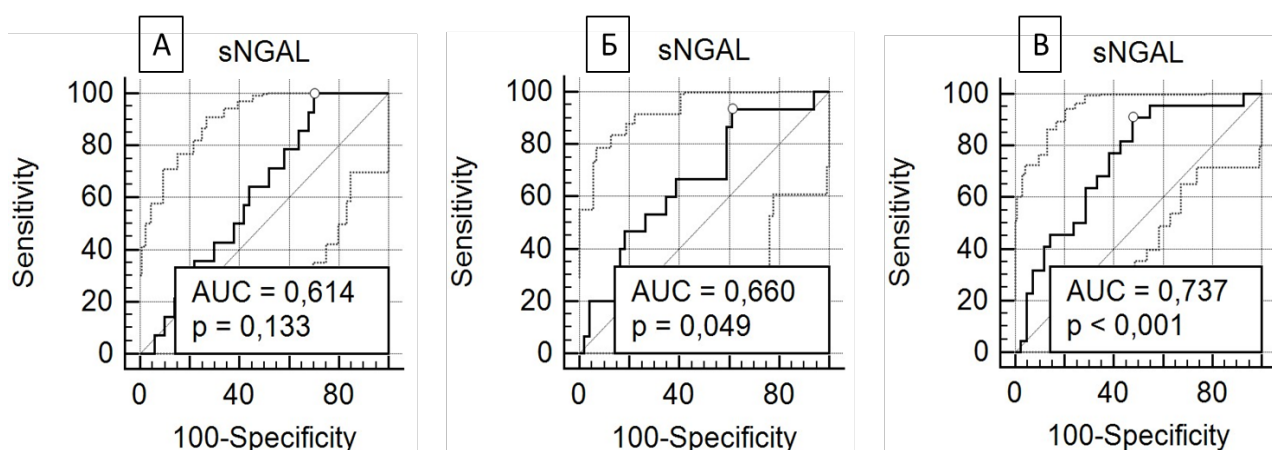


Рисунок 18. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=64) для sNGAL – NGAL сыворотки крови относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

Как видно из таблиц 44 и 45, концентрация NGAL в сыворотке крови 100, 26 нг/л позволяет диагностировать гломерулосклероз в 25%, с чувствительностью 90,6% и специфичностью 53,1%, при этом ППЦ составляет лишь 65,9%, что может указывать на большое число ложноположительных результатов. С другой стороны, при концентрации NGAL меньше данного порогового уровня с высокой достоверностью можно отвергнуть представление о ГСК в 25% (ОПЦ 85%, ООП 0,18) и атрофии канальцев в 50% (ОПЦ 95%, ООП 0,10). В отношении склероза тубулоинтерстиция различной степени выраженности, а также продвинутых стадий гломерулосклероза, применение NGAL сыворотки крови недостоверно.

Следовательно, NGAL сыворотки крови с практической точки зрения следует использовать тогда, когда в силу каких-либо клинических обстоятельств необходимо у постели больного с гломерулопатией отвергнуть наличие в почечной паренхиме гломерулосклероза в 25% и атрофии эпителия канальцев 50% выраженности. В этом от-

ношении показательными будут концентрации NGAL в сыворотки крови 100 и менее нг/мл.

4.2. Определение диагностической ценности мочевой экскреции биомаркеров в оценке клубочковых и канальцевых повреждений у пациентов с гломерулопатиями

4.2.1. Диагностическая значимость мочевой экскреции трансферрина в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

У пациентов с БМИ и ФСГС мочевая экскреция трансферрина была выше, при сравнении с группой с IgA-нефропатией, что соотносилось с выраженностью протеинурии при данных морфологических формах (соответственно: 9,54 (5,76; 13,00) г/сут и 7,20 (3,89; 15,23) г/сут). Статистически значимых различий по уровню трансферрина мочи между группами больных с БМИ, ФСГС и МН выявлено не было. Результаты представлены в таблице 46.

Таблица 46 – Экскреция трансферрина с мочой у пациентов с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП	БМИ (N=5)	ФСГС (N=20)	МН (N=20)	IgA- нефропатия (N=29)	Общая группа (N=74)	Межгрупповые различия р
Показатели	1	2	3	4	5	6
Трансферрин мочи, мг/сут m (25-75%)	209,88 (97,94; 242,98)	139,96 (83,23; 294,00)	153,31 (30,24; 233,36)	66,70 (10,37; 102,45)	90,32 (26,63; 209,88)	p(1/4)=0,041 p(2/4)=0,002

Примечания: НЗ - не значимо ($p > 0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

При исследовании корреляционной связи экскреции трансферрина с мочой и величины СКФ при всех морфологических формах гломерулярной патологии статистиче-

ски значимых корреляций выявлено не было ($p > 0,05$), вне зависимости от методики расчета СКФ.

Были получены высоко значимые корреляции между уровнем трансферрина мочи и суточной протеинурией как в общей группе ($p < 0,001$, $r=0,81$), так и при всех морфологических формах: БМИ ($p=0,037$, $r=0,9$), ФСГС ($p < 0,001$, $r=0,82$), МН ($p < 0,001$, $r=0,74$) и IgA-нефропатии ($p < 0,001$, $r=0,73$). Статистически значимых различий коэффициентов ранговой корреляции Спирмена выявлено не было ($p > 0,05$), вероятно, ввиду небольшой численности выборок.

При исследовании взаимосвязи мочевой экскреции трансферрина с морфологическими изменениями (из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона, а также высокой селективности протеинурии при данной нозологии) были выявлены прямые корреляции между уровнем трансферрина мочи и склерозом тубулоинтерстиция, а также атрофией эпителия канальцев только у пациентов с IgA-нефропатией (таблица 47).

Таблица 47 – Корреляции уровня мочевой экскреции трансферрина с морфологическими изменениями у пациентов с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=20)	МН (N=20)	IgA-нефропатия (N=29)	Общая группа (N=69)
Гломерулосклероз	НЗ	НЗ	НЗ	НЗ
Склероз тубулоинтерстиция	НЗ	НЗ	$p=0,043$; $r=0,38$	НЗ
Атрофия эпителия канальцев	НЗ	НЗ	$p=0,039$; $r=0,38$	НЗ

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ-не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Учитывая то обстоятельство, что значимые линейные корреляции уровня трансферринургии с морфологическими изменениями получены были лишь для пациентов с

IgA-нефропатией, последующий анализ (сравнение групп, ROC-анализ) выполнялся для группы с данной морфологической формой гломерулярной патологии.

Для оценки взаимосвязи между уровнем трансферринурии и выраженностью морфологических изменений все пациенты с IgA-нефропатией последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

По результатам сравнения групп было установлено, что статистически значимых различий в величине экскреции трансферрина с мочой в зависимости от выраженности гломерулосклероза выявлено не было ($p > 0,05$). В свою очередь, у пациентов с выраженностью склероза тубулоинтерстиция и атрофии эпителия канальцев $\geq 25\%$ экскреция трансферрина была значимо выше ($p=0,040$).

В группах со степенью склероза тубулоинтерстиция, атрофии канальцевого эпителия $< 50\%$ или $\geq 50\%$ от исследуемого биоптата, экскреция трансферрина с мочой значимо не различалась ($p > 0,05$).

С целью оценки диагностической значимости мочевой экскреции трансферрина в качестве маркера морфологических изменений у пациентов с IgA-нефропатией был проведен ROC-анализ (таблицы 48,49 и рисунки 19,20).

Таблица 48 – Анализ диагностической ценности уровня суточной трансферринурии в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при IgA-нефропатии

Суточная экскреция трансферрина с мочой (N=29)										
	ПЗ Тр, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	25,18	86,7	64,3	75,9	0,662	72,2	81,8	2,43	0,21	0,151

Продолжение таблицы 48

ТИ скле- роз 25% (0/1)**	31,92	81,3	69,2	75,9	0,726	76,5	75,0	2,64	0,27	0,031
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	5,10	88,9	100, 0	89,7	0,994	100	40,0	1,78	0,11	< 0,001

Примечания: Тр – трансферрин мочи, р – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

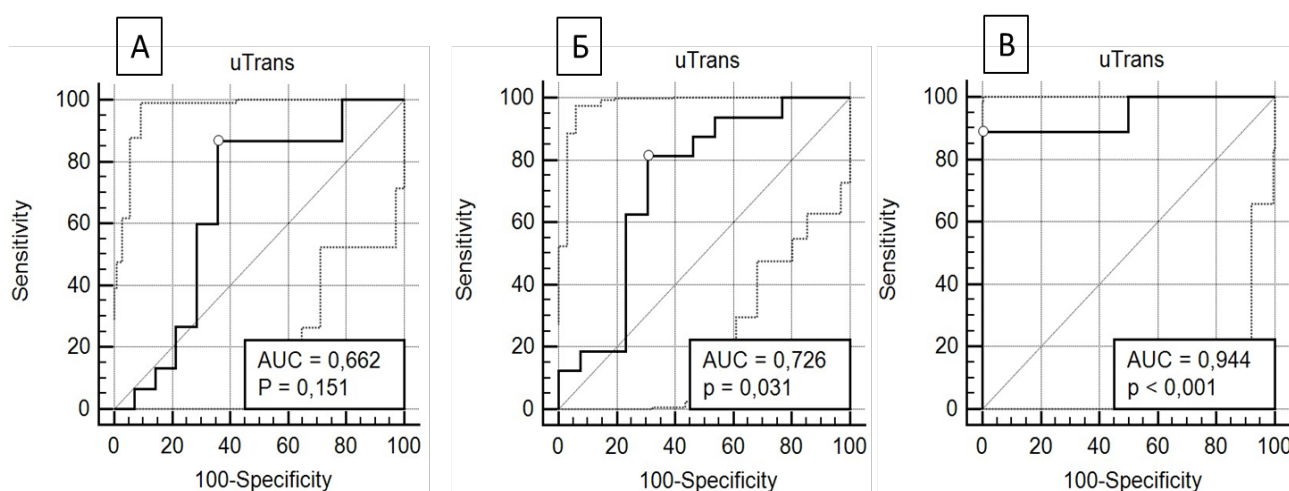


Рисунок 19. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в группе с IgA-нефропатией (N=29) для трансферрина мочи относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

По результатам ROC-анализа, использование трансферрина мочи в качестве маркера морфологических изменений достоверно лишь для оценки тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцев выраженностью 25%. Согласно полученным дан-

ным концентрация трансферрина мочи равная или более 5,10 мг/сут является высоко достоверным маркером наличия атрофии канальцевого эпителия в 25% при IgA-нефропатии (чувствительность – 88%, специфичность – 100%, ППЦ – 100%). В тоже время, пороговый уровень в 31,92 мг/сут свидетельствует с умеренной достоверностью о наличии тубулоинтерстициального склероза в 25% (чувствительность – 81,3%, специфичность – 69,2%, ППЦ – 76,5%), а при значении экскреции трансферрина мочи меньших данного уровня можно предполагать отсутствие данных изменений (ОПЦ 75%, ООП – 0,27).

Таблица 49 – Анализ диагностической ценности суточной трансферинурии в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при IgA-нефропатии

Суточная экскреция трансферрина с мочой (N=29)										
	ПЗ Тр, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	25,18	88,9	50,0	62,1	0,572	44,4	90,9	1,78	0,22	0,513
ТИ склероз 50% (0/1)**	51,52	100	54,1	62,1	0,642	31,2	100	2,18	0,00	0,179
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	51,52	81,8	61,1	69,0	0,672	56,2	84,6	2,10	0,30	0,105

Примечания: Тр – трансферрин мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

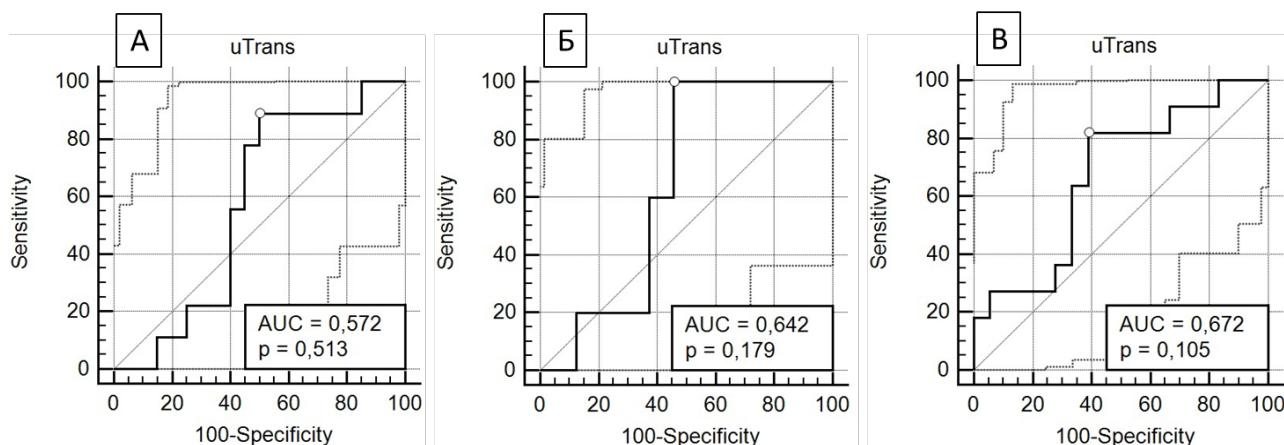


Рисунок 20. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в группе с IgA-нефропатией (N=29) для трансферрина мочи относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

Таким образом, можно сделать вывод о том, что использование трансферрина мочи при IgA-нефропатии свидетельствует о наличии ранних изменений канальцевого эпителия и склероза тубулоинтерстиция при значении, превышающем 5,1 и 31,92 мг/сут, соответственно.

4.2.2. Диагностическая значимость мочевой экскреции иммуноглобулина G в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

По результатам анализа, экскреция IgG с мочой была меньше у пациентов с IgA-нефропатией по сравнению с группами с ФСГС и МН. Статистически значимых различий по уровню IgG мочи между больными с ФСГС, МН и БМИ выявлено не было (таблица 50).

При исследовании взаимоотношений между экскрецией иммуноглобулина G с мочой и величиной СКФ, статистически значимые обратные корреляции были выявлены только при ФСГС ($p=0,015$, $r=-0,53$) и IgA-нефропатии ($p=0,045$, $r=-0,38$). Также, были получены значимые прямые корреляции между уровнем иммуноглобулина G мочи и суточной протеинурией как в общей группе ($p < 0,001$, $r=0,81$), так и при некоторых морфологических формах: ФСГС ($p < 0,001$, $r=0,83$), МН ($p < 0,001$, $r=0,69$) и IgA-нефропатии ($p < 0,001$, $r=0,75$). Корреляции между уровнем экскреции данного мар-

кера и суточной потерей белка при БМИ обнаружено не было ($p>0,05$), что подтверждает представление о высоко селективном характере протеинурии при данной нозологии.

Таблица 50 – Экскреция иммуноглобулина G у пациентов с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП	БМИ (N=5)	ФСГС (N=20)	МН (N=20)	IgA-нефропатия (N=29)	Общая группа (N=74)	Межгрупповые различия p
Показатели	1	2	3	4	5	6
IgG мочи, мг/сут	60,44	95,79	61,80	28,42	44,73	$p(2/4)=0,001$
m (25-75%)	(44,50; 256,38)	(37,92; 189,25)	(19,568; 133,86)	(16,28; 55,83)	(21,98; 120,32)	$p(3/4)=0,032$

Примечания: НЗ - не значимо ($p>0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Для оценки взаимосвязи мочевого экскреции IgG с морфологическими изменениями, из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона, а также высокой селективности протеинурии при данной нозологии.

При исследованиях экскреции IgG мочи выявлены прямые корреляции между тубулоинтерстициальным склерозом, атрофией эпителия канальцев и данным биомаркером при IgA-нефропатии, а также в общей группе больных только со склерозом тубулоинтерстиция (вероятнее всего за счет группы пациентов с IgA-нефропатией). Корреляционной связи между выраженностью гломерулосклероза и уровнем IgG в моче в общей группе и при отдельных нозологических формах получено не было (таблица 51).

Таблица 51 – Корреляции мочевого уровня экскреции иммуноглобулина G и морфологических изменений у пациентов с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП Морфоло- гическая характеристика	ФСГС (N=20)	МН (N=20)	IgA-нефропатия (N=29)	Общая группа (N=69)
Гломерулосклероз	НЗ	НЗ	НЗ	НЗ
Склероз тубулоинтерсти- ция	НЗ	НЗ	p=0,021; r=0,43	p=0,015; r=0,29
Атрофия эпителия ка- нальцев	НЗ	НЗ	p=0,016; r=0,45	НЗ

Примечания: r – коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ – не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Учитывая тот факт, что значимые линейные корреляции между величиной экскреции IgG с мочой и морфологическими изменениями получены были лишь для пациентов с IgA-нефропатией, последующий анализ (сравнение групп, ROC-анализ) выполнялся для группы с данной морфологической формой гломерулярной патологии.

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем IgG мочи и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

По результатам сравнения групп было установлено, что статистически значимых различий в величине экскреции IgG с мочой при IgA-нефропатии в зависимости от выраженности гломерулосклероза и атрофии эпителия канальцев выявлено не было ($p > 0,05$). В свою очередь, у пациентов с выраженностью склероза тубулоинтерстиция $\geq 25\%$ экскреция IgG была значимо выше ($p=0,040$).

Интересно отметить, что при IgA-нефропатии в группах пациентов со степенью склероза тубулоинтерстиция $< 50\%$ или $\geq 50\%$ от исследуемого биоптата, величина экскреции IgG с мочой значимо не отличалась ($p > 0,05$).

В связи с этим, был выполнен ROC-анализ в отношении диагностической значимости уровня мочевого экскреции иммуноглобулина G в качестве маркера морфологических изменений у пациентов с IgA-нефропатией. Результаты представлены в таблицах 52,53 и на рисунках 21,22.

Таблица 52 – Анализ диагностической ценности экскреции IgG с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при IgA-нефропатии

Суточная экскреция IgG с мочой (общая группа N=29)										
	ПЗ IgG мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	21,98	86,7	64,3	75,9	0,662	72,2	81,8	2,43	0,21	0,143
ТИ скле- роз 25% (0/1)**	22,59	81,3	69,2	75,9	0,726	76,5	75,0	2,64	0,27	0,023
Атрофия каналь- цев 25% 0/1)***	10,67	85,2	100	86,2	0,926	100	33,3	1,70	0,15	< 0,001

Примечания: IgG – иммуноглобулин G мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

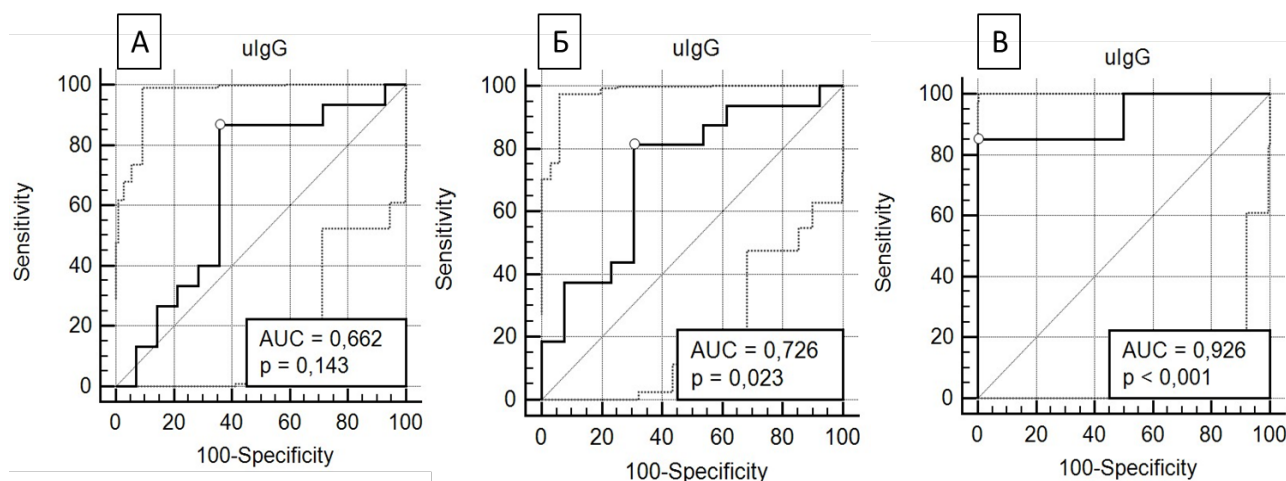


Рисунок 21. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в группе с IgA-нефропатией (N=29) для IgG мочи относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

В отношении оценки гломерулосклероза в группе с IgA-нефропатией определение IgG мочи оказалось недостоверным. Согласно полученным результатам, представленным в таблицах 52 и 53, можно говорить о том, что оценка экскреции IgG с мочой с чувствительностью 85,2% и специфичностью 100% свидетельствует о наличии атрофии канальцев в 25%, при концентрации данного маркера в моче более 10,67 мг/сут, у пациентов с IgA-нефропатией. В оценки тубулоинтерстициального склероза с использованием экскреции IgG с мочой отмечаются следующие особенности: значения IgG мочи 22,59, мг/сут и более, с умеренной достоверностью свидетельствуют в пользу склероза тубулоинтерстиция в 25% (ППЦ 75,5%, ПОП 2,64), а при уровне менее 24,23 мг/сут с высокой достоверностью отвергнуть наличие тубулоинтерстициального склероза в 50% (ОПЦ – 100%, ООП – 0) у пациентов с IgA-нефропатией.

Таблица 53 – Анализ диагностической ценности экскреции IgG с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при IgA-нефропатии

Суточная экскреция IgG с мочой (общая группа N=29)										
	ПЗ IgG, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	р
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	21,98	88,9	50,0	62,1	0,594	44,4	90,9	1,78	0,22	0,418
ТИ скле- роз 50% (0/1)**	24,23	100	58,3	65,5	0,767	33,3	100	2,40	0,0	0,008
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	23,55	81,8	61,1	69,0	0,702	56,2	84,6	2,10	0,30	0,065

Примечания: IgG – иммуноглобулин G мочи, ммоль/л, р – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

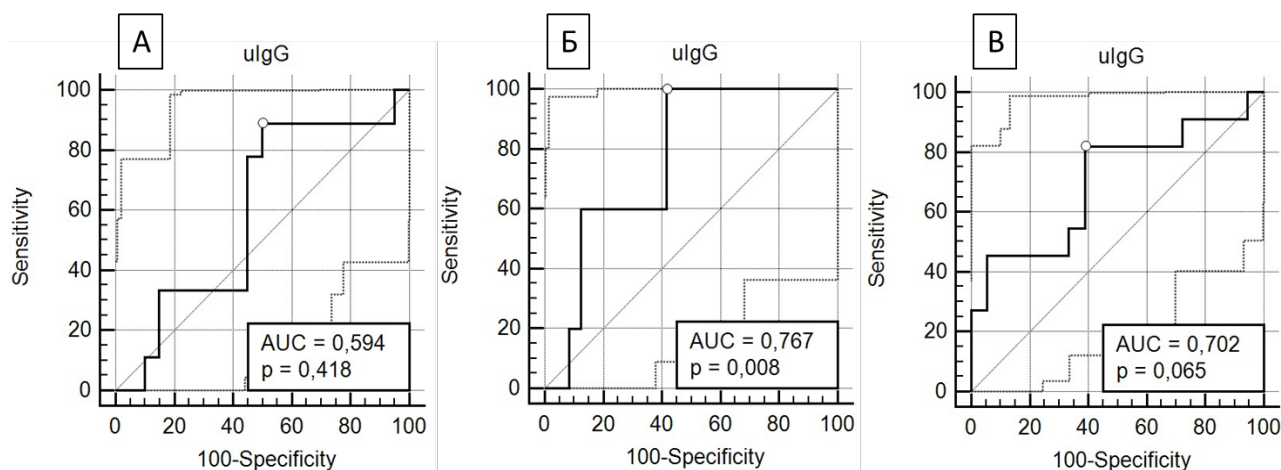


Рисунок 22. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в группе с IgA-нефропатией (N=29) для IgG мочи относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

Отсюда можно сделать вывод, что у пациентов с IgA-нефропатией концентрация IgG в моче в пределах от 22,59-24,23 мг/сут может служить надежным признаком, отражающим наличие тубулоинтерстициального склероза, выраженностью 25%. Более низкие значения этого показателя и в частности равные 10,67 мг/сут ассоциируются с атрофией эпителия канальцев 25% выраженности.

4.2.3. Диагностическая значимость мочевой экскреции цистатина С в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

В таблице 54 представлены значения экскреции цистатина С с мочой при различных формах первичных гломерулопатий. Статистически значимые различия по уровню экскреции цистатина С с мочой при хронических гломерулопатиях получены между группами пациентов с ФСГС и IgA-нефропатией.

**Таблица 54 – Экскреция цистатина С у пациентов с первичными
гломерулопатиями**

Морфоло- гическая форма ГП	1-БМИ (N=9)	2-ФСГС (N=28)	3-МН (N=26)	4-IgA- нефропа- тия (N=37)	Общая группа (N=100)	Межгруппо- вые разли- чия p
Показатели	1	2	3	4	5	6
Цистатин С мочи, мг/24 часа m (25-75%)	252 (144,0; 720,0)	550 (188,5; 897)	430,5 (135; 936)	220 (100; 504)	365 (126; 733)	p(2/4)=0,030

Примечания: НЗ - не значимо ($p > 0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Экскреция цистатина С коррелировала с величиной СКФ (вне зависимости от методики расчёта) только при ФСГС ($p=0,035$, $r=-0,40$) и в общей группе больных ($p=0,009$, $r=-0,26$).

Статистически значимые корреляции получены между цистатином С мочи и суточной протеинурией в общей группе ($p < 0,001$, $r=0,44$), а также и при большинстве морфологических форм: ФСГС ($p < 0,001$, $r=0,63$), МН ($p=0,019$, $r=0,46$), IgA-нефропатия ($p=0,034$, $r=0,35$).

Для оценки взаимосвязи экскреции цистатина С с мочой и морфологическими изменениями из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

При проведении корреляционного анализа были выявлены взаимоотношения между величиной экскреции цистатина С с мочой и фиброзом тубулоинтерстиция только в общей группе больных. При анализе отдельных морфологических форм данные связи не подтвердились (см. таблицу 55).

Таблица 55 – Корреляции уровня мочевого экскреции цистатина С с мочой и морфологических изменений

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=26)	МН (N=28)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
	2	3	4	5
Гломерулосклероз	НЗ	НЗ	НЗ	НЗ
Склероз тубулоинтерстиция	НЗ	НЗ	НЗ	p=0,024 r=0,24
Атрофия эпителия канальцев	НЗ	НЗ	НЗ	НЗ

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ-не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем экскреции цистатина С с мочой и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

По результатам сравнения групп было установлено, что статистически значимых различий в величине экскреции цистатина С с мочой в зависимости от выраженности гломерулосклероза и атрофии эпителия канальцев выявлено не было ($p > 0,05$). В свою очередь, у пациентов с выраженностью склероза тубулоинтерстиция $\geq 25\%$ экскреция данного маркера была значимо выше ($p = 0,011$) при сравнении с группой пациентов с выраженностью склероза тубулоинтерстиция $< 25\%$.

В то же время, в группах со степенью склероза тубулоинтерстиция $< 50\%$ или $\geq 50\%$ от исследуемого биоптата, статистически значимых различий в величине экскреции цистатина С с мочой выявлено не было ($p > 0,05$).

Для оценки диагностической значимости уровня мочевого экскреции цистатина С в отношении морфологических изменений был выполнен ROC-анализ. Результаты представлены в таблицах 56, 57 и на рисунках 23,24.

Таблица 56 – Анализ диагностической ценности экскреции цистатина С с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция цистатина С с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ uCysC мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	722,8	37,5	84,3	63,7	0,586	65,2	63,2	2,39	0,74	0,166
ТИ скле- роз 25% (0/1)**	319,9	65,0	74,9	68,1	0,662	83,0	52,3	2,52	0,47	0,005
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	242,1	65,4	69,2	65,9	0,595	92,7	25,0	2,12	0,50	0,208

Примечания: uCysC – цистатин С мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

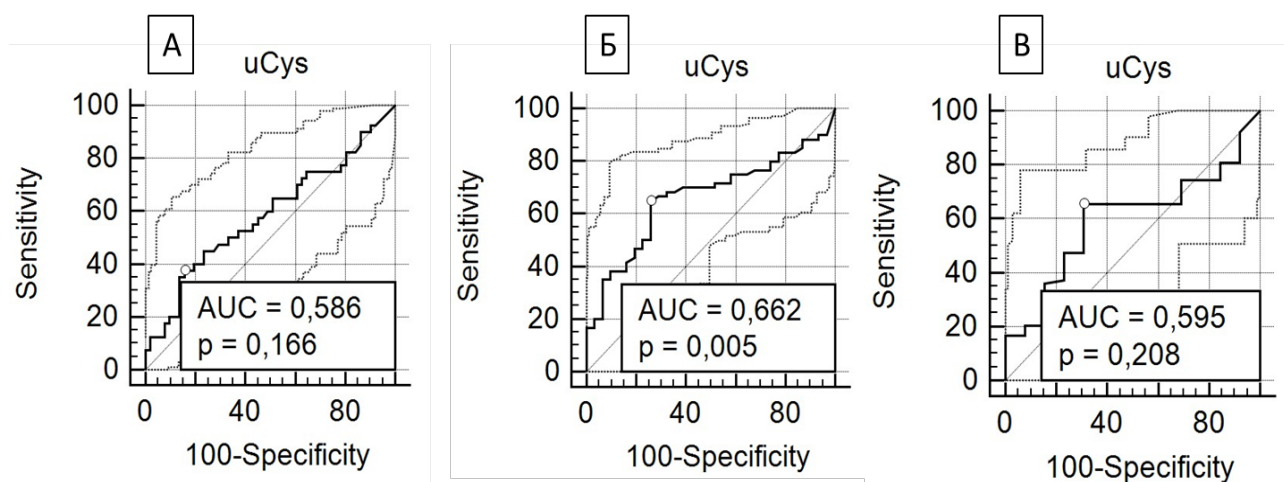


Рисунок 23. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для цистатина С мочи относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 57 – Анализ диагностической ценности экскреции цистатина С с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50% при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция цистатина С с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ uCysC мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	575,4	43,4	70,8	65,9	0,512	30,0	83,6	1,62	0,74	0,885
ТИ склероз 50% (0/1)**	749,9	42,3	84,6	72,5	0,619	52,4	78,6	2,75	0,68	0,096
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	749,9	40,0	87,5	69,2	0,575	66,7	70,0	3,20	0,39	0,269

Примечания: uCysC – цистатин С мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

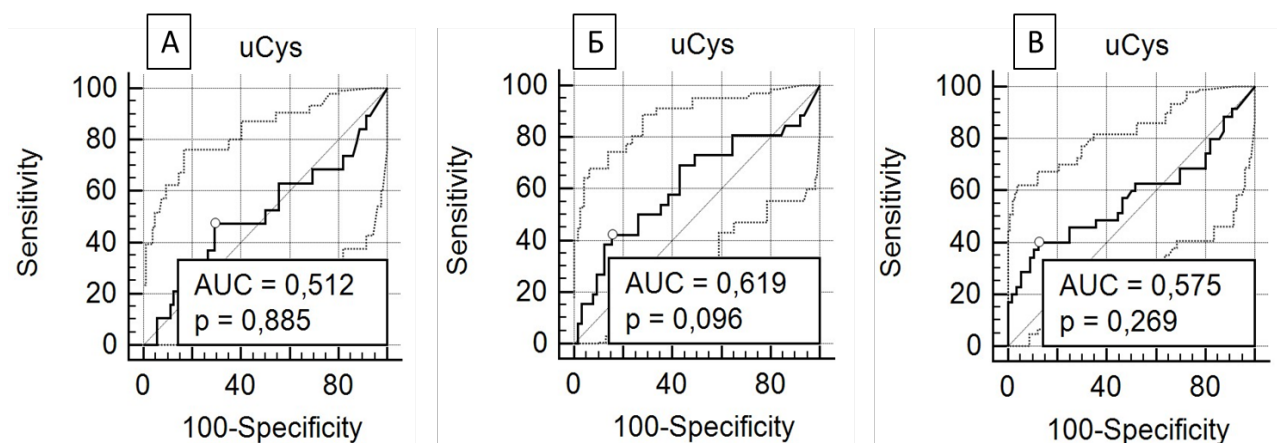


Рисунок 24. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для цистатина С мочи относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

При проведении ROC-анализа для оценки диагностической значимости мочевой экскреции цистатина С было установлено, что данный маркер обладает диагностической ценностью только в отношении тубулоинтерстициального склероза, выраженностью 25%, с весьма умеренными показателями чувствительности и специфичности. В тоже время, оценка положительной прогностической ценности позволяет заключить, что при нарастании экскреции цистатина С более 319,9 мг\сут можно с достаточно высокой вероятностью говорить о наличии склероза тубулоинтерстиция 25%.

Таким образом, как по результатам сравнения групп, линейного корреляционного, так и ROC-анализов экскреция цистатина С с мочой может использоваться лишь в качестве маркера преимущественно начальных необратимых изменений тубулоинтерстициального отдела нефрона при первичных гломерулопатиях при пороговом уровне 319,9 мг/сут.

4.2.4. Диагностическая значимость мочевой экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

В таблице 58 представлены данные о величине уровня экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов при первичных гломерулопатиях. Несмотря на наименьшие значе-

ния данных низкомолекулярных белков мочи (альфа1- и бета2-микроглобулинов) в группе с IgA-нефропатией, достоверных различий в их экскреции между исследуемыми группами гломерулярной патологии выявлено не было.

При оценке взаимосвязи между экскрецией альфа1- и бета2-микроглобулинов и СКФ (вне зависимости от методики расчёта) значимые обратные корреляции выявлены только при IgA-нефропатии для альфа1-микроглобулина ($p=0,004$, $r=-0,46$), а для бета2-микроглобулина в общей группе ($p < 0,001$, $r=-0,35$), при ФСГС ($p=0,004$, $r=-0,52$), IgA-нефропатии ($p=0,015$, $r=-0,40$).

Уровень экскреции альфа1-микроглобулина коррелировал с величиной суточной протеинурии в общей группе больных ($p < 0,001$, $r=0,33$), а также при IgA-нефропатии ($p < 0,001$, $r=0,53$).

Бета2-микроглобулин мочи также коррелировал с уровнем протеинурии как в общей группе ($p < 0,001$, $r=0,56$), так и при большинстве морфологических форм гломерулярной патологии: ФСГС ($p < 0,001$, $r=0,74$), МН ($p < 0,001$, $r=0,62$), IgA-нефропатия ($p=0,007$, $r=0,44$).

Таблица 58 – Экскреция альфа1 и бета2-микроглобулинов у больных с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП Показатели	БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA-нефропатия (N=37)	Общая группа (N=100)	Межгрупповые различия p
	1	2	3	4	5	6
Альфа1-микроглобулин мочи, мг/сут (25-75%)	13,856 (12,220; 16,286)	13,651 (8,978; 16,704)	12,311 (6,264; 18,480)	9,160 (4,000; 14,835)	11,84 (6,86; 16,39)	НЗ
Бета2-микроглобулин мочи, мг/сут (25-75%)	0,170 (0,020; 0,918)	0,421 (0,008; 1,374)	0,159 (0,008; 0,390)	0,054 (0,008; 0,420)	0,166 (0,008; 0,809)	НЗ

Примечания: НЗ - не значимо ($p > 0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Для оценки взаимосвязи экскреций альфа1- и бета2-микроглобулинов с мочой и морфологическими изменениями из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

В таблицах 59 и 60 представлены результаты корреляционного анализа, по данным которого были выявлены корреляции между уровнем экскреции альфа1-микроглобулина и склерозом тубулоинтерстиция в общей группе и при IgA-нефропатии, а также с атрофией эпителия канальцев при данной морфологической форме. Величина экскреции бета2-микроглобулина, в свою очередь, коррелировала с выраженностью гломерулосклероза в общей группе и при ФСГС, МН, IgA-нефропатии, а также склерозом тубулоинтерстиция и атрофией эпителия канальцев в общей группе и в группе с IgA-нефропатией.

Таблица 59 – Корреляции мочевой экскреции альфа1-микроглобулина и морфологических изменений у пациентов с первичной гломерулярной патологией

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=26)	МН (N=28)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
Гломерулосклероз	НЗ	НЗ	НЗ	НЗ
Склероз тубулоинтерстиция	НЗ	НЗ	$p < 0,005$ $r = 0,53$	$p < 0,001$ $r = 0,37$
Атрофия эпителия канальцев	НЗ	НЗ	$p = 0,010$ $r = 0,42$	НЗ

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Таблица 60 – Корреляции мочевого экскреции бета2-микроглобулина и морфологических изменений у пациентов с первичной гломерулярной патологией

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=26)	МН (N=28)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
Гломерулосклероз	p=0,036 r=0,40	p=0,028 r=0,43	p=0,008 r=0,26	p=0,001 r=0,34
Склероз тубулоинтерстиция	НЗ	НЗ	p=0,007 r=0,27	p=0,001 r=0,33
Атрофия эпителия канальцев	НЗ	НЗ	p=0,008 r=0,26	p=0,002 r=0,32

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем экскреции альфа- и бета2-микроглобулинов с мочой и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

Вне зависимости от степени выраженности глобального гломерулосклероза, а также атрофии эпителия канальцев статистических значимых различий в экскреции альфа1-микроглобулина выявлено не было ($p > 0,05$). В то же время, у пациентов с более выраженными признаками склероза тубулоинтерстиция (как при сравнении групп с $< 25\%$ или $\geq 25\%$, так и при $< 50\%$ или $\geq 50\%$ тубулоинтерстициального склероза от исследуемого биоптата), экскреция альфа1-микроглобулина была значимо выше в группах пациентов с большей степенью данных морфологических изменений ($p < 0,001$ и $p = 0,002$, соответственно).

В отношении бета2-микроглобулина получены следующие результаты.

Величина экскреции бета2-микроглобулина была значимо выше в группах пациентов с выраженностью склероза тубулоинтерстиция или атрофии эпителия канальцев $\geq 25\%$ от исследуемого биоптата, при сравнении с группами больных с выраженно-

стью данных морфологических изменений менее 25% от исследуемого биоптата ($p=0,003$ и $p=0,023$, соответственно).

Также, экскреция бета2-микроглобулина была значимо выше при наличии гломерулосклероза ($p < 0,001$) или склероза тубулоинтерстиция ($p=0,011$), или атрофии эпителия канальцев ($p=0,029$) $\geq 50\%$ от исследуемого биоптата, при сравнении с группами пациентов с выраженностью данных морфологических изменений менее 50% от исследуемого биоптата.

Для оценки диагностической значимости мочевой экскреции альфа1- и бета2-микроглобулинов в качестве маркеров морфологических изменений был выполнено ROC-анализ. Результаты представлены в таблицах 61-64 и на рисунках 25-28.

Таблица 61 – Анализ диагностической ценности экскреции альфа1-микроглобулина с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция альфа1-микроглобулина с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ $\alpha 1$ -МГ, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	10,40	65,0	56,9	60,1	0,587	54,2	67,4	1,51	0,62	0,149
ТИ скле- роз 25% (0/1)**	10,94	66,7	77,4	70,3	0,763	85,1	54,5	2,95	0,43	< 0,001
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	6,27	76,9	38,5	71,4	0,526	88,2	21,7	1,25	0,60	0,781

Примечания: $\alpha 1$ -МГ – альфа1-микроглобулин мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП– специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

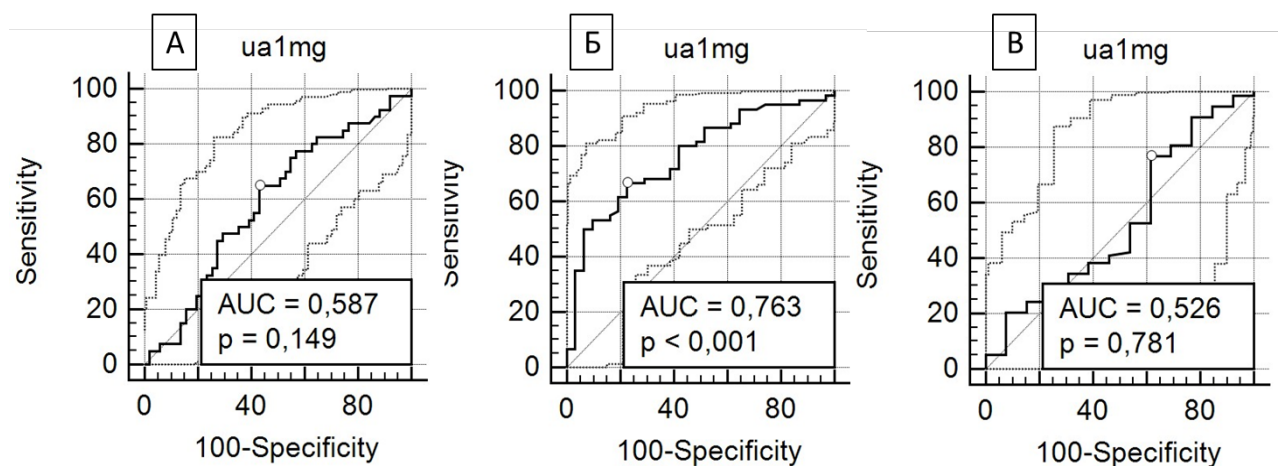


Рисунок 25. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для альфа1-микроглобулина мочи относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 62 – Анализ диагностической ценности экскреции альфа1-микроглобулина с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция альфа1-микроглобулина с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ α1-МГ, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	15,92	42,1	77,8	70,3	0,580	33,3	83,6	1,89	0,74	0,275
ТИ скле- роз 50% (0/1)**	10,94	76,9	58,5	63,7	0,703	42,6	86,4	1,85	0,39	< 0,001

Продолжение таблицы 62

Атрофия канальцев 50% (0/1)***	14,13	48,6	75,0	64,8	0,605	54,8	70,0	1,94	0,69	0,083
---	-------	------	------	------	-------	------	------	------	------	-------

Примечания: $\alpha 1$ -МГ – альфа1-микроглобулин мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 50\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 50\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 50\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

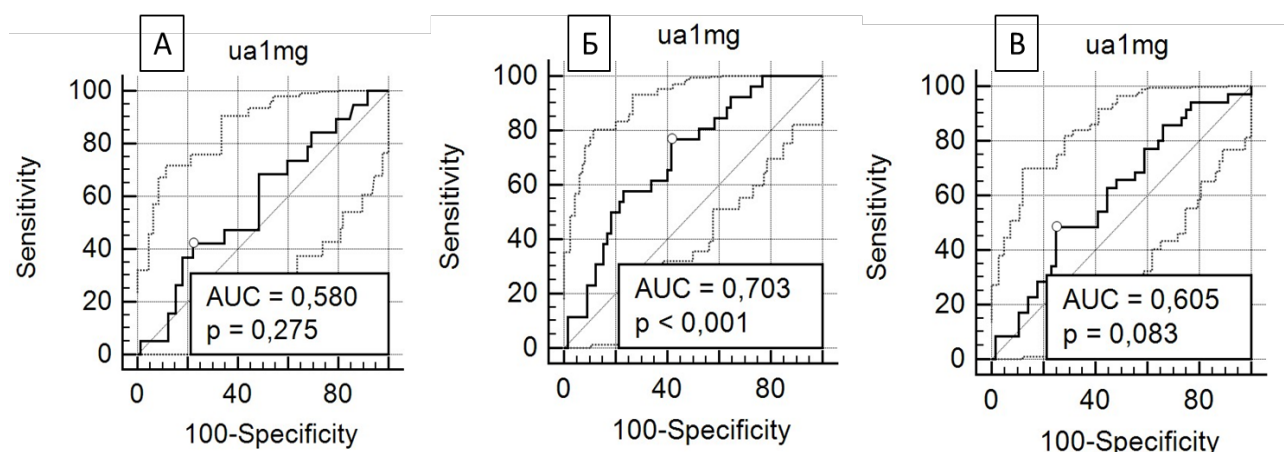


Рисунок 26. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для альфа1-микроглобулина мочи относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

При сравнительном анализе показателей диагностической ценности мочевого экскреции альфа1-микроглобулина в отношении тубулоинтерстициального склероза выраженностью в 25% и 50% можно заключить, что один и тот же пороговый уровень (10,94 мг/сут) показателя позволяет прогнозировать наличие тубулоинтерстициального склероза в биоптате выраженностью 25 и 50% примерно с одинаковыми показателями чувствительности и специфичности, но с разными величинами прогностической

ценности положительного и отрицательного результатов (таблица 61 и 62). Анализ последней может говорить о том, что в случае обнаружения у пациента мочевого экскреции альфа1-микроглобулина менее 10,94 мг/сут (отрицательный тест) вероятность наличия тубулоинтерстициального склероза выраженностью 50% составляет лишь 13,6%, то есть является крайне несущественной. Однако утверждать тоже самое в отношении тубулоинтерстициального склероза выраженностью 25% будет невозможно, поскольку вероятность его наличия при отрицательном результате теста (мочевая экскреция менее 10,94 мг/сут) составляет 45% (таблица 61). При положительном результате теста (мочевая экскреция более 10,94 мг/сут) с большой вероятностью можно будет говорить о присутствии в биоптате тубулоинтерстициального склероза в 25% (ППЦ – 85,1%, таблица 61), чем о присутствии в биоптате тубулоинтерстициального склероза в 50% (ППЦ – 42,6%, таблица 62).

Суммируя все сказанное выше, можно сделать следующий вывод, что при обнаружении у пациента мочевого экскреции альфа1-микроглобулина равной или менее 10,94 мг/сут исключается наличие склероза тубулоинтерстиция в биоптате выраженностью в 50%, а при результате более 10,94 мг/сут наши суждения в отношении выраженности тубулоинтерстициального склероза должны быть ограничены представлениями о том, что степень выраженности тубулоинтерстициального склероза находится в пределах 25-50% интервала.

Анализ отношения правдоподобия положительного и отрицательного результатов позволяет говорить о том, что положительный результат теста в своих суждениях о выраженности тубулоинтерстициального склероза в биоптате мы должны исходить из представления о 25% вовлечении в склероз, а при отрицательном тесте наши суждения могут идти об отсутствии 50% выраженности тубулоинтерстициального склероза.

При анализе таблиц 63 и 64 установлены следующие факты. Уровень мочевого экскреции бета2-микроглобулина равный 0.224 мкг/сут обладает предиктивной способностью в отношении гломерулосклероза, выраженностью в 50%, тубулоинтерстициального склероза выраженностью в 25% и атрофии канальцев, выраженностью в 25% и 50%, а уровень мочевого экскреции бета2-микроглобулина в 0.240 мкг/сут обладает предиктивной способностью в отношении тубулоинтерстициального склероза выраженностью в 50%. Анализ прогностической ценности положительного и отрицатель-

ного результатов, а также отношения правдоподобий позволяет сделать следующие выводы. При получении значений мочевой экскреции бета2-микроглобулина менее 0.224 мкг/сут (отрицательный тест) мы можем с высокой степенью достоверности исключать наличие гломерулосклероза 50% выраженности (вероятность его наличия при данных значениях теста составляет лишь 4%; таблица 64). В то же время, достоверно высказаться в пользу присутствия в почечной паренхиме тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцев выраженностью в 25% (ППЦ – 87,8% и ППЦ – 97,6% соответственно; таблица 63). Обсуждаемый уровень мочевой экскреции бета2-микроглобулина, равный 0.224 мкг/сут в отношении прогнозирования наличия атрофии канальцев выраженностью в 50% (таблица 64) обладает более низкими значениями прогностической ценности положительного и отрицательного результатов (53,7% и 74% соответственно) и более низкими (1,85) показателями положительного отношения правдоподобия (таблица 64) по сравнению с аналогичными данными по прогнозированию атрофии канальцев выраженностью 25%, а поэтому и не может быть рекомендован в практической работе.

Таблица 63 – Анализ диагностической ценности экскреции бета2-микроглобулина с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция бета2-микроглобулина с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ β2-МГ, мкг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	0,224	60,0	66,7	63,7	0,609	58,5	68,0	1,80	0,60	0,071
ТИ склероз 25% (0/1)**	0,224	60,0	84,0	68,2	0,691	87,8	52,0	3,72	0,48	< 0,001

Продолжение таблицы 63

Атрофия канальцев 25% (0/1)***	0,224	51,3	92,3	58,3	0,695	97,6	24,0	6,67	0,53	0,002
---	-------	------	------	------	-------	------	------	------	------	-------

Примечания: β 2-МГ – бета2-микроглобулин мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq$ 25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq$ 25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq$ 25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

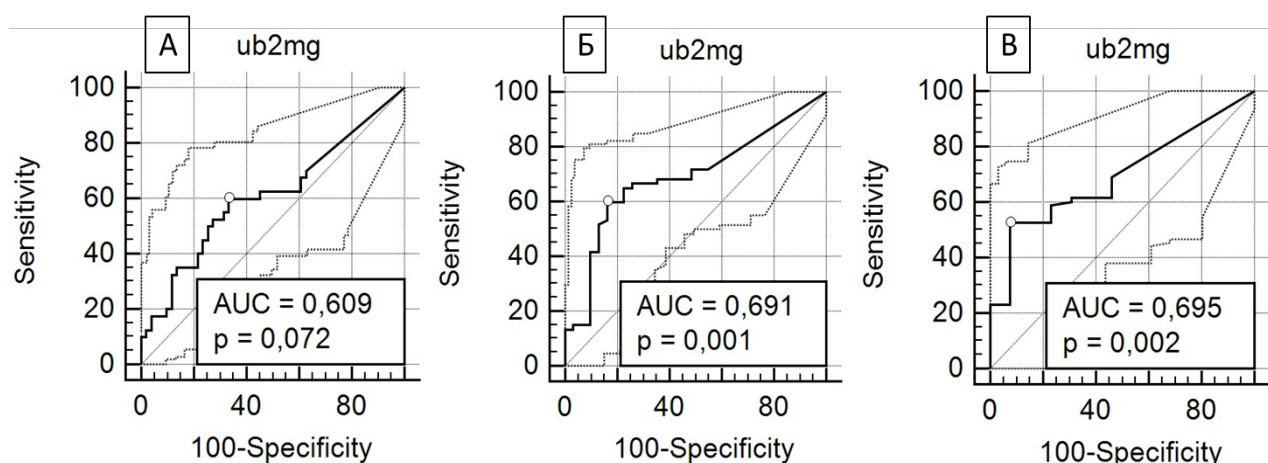


Рисунок 27. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для бета2-микроглобулина мочи относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 64 – Анализ диагностической ценности экскреции бета2-микроглобулина с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция бета2-микроглобулина с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ β2-МГ, мкг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	р
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	0,224	89,5	66,7	71,5	0,760	41,5	96,0	2,68	0,16	< 0,001
ТИ склероз 50% (0/1)**	0,240	69,2	66,2	67,0	0,668	45,0	84,3	2,05	0,47	0,011
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	0,224	62,9	66,1	64,8	0,651	53,7	74,0	1,85	0,56	0,011

Примечания: β2-МГ – бета2-микроглобулин мочи, р – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП– специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

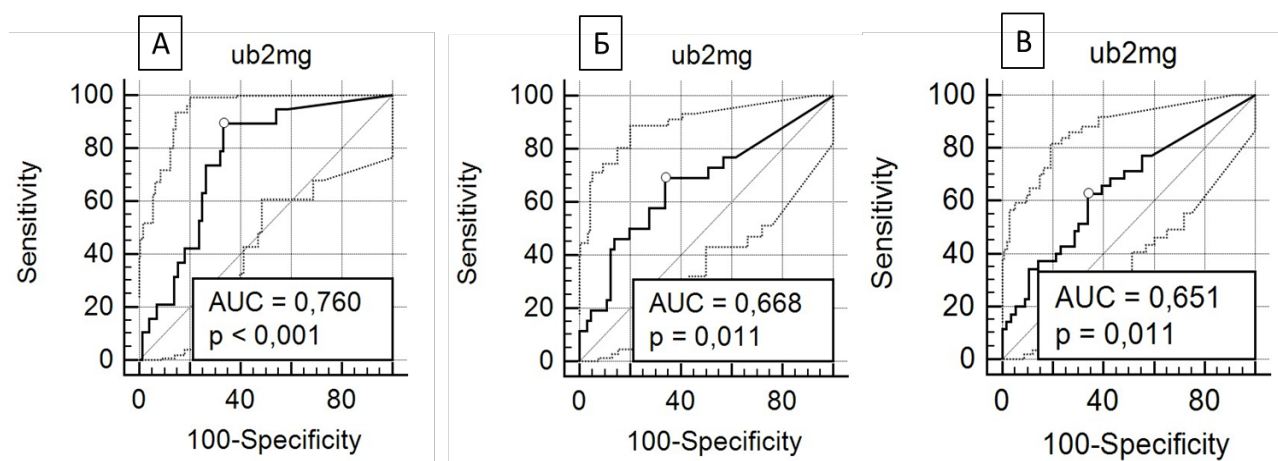


Рисунок 28. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для бета2-микроглобулина мочи относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

Таким образом, подводя итог вышесказанному можно сделать вывод о том, что в практической деятельности следует ориентироваться на уровень мочевого экскреции бета2-микроглобулина, равный 0,224 мкг/сут. В случае его превышения можно будет достоверно говорить о присутствии в биоптате тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцев выраженностью в 25%, но нельзя будет сделать какого-либо суждения в отношении степени выраженности гломерулосклероза (потребуется другие тесты). В тех же случаях, когда мочевого экскреция бета2-микроглобулина будет составлять менее 0,224 мкг/сут можно будет с высокой степенью достоверности исключить гломерулосклероза 50% степени выраженности.

4.2.5. Диагностическая значимость мочевого экскреции NGAL в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

Суточная экскреция NGAL с мочой была определена у 78 человек с первичной гломерулярной патологией, включившей в себя 46 мужчин (59%) и 32 женщины (41%), медиана возраста 39,5 (29; 56) лет.

Распределение по морфологическим формам, а также уровень NGAL мочи у пациентов с различной гломерулярной патологией представлены в таблице 65.

Таблица 65 – Результаты исследования суточной экскреции NGAL с мочой у пациентов с гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП	БМИ (N=14)	ФСГС (N=19)	МН (N=21)	IgA- нефропатия (N=24)	Общая группа (N=78)	Межгрупповые различия р
Показатели	1	2	3	4	5	
NGAL мочи, нг/сут m (25-75%)	7803 (400; 17952)	15820 (5424; 53592)	2987 (35; 28358)	1825 (410; 12592)	6431 (220; 27832)	p(2/3)=0,015 p(2/4)=0,006

Примечания: НЗ - не значимо ($p > 0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах;

ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

Суточная экскреция NGAL была значимо ниже у пациентов с IgA-нефропатией при сравнении с группами больных с ФСГС и МН, что соотносилось с уровнем суточной протеинурии в этих группах.

При исследовании связи между экскрецией NGAL с мочой и величиной СКФ (вне зависимости от методики расчёта) статистически значимые обратные корреляции выявлены в общей группе ($p < 0,001$, $r = -0,53$), при БМИ ($p = 0,022$, $r = -0,60$), при ФСГС ($p = 0,035$, $r = -0,47$) и IgA-нефропатии ($p < 0,001$, $r = -0,68$).

Были получены прямые корреляции между уровнем NGAL мочи и величиной суточной протеинурии как в общей группе ($p < 0,001$, $r = 0,46$), так и при всех непролиферативных гломерулопатиях: БМИ ($p = 0,045$, $r = 0,54$), ФСГС ($p = 0,044$, $r = 0,47$), МН ($p = 0,011$, $r = 0,54$). Ассоциации между экскрецией NGAL с мочой и величиной суточной протеинурии у пациентов с IgA-нефропатией получено не было ($p > 0,05$).

Для оценки взаимосвязи суточной экскреции NGAL с мочой и морфологическими изменениями из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

Уровень экскреции NGAL с мочой коррелировал с гломерулосклерозом, а также с атрофией эпителия канальцев в общей группе больных, а также при IgA-нефропатии.

У пациентов с МН выявлены взаимоотношения суточной экскреции NGAL лишь с гломерулосклерозом (таблица 66).

Таблица 66 – Корреляции экскреции NGAL с мочой и морфологическими изменениями у пациентов с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП	ФСГС (N=19)	МН (N=21)	IgA- нефропатия (N=24)	Общая группа (N=64)
Морфологическая характеристика				
Гломерулосклероз	НЗ	p=0,002 r=0,65	p=0,006 r=0,55	p<0,001 r=0,48
Склероз тубулоинтерстиция	НЗ	НЗ	НЗ	НЗ
Атрофия эпителия канальцев	НЗ	НЗ	p=0,002 r=0,61	p=0,002 r=0,39

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем суточной экскреции NGAL с мочой и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

В группе пациентов с выраженностью гломерулосклероза $\geq 25\%$ от исследуемого биоптата величина экскреции NGAL с мочой была значимо выше, чем у пациентов с гломерулосклерозом $< 25\%$ от исследуемого биоптата ($p < 0,001$). Значимых различий в уровне NGAL мочи между группами с наличием гломерулосклероза $\geq 50\%$ от исследуемого биоптата и менее 50% получено не было ($p > 0,05$).

По результатам сравнения групп, статистически значимых различий в уровне NGAL мочи между группами с различной степенью выраженности склероза тубулоинтерстиция выявлено не было ($p > 0,05$).

Напротив, ранние стадии атрофии эпителия канальцев значимо не влияли на величину суточной экскреции NGAL с мочой ($p > 0,05$), тогда как большие значения данно-

го показатели отмечались у пациентов с выраженными признаками атрофии эпителия канальцев ($\geq 50\%$ от исследуемого биоптата) ($p=0,002$).

Для оценки диагностической значимости мочевой экскреции NGAL в качестве маркеров морфологических изменений был выполнен ROC-анализ. Результаты представлены в таблицах 67,68 и на рисунках 29,30.

Таблица 67 – Анализ диагностической ценности экскреции NGAL с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция NGAL с мочой (общая группа N=64)										
	ПЗ uNGAL нг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	1445,4	90,6	56,3	73,4	0,743	67,40	85,7	2,07	0,17	< 0,001
ТИ скле- роз 25% (0/1)**	1778,3	68,6	48,3	59,4	0,519	61,5	56,0	1,33	0,65	0,805
Атрофия канальцев 25% (0/1)***	8709,6	50,9	88,9	56,3	0,670	96,6	22,9	4,58	0,55	0,073

Примечания: uNGAL – NGAL мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 25\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

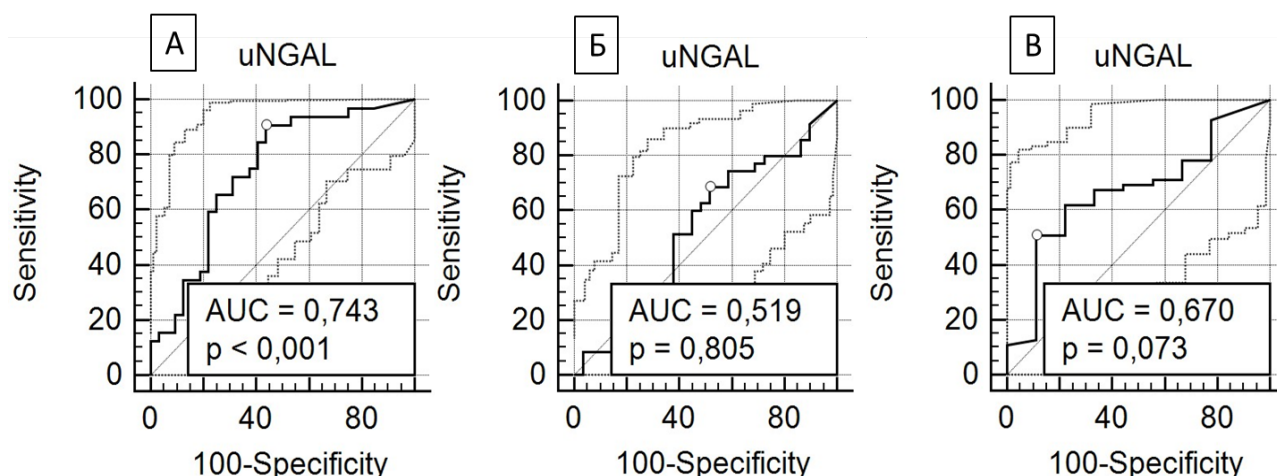


Рисунок 29. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=64) для суточной экскреции NGAL с мочой относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Как видно из представленных результатов NGAL мочи не обладал прогностической ценностью в отношении тубулоинтерстициального склероза, гломерулосклероза выраженностью 50%, а также атрофии канальцев, представленной 25%.

Согласно таблице 67, экскреция NGAL с мочой является высокочувствительным маркером гломерулосклероза в 25% при невысоких показателях специфичности и положительной прогностической ценности, что не позволяет его рекомендовать в качестве маркера ранних склеротических изменений гломерулярного отдела нефрона. В то же время, высокий уровень отрицательной прогностической ценности и отрицательного отношения правдоподобия позволяет заключить, что при экскреции NGAL менее 1445,4 нг/сут с достаточно высокой достоверностью можно говорить об отсутствии в нефробиоптате гломерулосклероза, выраженностью 25%.

Таблица 68 – Анализ диагностической ценности экскреции NGAL с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50%, при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция NGAL с мочой (общая группа N=64)										
	ПЗ uNGAL нг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	1584,9	100	44,0	56,3	0,640	33,30	100,0	1,79	0,00	0,062
ТИ скле- роз 50% (0/1)**	1445,4	86,7	38,8	50,0	0,595	30,2	90,5	1,42	0,34	0,240
Атрофия канальцев 50% (0/1)***	4897,8	81,8	64,3	70,3	0,739	54,5	87,1	2,29	0,28	< 0,001

Примечания: uNGAL – NGAL мочи, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 – соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

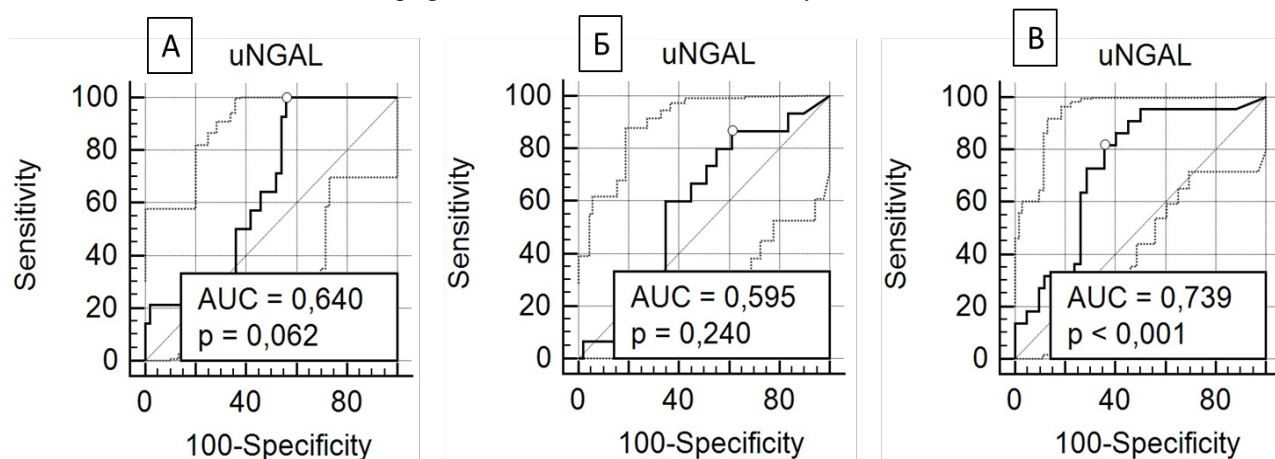


Рисунок 30. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=64) для суточной экскреции NGAL с мочой относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

В отношении атрофии канальцев 50%, NGAL мочи достоверно обладал диагностической ценностью (чувствительность 81,8%, специфичность 64,3%), однако анализ положительной и отрицательной прогностической ценности (54,5% и 87,1%, соответственно) позволяет говорить о том, что при экскреции NGAL более 4897,9 нг/сут судить о присутствии в биоптате атрофии канальцев 50% и более невозможно, в то же время, отрицательный результат (т.е. экскреция менее 4897,9 нг/сут), позволяет с высокой достоверностью исключить наличие атрофии канальцев в 50%.

4.2.6. Диагностическая значимость экскретируемой фракции магния с мочой в оценке морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

Значения экскретируемой фракции магния при различных формах гломерулопатий представлены в таблице 69. У пациентов с БМИ величина экскретируемой фракция магния была ниже, при сравнении с остальными формами гломерулярной патологии, что было обусловлено отсутствием фиброзных изменений тубулоинтерстициального и гломерулярного отделов нефрона при данной патологии. Статистически значимые различия по данному показателю были получены лишь между БМИ и МН.

Таблица 69 – Экскретируемая фракция магния у больных с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП Показатели	БМИ (N=9)	ФСГС (N=28)	МН (N=26)	IgA- нефро- патия (N=37)	Общая группа (N=100)	Межгруппо- вые разли- чия p
	1	2	3	4	5	6

Продолжение таблицы 69

Экскретируемая фракция магния, % m (25-75%)	1,808 (1,756; 2,240)	3,203 (1,811; 6,503)	3,189 (2,456; 4,614)	3,550 (1,905; 5,495)	3,131 (1,869; 5,243)	p(1/3)=0,008
--	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	--------------

Примечания: НЗ - не значимо ($p > 0,05$); m (25-75%) – медиана и межквартильный размах; ГП – гломерулярная патология; БМИ – болезнь минимальных изменений, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

При исследовании корреляционной связи между экскретируемой фракцией магния и СКФ выявлены значимые отрицательные связи в общей группе ($p < 0,001$, $r = -0,47$), а также при ФСГС ($p = 0,012$, $r = -0,47$) и IgA-нефропатии ($p = 0,012$, $r = -0,41$).

Взаимосвязи между суточной протеинурией и экскретируемой фракцией магния выявлено не было ($p > 0,05$).

Для оценки взаимосвязи экскретируемой фракции магния и морфологическими изменениями из анализируемой группы были исключены пациенты с БМИ, в связи отсутствием по данным нефробиопсии значимых склеротических изменений различных отделов нефрона.

Как видно из таблицы 70, в общей группе больных выявлены положительные корреляции между величиной экскретируемой фракции магния и гломерулосклерозом, склерозом тубулоинтерстиция, а также атрофией эпителия канальцев. Для пациентов с МН выявлена положительная корреляция степени гломерулосклероза с экскретируемой фракцией магния ($r = 0,50$, $p = 0,009$). В свою очередь, в группе с IgA-нефропатией - между экскретируемой фракцией магния и выраженностью атрофии канальцев ($r = 0,42$, $p = 0,009$), а также и тубулоинтерстициального склероза ($r = 0,36$, $p = 0,027$).

Таблица 70 – Корреляции экскретируемой фракции магния и морфологическими изменениями у пациентов с первичными гломерулопатиями

Морфологическая форма ГП Морфологическая характеристика	ФСГС (N=26)	МН (N=28)	IgA- нефропатия (N=37)	Общая группа (N=91)
---	----------------	--------------	------------------------------	---------------------------

Продолжение таблицы 70

Гломерулосклероз	НЗ	p=0,009 r=0,50	НЗ	p=0,021 r=0,24
Склероз тубулоинтерсти- ция	НЗ	НЗ	p=0,027 r=0,36	p=0,040 r=0,25
Атрофия эпителия ка- нальцев	НЗ	НЗ	p=0,009 r=0,42	p=0,006 r=0,29

Примечания: r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена; НЗ - не значимо ($p > 0,05$); ГП – гломерулярная патология; ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, МН – мембранозная нефропатия, IgA – IgA-нефропатия;

В последующем для оценки взаимосвязи между уровнем экскретируемой фракции магния и выраженностью морфологических изменений все пациенты исследуемой выборки последовательно в два этапа были разделены на группы (как указано в главах 2.2.4 и 3.2) в зависимости от степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза, а также атрофии эпителия канальцев.

По результатам сравнения групп наличие начальных признаков склероза гломерулярного и тубулоинтерстициального отдела нефрона, а также атрофии канальцевого эпителия ($\geq 25\%$ от исследуемого биоптата) значимо не влияло на величину экскретируемой фракции магния ($p > 0,05$).

В то же время, у группы пациентов с признаками более выраженных фиброзных изменений ($\geq 50\%$ от исследуемого биоптата) гломерулярного ($p=0,019$), тубулоинтерстициального ($p=0,035$) отделов или атрофии эпителия канальцев ($p=0,029$) величина экскретируемой фракции магния была значимо выше, чем в группе со степенью данных морфологических изменений $< 50\%$ от исследуемого биоптата.

Для оценки диагностической значимости экскретируемой фракции магния в качестве маркера морфологических изменений был выполнен ROC-анализ. Результаты представлены в таблицах 71, 72 и на рисунках 31,32.

Таблица 71 – Анализ диагностической ценности экскретируемой фракции магния с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 25%, при первичных гломерулопатиях

Экскретируемая фракция магния с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ EFMg %	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 25% (0/1)*	5,33	37,5	84,3	63,7	0,563	65,2	63,2	2,39	0,74	0,314
ТИ склероз 25% (0/1)**	3,97	66,7	41,9	58,2	0,517	69,0	39,4	1,15	0,79	0,769
Атрофия ка- нальцев 25% (0/1)***	5,25	30,8	100	40,7	0,638	100,0	19,4	4,00	0,69	0,063

Примечания: EFMg – экскретируемая фракция магния, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 – соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

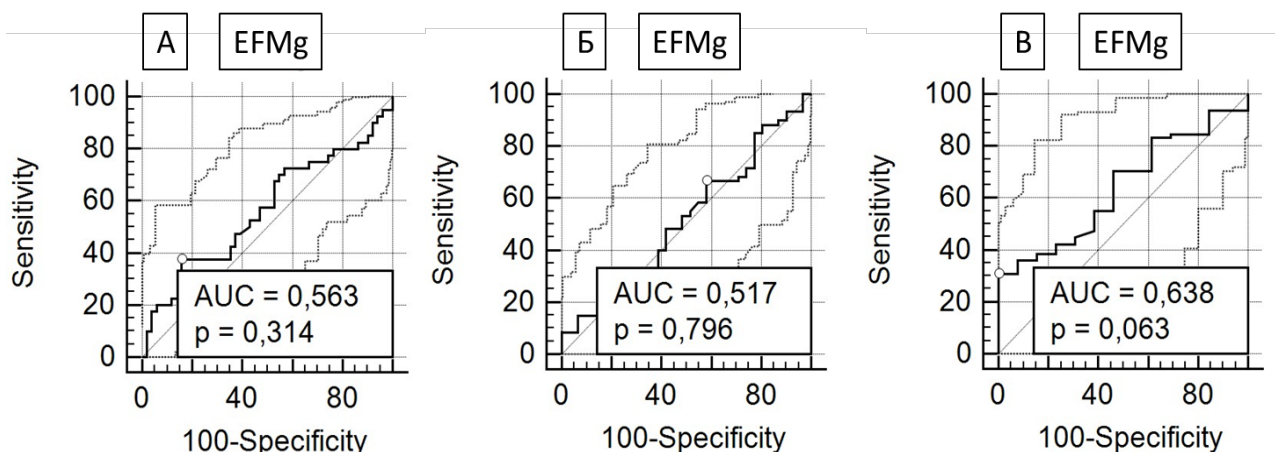


Рисунок 31. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для экскретируемой фракции магния относительно: А – гломерулосклероза 25%; Б – тубулоинтерстициального склероза 25%; В – атрофии эпителия канальцев 25%;

Таблица 72 – Анализ диагностической ценности экскретируемой фракции магния с мочой в отношении различных морфологических изменений, выраженностью 50% при первичных гломерулопатиях

Экскретируемая фракция магния с мочой (общая группа N=91)										
	ПЗ EFMg %	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)*	5,33	57,9	83,3	79,1	0,676	47,8	88,2	3,47	0,51	0,024
ТИ склероз 50% (0/1)**	5,33	50,0	84,6	74,7	0,643	56,5	80,9	3,25	0,59	0,030
Атрофия ка- нальцев 50% (0/1)***	5,33	42,9	85,7	69,2	0,638	62,5	70,6	3,0	0,67	0,022

Примечания: EFMg – экскретируемая фракция магния, p – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

* Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

*** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

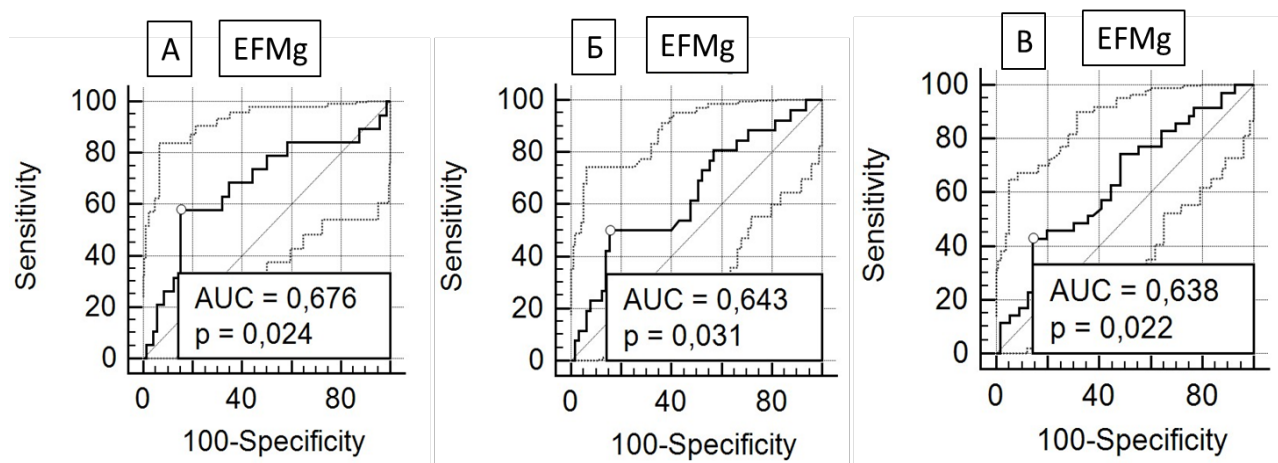


Рисунок 32. Характеристические ROC-кривые с 95% доверительным интервалом в общей группе (N=91) для экскретируемой фракции магния относительно: А – гломерулосклероза 50%; Б – тубулоинтерстициального склероза 50%; В – атрофии эпителия канальцев 50%;

При анализе таблиц 71 и 72 было установлено, что экскретируемая фракция магния обладает диагностической значимостью лишь в отношении поздних (50% и более) необратимых изменений, как гломерулярного, так и тубулоинтерстициального отделов нефрона при пороговом значении 5,33% с низким уровнем чувствительности, но достаточно высокими значениями специфичности. Кроме того, анализ положительной прогностической ценности и положительного отношения правдоподобия указывают на умеренную достоверность данного маркера в отношении присутствия гломерулосклероза, тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцев выраженностью 50%. В то же время, согласно анализу отрицательной прогностической ценности и отрицательному отношению правдоподобия с высокой достоверностью можно говорить об отсутствии в биоптате гломерулосклероза и тубулоинтерстициального склероза в 50%, в случае отрицательного результата (экскретируемая фракция магния менее 5,33%). Тогда, как оценка отсутствия атрофии канальцев равной 50% не столь очевидна при значениях экскретируемой фракции магния менее 5,33% (отрицательная прогностическая ценность 70,6%, отрицательное отношение правдоподобия 0,67).

4.2.7. Оценка влияния протеинурии на экскрецию биомаркеров у пациентов с первичными гломерулопатиями

Оценка влияния протеинурии на экскрецию биомаркеров с мочой проводилась последовательно в 2 этапа.

На первом этапе был проведен линейный корреляционный анализ между величиной суточной протеинурии и концентрацией маркеров в моче в общей группе больных. Результаты представлены в таблице 73.

Таблица 73 – Корреляции суточной протеинурии и экскрецией биомаркеров у пациентов с первичными гломерулопатиями

	Трансферрин, мг/сут	IgG, мг/сут	α 1-МГ, мг/сут	β 2-МГ, нг/сут	Цис С, мг/сут	NGAL, нг/сут
СПБ, г/сут	p < 0,001 r = 0,81	p < 0,001 r = 0,83	p < 0,001 r = 0,31	p < 0,001 r = 0,59	p < 0,001 r = 0,49	p < 0,001 r = 0,45

Примечания: p – уровень статистической значимости, r – коэффициент ранговой корреляции Спирмена, IgG – иммуноглобулин G, α 1-МГ – альфа1-микроглобулин, β 2-МГ – бета2-микроглобулин, Цис С – цистатин С, СПБ – суточная потеря белка, г/сут.

Как видно из представленных данных, были выявлены высоко значимые прямые корреляции между величиной суточной протеинурии и экскрецией различных биомаркеров.

На втором этапе с целью определения порогового значения суточной протеинурии, значимо влияющего на экскрецию различных протеинов был проведен ROC-анализ. Для проведения, которого, все пациенты исследуемой выборки последовательно разделялись на две группы в зависимости от порогового значения биомаркера, являющегося предиктором морфологических изменений, полученных в данной работе (результаты представлены в предыдущих главах: см. главы 4.2.1-4.2.5). Так, например, было установлено, что трансферрин мочи является предиктором ранних (менее 25% от исследуемого биоптата) признаков тубулоинтерстициального склероза, при этом пороговое значение составило 31,92 мг/сут (соответственно, на данном этапе исследования все пациенты были разделены на группы с экскрецией трансферрина менее 31,92 мг/сут и более 31,92 мг/сут).

Результаты оценки диагностического значения влияния суточной протеинурии на экскрецию биомаркеров представлены в таблице 74.

Таблица 74 – Оценка зависимости экскреции биомаркеров и уровня протеинурии с определением ее пороговых значений

Суточная протеинурия (общая группа N=91)										
	ПЗ СПБ, г/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
Трансферин1 мочи для IgA-нефропатии (0/1) ^{1*}	1,250	100	90,9	96,6	0,970	94,7	100	11,0	0,0	< 0,001
Трансферин2 мочи для IgA-нефропатии (0/1) ^{2*}	1,080	88,0	100	89,7	0,970	100	57,1	3,52	0,12	< 0,001
IgG1 мочи для IgA-нефропатии (0/1) ^{3*}	1,250	100	83,3	93,1	0,931	89,5	100	6,00	0,0	< 0,001
IgG2 мочи для IgA-нефропатии (0/1) ^{4*}	1,250	79,2	100	82,8	0,933	100	50,0	3,96	0,21	< 0,001
IgG3 мочи для IgA-нефропатии (0/1) ^{5*}	1,250	100	76,9	89,7	0,904	84,2	100	4,33	0,0	< 0,001
α1-МГ мочи (0/1) ^{6*}	1,820	85,4	44,2	65,9	0,644	63,1	73,1	1,53	0,33	0,014

Продолжение таблицы 74

β2-МГ1 мочи (0/1) ^{7*}	5,998	60,9	82,0	72,5	0,760	73,5	71,9	3,39	0,48	< 0,001
β2-МГ2 мочи (0/1) ^{8*}	5,998	59,5	81,6	71,4	0,744	73,5	70,2	3,24	0,50	< 0,001
Цис С мочи (0/1) ^{9*}	6,237	48,9	85,7	65,9	0,705	80,0	59,0	3,43	0,60	< 0,001
NGAL1 мочи (0/1) ^{10*}	3,802	63,6	65,0	64,1	0,688	80,0	44,8	1,82	0,56	0,007
NGAL2 мочи (0/1) ^{11*}	4,789	60,6	77,4	98,8	0,704	74,1	64,9	2,68	0,51	0,002

Примечания: Примечания: СПБ – суточная потеря белка, г/сут, р – уровень статистической значимости; ПЗ – пороговое значение показателя, ЧВ – чувствительность, СП – специфичность, ДТ – диагностическая точность, AUC – площадь под ROC-кривой, ПОП – положительное отношение правдоподобия, ООП – отрицательное отношение правдоподобия, ППЦ – положительная прогностическая ценность, ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность.

1* Трансферрин мочи 1 (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией трансферрина с мочой <31,92 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией трансферрина с мочой > 31,92 мг/сут при IgA-нефропатии.

2* Трансферрин мочи 2 (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией трансферрина с мочой <5,10 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией трансферрина с мочой > 5,10 мг/сут при IgA-нефропатии.

3* IgG мочи 1 (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией IgG с мочой <22,59 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией IgG с мочой >22,59 мг/сут.

4* IgG мочи 2 (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией IgG с мочой <10,67 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией IgG с мочой >10,67 мг/сут.

5* IgG мочи 3 (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией IgG с мочой <24,23 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией IgG с мочой >24,23 мг/сут.

6* α1-МГ мочи (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией α1-МГ с мочой <10,94 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией α1-МГ с мочой >10,94 мг/сут.

7* β2-МГ1 мочи (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией β2-МГ с мочой <0,240 нг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией β2-МГ с мочой > 0,240 нг/сут.

8* β2-МГ2 мочи (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией β2-МГ с мочой <0,224 нг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией β2-МГ с мочой > 0,224 нг/сут.

9* Цис С мочи (0/1): 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией Цис С с мочой <319,89 мг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией Цис С с мочой >319,89 мг/сут.

10* NGAL1 мочи (0/1) - 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией NGAL с мочой <1445,44 нг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией NGAL с мочой >1445,44 нг/сут.

11* NGAL2 мочи (0/1) - 0 – соответствовало группе пациентов с экскрецией NGAL с мочой <4897,8 нг/сут; 1 – соответствовало группе пациентов с экскрецией NGAL с мочой >4897,8 нг/сут.

По результатам ROC-анализа были получены пороговые значения суточной протеинурии, при которых ее величина оказывает значимое влияние на экскрецию исследуемых биомаркеров. Так для трансферрина мочи (при IgA-нефропатии) пороговые

уровни СПБ составили 1,25 и 1,08 г/сут г/сут, для IgG (при IgA-нефропатии) –1,25 г/сут, для альфа1-микроглобулина – 1,820 г/сут, для бета2-микроглобулина – 5,998 г/сут, для цистатина с мочи – 6,237 г/сут, для NGAL мочи 3,802 и 4,789 г/сут.

Таким образом, при использовании данных биомаркеров в качестве предикторов характера и степени выраженности морфологических изменений необходимо принимать во внимание величину суточной протеинурии, с учетом выявленных нами пороговых ее значений для каждого маркера.

4.2.8. Сравнительная оценка пороговых значений экскреции различных биомаркеров и уровня суточной протеинурии, в качестве предикторов морфологических повреждений у больных с гломерулопатиями

Согласно полученным результатам величина экскреции различных белковых молекул зависит от уровня протеинурии. В предыдущей главе нами были определены пороговые значения суточной протеинурии, при которых ее величина оказывает значимое влияние на экскрецию исследуемых биомаркеров. С учетом полученных пороговых значений СПБ, нами была проведена сравнительная оценка диагностической значимости пороговых значений экскреции различных биомаркеров и суточной протеинурии относительно морфологических изменений, по отношению к которым экскреция биомаркеров оказалась значима по результатам ROC-анализа.

Так, пороговое значение протеинурии в 1,25 г/сут является более чувствительным маркером, чем экскреция трансферрина или иммуноглобулина G с мочой в качестве маркера начальных тубулоинтерстициальных изменений при IgA-нефропатии. В отношении ранних признаков атрофии эпителия канальцев при IgA-нефропатии для скрининга может использоваться суточная протеинурия (при пороговом значении 1,08 г/сут), а в качестве подтверждающего теста предпочтительнее использование трансферрина и иммуноглобулина G мочи ввиду высокой специфичности данных показателей (таблица 75).

Таблица 75 – Сравнение диагностической значимости пороговых значений экскреции трансферрина, IgG, суточной протеинурии относительно различных морфологических изменений при IgA-нефропатии

Суточная экскреция биомаркеров с мочой (IgA-нефропатия, N=29)											
		ПЗ БМ, мг/ сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
ТИ скле- роз 25% (0/1)*	Тр	31,92	81,3	69,2	75,9	0,726	76,5	75,0	2,64	0,27	0,031
	IgG	22,59	81,3	69,2	75,9	0,726	76,5	75,0	2,64	0,27	0,023
	СПБ	1,25	91,3	64,3	81,8	0,809	80,8	81,8	2,56	0,12	< 0,001
Атро- фия ка- наль- цев 25% (0/1)* *	Тр	5,10	88,9	100, 0	89,7	0,994	100	40,0	1,78	0,11	< 0,001
	IgG	10,67	85,2	100, 0	86,2	0,926	100	33,3	1,70	0,15	< 0,001
	СПБ	1,08	84,9	75,0	83,8	0,856	96,6	37,5	3,39	0,20	< 0,001

Примечания: Тр – трансферрин мочи, мг/сут; IgG – иммуноглобулин G мочи, мг/сут; СПБ – суточная потеря белка, г/сут;
 * ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате
 ** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

Как было показано ранее, экскреция цистатина С с мочой является удовлетворительным маркером лишь в отношении склероза тубулоинтерстиция выраженностью 25% при пороговом значении 319,9 мг/сут, что соответствует уровню протеинурии 6,24 г/сут. Как видно из таблицы 76, цистатин С мочи обладает лишь несколько большей чувствительностью при сравнении с суточной протеинурией. На основании этих данных, нет оснований рекомендовать исследование мочевого экскреции цистатина С с целью оценки степени выраженности тубулоинтерстициального склероза.

Таблица 76 – Сравнение диагностической значимости пороговых значений экскреции цистатина С и суточной протеинурии относительно различных морфологических изменений при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция с мочой биомаркеров (общая группа, N=91)											
		ПЗ БМ, мг/ сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	p
ТИ скле- роз 25% (0/1)*	Цис С	319,9	65,0	74,9	68,1	0,662	83,0	52,3	2,52	0,47	0,005
	СПБ	6,24	40,0	80,6	53,8	0,684	80,0	41,0	2,07	0,74	0,002

Примечания: ЦисС – цистатин С мочи, мг/сут; СПБ – суточная потеря белка, г/сут;

* ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

По результатам ROC-анализа было установлено, что альфа1-микроглобулин мочи обладает умеренной диагностической значимостью преимущественно в качестве маркера тубулоинтерстициальных изменений при пороговом значении 10,94 мг/сут, что соответствует суточной протеинурии 1,82 г/сут. Данный уровень протеинурии является чувствительным маркером тубулоинтерстициальных изменений и, следовательно, может использоваться в качестве скрининга для оценки тубулоинтерстициальных изменений. В свою очередь, моченая экскреция альфа1-микроглобулина более 10,94 мг/сут может применяться для подтверждения данных морфологических изменений, исходя из высокого значения прогностической ценности положительного результата (таблица 77). Одинаковые пороговые уровни изученных показателей в отношении тубулоинтерстициального склероза, выраженностью 25% и 50%, не позволяют рекомендовать их с целью дифференцированной оценки тяжести склеротического повреждения тубулоинтерстиция.

Таблица 77 – Сравнение диагностической значимости пороговых значений экскреции альфа1-микроглобулина и суточной протеинурии относительно различных морфологических изменений при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция с мочой биомаркеров (общая группа)											
		ПЗ БМ, мг/су т	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	р
ТИ скле- роз 25% (0/1)*	α1- МГ	10,94	66,7	77,4	70,3	0,763	85,1	54,5	2,95	0,43	< 0,001
	СПБ	1,82	81,7	48,4	70,4	0,684	75,4	57,7	1,58	0,38	0,002
ТИ скле- роз 50% (0/1)* *	α1- МГ	10,94	76,9	58,5	63,7	0,703	42,6	86,4	1,85	0,39	< 0,001
	СПБ	1,82	84,7	33,9	48,4	0,575	33,8	84,6	1,28	0,45	0,260

Примечания: α1-МГ – альфа1-микроглобулин мочи, мг/сут; СПБ – суточная потеря белка, г/сут;

* ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

В таблице 78 представлены данные по сравнению диагностической значимости пороговых значений экскреции бета2-микроглобулина (0,224 и 0,240 мкг/сут) и соответствующему им значению суточной протеинурии (5,998 г/сут) относительно различных морфологических изменений. На основании полученных результатов, определение экскреции бета2-микроглобулина обладает большей диагностической значимостью и является более специфичным маркером раннего склероза тубулоинтерстиция и поздних признаков атрофии канальцев. В отношении же гломерулосклероза, раннее проявление атрофии эпителия канальцев величина СПБ не обладала диагностической значимостью, в отличие от бета2-микроглобулина.

Таблица 78 – Сравнение диагностической значимости пороговых значений экскреции бета2-микроглобулина и суточной протеинурии относительно различных морфологических изменений при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция с мочой биомаркеров (общая группа)											
		ПЗ БМ, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	р
ТИ скле- роз 25% (0/1) *	β2- МГ	0,224	60,0	84,0	68,2	0,691	87,8	52,0	3,72	0,48	< 0,001
	СПБ	5,998	46,7	80,7	58,3	0,684	82,4	43,9	2,41	0,66	0,002
Атрофия канальцев 25% (0/1)**	β2- МГ	0,224	51,3	92,3	58,3	0,695	97,6	24,0	6,67	0,53	0,002
	СПБ	5,998	38,5	69,2	42,9	0,529	88,2	15,8	1,25	0,89	0,752
Гломеру- лосклероз 50% (0/1)***	β2- МГ	0,224	89,5	66,7	71,5	0,760	41,5	96,0	2,68	0,16	< 0,001
	СПБ	5,998	47,4	65,3	61,6	0,554	26,5	82,5	1,36	0,81	0,420
ТИ скле- роз 50% (0/1)****	β2- МГ	0,240	69,2	66,2	67,0	0,668	45,0	84,3	2,05	0,47	0,011
	СПБ	5,998	46,2	66,2	60,5	0,575	35,3	75,4	1,36	0,81	0,260
Атрофия канальцев 50% (0/1)***** *	β2- МГ	0,224	62,9	66,1	64,8	0,651	53,7	74,0	1,85	0,56	0,011
	СПБ	5,998	51,4	71,4	63,7	0,636	52,9	70,2	1,80	0,68	0,037

Примечания: β2-МГ – бета2-микроглобулин мочи, мкг/сут; СПБ – суточная потеря белка, г/сут;

* ТИ склероз 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

** Атрофия канальцев 25% (0/1): 0 - соответствовало <25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

*** Гломерулосклероз 50%: 0 – соответствовало <50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

**** ТИ склероз 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% склероза тубулоинтерстиция в исследуемом биоптате

***** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

По результатам ROC-анализа было установлено, что NGAL мочи является высокочувствительным показателем в отношении начальных признаков гломерулосклероза (пороговое значение 1445,4 мг/сут) и умеренной атрофии канальцевого эпителия (пороговое значение 4897,8 мг/сут), что соответствует суточной протеинурии 3,802 г/сут и 4,789 г/сут. Однако величина суточной потери белка не обладала диагностической значимостью в отношении данных морфологических изменений в принципе (таблица 79).

Таблица 79 – Сравнение диагностической значимости пороговых значений экскреции NGAL с мочой и суточной протеинурии относительно различных морфологических изменений при первичных гломерулопатиях

Суточная экскреция с мочой (общая группа)											
		ПЗ БМ, мг/сут	ЧВ, %	СП, %	ДТ, %	AUC	ППЦ	ОПЦ	ПОП	ООП	р
Гло- меру- ло- скле- роз 25% (0/1)*	u NGAL	1445,4	90,6	56,3	73,4	0,743	67,4	85,7	2,07	0,17	< 0,001
	СПБ	3,802	59,4	45,7	51,7	0,532	43,2	61,8	1,09	0,89	0,630
Атро- фия ка- наль- цев 50% (0/1)* *	uNGAL	4897,8	81,8	64,3	70,3	0,739	54,5	87,1	2,29	0,28	< 0,001
	СПБ	4,789	54,5	44,6	48,4	0,500	27,9	71,4	0,99	1,02	0,995

Примечания: uNGAL – NGAL мочи, мг/сут; СПБ – суточная потеря белка, г/сут;

* Гломерулосклероз 25%: 0 – соответствовало <25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало ≥25% глобального гломерулосклероза в исследуемом биоптате.

** Атрофия канальцев 50% (0/1): 0 - соответствовало <50% атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате; 1 – соответствовало $\geq 50\%$ атрофии эпителия канальцев в исследуемом биоптате

Таким образом, можно заключить, что при уровне протеинурии до 2 г/сут, наиболее оптимальными маркерами склероза тубулоинтерстиция и атрофии канальцевого эпителия у пациентов с IgA-нефропатией могут использоваться мочевые экскреции трансферрина и иммуноглобулина G.

В общей когорте пациентов с первичной гломерулярной патологией:

- При СПБ до 2х г/сутки наиболее оптимальным в отношении тубулоинтерстициального склероза менее 25% является мочевая экскреция альфа1-микроглобулина (пороговый уровень 10,94 мг/сут; $p < 0,001$).
- При СПБ от 2 до 3 г/сут - NGAL мочи может применяться в качестве маркера как гломерулосклероза менее 25% (пороговый уровень 1445,4 нг/сут; $p < 0,001$), так и поздних стадии атрофии канальцев (пороговый уровень 4897,8 нг/сут; $p < 0,001$) при соответствующих пороговых значениях.
- При СПБ более 5 г/сут – бета2-микроглобулин является оптимальным маркером ранних изменений тубулоинтерстиция и канальцевого эпителия (пороговый уровень 0,224 мкг/сут; $p < 0,001$ для тубулоинтерстициального склероза, атрофии канальцевого эпителия в 25% и гломерулосклероза в 50%; пороговый уровень 0,240 мг/сут; $p < 0,001$ для тубулоинтерстициального склероза 50% выраженности).

Глава 5. Обсуждение

Выполнение нефробиопсии при первичных гломерулопатиях рекомендуется на самых ранних сроках клинической презентации, особенно если речь идет о нефротическом синдроме. Такая тактика необходима для начала патогенетической терапии. Как правило, в этих случаях при морфологическом исследовании не обнаруживается выраженных склеротических изменений (гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза) и перед клиницистом встает задача их мониторинга при последующем наблюдении и лечении пациента. В то же время, известно, что начальные степени гломеруло- и тубулоинтерстициального склероза являются предикторами прогрессии заболевания [228]. Однако методы прижизненного морфологического исследования обладают, по крайней мере, одним очень важным ограничением. Они инвазивны и, как правило, не могут выполняться повторно [229]. Лишь в редких случаях, например, при быстром прогрессировании почечной дисфункции, прибегают к повторной нефробиопсии, а чаще ориентируются на суррогатные показатели (СКФ, величина протеинурии). Однако в целом ряде исследований было установлено, что традиционные маркеры могут оставаться в пределах нормы и ориентировать врача и пациента на благоприятное течение болезни, однако гистологически при этом могут отмечаться необратимые изменения различных отделов нефрона (как гломерулосклероз, так и склероз тубулоинтерстиция) [100–102, 228, 230, 231]. В этом случае крайне необходимыми становятся биомаркеры, способные отражать данные морфологические повреждения на ранних стадиях и осуществлять мониторинг за их прогрессированием в ходе наблюдения пациента.

Согласно современным представлениям, моча является важным источником «биологической информации» и содержит большое число различных биомолекул. Кроме того, осадок мочи включает в себя не только клеточные элементы, но также и внеклеточные везикулы, содержащие, например, матричную и микроРНК и супернатант мочи, включающий в себя разнообразные цитокины, хемокины и белковые молекулы [232].

В настоящее время, поиск новых биомаркеров пытаются осуществлять, при помощи протеомного анализа, который является важным диагностическим и прогностическим инструментом, в том числе и при первичной гломерулярной патологии [6]. Од-

нако применение протеомного анализа в рутинной клинической практике затруднительно ввиду трудоемкости и дороговизны данной методики. Кроме того, результаты проведения протеомного анализа мочи не всегда позволяют достаточно точно локализовать компартмент почечной паренхимы, в котором развивается патологический процесс.

В силу этих обстоятельств, мы остановились на исследовании набора, сравнительно доступных для измерения, биомаркеров в отношении перспективности которых есть определенные наработки, по крайней мере, в плане оценки ОПП, но которые подробно не оценивались в диагностическом плане при хронических гломерулопатиях. Продолжая обоснование целесообразности выполнения нашего исследования, следует иметь в виду, что в большинстве работ, посвященных изучению роли биомаркеров, исследовали их диагностическую значимость либо в качестве маркеров снижения СКФ, либо в роли предикторов нарастания почечной дисфункции и развития ТПН [233]. Так, например, существуют данные в отношении NGAL (как сыворотки крови, так и мочи) как предиктора снижения СКФ и прогрессии заболевания у пациентов с первичной гломерулярной патологией в целом [234], при IgA-нефропатии, а также и ряда других биомаркеров [200, 234].

В то же время, исследований, в которых оценивалась бы валидность того или иного биомаркера сыворотки крови или мочи в отношении конкретных морфологических изменений в почечной паренхиме крайне мало. Например, в работе начала 90-х годов, при исследовании пациентов с IgA-нефропатией было установлено, что высокий уровень протеинурии ассоциирован с более выраженными морфологическими повреждениями, а уровень альбуминурии коррелировал со степенью сегментарного склероза и интерстициального фиброза. Авторы пришли к выводу, что протеинурия может отражать выраженность морфологического повреждения почек при IgA-нефропатии [103]. В настоящее время данный тезис превратился в аксиому, которую практический врач использует в клинике не только при IgA-нефропатии, но и в отношении других видов гломерулопатий.

В другом исследовании, также в группе пациентов с IgA-нефропатией было установлено, что экскреция IgG с мочой является маркером не только снижения СКФ, но и увеличения выраженности сегментарного гломерулосклероза [235]. Также суще-

существует небольшое число работ начала 90-х годов, посвященных оценке валидности низкомолекулярных белков в качестве предикторов морфологических изменений, в частности альфа1-и бета2-микроглобулина, однако данные исследования носили единичный характер, что было обусловлено трудоемкостью лабораторных методик определения данных протеинов, существовавших ранее [47, 49, 46, 48, 17]. В настоящее же время появление и развитие иммуноферментного анализа позволяет не только проводить научные исследования, посвященные изучению роли данных маркеров в качестве предикторов характера и выраженности морфологических изменений, но и широко применять их в клинической практике. Так, Gold L. и соавт., применив новую таргетную методику протеомного анализа с использованием аптамерной технологии, исследовали образцы плазмы крови пациентов с ХБП. Из 813 обнаруженных протеинов 60 могли претендовать на роль биомаркеров ХБП, причем два протеина были представлены цистатином С и бета2-микроглобулином [13]. Учитывая данные обстоятельства в нашей работе, мы провели сравнительную оценку ряда биомаркеров в качестве предикторов характера и выраженности необратимых морфологических изменений различных компартментов нефрона, используя как сывороточную концентрацию ряда молекул, так и суточную их экскрецию.

Только в последнее время стали появляться подобные работы, которые задались целью исследовать соотношение не только протеинурии, но и других биомаркеров с морфологическими изменениями. Так, например, Min Tan и соавт. (2015) установили, что протеинурия является независимым предиктором тяжелых морфологических повреждений. В то же время, приблизительно у 1/3 пациентов с IgA-нефропатией традиционные маркеры (такие как суточная протеинурия, СКФ, мочевого осадок) могут оставаться в пределах нормы и свидетельствовать о благоприятном течении болезни, тогда как гистологически при этом формируются склеротические изменения как гломерул, так и тубулоинтерстиция [102]. В одном из исследований было установлено, что увеличение экскреции NGAL с мочой у пациентов с первичной гломерулярной патологией ассоциировано с увеличением выраженности тубулоинтерстициального повреждения (с чувствительностью 57%, специфичностью 62%, AUC – 0,720 при пороговом уровне 22 нг/мл) [236].

5.1. Роль креатинина, цистатина С, NGAL сыворотки крови и величин СКФ, рассчитанных по различным методикам, в качестве предикторов морфологических повреждений

В настоящее время достоверно известно, что традиционные функциональные маркеры, такие как креатинин и цистатин С сыворотки крови являются предикторами неблагоприятного прогноза, в том числе развития ТПН вне зависимости от генеза хронической болезни почек [71–74]. В то же время, несмотря на неоспоримую значимость данных показателей в оценке прогрессирования почечной дисфункции, не вполне ясна роль и возможность их применения в качестве маркеров фибропластических процессов в почечной паренхиме, лежащих в основе прогрессии ХБП, и присутствующих в ткани почки уже на ранних стадиях данной патологии.

В связи с этим, одним из направлений нашей работы было проведение морфологической оценки диагностической значимости данных маркеров. Мы установили, что и креатинин, и цистатин С сыворотки крови в равной степени и с высокой диагностической значимостью отражают состояние различных компартментов нефрона. Как по результатам сравнения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена, так и по данным попарного сравнения площадей под ROC-кривыми, преимуществ в прогнозировании гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев разной степени выраженности у пациентов с первичными гломерулопатиями ни для одного из данных биомаркеров выявлено не было (см. главы 3.4, 4.1.1, 4.1.2, таблицы 30-34).

С практической точки зрения, нами были получены пороговые значения данных показателей, позволяющие предполагать наличие и степень выраженности тех или иных морфологических изменений. Так, уровень креатинина сыворотки крови более 0,115 ммоль/л, может указывать на наличие в биоптате ГСК в 25%, атрофии канальцев 50%, а при меньшем уровне – указывать на отсутствие склероза тубулоинтерстиция, выраженностью 50% (см. таблицы 24-25). В свою очередь, сывороточная концентрации цистатина С равная 1,82 мг/л является пороговой величиной в оценке выраженности гломерулосклероза, а для оценки атрофии канальцевого эпителия разной

степени выраженности и тубулоинтерстициального склероза не более 25% необходимо ориентироваться на уровень 1,26 мг/л (см. таблицы 28-29).

Таким образом, можно заключить, что и креатинин, и цистатин С сыворотки крови могут использоваться в качестве предикторов морфологических изменений, с учетом установленных нами пороговых значений, однако, не следует забывать возможность влияния некоторых экстраренальных факторов на концентрацию данных показателей в сыворотки крови в конкретной клинической ситуации.

Существует большое число исследований, доказывающих высокую точность расчётных методик оценки СКФ, как с использованием только креатинина или цистатина С, так и их комбинации при сравнении с «золотым стандартом» определения СКФ [3, 4]. В то же время, по мнению некоторых авторов все расчетные методики имеют ряд ограничений и недостатков, прежде всего, это вариабельность значений биомаркера, на основании которого производится расчет СКФ, будь то креатинин или цистатин С [237].

В нашей работе мы провели оценку различных методик определения СКФ по отношению к характеру и степени выраженности необратимых морфологических изменений различных отделов нефрона, лежащих в основе прогрессирования почечной дисфункции, тогда как большинство исследований до нас оценивали значимость той или иной методики определения СКФ относительно «золотого стандарта» определения СКФ (клиренсовые методики) или в качестве предиктора прогрессирования ХБП и развития ТПН.

Так, нами было установлено, что все формулы, как с использованием креатинина или цистатина С, а также их комбинация с высокой диагностической значимостью отражают наличие как ранних (25% выраженности), так и умеренных (50% выраженности) морфологических изменений, таких как гломеруло-, тубулоинтерстициальный склероз, атрофия канальцевого эпителия (таблицы 36-38 и 39-40).

Также, при проведении попарного сравнение площадей под ROC-кривыми по методу ДеЛонг, статистически значимых различий для всех исследуемых нами формул относительно гломерулосклероза (вне зависимости от степени его выраженности), а также умеренного склероза тубулоинтерстиция и атрофии эпителия канальцев выявлено не было, что позволяет говорить об отсутствии преимуществ какой-либо мето-

дики расчета СКФ в роли предиктора данных гистологических изменений (рисунки 11-16). В отношении же ранних признаков склероза тубулоинтерстиция (25% выраженности) несколько точнее была комбинированная формула СКD-EPI_{CysCr} при сравнении с формулами MDRD, Hoek и СКD-EPI_{Cys}).

Однако при анализе величин пороговых значений СКФ (по различным расчетным формулам) по результатам ROC-анализа, обращает на себя внимание, что данные, полученные с помощью большинства расчетных формул позволяют выявлять наличие ранних признаков гломерулосклероза (выраженностью 25%), лишь на 3а стадии ХБП, атрофии канальцев на 2 или даже 3б стадиях ХБП, тогда как по клиренсу креатинина, пороговое значение соответствует более ранним стадиям ХБП (2 и 1 стадии, соответственно), что может оказывать существенное влияние на принятие решения о назначении или коррекции терапии, в том числе нефропротективной.

Данные результаты позволяют сделать вывод о том, что применение расчетных методик определения СКФ не позволяет осуществлять персонализированный подход и не целесообразно при оценке стадии ХБП в конкретном клиническом случае. Данные методики предпочтительны к применению в качестве скрининга, в том числе при первичном обращении пациента с подозрением на наличие ХБП. При наблюдении конкретного пациента необходимо использовать величину СКФ, определенной по клиренсу креатинина.

Согласно результатам нашего исследования, неинвазивная диагностика фибропластических процессов различных отделов нефрона возможна лишь со 2 стадии ХБП (по клиренсу креатинина), что не позволяет оценить наличие данных изменений у пациентов с более высокими значениями СКФ. Таким образом, можно предположить, что снижение функции почек «запаздывает» по отношению к тем морфологическим изменениям, которые имеются в почечной ткани. Это происходит вследствие того, что оставшиеся неповрежденные клубочки берут на себя функцию «погибших» нефронов, что приводит к развитию гиперфльтрации в каждом отдельно взятом клубочке и, тем самым, общее функциональное состояние почек, оцененное по СКФ, остается в пределах нормы. Данное обстоятельство может являться одним из ограничений использования величины расчетной СКФ в качестве маркера выраженности не-

обратимых морфологических изменений и требует более комплексной оценки с применением других биомаркеров.

В настоящем исследовании в качестве альтернативного показателя был использован NGAL сыворотки крови. Нами было установлено, что sNGAL является высокочувствительным маркером ранних признаков гломерулосклероза. При его величине меньшей установленного нами порогового значения (100,26 мг/л), можно с высокой долей вероятности говорить об отсутствии в биоптате гломерулосклероза 25% и более. Интересно отметить, что при проведении дополнительного анализа оценки величины СКФ, соответствующей данному пороговому уровню sNGAL, было установлено, что пороговому уровню sNGAL равному 100,26 мг/л соответствует величина СКФ по клиренсу креатинина равная 97 мл/мин (ХБП 1 стадии). Учитывая вышесказанное можно заключить, что при величине СКФ >90 мл/мин (по клиренсу креатинина), то есть в случае ХБП С1, для оценки фибропластических процессов гломерулярного отдела нефрона, целесообразно использовать NGAL сыворотки крови.

Таким образом, учитывая полученные нами результаты можно сделать вывод о том, что для выявления на ранних стадиях ХБП необратимых изменений различных отделов нефрона необходимо использовать величину клиренса креатинина, а для более точной оценки начальных признаков гломерулосклероза в качестве следующего диагностического этапа целесообразна оценка NGAL сыворотки крови.

5.2. Роль протеинурии, мочевого экскреции трансферрина и IgG в качестве предикторов морфологических повреждений

Традиционно принято считать, что основным маркером, отражающим выраженность морфологических повреждений, является протеинурия. Однако согласно полученным нами данным было установлено, что оценка суточной протеинурии не обладает предикторной способностью в отношении гломерулосклероза и может использоваться в качестве скринингового метода лишь в оценке тубулоинтерстициального склероза выраженностью 25%, а также продвинутых стадий атрофии канальцевого эпителия. При сопоставлении диагностической ценности протеинурии и исследованных нами маркеров, было показано, что ряд протеинов обладал большей диагности-

ческой ценностью для оценки фибропластических и атрофических процессов разной степени выраженности в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях (таблица 75).

Во многих исследованиях было установлено, что появление в моче средне- и высокомолекулярных белков, является достоверным предиктором прогрессирования почечной дисфункции, развития ТПН, что ассоциируется с плохим ответом на иммуносупрессивную и нефропротективную терапию при различных формах первичной гломерулярной патологии [238, 139, 138, 239]. Однако верификации биомаркеров в отношении их значимости в предикции морфологических изменений ранее не проводилось. Согласно лишь немногочисленным данным литературы, оценка экскреции трансферрина с мочой может выступать в роли предиктора морфологических изменений. Так, в одной из работ, посвященных исследованию экскреции различных маркеров (IgG, трансферрин, альфа1-, бета2-микроглобулин, N-ацетил-глюкозаминидаза мочи) у детей с IgA-нефропатией, трансферрин оказался единственным протеином, доказавшим свою диагностическую значимость в отношении всех исследуемых морфологических изменений: мезангиальной гиперклеточности, гломерулосклероза и тубулоинтерстициального повреждения [50].

Интересно отметить, что согласно результатам нашего исследования также было установлено, что среди всех исследуемых морфологических форм первичной гломерулярной патологии, экскреция трансферрина мочи имела диагностическую значимость лишь при IgA-нефропатии. При этом выявлены следующие закономерности: при экскреции трансферрина с мочой более 5,10 мг/сут можно говорить о развитии атрофии канальцевого эпителия 25% и более, а при нарастании концентрации данного протеина до 31,92 мг/сут – о наличии начальных стадий фиброза тубулоинтерстиция (25% и более) (таблицы 47-48).

При попытке соотнести данные пороговые уровни трансферрина мочи с уровнем протеинурии было установлено, что величина экскреции трансферрина 31,92 мг/сут соответствует величине протеинурии 1,25 мг/сут, обладающей чувствительностью 75,7%, специфичностью – 75,0% в отношении ранних признаков склероза тубулоинтерстиция, а, в свою очередь, экскреция трансферрина 5,10 мг/сут соответствует уровню протеинурии 1,07 г/сут, отражающему наличие ранних стадий атрофии ка-

нальцевого эпителия с чувствительностью 85,8%, специфичностью 75,0% (таблица 75). На основании полученных результатов можно заключить, что при IgA-нефропатии экскреция трансферрина с мочой является важным диагностическим маркером начального склероза тубулоинтерстиция и атрофии канальцевого эпителия, на ранних стадиях развития патологического процесса.

По результатам нашего исследования было показано, что иммуноглобулин G мочи является важным прогностическим маркером в оценке тубулоинтерстициального склероза различной степени выраженности, а также начальных признаков атрофии канальцевого эпителия также лишь при IgA-нефропатии. Согласно полученным данным, суточная экскреция равная или превышающая 10,67 мг/сут свидетельствует в пользу наличия в биоптате атрофии канальцев 25% и более. В свою очередь, уровень IgG мочи в диапазоне 22,59-24,23 мг/сут, указывает на прогрессирование фиброза интерстиция, соответствующего 25-50% от исследуемого биоптата. Согласно результатам анализа, все полученные пороговые значения экскреции IgG, соответствуют величине протеинурии 1,25 г/сут (см. таблицы 51-52,74).

Таким образом, можно сделать вывод, что оценка IgG мочи может использоваться в качестве предиктора склероза тубулоинтерстиция различной степени и ранней атрофии канальцевого эпителия при IgA-нефропатии, а также обладает большей специфичностью в отношении данных морфологических изменений при сравнении с оценкой суточной протеинурии, в особенности при умеренном ее значении, не превышающем 1,25 г/сут.

5.3. Роль мочевой экскреции цистатина С, альфа1-, бета2-микроглобулина, NGAL и экскретируемой фракции магния с мочой в качестве предикторов морфологических повреждений

Традиционно принято считать, что оценка экскреции низкомолекулярных белков, прежде всего, альфа1-микроглобулина, бета2-микроглобулина, цистатина С мочи и др., является, как важным прогностическим инструментом в отношении развития ТПН при первичных гломерулопатиях (наиболее достоверна роль при идиопатической мембранозной нефропатии), так и по некоторым данным отражает тяжесть тубу-

лоинтерстициального повреждения [20]. Кроме того, в экспериментальных исследованиях было показано, что активация комплекса неонатального Fc-рецептора и бета2-микроглобулина (например, протеинурией) может запускать патологические механизмы фиброзирования почечной ткани посредством p38MAPK патологического пути [240]. В некоторых исследованиях, была установлена высоко значимая прямая корреляция уровня цистатина С, креатинина и сывороточного бета2-микроглобулина, обратная корреляция данного маркера с величиной СКФ. Рядом авторов бета2-микроглобулин был предложен для оценки величины СКФ, ввиду некоторых преимуществ перед традиционными креатинином и цистатином С сыворотки, в том числе из-за меньшей зависимости показателя от возраста и пола. В то же время, при мультивариантном анализе было показано, что расовая принадлежность (концентрация бета2-микроглобулина ниже у афроамериканцев), курение (концентрация бета2-микроглобулина выше у курящих) и протеинурия (положительная корреляция с величиной протеинурии) оказывают умеренное влияние на уровень бета2-микроглобулина в сыворотке крови [240]. Отсюда и возникает актуальность предпринятого нами исследования по оценки морфологической значимости экскреции низкомолекулярных белков, в том числе, бета2-микроглобулина.

Однако по данным нашего исследования, ни один из низкомолекулярных пептидов, исследованных в работе, не обладал диагностической значимостью в отношении ранних признаков гломерулосклероза. Лишь величина экскреции бета2-микроглобулина с мочой, не превышающая 0.224 мкг/сут, с высокой достоверностью позволяла исключить присутствие в биоптате 50% и более склерозированных клубочков (таблица 63).

Напротив, определение экскреции низкомолекулярных белков мочи оказалось ценным диагностическим инструментом в качестве предикции необратимых морфологических изменений тубулоинтерстициального компартмента нефрона.

Согласно проведенному анализу, при оценке уровня бета2-микроглобулина мочи в практической деятельности, следует ориентироваться на уровень, равный 0,224 мкг/сут. В случае его превышения можно будет достоверно говорить о присутствии в биоптате тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцев выраженностью в 25%, а нарастание его концентрации до 0,240 мкг/сут будет свидетельствовать о развитии более выраженной степени склероза тубулоинтерстиция. Кроме того, мы пока-

зали, что данные значения экскреции бета2-микроглобулина обладают большей диагностической значимостью и являются более специфичным маркерами раннего склероза тубулоинтерстиция и атрофии канальцев, чем соответствующий пороговый уровень протеинурии (5,998 г/сут) (таблицы 62-63, 74).

По данным нашего исследования, определение экскреции альфа1-микроглобулина с мочой может является хорошим дополнительным диагностическим тестом в оценке склероза тубулоинтерстиция. Так, при величине мочевой экскреция альфа 1-микроглобулина равной или менее 10,94 мг/сут исключается наличие склероза тубулоинтерстиция в биоптате выраженностью в 50%, а при результате более 10,94 мг/сут наши суждения в отношении выраженности тубулоинтерстициального склероза не могут выходить за рамки представления о 25% охвате склеротическими изменениями тубулоинтерстиция. Тем не менее, даже при столь умеренной предиктивной способности данный маркер оказался более специфичным, чем соответствующий ему уровень суточной протеинурии (1,82 г/сут) (таблицы 60-61, 74).

Согласно проведённому анализу, в отношении цистатина С мочи была установлена низкая его валидность в качестве предиктора морфологических изменений у пациентов с первичными гломерулопатиями, которая была сопоставима с использованием протеинурии в этих же целях (таблицы 55-56, 74). В то же время, высокая положительная прогностическая ценность данного маркера в отношении ранних стадий склероза тубулоинтерстиция позволяет его использовать в качестве дополнительного диагностического теста к уровням бета2- и альфа1-микроглобулинов.

Одним из перспективных маркеров для оценки морфологических изменений можно рассматривать экскрецию NGAL. Так, в одном из исследований было установлено, что увеличение экскреции NGAL с мочой у пациентов с первичной гломерулярной патологией ассоциировано с увеличением выраженности тубулоинтерстициального повреждения (с чувствительностью 57%, специфичностью 62%, AUC – 0,720 при пороговом уровне 22 нг/мл) [236].

В то же время, по данным нашей работы суточная экскреция NGAL с мочой обладала весьма умеренной диагностической ценностью у пациентов с первичной гломерулярной патологией. Так, при ее величине менее 1445,4 нг/сут с достаточно высокой достоверностью можно было говорить об отсутствии в нефробиоптате ранних при-

знаков гломерулосклероза (выраженностью менее 25%), а при ее значениях, не превышающих 4897,9 нг/сут, с высокой достоверностью можно исключить наличие атрофии канальцев в 50%. В свою очередь, соответствующие данным значениям NGAL мочи, уровни суточной протеинурии (3,80 г/сут и 4,78 г/сут, соответственно) статистической значимостью в отношении морфологических изменений не обладали (таблицы 66-67, 74).

По данным некоторых исследований, имеется тесная взаимосвязь между функциональным состоянием тубулоинтерстициального компартмента нефрона (оценивается с использованием экскретируемых фракций ряда веществ) и его морфологической целостностью [207]. Согласно немногочисленным работам, одним из наиболее перспективных маркеров, способным претендовать на роль предиктора снижения перитубулярного кровотока, а, следовательно, и формирования фиброза тубулоинтерстиция может являться экскретируемая фракция магния [207, 209–211].

В нашей работе мы также провели диагностическую оценку экскретируемой фракции магния. Так, было установлено, что данный маркер тесно ассоциирован с развитием и прогрессированием необратимых морфологических изменений различных отделов нефрона и является высокоспецифичным показателем, отражающим поздние стадии гломеруло-, тубулоинтерстициального склероза, атрофии канальцевого эпителия. Однако при более детальной оценке проведенного ROC-анализа можно говорить лишь о том, что величина экскретируемой фракции магния не превышающая 5,33% с высокой достоверностью позволяет говорить об отсутствии в биоптате гломерулосклероза и тубулоинтерстициального склероза в 50% (таблицы 70-71). В то же время, одним из преимуществ экскретируемой фракции магния является отсутствие взаимосвязи с уровнем протеинурии, что подтверждается не только данными литературы, но и результатами настоящего исследования (глава 4.2.6.).

Таким образом, комплексная оценка ряда биомаркеров, исследованных в настоящей работе, является важным диагностическим инструментом, позволяющим судить о характере и выраженности фибропластических и атрофических изменений различных компартментов нефрона (таблица 80), в том числе в динамике, не прибегая к повторной нефробиопсии.

Таблица 80 – Диагностическая значимость биомаркеров в качестве предикторов морфологических изменений у пациентов с первичной гломерулярной патологией

	Диагностическая значимость							
Биомаркер	Гломерулосклероз							
	25%				50%			
	ПЗ	ЧВ	СП	AUC	ПЗ	ЧВ	СП	AUC
Креатинин сыворотки крови, ммоль/л	0,115	62,5	86,3	0,730	0,115	78,6	76,4	0,811
Цистатин С сыворотки крови, мг/л	1,82	60,0	84,3	0,751	1,82	79,0	76,4	0,824
NGAL сыворотки крови, нг/л	100,26	90,6	53,1	0,737	-	-	-	-
β 2- микроглобулин мочи, нг/сут	-	-	-	-	0,224	89,5	66,7	0,760
NGAL мочи, нг/сут	1445,4	90,6	56,3	0,743				
EF Mg, %	-	-	-	-	5,33	57,9	83,3	0,676
	Диагностическая значимость							
Биомаркер	Тубулоинтерстициальный склероз							
	25%				50%			
	ПЗ	ЧВ	СП	AUC	ПЗ	ЧВ	СП	AUC
Креатинин сыворотки крови, ммоль/л	0,107	61,7	90,3	0,767	0,115	80,8	83,1	0,867
СПБ, г/сут	1,82	81,8	48,4	0,684	-	-	-	-
Цистатин С сыворотки крови, мг/л	1,26	76,7	74,2	0,810	1,66	88,5	75,4	0,872
Цистатин С мочи, мг/сут	319,9	65,0	74,9	0,662	-	-	-	-
α 1-микроглобулин мочи, мг/сут	10,94	66,7	77,4	0,763	10,94	76,9	58,5	0,703
β 2- микроглобулин мочи, нг/сут	0,224	60,0	84,0	0,691	0,240	69,2	66,2	0,668
EF Mg, %	-	-	-	-	5,33	50,0	84,6	0,643

Продолжение таблицы 80

Трансферрин мочи, мг/сут*	31,92	81,3	69,2	0,726	-	-	-	-
IgG мочи, мг/сут*	22,59	81,3	69,2	0,726	24,23	100	58,3	0,767
	Диагностическая значимость							
Биомаркер	Атрофия канальцев							
	25%				50%			
	ПЗ	ЧВ	СП	AUC	ПЗ	ЧВ	СП	AUC
Креатинин сыворотки крови, ммоль/л	0,089	66,7	84,6	0,804	0,115	71,4	87,5	0,857
СПБ, г/сут	-	-	-	-	6,10	51,4	73,2	0,626
Цистатин С сыворотки крови, мг/л	1,26	60,3	84,6	0,790	1,26	94,3	71,4	0,891
NGAL сыворотки крови, нг/л	-	-	-	-	107,73	90,9	52,4	0,737
β 2- микроглобулин мочи, нг/сут	0,224	51,3	92,3	0,695	0,224	62,9	66,1	0,651
NGAL мочи, нг/сут	-	-	-	-	4897,8	81,8	64,3	0,739
EF Mg, %	-	-	-	-	5,33	42,9	85,7	0,638
Трансферрин мочи, мг/сут*	5,10	88,9	100,0	0,994	-	-	-	-
IgG мочи, мг/сут*	10,67	85,2	100	0,926	-	-	-	-

Примечания: * - достоверно только для пациентов с IgA-нефропатией;

Заключение

Оценка динамики фибротических и атрофических изменений почечной паренхимы, лежащих в основе прогрессирования и являющихся универсальным патоморфологическим субстратом ХБП, представляет большой интерес как с прогностической, так и с терапевтической точки зрения. Ввиду инвазивности методики, наличия противопоказаний и потенциальных осложнений, проведение повторной нефробиопсии в значительной степени затруднительно. Вследствие данных причин, в клинической практике используются суррогатные показатели, такие как уровень суточной протеинурии, величина СКФ. Однако данные маркеры, с одной стороны, зачастую «запаздывают» по отношению к развитию в почечной паренхиме склеротических и атрофических изменений, с другой – обладают низкой специфичностью, что может привести к неправильному суждению, а, как следствие, и ошибочной тактике ведения пациента.

Данные обстоятельства послужили причиной поиска новых маркеров, способных выступать в качестве предикторов данных морфологических изменений, что позволяло бы проводить динамический контроль данных изменений, не прибегая к повторным патоморфологическим исследованиям. Большинство работ в настоящее время посвящено изучению биомаркеров в качестве предикторов острого повреждения почек, либо оценке их прогностического значения в роли маркеров прогрессирования ХБП или развития ТПН. В тоже время, работы, которые оценивали бы роль биомаркеров, как предикторов необратимых патоморфологических изменений, носят единственный характер, а также зачастую имеют противоречивые результаты.

В представленном исследовании впервые была проведена детальная оценка диагностической значимости, как традиционных (креатинин сыворотки крови, суточная потеря белка), так и некоторых специфических биомаркеров (цистатин С и NGAL в крови, мочева экскреция трансферрина, IgG, NGAL, альфа1- и бета2-микроглобулина, экскретируемая фракция магния) в отношении предикции характера и степени выраженности склеротических и атрофических процессов почечной паренхимы, у пациентов с первичной гломерулярной патологией.

Впервые показано, что оценка традиционных показателей, таких как креатинин сыворотки крови, а также суточная протеинурия, преимущественно отражает продвинутые степени фибропластических и атрофических процессов в почечной паренхиме.

Также проведен детальный анализ различных методик расчёта СКФ в качестве маркеров необратимых морфологических изменений, согласно которому, все исследуемые нами формулы в равной степени характеризуют характер и степень выраженности фибропластических и атрофических процессов почечной паренхимы, однако, лишь величина СКФ по клиренсу креатинина позволяет диагностировать начальные признаки данных изменения уже на ранних стадиях ХБП.

В проведенном исследовании продемонстрирована эффективность применения NGAL (при пороговом уровне в сыворотки крови 100,26 нг/л, в моче - 1445,4 нг/сут) в качестве единственного маркера, отражающего ранние стадии гломерулосклероза, а также доказана практическая значимость использования комплексной оценки экскреции протеинов различной молекулярной массы (трансферрина, иммуноглобулина G, альфа1-микроглобулина, бета2-микроглобулина) в качестве предикторов состояния тубулоинтерстициального компартмента.

Результаты данной работы открывают определенные перспективы использования исследованных нами биомаркеров в клинической практике для динамической оценки выраженности склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме при первичной гломерулярной патологии, а также дальнейшему их изучению и при других вариантах ренальной патологии.

Выводы

1. Креатинин крови не может быть отнесен к группе маркеров ранних стадий формирования склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях. Уровень креатинина крови равный 0,115 ммоль/л является пороговым для вынесения суждения о 50% степени выраженности гломерулосклероза, тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев.

2. Величина суточной потери белка с мочой не отражает степень выраженности гломерулосклероза в почечной паренхиме, но может свидетельствовать о формировании начальной стадии тубулоинтерстициального склероза 25% выраженности при пороговом значении 1,82 г/сут. Нефротический уровень протеинурии, равный 6,10 г/сут, ассоциируется с выраженной (50%) атрофией эпителия канальцев.

3. По сравнению с различными расчетными формулами СКФ, рекомендованными к использованию в клинической практике, только СКФ, определенная на основе клиренса креатинина с пересчетом на 1,73 м² стандартную поверхность тела, позволяет судить о различной степени выраженности морфологических изменений в почечной паренхиме при более высоких пороговых значениях показателя, соответствующего более ранним стадиям ХБП, для гломерулосклероза (65 мл/мин), склероза тубулоинтерстиция (79 мл/мин) и атрофии канальцевого эпителия (94 мл/мин), выраженностью 25%.

4. Оценка уровня как NGAL в сыворотки крови, при пороговом уровне 100,26 нг/л, так и мочевого экскреции NGAL, при пороговом уровне 1445,4 нг/сут, позволяют диагностировать раннюю стадию (25% выраженности) формирования гломерулосклероза. Нарастание концентрации NGAL в сыворотки крови до 107,73 нг/л и более ассоциировано с атрофией эпителия канальцев 50% степени выраженности. Экскреция NGAL с мочой достоверно не отражает динамики формирования тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев в почечной паренхиме.

5. Цистатин С как биомаркер, при контроле его содержания в крови или моче, по сравнению с креатининемией, протеинурией, соответственно, не имеет каких-либо существенных преимуществ в оценке степени выраженности склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме при первичных гломерулопатиях.

6. У пациентов с IgA-нефропатией и умеренной протеинурией (не выше 1,25 г/сут) уровни мочевой экскреции трансферрина и IgG следует использовать в качестве биомаркеров 25% степени выраженности тубулоинтерстициального склероза (пороговый уровень 31,92 и 22, 59 мг/сут, соответственно), а также атрофии эпителия канальцев 25% степени выраженности (пороговый уровень 5,10 и 10,67 мг/сут, соответственно).

7. Мочевая экскреция NGAL является достоверным маркером начальных стадий формирования гломерулосклероза (25% степени выраженности) при пороговом уровне - 1445,4 нг/сут. Экскреция NGAL с мочой достоверно не отражает динамики формирования тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев в почечной паренхиме.

8. Уровень мочевой экскреции бета2-микроглобулина равный 0,224 мкг/сут обладает предиктивной способностью в отношении гломерулосклероза, выраженностью 50% и тубулоинтерстициального склероза 25% выраженности. Уровень мочевой экскреции бета2-микроглобулина в 0,240 мкг/сут ассоциируется с тубулоинтерстициальным склерозом, выраженностью 50%.

9. Уровень мочевой экскреции альфа1-микроглобулина, равный 10,94 мг/сут, ассоциирован с наличием в почечной паренхиме тубулоинтерстициального склероза, выраженностью 25%.

10. Оценка экскретируемой фракции магния, равная 5,33%, отражает продвинутые стадии (50% и >) склеротических и атрофических процессов в почечной паренхиме.

Практические рекомендации

1. Для оценки выраженности необратимых изменений различных отделов нефрона, у пациентов с первичной гломерулярной патологией, определение СКФ должно проводиться с использованием клиренса креатинина.

2. Для оценки ранних признаков гломерулосклероза, у пациентов с первичной гломерулярной патологией, при значениях клиренса креатинина, превышающих 90 мл/мин (ХБП С1), в качестве дополнительного маркера, необходимо определение NGAL сыворотки крови (пороговый уровень - 100,26 нг/л), а также его экскреции с мочой (пороговый уровень - 1445,4 нг/сут).

3. Для оценки тубулоинтерстициального склероза, выраженностью 25%, необходимо использовать комплексное определение альфа1-микроглобулина (пороговый уровень - 10,94 мг/сут), цистатина С мочи (пороговый уровень - 319,9 мг/сут), а также бета2-микроглобулина, при пороговом значении 0,224 мкг/сут. Последнее также свидетельствует о наличии атрофии эпителия канальцев 25% выраженности. С целью суждения о нарастании тубулоинтерстициального склероза и атрофии эпителия канальцев до 50 и более % выраженности, необходимо использовать экскретируемую фракцию магния с мочой (пороговый уровень 5,33%).

4. Для диагностики начальных стадий формирования тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцевого эпителия у пациентов с IgA-нефропатией на ранних стадиях ХБП при уровне протеинурии не превышающем 1,25 г/сут, следует применять исследование мочевой экскреции трансферрина и IgG мочи.

Список сокращений

- 8-OH-dG - 8-оксо-2'-дезоксигуанозин (8-hydroxy-2' -deoxyguanosine)
- ADMA – асимметричный диметиларгинин (asymmetric dimethylarginine)
- AGE – конечные продукты гликозилирования (advanced glycation end product)
- AMN – белок амнионлесс (Amnionless)
- ANP – предсердный натриуретический пептид (atrial natriuretic peptide)
- AOPP – продукты избыточного окисления белков (advanced oxidation protein products)
- ApoA-IV – аполипопротеин A-IV (apolipoprotein A-IV)
- AUC - площадь под характеристической кривой (area under ROC curve)
- BMP-1 – костный морфогенетический протеин-1 (bone morphogenic protein-1)
- BNP - мозговой натриуретический пептид (brain natriuretic peptide)
- CCr – клиренс креатинина
- CD2AP - CD2-ассоциированный протеин (CD2 associated protein)
- CKD-EPI – The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (исследовательская группа, основанная Национальным институтом диабета, заболеваний желудочно-кишечного тракта и почек США)
- COL1A1 – коллаген 1 типа, альфа-1 (collagen, type I, alpha 1)
- Cr - креатинин
- CTGF - фактор роста соединительной ткани (connective tissue growth factor)
- cTnT – сердечный тропонин Т (cardiac troponin T)
- EF Mg – экскретируемая фракция магния (excretion fraction)
- EF IgG – экскретируемая фракция иммуноглобулина G
- EGF - эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor)
- EGR1 – белок, раннего ответа роста 1 (early growth response 1)
- ELF3 – E74-подобный фактор3 (E74-like factor 3)
- FDA - Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (Food and Drug Administration)
- EF – экскретируемая фракция
- FGF-23 – фактор роста фибробластов –23 (fibroblast growth factor-23)

- GGT - гамма-глутамилтрансфераза (γ -glutamyltransferase)
- HBEGF –гепарин-связывающий EGF-подобный фактор роста (heparin-binding EGF-like growth factor)
- ICAM-1 – внутриклеточная молекула адгезии (intracellular adhesion molecule)
- IER3 – ген, немедленного раннего ответа 3 (immediate early response 3)
- IgA– иммуноглобулин А
- IgA-нефropатия – иммуноглобулин А нефropатия
- IgG – иммуноглобулин G
- IgM– иммуноглобулин M
- IL-18 – интерлейкин-18 (interleukin-18)
- IP-10 – интерферон-гамма индуцирующий пептид-10 (Interferon gamma-induced protein-10)
- KIM-1 – молекула почечного повреждения 1 (kidney injury molecule-1)
- L-FABP – печеночный белок, связывающий жирные кислоты (liver-type fatty acid-binding protein)
- L-PGDS - простагландин-Д-синтаза липокалинового типа
- MCH-1 – главный комплекс гистосовместимости-1 (major histocompatibility complex)
- MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (monocyte chemoattractant protein-1)
- MDA – малоновый диальдегид (malondialdehyde)
- MDRD – мультицентровое рандомизированное клиническое исследование «Modification of Diet in Renal Disease»
- MIF – фактор угнетения миграции макрофагов (macrophage migration inhibition factor)
- NAG – Н-ацетил-бета-Д-глюкозаминидаза (N-acetyl-b-D-glucosaminidase)
- NGAL – нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин (neutrophil gelatinase-associated lipocalin)
- NT-proBNP – N-концевой фрагмент промозгового натриуретический пептида (N-terminal brain natriuretic

- Ox-LDL – окисленные липопотеиды низкой плотности (oxidized low-density lipoproteins)
 - peptide)
 - PLCE1 – фосфолипаза С эпсилон 1 (phospholipase C epsilon 1)
 - PTX3 – пентраксин-3 (pentraxin 3)
 - RANTES – хемокин, экскретируемый и секретируемый, Т-клетками при их активации (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted)
 - ROC – характеристическая кривая (receiver operating characteristic)
 - SAMD4A – стерильный альфа домен, содержащий 4A (sterile alpha motif domain containing 4A)
 - SERPINE1 – ингибитор серпин пептидазы (serpin peptidase inhibitor)
 - STEAP1 – шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 1 (six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1).
 - sTNFr II – растворимый рецептор фактора некроза опухоли II (soluble tumor necrosis factor receptor II)
 - TBARS - реактивные соединения тиобарбитуровой кислоты (thiobarbituric acid reactive substances)
 - TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста- β 1 (transforming growth factor- β 1)
 - TIMP-1 – тканевой ингибитор металлопротеиназы-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases-1)
 - TNFR-1 – рецептора фактора некроза опухоли – 1 (tumour necrosis factor receptor-1)
 - TRPC6 – катионный канал транзиторного рецепторного потенциала, подсемейство C (transient receptor potential cation channel, subfamily C)
 - TYMS – тимидилат синтетаза (thymidylate synthetase)
 - Uegf - эпидермальный фактор роста, связанный с белком морских ежей (epidermal growth factor-related sea urchin protein)
 - Urea - мочевины
 - VCAM-1 – сосудистая молекула адгезии-1 (vascular cell adhesion molecules-1)
 - VEGF – фактор роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor)
 - WT1 – белок опухоли Вильмса (Wilms tumor protein)

- α 1-МГ – альфа1-микроглобулин
- β 2-МГ – бета2-микроглобулин
- АИК – аппарат искусственного кровообращения
- АТФ – аденозинтрифосфат
- БМИ – болезнь минимальных изменений
- вч-СРБ – высокочувствительный С-реактивный белок
- ГББ – гломерулярный базальный барьер
- ГБМ – гломерулярная базальная мембрана
- ГД – гемодиализ
- ГКС – глюкокортикостероиды
- ЗПТ – заместительная почечная терапия
- иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента
- КПК – клетки проксимальных канальцев
- МезПГН – мезангиально-пролиферативный гломерулонефрит
- ММП-9 – матриксная металлопротеиназа 9
- МН – мембранозная нефропатия
- НМБ – низкомолекулярные белки
- ОПП – острое повреждение почек
- ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
- ПТГ – паратиреоидный гормон
- РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система
- СКФ – скорость клубочковой фильтрации
- СРБ – С-реактивный белок,
- ТПН – терминальная почечная недостаточность
- ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз
- ХБП – хроническая болезнь почек
- ЦНС – центральная нервная система
- ЦФА – циклофосфамид

Список литературы

1. Glasscock, R.J. Con / R.J. Glasscock // Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. – 2015. – Vol. 30, №4. – P.528–531.
2. Luciano, R.L. Update on the Native Kidney Biopsy / R.L. Luciano, G.W. Moeckel // American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation. – 2019. – Vol. 73, №3. – P.404–415.
3. Inker, L.A. Expressing the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) cystatin C equations for estimating GFR with standardized serum cystatin C values / L.A. Inker, J. Eckfeldt, A.S. Levey, C. Leiendecker-Foster, G. Rynders, J. Manzi, S. Waheed, J. Coresh // American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation. – 2011. – Vol. 58, №4. – P.682–684.
4. Inker, L.A. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C / L.A. Inker, C.H. Schmid, H. Tighiouart, J.H. Eckfeldt, H.I. Feldman, T. Greene, J.W. Kusek, J. Manzi, F. van Lente, Y.L. Zhang, J. Coresh, A.S. Levey // The New England journal of medicine. – 2012. – Vol. 367, №1. – P.20–29.
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. / Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 // Kidney inter, Suppl. – 2012. – Vol. 3. – P.1–150.
6. Konvalinka, A. Searching for new biomarkers of renal diseases through proteomics / A. Konvalinka, J.W. Scholey, E.P. Diamandis // Clinical chemistry. – 2012. – Vol. 58, №2. – P.353–365.
7. Mischak, H. Proteomic biomarkers in kidney disease: issues in development and implementation / H. Mischak, C. Delles, A. Vlahou, R. Vanholder // Nature reviews. Nephrology. – 2015. – Vol. 11, №4. – P.221–232.
8. Siwy, J. Noninvasive diagnosis of chronic kidney diseases using urinary proteome analysis / J. Siwy, P. Zürbig, A. Argiles, J. Beige, M. Haubitz, J. Jankowski, B.A. Julian, P.G. Linde, D. Marx, H. Mischak, W. Mullen, J. Novak, A. Ortiz, F. Persson, C. Pontillo, P. Rossing, H. Rupperecht, J.P. Schanstra, A. Vlahou, R. Vanholder // Nephrology, dialysis,

transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. – 2017. – Vol. 32, №12. – P.2079–2089.

9. Argilés, Á. CKD273, a new proteomics classifier assessing CKD and its prognosis / Á. Argilés, J. Siwy, F. Duranton, N. Gayraud, M. Dakna, U. Lundin, L. Osaba, C. Delles, G. Mourad, K.M. Weinberger, H. Mischak // PloS one. – 2013. – Vol. 8, №5. – e62837.

10. Siwy, J. Noninvasive diagnosis of chronic kidney diseases using urinary proteome analysis / J. Siwy, P. Zürbig, A. Argiles, J. Beige, M. Haubitz, J. Jankowski, B.A. Julian, P.G. Linde, D. Marx, H. Mischak, W. Mullen, J. Novak, A. Ortiz, F. Persson, C. Pontillo, P. Rossing, H. Rupperecht, J.P. Schanstra, A. Vlahou, R. Vanholder // Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. – 2017. – Vol. 32, №12. – P.2079–2089.

11. Good, D.M. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease / D.M. Good, P. Zürbig, A. Argilés, H.W. Bauer, G. Behrens, J.J. Coon, M. Dakna, S. Decramer, C. Delles, A.F. Dominiczak, J.H.H. Ehrich, F. Eitner, D. Fliser, M. Frommberger, A. Ganser, M.A. Girolami, I. Golovko, W. Gwinner, M. Haubitz, S. Herget-Rosenthal, J. Jankowski, H. Jahn, G. Jerums, B.A. Julian, M. Kellmann, V. Kliem, W. Kolch, A.S. Krolewski, M. Luppi, Z. Massy, M. Melter, C. Neusüss, J. Novak, K. Peter, K. Rossing, H. Rupperecht, J.P. Schanstra, E. Schiffer, J.-U. Stolzenburg, L. Tarnow, D. Theodorescu, V. Thongboonkerd, R. Vanholder, E.M. Weissinger, H. Mischak, P. Schmitt-Kopplin // Molecular & cellular proteomics : MCP. – 2010. – Vol. 9, №11. – P.2424–2437.

12. Haubitz, M. Identification and validation of urinary biomarkers for differential diagnosis and evaluation of therapeutic intervention in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis / M. Haubitz, D.M. Good, A. Woywodt, H. Haller, H. Rupperecht, D. Theodorescu, M. Dakna, J.J. Coon, H. Mischak // Molecular & cellular proteomics : MCP. – 2009. – Vol. 8, №10. – P.2296–2307.

13. Gold, L. Aptamer-based multiplexed proteomic technology for biomarker discovery / L. Gold, D. Ayers, J. Bertino, C. Bock, A. Bock, E.N. Brody, J. Carter, A.B. Dalby, B.E. Eaton, T. Fitzwater, D. Flather, A. Forbes, T. Foreman, C. Fowler, B. Gawande, M. Goss, M. Gunn, S. Gupta, D. Halladay, J. Heil, J. Heilig, B. Hicke, G. Husar, N. Janjic, T. Jarvis, S. Jennings, E. Katilius, T.R. Keeney, N. Kim, T.H. Koch, S. Kraemer, L. Kroiss, N. Le, D.

Levine, W. Lindsey, B. Lollo, W. Mayfield, M. Mehan, R. Mehler, S.K. Nelson, M. Nelson, D. Nieuwlandt, M. Nikrad, U. Ochsner, R.M. Ostroff, M. Otis, T. Parker, S. Pietrasiewicz, D.I. Resnicow, J. Rohloff, G. Sanders, S. Sattin, D. Schneider, B. Singer, M. Stanton, A. Sterkel, A. Stewart, S. Stratford, J.D. Vaught, M. Vrkljan, J.J. Walker, M. Watrobka, S. Waugh, A. Weiss, S.K. Wilcox, A. Wolfson, S.K. Wolk, C. Zhang, D. Zichi // PloS one. – 2010. – Vol. 5, №12. – e15004.

14. Gansevoort, R.T. Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes. A collaborative meta-analysis of general and high-risk population cohorts / R.T. Gansevoort, K. Matsushita, M. van der Velde, B.C. Astor, M. Woodward, A.S. Levey, P.E. de Jong, J. Coresh // Kidney international. – 2011. – Vol. 80, №1. – P.93–104.

15. Haynes, R. Serum free light chains and the risk of ESRD and death in CKD / R. Haynes, C.A. Hutchison, J. Emberson, T. Dasgupta, D.C. Wheeler, J.N. Townend, M.J. Landray, P. Cockwell // Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN. – 2011. – Vol. 6, №12. – P.2829–2837.

16. Fassett, R.G. Biomarkers in chronic kidney disease: a review / R.G. Fassett, S.K. Venuthurupalli, G.C. Gobe, J.S. Coombes, M.A. Cooper, W.E. Hoy // Kidney international. – 2011. – Vol. 80, №8. – P.806–821.

17. Reichert, L.J. Urinary IgG excretion as a prognostic factor in idiopathic membranous nephropathy / L.J. Reichert, R.A. Koene, J.F. Wetzels // Clinical nephrology. – 1997. – Vol. 48, №2. – P.79–84.

18. Bakoush, O. High proteinuria selectivity index based upon IgM is a strong predictor of poor renal survival in glomerular diseases / O. Bakoush, O. Torffvit, B. Rippe, J. Tencer // Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. – 2001. – Vol. 16, №7. – P.1357–1363.

19. Remuzzi, G. Proteinuria predicting outcome in renal disease / G. Remuzzi, C. Chiurciu, P. Ruggenenti // Kidney international. Supplement. – 2004. – №92. – S90-6.

20. Branten, A.J.W. Urinary excretion of beta2-microglobulin and IgG predict prognosis in idiopathic membranous nephropathy: a validation study / A.J.W. Branten, P.W. Du Buf-

- Vereijken, I.S. Klasen, F.H. Bosch, G.W. Feith, D.A. Hollander, J.F. Wetzels // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* – 2005. – Vol. 16, №1. – P.169–174.
21. Bolignano, D. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is associated with severity of renal disease in proteinuric patients / D. Bolignano, G. Coppolino, S. Campo, C. Aloisi, G. Nicocia, N. Frisina, M. Buemi // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association.* – 2008. – Vol. 23, №1. – P.414–416.
 22. Bolignano, D. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease / D. Bolignano, A. Lacquaniti, G. Coppolino, V. Donato, S. Campo, M.R. Fazio, G. Nicocia, M. Buemi // *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN.* – 2009. – Vol. 4, №2. – P.337–344.
 23. Massy, Z.A. Magnesium and outcomes in patients with chronic kidney disease: focus on vascular calcification, atherosclerosis and survival / Z.A. Massy, T.B. Drueke // *Clinical kidney journal.* – 2012. – Vol. 5, №Suppl 1. – P.i52-i61.
 24. Смирнов А.В. Системный подход к анализу кардиоренальных взаимоотношений как первый шаг на пути к нефрологии формата П4 / Смирнов А.В. // *Нефрология.* – 2011. – Т.15, №2. – С.11–19.
 25. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework / Biomarkers Definitions Working Group // *Clinical pharmacology and therapeutics.* – 2001. – Vol. 69, №3. – P.89–95.
 26. Mukunda, N. Current trends in science / N. Mukunda. – Bangalore: Indian Academy of Sciences, 2009. – viii, 646.
 27. Devarajan, P. Proteomics for biomarker discovery in acute kidney injury / P. Devarajan // *Seminars in nephrology.* – 2007. – Vol. 27, №6. – P.637–651.
 28. Stevens, L.A. Measurement of kidney function / L.A. Stevens, A.S. Levey // *The Medical clinics of North America.* – 2005. – Vol. 89, №3. – P.457–473.
 29. Stevens, L.A. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels / L.A. Stevens, C.H. Schmid, T. Greene, L. Li, G.J. Beck, M.M. Joffe, M. Froissart, J.W. Kusek, Y.L. Zhang, J. Coresh, A.S. Levey // *Kidney international.* – 2009. – Vol. 75, №6. – P.652–660.

30. Knight, E.L. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement / E.L. Knight, J.C. Verhave, D. Spiegelman, H.L. Hillege, D. de Zeeuw, G.C. Curhan, P.E. de Jong // *Kidney international*. – 2004. – Vol. 65, №4. – P.1416–1421.
31. Satirapoj, B. Novel insights into the relationship between glomerular pathology and progressive kidney disease / B. Satirapoj, C.C. Nast, S.G. Adler // *Advances in chronic kidney disease*. – 2012. – Vol. 19, №2. – P.93–100.
32. Branten, A.J.W. Serum creatinine is a poor marker of GFR in nephrotic syndrome / A.J.W. Branten, G. Vervoot, J.F.M. Wetzels // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2005. – Vol. 20, №4. – P.707–711.
33. Carrie, B.J. Creatinine: an inadequate filtration marker in glomerular diseases / B.J. Carrie, H.V. Golbetz, A.S. Michaels, B.D. Myers // *The American journal of medicine*. – 1980. – Vol. 69, №2. – P.177–182.
34. Troyanov, S. Focal and segmental glomerulosclerosis: definition and relevance of a partial remission / S. Troyanov, C.A. Wall, J.A. Miller, J.W. Scholey, D.C. Cattran // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2005. – Vol. 16, №4. – P.1061–1068.
35. Mariani, L.H. Pro: 'The usefulness of biomarkers in glomerular diseases'. The problem: moving from syndrome to mechanism--individual patient variability in disease presentation, course and response to therapy / L.H. Mariani, M. Kretzler // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2015. – Vol. 30, №6. – P.892–898.
36. Erdem, B.K. The association of serum-free light-chain levels with markers of renal function / B.K. Erdem, F. Davran, V.T. Yilmaz, R. Çetinkaya, H. Akbas // *Renal failure*. – 2015. – Vol. 37, №6. – P.1057–1060.
37. Fraser, S.D.S. The Association of Serum Free Light Chains With Mortality and Progression to End-Stage Renal Disease in Chronic Kidney Disease / S.D.S. Fraser, A. Fenton, S. Harris, A. Shardlow, S. Liabeuf, Z.A. Massy, A. Burmeister, C.A. Hutchison, M. Landray, J. Emberson, P. Kalra, J.P. Ritchie, P. Cockwell, M.W. Taal // *Mayo Clinic proceedings*. – 2017. – Vol. 92, №11. – P.1671–1681.

38. Ritchie, J. Association of Serum Ig Free Light Chains with Mortality and ESRD among Patients with Nondialysis-Dependent CKD / J. Ritchie, L.K. Assi, A. Burmeister, R. Hoefield, P. Cockwell, P.A. Kalra // *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN.* – 2015. – Vol. 10, №5. – P.740–749.
39. Devuyst, O. Uromodulin / O. Devuyst, E. Olinger, L. Rampoldi // *Nature reviews. Nephrology.* – 2017. – Vol. 13, №9. – P.525–544.
40. Смирнов А.В., Хасун М..., Каюков И.Г., Сиповский В.Г., Галкина О.В., Зубина И.М., Кучер А.Г., Зверьков Р.В., Карунная А.В. Уромодулин и выраженность тубулоинтерстициальных повреждений у пациентов с нефропатиями. / Смирнов А.В., Хасун М..., Каюков И.Г., Сиповский В.Г., Галкина О.В., Зубина И.М., Кучер А.Г., Зверьков Р.В., Карунная А.В. // *Нефрология.* – 2015. – №19(2). – С.49–54.
41. Zhou, J. Urinary uromodulin excretion predicts progression of chronic kidney disease resulting from IgA nephropathy / J. Zhou, Y. Chen, Y. Liu, S. Shi, S. Wang, X. Li, H. Zhang, H. Wang // *PloS one.* – 2013. – Vol. 8, №8. – e71023.
42. Хасун М., Каюков И.Г., Галкина О.В., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Смирнов А.В. Уромодулин и экскреция ионов у пациентов с гломерулопатиями / Хасун М., Каюков И.Г., Галкина О.В., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Смирнов А.В. // *Нефрология.* – 2016. – №20(1). – С.51–56.
43. Bohle, A. The Consequences of Tubulo-Interstitial Changes for Renal Function in Glomerulopathies / A. Bohle, S. Mackensen-Haen, H. von Gise, K.-E. Grund, M. Wehrmann, C. Batz, O. Bogenschütz, H. Schmitt, J. Nagy, C. Müller, G. Müller // *Pathology - Research and Practice.* – 1990. – Vol. 186, №1. – P.135–144.
44. Смирнов А.В., Добронравов В.А., Каюков И.Г. К проблеме модификации классификации хронической болезни почек / Смирнов А.В., Добронравов В.А., Каюков И.Г. // *Нефрология.* – 2010. – Т.14, №2. – С.11–19.
45. Команденко М.С., Ш.Г.Д. Основные механизмы развития тубулоинтерстициальных повреждений при болезнях почек / Ш.Г.Д. Команденко М.С. // *Нефрология.* – 2000. – Т.4, №1. – С.10–16.
46. Chen, L. Toxicity of holotransferrin but not albumin in proximal tubule cells in primary culture / L. Chen, R.A. Boadle, D.C. Harris // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* – 1998. – Vol. 9, №1. – P.77–84.

47. Alfrey, A.C. Role of iron in the tubulo-interstitial injury in nephrotoxic serum nephritis / A.C. Alfrey, D.H. Froment, W.S. Hammond // *Kidney international*. – 1989. – Vol. 36, №5. – P.753–759.
48. Reichert, L.J. Urinary excretion of beta 2-microglobulin predicts renal outcome in patients with idiopathic membranous nephropathy / L.J. Reichert, R.A. Koene, J.F. Wetzels // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 1995. – Vol. 6, №6. – P.1666–1669.
49. Bazzi, C. Characterization of proteinuria in primary glomerulonephritides: urinary polymers of albumin / C. Bazzi, C. Petrini, V. Rizza, G. Arrigo, A. Beltrame, G. D'Amico // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 1997. – Vol. 30, №3. – P.404–412.
50. Li, Y. Urinary protein markers predict the severity of renal histological lesions in children with mesangial proliferative glomerulonephritis / Y. Li, J. Wang, X. Zhu, Q. Feng, X. Li, X. Feng // *BMC nephrology*. – 2012. – Vol. 13. – P.29.
51. Bazzi, C. A modern approach to selectivity of proteinuria and tubulointerstitial damage in nephrotic syndrome / C. Bazzi, C. Petrini, V. Rizza, G. Arrigo, G. D'Amico // *Kidney international*. – 2000. – Vol. 58, №4. – P.1732–1741.
52. CLAUSEN, J. Proteins in normal cerebrospinal fluid not found in serum / J. CLAUSEN // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*. – 1961. – Vol. 107. – P.170–172.
53. MACPHERSON, C.F. Immunochemical evidence for a gamma globulin peculiar to cerebrospinal fluid / C.F. MACPHERSON, J.B. COSGROVE // *Canadian journal of biochemistry and physiology*. – 1961. – Vol. 39. – P.1567–1574.
54. Butler EA, F.F.V. The occurrence of post-gamma protein in urine: a new protein abnormality. / F.F.V. Butler EA // *J Clin Pathol*. – 1961. – Vol. 14. – P.172–178.
55. Brzin, J. Human cystatin, a new protein inhibitor of cysteine proteinases / J. Brzin, T. Popovic, V. Turk, U. Borchart, W. Machleidt // *Biochemical and biophysical research communications*. – 1984. – Vol. 118, №1. – P.103–109.
56. Смирнов А.В. Лечение гломерулопатий циклоспорином: правильный подход в неверным обоснованием / Смирнов А.В. // *Нефрология*. – 2010. – Т.14, №4. – С.9–22.

57. Каюков И.Г., Смирнов А.В., Эмануэль В.Л. Цистатин С в современной медицине / Каюков И.Г., Смирнов А.В., Эмануэль В.Л // Нефрология. – 2012. – Т.16, №1. – С.22–39.
58. Mussap, M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C / M. Mussap, M. Plebani // Critical reviews in clinical laboratory sciences. – 2004. – Vol. 41, №5-6. – P.467–550.
59. Abrahamson, M. Structure and expression of the human cystatin C gene / M. Abrahamson, I. Olafsson, A. Palsdottir, M. Ulvsback, A. Lundwall, O. Jensson, A. Grubb // The Biochemical journal. – 1990. – Vol. 268, №2. – P.287–294.
60. Kaseda, R. Megalin-mediated endocytosis of cystatin C in proximal tubule cells / R. Kaseda, N. Iino, M. Hosojima, T. Takeda, K. Hosaka, A. Kobayashi, K. Yamamoto, A. Suzuki, A. Kasai, Y. Suzuki, F. Gejyo, A. Saito // Biochemical and biophysical research communications. – 2007. – Vol. 357, №4. – P.1130–1134.
61. Lofberg, H. Quantitation of gamma-trace in human biological fluids: indications for production in the central nervous system / H. Lofberg, A.O. Grubb // Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. – 1979. – Vol. 39, №7. – P.619–626.
62. Simonsen, O. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate / O. Simonsen, A. Grubb, H. Thysell // Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. – 1985. – Vol. 45, №2. – P.97–101.
63. Hoek, F.J. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate / F.J. Hoek, F.A.W. Kemperman, R.T. Krediet // Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. – 2003. – Vol. 18, №10. – P.2024–2031.
64. Larsson, A. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L / A. Larsson, J. Malm, A. Grubb, L.O. Hansson // Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. – 2004. – Vol. 64, №1. – P.25–30.
65. Woitas, R.P. Correlation of serum concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in liver cirrhosis / R.P. Woitas, B. Stoffel-Wagner, S. Flommersfeld, U. Poege, P. Schiedermaier, H.U. Klehr, U. Spengler, F. Bidlingmaier, T. Sauerbruch // Clinical chemistry. – 2000. – Vol. 46, №5. – P.712–715.

66. Samyn, M. Cystatin C, an easy and reliable marker for assessment of renal dysfunction in children with liver disease and after liver transplantation / M. Samyn, P. Cheeseman, L. Bevis, R. Taylor, B. Samaroo, M. Buxton-Thomas, N. Heaton, M. Rela, G. Mieli-Vergani, A. Dhawan // *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. – 2005. – Vol. 11, №3. – P.344–349.
67. Newman, D.J. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine / D.J. Newman, H. Thakkar, R.G. Edwards, M. Wilkie, T. White, A.O. Grubb, C.P. Price // *Kidney international*. – 1995. – Vol. 47, №1. – P.312–318.
68. Helin, I. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children / I. Helin, M. Axenram, A. Grubb // *Clinical nephrology*. – 1998. – Vol. 49, №4. – P.221–225.
69. Harmoinen, A. Diagnostic accuracies of plasma creatinine, cystatin C, and glomerular filtration rate calculated by the Cockcroft-Gault and Levey (MDRD) formulas / A. Harmoinen, T. Lehtimäki, M. Korpela, V. Turjanmaa, H. Saha // *Clinical chemistry*. – 2003. – Vol. 49, №7. – P.1223–1225.
70. Dharnidharka, V.R. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis / V.R. Dharnidharka, C. Kwon, G. Stevens // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2002. – Vol. 40, №2. – P.221–226.
71. Shlipak, M.G. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons / M.G. Shlipak, M.J. Sarnak, R. Katz, L.F. Fried, S.L. Seliger, A.B. Newman, D.S. Siscovick, C. Stehman-Breen // *The New England journal of medicine*. – 2005. – Vol. 352, №20. – P.2049–2060.
72. Peralta, C.A. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality / C.A. Peralta, M.G. Shlipak, S. Judd, M. Cushman, W. McClellan, N.A. Zakai, M.M. Safford, X. Zhang, P. Muntner, D. Warnock // *JAMA*. – 2011. – Vol. 305, №15. – P.1545–1552.

73. Peralta, C.A. Cystatin C identifies chronic kidney disease patients at higher risk for complications / C.A. Peralta, R. Katz, M.J. Sarnak, J. Ix, L.F. Fried, I. de Boer, W. Palmas, D. Siscovick, A.S. Levey, M.G. Shlipak // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2011. – Vol. 22, №1. – P.147–155.
74. Foley, R.N. Cystatin C, mortality risk and clinical triage in US adults: threshold values and hierarchical importance / R.N. Foley, C. Wang, A.J. Collins // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2011. – Vol. 26, №6. – P.1831–1837.
75. Tangri, N. Changes in dietary protein intake has no effect on serum cystatin C levels independent of the glomerular filtration rate / N. Tangri, L.A. Stevens, C.H. Schmid, Y.L. Zhang, G.J. Beck, T. Greene, J. Coresh, A.S. Levey // *Kidney international*. – 2011. – Vol. 79, №4. – P.471–477.
76. Grubb, A. First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC / A. Grubb, S. Blirup-Jensen, V. Lindstrom, C. Schmidt, H. Althaus, I. Zegers // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. – 2010. – Vol. 48, №11. – P.1619–1621.
77. Blirup-Jensen, S. Standardization of Cystatin C: development of primary and secondary reference preparations / S. Blirup-Jensen, A. Grubb, V. Lindstrom, C. Schmidt, H. Althaus // *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. Supplementum*. – 2008. – Vol. 241. – P.67–70.
78. Stevens, L.A. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD / L.A. Stevens, J. Coresh, C.H. Schmid, H.I. Feldman, M. Froissart, J. Kusek, J. Rossert, F. van Lente, R.D.3. Bruce, Y.L. Zhang, T. Greene, A.S. Levey // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2008. – Vol. 51, №3. – P.395–406.
79. Rule, A.D. Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations / A.D. Rule, E.J. Bergstralh, J.M. Slezak, J. Bergert, T.S. Larson // *Kidney international*. – 2006. – Vol. 69, №2. – P.399–405.
80. Filler, G. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? / G. Filler, N. Lepage // *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. – 2003. – Vol. 18, №10. – P.981–985.

81. Sjostrom, P. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans / P. Sjostrom, M. Tidman, I. Jones // *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. – 2005. – Vol. 65, №2. – P.111–124.
82. Risch, L. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients / L. Risch, R. Herklotz, A. Blumberg, A.R. Huber // *Clinical chemistry*. – 2001. – Vol. 47, №11. – P.2055–2059.
83. Grubb, A.O. Cystatin C--properties and use as diagnostic marker / A.O. Grubb // *Advances in clinical chemistry*. – 2000. – Vol. 35. – P.63–99.
84. Manetti, L. Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations / L. Manetti, E. Pardini, M. Genovesi, A. Campomori, L. Grasso, L.L. Morselli, I. Lupi, G. Pellegrini, L. Bartalena, F. Bogazzi, E. Martino // *Journal of endocrinological investigation*. – 2005. – Vol. 28, №4. – P.346–349.
85. Wasen, E. Serum cystatin C in the aged: relationships with health status / E. Wasen, R. Isoaho, K. Mattila, T. Vahlberg, S.-L. Kivela, K. Irjala // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2003. – Vol. 42, №1. – P.36–43.
86. Endre, Z.H. Clearance and beyond: the complementary roles of GFR measurement and injury biomarkers in acute kidney injury (AKI) / Z.H. Endre, J.W. Pickering, R.J. Walker // *American journal of physiology. Renal physiology*. – 2011. – Vol. 301, №4. – P.707.
87. Vinge, E. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults / E. Vinge, B. Lindergard, P. Nilsson-Ehle, A. Grubb // *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. – 1999. – Vol. 59, №8. – P.587–592.
88. Chew-Harris, J.S.C. The relative effects of fat versus muscle mass on cystatin C and estimates of renal function in healthy young men / J.S.C. Chew-Harris, C.M. Florkowski, P.M. George, J.L. Elmslie, Z.H. Endre // *Annals of clinical biochemistry*. – 2013. – Vol. 50, №Pt 1. – P.39–46.
89. Baxmann, A.C. Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C / A.C. Baxmann, M.S. Ahmed, N.C. Marques, V.B. Menon,

- A.B. Pereira, G.M. Kirsztajn, I.P. Heilberg // *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. – 2008. – Vol. 3, №2. – P.348–354.
90. Jacobsen, F.K. Pronounced increase in serum creatinine concentration after eating cooked meat / F.K. Jacobsen, C.K. Christensen, C.E. Mogensen, F. Andreassen, N.S. Heilskov // *BMJ*. – 1979. – Vol. 1, №6170. – P.1049–1050.
91. Preiss, D.J. The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate / D.J. Preiss, I.M. Godber, E.J. Lamb, R.N. Dalton, I.R. Gunn // *Annals of clinical biochemistry*. – 2007. – Vol. 44, №Pt 1. – P.35–42.
92. Kocak, H. The relation between serum MDA and cystatin C levels in chronic spinal cord injury patients / H. Kocak, Y. Oner-Iyidogan, F. Gurdol, T. Kocak, D. Esin // *Clinical biochemistry*. – 2005. – Vol. 38, №11. – P.1034–1037.
93. Bodnar, L. Cystatin C as a parameter of glomerular filtration rate in patients with ovarian cancer / L. Bodnar, G.B. Wcislo, M. Smoter, A. Gasowska-Bodnar, R. Stec, A. Synowiec, C. Szczyluk // *Kidney & blood pressure research*. – 2010. – Vol. 33, №5. – P.360–367.
94. Kos, J. Serum cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression / J. Kos, B. Stabuc, N. Cimerman, N. Brunner // *Clinical chemistry*. – 1998. – Vol. 44, №12. – P.2556–2557.
95. Kimmel, M. Influence of thyroid function on different kidney function tests / M. Kimmel, N. Braun, M.D. Alscher // *Kidney & blood pressure research*. – 2012. – Vol. 35, №1. – P.9–17.
96. Dubb, J.W. Effect of cimetidine on renal function in normal man / J.W. Dubb, R.M. Stote, R.G. Familiar, K. Lee, F. Alexander // *Clinical pharmacology and therapeutics*. – 1978. – Vol. 24, №1. – P.76–83.
97. Berglund, F. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on the renal excretion of creatinine in man / F. Berglund, J. Killander, R. Pompeius // *The Journal of urology*. – 1975. – Vol. 114, №6. – P.802–808.
98. Peterson, J.C. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study / J.C. Peterson, S. Adler, J.M. Burkart, T. Greene, L.A. Hebert, L.G. Hunsicker, A.J. King, S. Klahr, S.G. Massry, J.L. Seifter // *Annals of Internal Medicine*. – 1995. – Vol. 123, №10. – P.754–762.

99. Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. The GISEN Group (Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia) // *Lancet* (London, England). – 1997. – Vol. 349, №9069. – P.1857–1863.
100. Abbate, M. How does proteinuria cause progressive renal damage? / M. Abbate, C. Zoja, G. Remuzzi // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2006. – Vol. 17, №11. – P.2974–2984.
101. Kee, Y.K. Determination of the optimal target level of proteinuria in the management of patients with glomerular diseases by using different definitions of proteinuria / Y.K. Kee, C.-Y. Yoon, S.J. Kim, S.J. Moon, C.H. Kim, J.T. Park, B.J. Lim, T.I. Chang, E.W. Kang, J.H. Kie, T.-H. Yoo, H.J. Jeong, S.-W. Kang, S.H. Han // *Medicine*. – 2017. – Vol. 96, №44. – e8154.
102. Tan, M. Clinicopathological features and outcomes of IgA nephropathy with hematuria and/or minimal proteinuria / M. Tan, W. Li, G. Zou, C. Zhang, J. Fang // *Kidney & blood pressure research*. – 2015. – Vol. 40, №2. – P.200–206.
103. Widstam-Attorps, U. Proteinuria and renal function in relation to renal morphology. A clinicopathological study of IgA nephropathy at the time of kidney biopsy / U. Widstam-Attorps, U. Berg, S.O. Bohman, A.K. Lefvert // *Clinical nephrology*. – 1992. – Vol. 38, №5. – P.245–253.
104. Bazzi, C. Proteinuric Biomarkers in Chronic Kidney Disease / C. Bazzi, O. Bakoush // *Biomarkers in Kidney Disease* / ред. V. B. Patel. – Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. – C.1–20.
105. Nielsen, R. Megalin and cubilin in proximal tubule protein reabsorption: from experimental models to human disease / R. Nielsen, E.I. Christensen, H. Birn // *Kidney international*. – 2016. – Vol. 89, №1. – P.58–67.
106. McQuarrie, E.P. Fractional excretions of albumin and IgG are the best predictors of progression in primary glomerulonephritis / E.P. McQuarrie, L. Shakerdi, A.G. Jardine, J.G. Fox, B. Mackinnon // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2011. – Vol. 26, №5. – P.1563–1569.

107. Mundel, P. Proteinuria: an enzymatic disease of the podocyte? / P. Mundel, J. Reiser // *Kidney international*. – 2010. – Vol. 77, №7. – P.571–580.
108. Faul, C. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton / C. Faul, K. Asanuma, E. Yanagida-Asanuma, K. Kim, P. Mundel // *Trends in cell biology*. – 2007. – Vol. 17, №9. – P.428–437.
109. Эмануэль В.Л. Протеинурия / Эмануэль В.Л // *Лабораторная медицина*. – 2005. – Т.7. – С.65–70.
110. D'Amico, G. Pathophysiology of proteinuria / G. D'Amico, C. Bazzi // *Kidney international*. – 2003. – Vol. 63, №3. – P.809–825.
111. Ghayur, A. Transforming growth factor-beta and the glomerular filtration barrier / A. Ghayur, P.J. Margetts // *Kidney Research and Clinical Practice*. – 2013. – Vol. 32, №1. – P.3–10.
112. Loeffler, I. Transforming growth factor- β and the progression of renal disease / I. Loeffler, G. Wolf // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2014. – Vol. 29 Suppl 1. – i37-i45.
113. Wiggins, R.C. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases / R.C. Wiggins // *Kidney international*. – 2007. – Vol. 71, №12. – P.1205–1214.
114. Zoja, C. Progression of renal injury toward interstitial inflammation and glomerular sclerosis is dependent on abnormal protein filtration / C. Zoja, M. Abbate, G. Remuzzi // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2015. – Vol. 30, №5. – P.706–712.
115. Birn, H. Renal albumin absorption in physiology and pathology / H. Birn, E.I. Christensen // *Kidney international*. – 2006. – Vol. 69, №3. – P.440–449.
116. Christensen, E.I. Endocytic receptors in the renal proximal tubule / E.I. Christensen, H. Birn, T. Storm, K. Weyer, R. Nielsen // *Physiology (Bethesda, Md.)*. – 2012. – Vol. 27, №4. – P.223–236.
117. Erkan, E. Mitochondria are the major targets in albumin-induced apoptosis in proximal tubule cells / E. Erkan, P. Devarajan, G.J. Schwartz // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2007. – Vol. 18, №4. – P.1199–1208.

118. Benigni, A. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents glomerular-tubule disconnection and atrophy in passive Heymann nephritis, an effect not observed with a calcium antagonist / A. Benigni, E. Gagliardini, A. Remuzzi, D. Corna, G. Remuzzi // *The American journal of pathology*. – 2001. – Vol. 159, №5. – P.1743–1750.
119. Erkan, E. Induction of renal tubular cell apoptosis in focal segmental glomerulosclerosis: roles of proteinuria and Fas-dependent pathways / E. Erkan, C.D. Garcia, L.T. Patterson, J. Mishra, M.M. Mitsnefes, F.J. Kaskel, P. Devarajan // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2005. – Vol. 16, №2. – P.398–407.
120. Thomas, M.E. Fatty acids exacerbate tubulointerstitial injury in protein-overload proteinuria / M.E. Thomas, K.P.G. Harris, J. Walls, P.N. Furness, N.J. Brunskill // *American journal of physiology. Renal physiology*. – 2002. – Vol. 283, №4. – P.7.
121. Urahama, Y. Lipid droplet-associated proteins protect renal tubular cells from fatty acid-induced apoptosis / Y. Urahama, Y. Ohsaki, Y. Fujita, S. Maruyama, Y. Yuzawa, S. Matsuo, T. Fujimoto // *The American journal of pathology*. – 2008. – Vol. 173, №5. – P.1286–1294.
122. Ruggiero, C. Albumin-bound fatty acids but not albumin itself alter redox balance in tubular epithelial cells and induce a peroxide-mediated redox-sensitive apoptosis / C. Ruggiero, C.M. Elks, C. Kruger, E. Cleland, K. Addison, R.C. Noland, K. Stadler // *American journal of physiology. Renal physiology*. – 2014. – Vol. 306, №8. – P.906.
123. Rudnicki, M. Gene expression profiles of human proximal tubular epithelial cells in proteinuric nephropathies / M. Rudnicki, S. Eder, P. Perco, J. Enrich, K. Scheiber, C. Koppelstatter, G. Schratzberger, B. Mayer, R. Oberbauer, T.W. Meyer, G. Mayer // *Kidney international*. – 2007. – Vol. 71, №4. – P.325–335.
124. Reich, H.N. A molecular signature of proteinuria in glomerulonephritis / H.N. Reich, D. Tritchler, D.C. Cattran, A.M. Herzenberg, F. Eichinger, A. Boucherot, A. Henger, C.C. Berthier, V. Nair, C.D. Cohen, J.W. Scholey, M. Kretzler // *PloS one*. – 2010. – Vol. 5, №10. – P.e13451.
125. Hirschberg, R. Proteinuria and growth factors in the development of tubulointerstitial injury and scarring in kidney disease / R. Hirschberg, S. Wang // *Current opinion in nephrology and hypertension*. – 2005. – Vol. 14, №1. – P.43–52.

126. Martel, P. Physical characteristics of human transferrin from small angle neutron scattering / P. Martel, S.M. Kim, B.M. Powell // *Biophysical Journal*. – 1980. – Vol. 31, №3. – P.371–380.
127. Kozyraki, R. Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia / R. Kozyraki, J. Fyfe, P.J. Verroust, C. Jacobsen, A. Dautry-Varsat, J. Gburek, T.E. Willnow, E.I. Christensen, S.K. Moestrup // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – Vol. 98, №22. – P.12491–12496.
128. Mackinnon, B. Urinary transferrin, high molecular weight proteinuria and the progression of renal disease / B. Mackinnon, L. Shakerdi, C.J. Deighan, J.G. Fox, D.S.J. O'Reilly, M. Boulton-Jones // *Clinical nephrology*. – 2003. – Vol. 59, №4. – P.252–258.
129. Brunner, H.I. Association of noninvasively measured renal protein biomarkers with histologic features of lupus nephritis / H.I. Brunner, M.R. Bennett, R. Mina, M. Suzuki, M. Petri, A.N. Kiani, J. Pendl, D. Witte, J. Ying, B.H. Rovin, P. Devarajan // *Arthritis and rheumatism*. – 2012. – Vol. 64, №8. – P.2687–2697.
130. Zager, R.A. Inorganic iron effects on in vitro hypoxic proximal renal tubular cell injury / R.A. Zager, B.A. Schimpf, C.R. Bredl, D.J. Gmur // *The Journal of clinical investigation*. – 1993. – Vol. 91, №2. – P.702–708.
131. Wang, Y. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein / Y. Wang, J. Chen, L. Chen, Y.C. Tay, G.K. Rangan, D.C. Harris // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 1997. – Vol. 8, №10. – P.1537–1545.
132. Tang, S. Transferrin but not albumin mediates stimulation of complement C3 biosynthesis in human proximal tubular epithelial cells / S. Tang, K.N. Lai, T.M. Chan, H.Y. Lan, S.K. Ho, S.H. Sacks // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2001. – Vol. 37, №1. – P.94–103.
133. Tang, S. Transferrin up-regulates chemokine synthesis by human proximal tubular epithelial cells: implication on mechanism of tubuloglomerular communication in glomerulopathic proteinuria / S. Tang, J.C.K. Leung, A.W.L. Tsang, H.Y. Lan, T.M. Chan, K.N. Lai // *Kidney international*. – 2002. – Vol. 61, №5. – P.1655–1665.

134. Hellemons, M.E. Validity of biomarkers predicting onset or progression of nephropathy in patients with Type 2 diabetes: a systematic review / M.E. Hellemons, J. Kerschbaum, S.J.L. Bakker, H. Neuwirt, B. Mayer, G. Mayer, D. de Zeeuw, H.J. Lambers Heerspink, M. Rudnicki // *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. – 2012. – Vol. 29, №5. – P.567–577.
135. Liu, F.Y. Relationship between clinical predictors and tubulointerstitial damage in adult-onset primary nephrotic syndrome / F.Y. Liu, Y. Li, Y.M. Peng, L. Yang, S.B. Duan, J. Li, X. Chen, Y.C. Xia, N. Guo, X.Q. Xu // *Archives of medical research*. – 2006. – Vol. 37, №8. – P.981–986.
136. Tofik, R. The value of IgG-uria in predicting renal failure in idiopathic glomerular diseases. A long-term follow-up study / R. Tofik, R. Aziz, A. Reda, B. Rippe, O. Bakoush // *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. – 2011. – Vol. 71, №2. – P.123–128.
137. Bazzi, C. Urinary excretion of IgG and alpha(1)-microglobulin predicts clinical course better than extent of proteinuria in membranous nephropathy / C. Bazzi, C. Petrini, V. Rizza, G. Arrigo, A. Beltrame, L. Pisano, G. D'Amico // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2001. – Vol. 38, №2. – P.240–248.
138. Bazzi, C. Fractional excretion of IgG predicts renal outcome and response to therapy in primary focal segmental glomerulosclerosis: a pilot study / C. Bazzi, C. Petrini, V. Rizza, P. Napodano, M. Paparella, G. Arrigo, L. Pisano, G. D'Amico // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2003. – Vol. 41, №2. – P.328–335.
139. Bazzi, C. Urinary IgG and alpha2-macroglobulin are powerful predictors of outcome and responsiveness to steroids and cyclophosphamide in idiopathic focal segmental glomerulosclerosis with nephrotic syndrome / C. Bazzi, V. Rizza, D. Casellato, G. Stivali, G. Rachele, P. Napodano, M. Gallieni, G. D'Amico // *BioMed research international*. – 2013. – Vol. 2013. – P.941831.
140. Deegens, J.K. Fractional excretion of high- and low-molecular weight proteins and outcome in primary focal segmental glomerulosclerosis / J.K. Deegens, J.F. Wetzels // *Clinical nephrology*. – 2007. – Vol. 68, №4. – P.201–208.

141. Bazzi, C. Validation of some pathophysiological mechanisms of the CKD progression theory and outcome prediction in IgA nephropathy / C. Bazzi, V. Rizza, D. Casellato, G. Stivali, G. Rachele, P. Napodano, G. Olivieri, M. Gallieni, G. D'Amico // *Journal of nephrology*. – 2012. – Vol. 25, №5. – P.810–818.
142. Bazzi, C. In crescentic IgA nephropathy, fractional excretion of IgG in combination with nephron loss is the best predictor of progression and responsiveness to immunosuppression / C. Bazzi, V. Rizza, S. Raimondi, D. Casellato, P. Napodano, G. D'Amico // *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. – 2009. – Vol. 4, №5. – P.929–935.
143. Bazzi, C. Fractional urinary excretion of IgG is the most powerful predictor of renoprotection by ACE inhibitors in IgA nephropathy / C. Bazzi, V. Rizza, M. Paparella, D. Casellato, P. Napodano, G. Olivieri, G. D'Amico // *Journal of nephrology*. – 2009. – Vol. 22, №3. – P.387–396.
144. Rath, T. The immunologic functions of the neonatal Fc receptor for IgG / T. Rath, T.T. Kuo, K. Baker, S.-W. Qiao, K. Kobayashi, M. Yoshida, D. Roopenian, E. Fiebiger, W.I. Lencer, R.S. Blumberg // *Journal of clinical immunology*. – 2013. – Vol. 33 Suppl 1. – P.17.
145. Baines, R.J. CD36 mediates proximal tubular binding and uptake of albumin and is upregulated in proteinuric nephropathies / R.J. Baines, R.S. Chana, M. Hall, M. Febbraio, D. Kennedy, N.J. Brunskill // *American journal of physiology. Renal physiology*. – 2012. – Vol. 303, №7. – P.14.
146. Nagy, J. Tubular proteinuria in IgA glomerulonephritis / J. Nagy, M. Miltényi, M. Dobos, T. Burger // *Clinical nephrology*. – 1987. – Vol. 27, №2. – P.76–78.
147. Penders, J. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications / J. Penders, J.R. Delanghe // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. – 2004. – Vol. 346, №2. – P.107–118.
148. Santin, M. Collagen-bound alpha1-microglobulin in normal and healed tissues and its effect on immunocompetent cells / M. Santin, M. Cannas // *Scandinavian journal of immunology*. – 1999. – Vol. 50, №3. – P.289–295.
149. Mendez, E. Human protein HC and its IgA complex are inhibitors of neutrophil chemotaxis / E. Mendez, J.L. Fernandez-Luna, A. Grubb, F. Leyva-Cobian // *Proceedings of*

the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1986. – Vol. 83, №5. – P.1472–1475.

150. Allhorn, M. Processing of the lipocalin alpha(1)-microglobulin by hemoglobin induces heme-binding and heme-degradation properties / M. Allhorn, T. Berggard, J. Nordberg, M.L. Olsson, B. Akerstrom // *Blood*. – 2002. – Vol. 99, №6. – P.1894–1901.

151. DeMars, D.D. Simultaneous measurement of total and IgA-conjugated alpha 1-microglobulin by a combined immunoenzyme/immunoradiometric assay technique / D.D. DeMars, J.A. Katzmann, T.K. Kimlinger, J.D. Calore, R.P. Tracy // *Clinical chemistry*. – 1989. – Vol. 35, №5. – P.766–772.

152. Ledue TB, Collins MF, Craig WY, Ritchie RF. Effects of storage time, temperature and preservation of IgG, transferrin, albumin and alpha-1-microglobulin levels in urine. / Ledue TB, Collins MF, Craig WY, Ritchie RF. // *Clin Chem Suppl*. – 2000. – Vol. 46, №A48.

153. Payn, M.M. Alpha1-microglobulin is stable in human urine ex vivo / M.M. Payn, M.C. Webb, D. Lawrence, E.J. Lamb // *Clinical chemistry*. – 2002. – Vol. 48, №7. – P.1136–1138.

154. Schardijn, G.H.C. β 2-microglobulin / G.H.C. Schardijn, van Eps, L. W. Statius // *Kidney international*. – 1987. – Vol. 32, №5. – P.635–641.

155. Messner, R.P. β 2-Microglobulin: An old molecule assumes a new look / R.P. Messner // *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. – 1984. – T.104, №2. – C.141–145.

156. Bernier, G.M. beta 2-Microglobulin: structure, function and significance / G.M. Bernier // *Vox sanguinis*. – 1980. – Vol. 38, №6. – P.323–327.

157. van den Brand, Jan A J G. Low-molecular-weight proteins as prognostic markers in idiopathic membranous nephropathy / van den Brand, Jan A J G, J.M. Hofstra, J.F.M. Wetzels // *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. – 2011. – Vol. 6, №12. – P.2846–2853.

158. Peters, H.P.E. Urinary excretion of low-molecular-weight proteins as prognostic markers in IgA nephropathy / H.P.E. Peters, van den Brand, J A J G, J.F.M. Wetzels // *The Netherlands journal of medicine*. – 2009. – Vol. 67, №2. – P.54–61.

159. Shin, J.R. Urinary excretion of beta2-microglobulin as a prognostic marker in immunoglobulin A nephropathy / J.R. Shin, S.M. Kim, J.S. Yoo, J.Y. Park, S.K. Kim, J.H. Cho,

- K.H. Jeong, T.W. Lee, C.G. Ihm // The Korean journal of internal medicine. – 2014. – Vol. 29, №3. – P.334–340.
160. Zeng, X. Urinary beta2-Microglobulin Is a Good Indicator of Proximal Tubule Injury: A Correlative Study with Renal Biopsies / X. Zeng, D. Hossain, D.G. Bostwick, G.A. Herrera, P.L. Zhang // Journal of biomarkers. – 2014. – Vol. 2014. – P.492838.
161. X, Z. Urinary β 2-Microglobulin is a Sensitive Indicator for Renal Tubular Injury / Z. X, H. D, B. DG, H. GA, B. B, Z. PL // SAJ Case Reports. – 2014. – Vol. 1, №1.
162. Пролетов Я.Ю., Саганова Е.С., Смирнов А.В. Биомаркеры в диагностике острого повреждения почек. Сообщение I / Пролетов Я.Ю., Саганова Е.С., Смирнов А.В. // Нефрология. – 2014. – Т.18, №4. – С.25–35.
163. Conti, M. Absence of circadian variations in urine cystatin C allows its use on urinary samples / M. Conti, M. Zater, K. Lallali, A. Durrbach, S. Moutereau, P. Manivet, P. Eschwege, S. Loric // Clinical chemistry. – 2005. – Vol. 51, №1. – P.272–273.
164. Herget-Rosenthal, S. Measurement of urinary cystatin C by particle-enhanced nephelometric immunoassay: precision, interferences, stability and reference range / S. Herget-Rosenthal, T. Feldkamp, L. Volbracht, A. Kribben // Annals of clinical biochemistry. – 2004. – Vol. 41, №Pt 2. – P.111–118.
165. Uchida, K. Measurement of cystatin-C and creatinine in urine / K. Uchida, A. Gotoh // Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. – 2002. – Vol. 323, №1-2. – P.121–128.
166. Zhang, Z. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis / Z. Zhang, B. Lu, X. Sheng, N. Jin // American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation. – 2011. – Vol. 58, №3. – P.356–365.
167. Herget-Rosenthal, S. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis / S. Herget-Rosenthal, D. Poppen, J. Husing, G. Marggraf, F. Pietruck, H.-G. Jakob, T. Philipp, A. Kribben // Clinical chemistry. – 2004. – Vol. 50, №3. – P.552–558.
168. Herget-Rosenthal, S. Increased urinary cystatin C reflects structural and functional renal tubular impairment independent of glomerular filtration rate / S. Herget-Rosenthal, van Wijk, Joanna A E, M. Brocker-Preuss, A. Bokenkamp // Clinical biochemistry. – 2007. – Vol. 40, №13-14. – P.946–951.

169. Mendes, M.d.F.C. Increased urinary cystatin C level is associated with interstitial fibrosis and tubular atrophy in kidney allograft recipients / M.d.F.C. Mendes, J.V. Salgado, J. de Ribamar Lima, T.C.A. Ferreira, G.E.B. Silva, N.S. Filho // *Clinical biochemistry*. – 2015. – Vol. 48, №7-8. – P.546–549.
170. Nejat, M. Albuminuria increases cystatin C excretion: implications for urinary biomarkers / M. Nejat, J.V. Hill, J.W. Pickering, C.L. Edelstein, P. Devarajan, Z.H. Endre // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2012. – Vol. 27 Suppl 3. – P.103.
171. Schmidt-Ott, K.M. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin / K.M. Schmidt-Ott, K. Mori, J.Y. Li, A. Kalandadze, D.J. Cohen, P. Devarajan, J. Barasch // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2007. – Vol. 18, №2. – P.407–413.
172. Flower, D.R. The lipocalin protein family: structure and function / D.R. Flower // *The Biochemical journal*. – 1996. – Vol. 318 (Pt 1). – P.1–14.
173. Kjeldsen, L. Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin and homologous proteins in rat and mouse / L. Kjeldsen, J.B. Cowland, N. Borregaard // *Biochimica et biophysica acta*. – 2000. – Vol. 1482, №1-2. – P.272–283.
174. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin: Structure, Function and Role in Human Pathogenesis / S. Chakraborty, S. Kaur, S. K. Batra [et al.]: INTECH Open Access Publisher, 2011. – 1 online resource.
175. Schmidt-Ott, K.M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury--where do we stand today? / K.M. Schmidt-Ott // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2011. – Vol. 26, №3. – P.762–764.
176. Mårtensson, J. Immunoassays distinguishing between HNL/NGAL released in urine from kidney epithelial cells and neutrophils / J. Mårtensson, S. Xu, M. Bell, C.-R. Martling, P. Venge // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. – 2012. – Vol. 413, №19-20. – P.1661–1667.
177. Holmes, M.A. Siderocalin (Lcn 2) also binds carboxymycobactins, potentially defending against mycobacterial infections through iron sequestration / M.A. Holmes, W. Paulsene, X. Jide, C. Ratledge, R.K. Strong // *Structure (London, England : 1993)*. – 2005. – Vol. 13, №1. – P.29–41.

178. Nairz, M. Absence of functional Hfe protects mice from invasive *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection via induction of lipocalin-2 / M. Nairz, I. Theurl, A. Schroll, M. Theurl, G. Fritsche, E. Lindner, M. Seifert, M.-L.V. Crouch, K. Hantke, S. Akira, F.C. Fang, G. Weiss // *Blood*. – 2009. – Vol. 114, №17. – P.3642–3651.
179. Devarajan, P. The promise of biomarkers for personalized renal cancer care / P. Devarajan // *Kidney international*. – 2010. – Vol. 77, №9. – P.755–757.
180. Gwira, J.A. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin regulates epithelial morphogenesis in vitro / J.A. Gwira, F. Wei, S. Ishibe, J.M. Ueland, J. Barasch, L.G. Cantley // *The Journal of biological chemistry*. – 2005. – Vol. 280, №9. – P.7875–7882.
181. Bolignano, D. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage / D. Bolignano, V. Donato, G. Coppolino, S. Campo, A. Buemi, A. Lacquaniti, M. Buemi // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2008. – Vol. 52, №3. – P.595–605.
182. Mori, K. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury / K. Mori, H.T. Lee, D. Rapoport, I.R. Drexler, K. Foster, J. Yang, K.M. Schmidt-Ott, X. Chen, J.Y. Li, S. Weiss, J. Mishra, F.H. Cheema, G. Markowitz, T. Suganami, K. Sawai, M. Mukoyama, C. Kunis, V. D'Agati, P. Devarajan, J. Barasch // *The Journal of clinical investigation*. – 2005. – Vol. 115, №3. – P.610–621.
183. Haase, M. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis / M. Haase, R. Bellomo, P. Devarajan, P. Schlattmann, A. Haase-Fielitz // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 2009. – Vol. 54, №6. – P.1012–1024.
184. Haase-Fielitz, A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status / A. Haase-Fielitz, M. Haase, P. Devarajan // *Annals of clinical biochemistry*. – 2014. – Vol. 51, №Pt 3. – P.335–351.
185. Zhang, A. Diagnosis and prognosis of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury with sepsis / A. Zhang, Y. Cai, P.-F. Wang, J.-N. Qu, Z.-C. Luo, X.-D. Chen, B. Huang, Y. Liu, W.-Q. Huang, J. Wu, Y.-H. Yin // *Critical Care*. – 2016. – Vol. 20, №1. – P.170.

186. Zhou, F. Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for early diagnosis of cardiac surgery-associated acute kidney injury / F. Zhou, Q. Luo, L. Wang, L. Han // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2016. – Vol. 49, №3. – P.746–755.
187. Patel, M.L. Prognostic significance of urinary NGAL in chronic kidney disease / M.L. Patel, R. Sachan, R. Misra, R. Kamal, R. Shyam, P. Sachan // *International journal of nephrology and renovascular disease*. – 2015. – Vol. 8. – P.139–144.
188. Patel, M.L. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease progression in patients with chronic kidney disease / M.L. Patel, R. Sachan, A. Verma, R. Kamal, K.K. Gupta // *Indian journal of nephrology*. – 2016. – Vol. 26, №2. – P.125–130.
189. Shen, S.-j. Implications of the changes in serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C in patients with chronic kidney disease / S.-j. Shen, Z.-x. Hu, Q.-h. Li, S.-m. Wang, C.-j. Song, D.-d. Wu, J.-l. He, J.-c. Guan, J.-p. Shan // *Nephrology (Carlton, Vic.)*. – 2014. – Vol. 19, №3. – P.129–135.
190. Xiang, D. Clinical application of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the revised chronic kidney disease classification / D. Xiang, H. Zhang, J. Bai, J. Ma, M. Li, J. Gao, C. Wang // *International journal of clinical and experimental pathology*. – 2014. – Vol. 7, №10. – P.7172–7181.
191. Smith, E.R. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin may aid prediction of renal decline in patients with non-proteinuric Stages 3 and 4 chronic kidney disease (CKD) / E.R. Smith, D. Lee, M.M. Cai, L.A. Tomlinson, M.L. Ford, L.P. McMahon, S.G. Holt // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2013. – Vol. 28, №6. – P.1569–1579.
192. Liu, K.D. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels do not improve risk prediction of progressive chronic kidney disease / K.D. Liu, W. Yang, A.H. Anderson, H.I. Feldman, S. Demirjian, T. Hamano, J. He, J. Lash, E. Lustigova, S.E. Rosas, M.S. Simonson, K. Tao, C.-y. Hsu // *Kidney international*. – 2013. – Vol. 83, №5. – P.909–914.
193. Nickolas, T.L. NGAL (Lcn2) monomer is associated with tubulointerstitial damage in chronic kidney disease / T.L. Nickolas, C.S. Forster, M.E. Sise, N. Barasch, D. Sola-Del Valle, M. Viltard, C. Buchen, S. Kupferman, M.L. Carnevali, M. Bennett, S. Mattei, A. Bo-

- vino, L. Argentiero, A. Magnano, P. Devarajan, K. Mori, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, L. Allegri, J. Barasch // *Kidney international*. – 2012. – Vol. 82, №6. – P.718–722.
194. Borregaard, N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, a siderophore-binding eukaryotic protein / N. Borregaard, J.B. Cowland // *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. – 2006. – Vol. 19, №2. – P.211–215.
195. Nakagawa, S. Molecular Markers of Tubulointerstitial Fibrosis and Tubular Cell Damage in Patients with Chronic Kidney Disease / S. Nakagawa, K. Nishihara, H. Miyata, H. Shinke, E. Tomita, M. Kajiwara, T. Matsubara, N. Iehara, Y. Igarashi, H. Yamada, A. Fukatsu, M. Yanagita, K. Matsubara, S. Masuda // *PloS one*. – 2015. – Vol. 10, №8. – e0136994.
196. Пролетов Я.Ю., Саганова Е.С., Галкина О.В., Зубина И.М., Богданова Е.О., Сиповский В.Г., Смирнов А.В. Диагностическая значимость цистатина-С и NGAL при первичных гломерулопатиях / Пролетов Я.Ю., Саганова Е.С., Галкина О.В., Зубина И.М., Богданова Е.О., Сиповский В.Г., Смирнов А.В. // *Терапевтический архив*. – 2013. – Т.85, №6. – С.10–16.
197. Пролетов Я.Ю., Саганова Е.С., Галкина О.В., Зубина И.М., Богданова Е.О., Сиповский В.Г., Смирнов А.В. Роль некоторых биомаркеров в оценке характера хронического повреждения почек у пациентов с первичными гломерулопатиями / Пролетов Я.Ю., Саганова Е.С., Галкина О.В., Зубина И.М., Богданова Е.О., Сиповский В.Г., Смирнов А.В. // *Нефрология*. – 2013. – Т.17, №1. – С.60–69.
198. Peters, H.P.E. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease in patients with IgA nephropathy / H.P.E. Peters, F. Waanders, E. Meijer, J. van den Brand, E.J. Steenbergen, H. van Goor, J.F.M. Wetzels // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2011. – Vol. 26, №11. – P.3581–3588.
199. Ding, H. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy / H. Ding, Y. He, K. Li, J. Yang, X. Li, R. Lu, W. Gao // *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*. – 2007. – Vol. 123, №2. – P.227–234.

200. Rhee, H. High serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels are independent predictors of renal progression in patients with immunoglobulin A nephropathy / H. Rhee, N. Shin, M.J. Shin, B.Y. Yang, I.Y. Kim, S.H. Song, D.W. Lee, S.B. Lee, I.S. Kwak, E.Y. Seong // *The Korean journal of internal medicine*. – 2015. – Vol. 30, №3. – P.354–361.
201. Jahnen-Dechent, W. Magnesium basics / W. Jahnen-Dechent, M. Ketteler // *Clinical kidney journal*. – 2012. – Vol. 5, №Suppl 1. – P.i3-i14.
202. Gorgels, Theo G M F. Dietary magnesium, not calcium, prevents vascular calcification in a mouse model for pseudoxanthoma elasticum / Gorgels, Theo G M F, J.H. Waarsing, A. de Wolf, J.B. ten Brink, W.J.P. Loves, A.A.B. Bergen // *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. – 2010. – Vol. 88, №5. – P.467–475.
203. Schwille, P.O. Media calcification, low erythrocyte magnesium, altered plasma magnesium, and calcium homeostasis following grafting of the thoracic aorta to the infrarenal aorta in the rat--differential preventive effects of long-term oral magnesium supplementation alone and in combination with alkali / P.O. Schwille, A. Schmiedl, R. Schwille, P. Brunner, H. Kissler, R. Cesnjevar, H. Gepp // *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedicine & pharmacotherapie*. – 2003. – Vol. 57, №2. – P.88–97.
204. de Baaij, Jeroen H F. Regulation of magnesium balance: lessons learned from human genetic disease / de Baaij, Jeroen H F, J.G.J. Hoenderop, R.J.M. Bindels // *Clinical kidney journal*. – 2012. – Vol. 5, №Suppl 1. – P.i15-i24.
205. Navarro-Gonzalez, J.F. Clinical implications of disordered magnesium homeostasis in chronic renal failure and dialysis / J.F. Navarro-Gonzalez, C. Mora-Fernandez, J. Garcia-Perez // *Seminars in dialysis*. – 2009. – Vol. 22, №1. – P.37–44.
206. Alexander, R.T. Molecular determinants of magnesium homeostasis: insights from human disease / R.T. Alexander, J.G. Hoenderop, R.J. Bindels // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2008. – Vol. 19, №8. – P.1451–1458.
207. Futrakul, P. Tubular function and tubulointerstitial disease / P. Futrakul, S. Yenrudi, N. Futrakul, R. Sensirivatana, P. Kingwatanakul, J. Jungthirapanich, T. Cherdkiadtikul, A. Laohapaibul, D. Watana, V. Singkhwa, S. Futrakul, P. Pongsin // *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. – 1999. – Vol. 33, №5. – P.886–891.

208. Braden, G.L. Impaired potassium and magnesium homeostasis in acute tubulointerstitial nephritis / G.L. Braden, M.J. Germain, J.P. Fitzgibbons // *Nephron*. – 1985. – Vol. 41, №3. – P.273–278.
209. Futrakul, N. Peritubular capillary flow determines tubulointerstitial disease in idiopathic nephrotic syndrome / N. Futrakul, S. Yenrudi, R. Sensirivatana, D. Watana, A. Lao-hapaibul, K. Watanapenphaibul, P. Kingwatanakul, P. Futrakul, S. Futrakul // *Renal failure*. – 2000. – Vol. 22, №3. – P.329–335.
210. Deekajorndech, T. A biomarker for detecting early tubulointerstitial disease and ischemia in glomerulonephropathy / T. Deekajorndech // *Renal failure*. – 2007. – Vol. 29, №8. – P.1013–1017.
211. Deekajorndech, T. Fractional excretion magnesium (FE Mg) in systemic lupus erythematosus / T. Deekajorndech // *Journal of the Medical Association of Thailand = Chot-maihet thangphaet*. – 2005. – Vol. 88, №6. – P.743–745.
212. Rumana, J. Correlation of fractional excretion of magnesium with steroid responsiveness in children with nephrotic syndrome / J. Rumana, M. Hanif, G. Muinuddin, M. Maruf-Ul-Quader // *Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*. – 2014. – Vol. 25, №4. – P.830–836.
213. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. / Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute // *Kidney international supplements*. – 2012. – Vol. 2, №1. – P.1.
214. Смирнов А.В. Хроническая болезнь почек: основные принципы, скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. / Смирнов А.В. – Санкт-Петербург: Издательство "Левша", 2012.
215. Levey, A.S. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine / A.S. Levey // *Annals of Internal Medicine*. – 1999. – Vol. 130, №6. – P.461.
216. Levey, A.S. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate / A.S. Levey // *Annals of Internal Medicine*. – 2009. – Vol. 150, №9. – P.604.

217. Орлова С.А., Клемина И.К., Никогосян Ю.А. и др. IgA-нефропатия: клинико-морфологические параллели / Орлова С.А., Клемина И.К., Никогосян Ю.А. и др. // Нефрология. – 2002. – Т.6, №4. – С.34–43.
218. Mann, H.B. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other / H.B. Mann, D.R. Whitney // The Annals of Mathematical Statistics. – 1947. – Vol. 18, №1. – P.50–60.
219. Conover, W.J. Practical nonparametric statistics / W.J. Conover. – New York, Chichester: John Wiley, 1999.
220. Spearman, C. The proof and measurement of association between two things. By C. Spearman, 1904 / C. Spearman // The American journal of psychology. – 1987. – Vol. 100, №3-4. – P.441–471.
221. Krzanowski, W.J. ROC curves for continuous data / W.J. Krzanowski, D.J. Hand. – London: Chapman & Hall, 2009.
222. Hanley, J.A. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve / J.A. Hanley, B.J. McNeil // Radiology. – 1982. – Vol. 143, №1. – P.29–36.
223. Hanley, J.A. Sampling variability of nonparametric estimates of the areas under receiver operating characteristic curves: an update / J.A. Hanley, K.O. Hajian-Tilaki // Academic radiology. – 1997. – Vol. 4, №1. – P.49–58.
224. YODEN, W.J. Index for rating diagnostic tests / W.J. YODEN // Cancer. – 1950. – Vol. 3, №1. – P.32–35.
225. Efron, B. Better Bootstrap Confidence Intervals / B. Efron // Journal of the American Statistical Association. – 1987. – Т.82, №397. – С.171–185.
226. Efron, B. An introduction to the bootstrap / B. Efron, R.J. Tibshirani. – New York, London: Chapman & Hall, 1993.
227. DeLong, E.R. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach / E.R. DeLong, D.M. DeLong, D.L. Clarke-Pearson // Biometrics. – 1988. – Vol. 44, №3. – P.837–845.
228. Ren, H. Treatment and prognosis of primary focal segmental glomerulosclerosis / H. Ren, P. Shen, X. Li, X. Pan, Q. Zhang, X. Feng, W. Zhang, N. Chen // Contributions to nephrology. – 2013. – Vol. 181. – P.109–118.

229. Sanchez-Niño, M.D. Translational science in chronic kidney disease / M.D. Sanchez-Niño, A.B. Sanz, A.M. Ramos, M. Ruiz-Ortega, A. Ortiz // *Clinical science* (London, England : 1979). – 2017. – Vol. 131, №14. – P.1617–1629.
230. Hunley, T.E. IgA nephropathy / T.E. Hunley, V. Kon // *Current opinion in pediatrics*. – 1999. – Vol. 11, №2. – P.152–157.
231. Mera, J. Clinicopathologic study on prognostic markers in IgA nephropathy / J. Mera, S. Uchida, M. Nagase // *Nephron*. – 2000. – Vol. 84, №2. – P.148–157.
232. Lyu, L.-L. Urinary Biomarkers for Chronic Kidney Disease with a Focus on Gene Transcript / L.-L. Lyu, Y. Feng, B.-C. Liu // *Chinese medical journal*. – 2017. – Vol. 130, №18. – P.2251–2256.
233. Rysz, J. Novel Biomarkers in the Diagnosis of Chronic Kidney Disease and the Prediction of Its Outcome / J. Rysz, A. Gluba-Brzózka, B. Franczyk, Z. Jabłonowski, A. Ciałkowska-Rysz // *International journal of molecular sciences*. – 2017. – Vol. 18, №8.
234. Serwin, N.M. Serum levels of 12 renal function and injury markers in patients with glomerulonephritis / N.M. Serwin, M. Wiśniewska, A. Jesionowska, E. Skwirczyńska, Z. Marcinowska, B. Dołęgowska // *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. – 2016. – Vol. 126, №7-8. – P.483–493.
235. Berg, U.B. Renal histological changes in relation to renal function and urinary protein excretion in IgA nephropathy / U.B. Berg, S.O. Bohman, U. Widstam-Attorps // *Archives of Disease in Childhood*. – 1991. – T.66, №5. – C.593–597.
236. Lertrit, A. Independent associations of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and serum uric acid with interstitial fibrosis and tubular atrophy in primary glomerulonephritis / A. Lertrit, S. Worawichawong, S. Vanavanan, A. Chittamma, D. Muntham, P. Radinahamed, A. Nampoon, C. Kitiyakara // *International journal of nephrology and renovascular disease*. – 2016. – Vol. 9. – P.111–118.
237. Alaini, A. Establishing the presence or absence of chronic kidney disease / A. Alaini, D. Malhotra, H. Rondon-Berrios, C.P. Argyropoulos, Z.J. Khitan, D.S.C. Raj, M. Rohrscheib, J.I. Shapiro, A.H. Tzamaloukas // *World journal of methodology*. – 2017. – Vol. 7, №3. – P.73–92.
238. Bazzi, C. Fractional excretion of IgG in idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome: a predictive marker of risk and drug responsiveness / C. Bazzi, V.

Rizza, D. Casellato, R. Tofik, A.-L. Berg, M. Gallieni, G. D'Amico, O. Bakoush // BMC nephrology. – 2014. – Vol. 15. – P.74.

239. Irazabal, M.V. Low- and high-molecular-weight urinary proteins as predictors of response to rituximab in patients with membranous nephropathy: a prospective study / M.V. Irazabal, A. Eirin, J. Lieske, L.H. Beck, S. Sethi, T.M. Borland, J.J. Dillon, P.H. Nachman, S.H. Nasr, L.D. Cornell, N. Leung, D.C. Cattran, F.C. Fervenza // Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. – 2013. – Vol. 28, №1. – P.137–146.

240. Argyropoulos, C.P. Rediscovering Beta-2 Microglobulin As a Biomarker across the Spectrum of Kidney Diseases / C.P. Argyropoulos, S.S. Chen, Y.-H. Ng, M.-E. Roumelioti, K. Shaffi, P.P. Singh, A.H. Tzamaloukas // Frontiers in medicine. – 2017. – Vol. 4. – P.73.