

© Крайдашенко О.В., Долінна М.О., 2014

УДК: 616.61-07:577.112]:616.12-008.331.1

О.В. КРАЙДАШЕНКО, М.О. ДОЛІННА

## БИОМАРКЕРИ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ

*O.V. KRAYDASCHEENKO, M.A. DOLINNAYA*

### *BIOMARKERS OF KIDNEY DAMAGE IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION*

Запорізький державний медичний університет

*Zaporizhzhya State Medical University*

**Ключові слова:** гіпертонічна хвороба, хронічний гломерулонефрит, тубулоінтерстиціальна тканина нирок, біомаркери.

**Keywords:** arterial hypertension, chronic glomerulonephritis, tubulointerstitial kidney tissue, biomarkers.

**Резюме.** Важную роль в развитии стойких нарушений функции почек играет вовлечение почечной тубулоинтерстициальной ткани (ТИТ) с развитием ее фиброза. Данное обстоятельство послужило поводом для попытки использования нейтрофильного желатиназо-ассоциированного липокалина (NGAL), интерлейкина-18 (IL-18) для оценки поражения ТИТ почек при хроническом гломерулонефрите (ХГН) и гипертонической болезни (ГБ).

*Цель.* Изучение характера взаимосвязи между биомаркерами и клинико-морфологическими параметрами, отражающими поражение ТИТ почек у больных ХГН и ГБ.

*Материалы и методы.* Обследовано 44 больных ГБ и 49 пациентов ХГН с артериальной гипертензией. Для анализа поражения ТИТ почек у больных ХГН использовались данные прижизненного морфологического исследования почек. Уровни NGAL и IL-18 крови, мочи определяли иммуноферментным методом.

*Результаты.* Все пациенты имели сохраненную функцию почек. В группе больных ГБ микроальбуминурия (МАУ) выявлена у 32%. У пациентов ХГН средний уровень суточной протеинурии составил 0,5 (0,1:1,2) г/сут. При морфологическом исследовании у 98% больных ХГН наблюдалась дистрофия эпителия канальцев. Интерстициальный фиброз (ИФ) встречался у всех пациентов ХГН, причем у 45% имел очаговый характер, а у 55% – диффузный. Некротические изменения эпителия канальцев наблюдались в 69% случаев, утолщение тубулярной базальной мембраны – у 61% пациентов. При корреляционном анализе обнаружена связь между уровнем NGAL сыворотки крови и ИФ ( $r=0,35$ ,  $p=0,05$ ), утолщением тубулярной базальной мембраны ( $r=0,42$ ,  $p=0,05$ ); уровнем NGAL мочи и дистрофией эпителия канальцев ( $r=0,29$ ,  $p=0,05$ ). Показатель IL-18 сыворотки крови коррелировал с дистрофией эпителия канальцев ( $r=0,69$ ,  $p=0,05$ ), некрозом эпителия канальцев ( $r=0,37$ ,  $p=0,05$ ), ИФ ( $r=0,31$ ,  $p=0,05$ ). Несмотря на сохраненную функцию почек и отсутствие МАУ (в 64% случаев), показатели, оценивающие ТИТ почек, у больных ГБ повышены.

*Выводы.* Для оценки поражения ТИТ почек у больных ХГН и ГБ возможно использование таких маркеров, как NGAL сыворотки крови, мочи и IL-18 сыворотки крови. NGAL сыворотки крови наиболее точно отображает ИФ и изменения тубулярной базальной мембраны; NGAL мочи – дистрофию эпителия канальцев. IL-18 сыворотки крови является показателем дистрофии и некроза эпителия канальцев, ИФ.

Долінна Марія Олександрівна  
mdolinnaya@yandex.ru

**Summary.** *Involving of renal tubulointerstitial tissue (TIT) with fibrosis development plays an important role in the persistent renal dysfunction. This circumstance gave rise to the attempts of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), interleukin-18 (IL-18) use to estimate kidney TIT lesion in chronic glomerulonephritis (CGN) and essential hypertension (EH).*

**Aim.** *To study the relationship between the biomarkers and clinical, morphological parameters reflecting renal TIT damage in CGN and EH patients.*

**Materials and methods.** *We examined 44 hypertensive patients and 49 patients with CGN and hypertension. We used data of the kidney morphological study for the analysis of renal TIT lesion in CGN patients. Levels of blood and urine NGAL and IL-18 were determined using immunoassay kits.*

**Results.** *All patients had preserved renal function. In hypertensive patients microalbuminuria (MAU) was detected in 32%. Patients with CGN had average daily proteinuria 0,5 (0,1:1,2) g/day. Morphologically tubular epithelium dystrophy was observed in 98% of patients with CGN. Interstitial fibrosis (IF) was seen in all patients with CGN, and 45% had focal character, while 55% – diffuse. Necrotic changes in the tubular epithelium were observed in 69% of cases, thickening of tubular basement membrane – 61% of patients. Correlation analysis found an association between the level of serum NGAL and IF ( $r=0,35$ ,  $p=0,05$ ), tubular basement membrane thickening ( $r=0,42$ ,  $p=0,05$ ); urinary NGAL levels and tubular epithelium dystrophy ( $r=0,29$ ,  $p=0,05$ ). Serum IL-18 was correlated with tubular epithelium dystrophy ( $r=0,69$ ,  $p=0,05$ ); tubular epithelium necrosis ( $r=0,37$ ,  $p=0,05$ ), IF ( $r=0,31$ ,  $p=0,05$ ). Despite normal renal function and absence of MAU (in 64% of cases), the indicators of renal TIT damage in hypertensive patients are increased.*

**Conclusions.** *Serum, urine NGAL and serum IL-18 can be used as markers of renal TIT lesion in CGN and EH patients. Serum NGAL reflects most accurately IF and tubular basement membrane changes; urine NGAL – tubular epithelium dystrophy. Serum IL-18 is an indicator of tubular epithelium necrosis, IF.*

**ВСТУП.** Однією з основних проблем нефрології є вивчення механізмів прогресування захворювань нирок і розвитку хронічної ниркової недостатності. Інтерес дослідників більшою мірою зосереджений на формуванні ураження клубочкового апарату нирки, проте, важливу роль у розвитку стійких порушень функції нирок відіграє залучення ниркової тубулоінтерстиціальної тканини (ТІТ) з розвитком її фіброзу [1, 3]. Відомо, що зниження рівня клубочкової фільтрації корелює переважно зі ступенем тубулоінтерстиціальних, а не клубочкових ушкоджень, і більшість патологічних змін, які визначають результат захворювань нирок, відбуваються саме в нирковому інтерстиції [2, 4].

На сьогоднішній день в клінічній практиці використовуються такі маркери ураження нирок, як рівень креатиніну крові, визначення швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) і альбумінурія. Однак ці показники, відображаючи в цілому зміни гломерулярного апарату, не несуть інформації про пошкодження ТІТ нирок. У зв'язку з цим особливої актуальності набуває пошук нових неінвазивних методів діагностики, які дозволять на ранніх стадіях діагностувати ураження ТІТ нирок і починати адекватне лікування.

Дана обставина послужила приводом для спроби використання нейтрофільного желатиназо-асоційованого ліпокаліна (NGAL), інтерлейкіну-18 (IL-18), які вже виправдали себе в діагностиці гострого пошкодження нирок, для оцінки ураження ТІТ нирок при хронічному гломерулонефриті (ХГН) та гіпертонічній хворобі (ГХ) [5, 6]. Однак використання цих показників в рутинній практиці обмежено неоднозначністю отриманих даних різних досліджень і недостат-

ньою доказовою базою, що залишає це питання актуальним.

**МЕТА.** Вивчити характер взаємозв'язку між біомаркерами та клініко-морфологічними параметрами, які відображають ураження ТІТ нирок у хворих на ХГН і ГХ.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.** На базі кардіологічного та нефрологічного відділень Запорізької обласної клінічної лікарні обстежено 44 хворих ГХ і 49 – ХГН і артеріальною гіпертензією. У всіх пацієнтів проаналізовано клінічний варіант перебігу захворювання, виконані стандартні лабораторні та інструментальні дослідження.

Для аналізу ураження ТІТ нирок у хворих на ХГН використовувалися дані прижиттєвого морфологічного дослідження нирок.

Рівні NGAL і IL-18 визначали імуноферментним методом на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Запорізького державного медичного університету. Рівень NGAL в сироватці крові та сечі за допомогою наборів BioVendor (Чехія), рівень IL-18 в сироватці крові – Bender Medsystems (Австрія). Сироватку відокремлювали методом центрифугування негайно та заморожували при температурі  $-70^{\circ}\text{C}$  до моменту проведення методики. Сечу негайно заморожували при температурі  $-70^{\circ}\text{C}$  до моменту проведення методики.

Отримані дані дослідження статистично оброблені. Використовувались параметричні (t-тест для вибірок з незв'язаними варіантами) та непараметричні (метод Манна-Уїтні) методи, застосовувався тест хі-квадрат ( $\chi^2$ ) Пірсона; кореляційний аналіз. Різниця вважалася достовірною при досягнутому рівні значущості  $p < 0,05$ . Дані представлені у вигляді середньої арифметичної (M)  $\pm$  стандартне відхилення (SD) або медіани (25:75 перцен-

тиль). Отримані в результаті досліджень цифрові дані оброблялися на персональному комп'ютері за допомогою прикладних комп'ютерних програм: Microsoft Excel 2007, Statistica 7.0 та стандартної версії SPSS 16.0 (США).

**РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ.** Основні клініко-лабораторні показники представлені в табл. 1.

Таблиця 1

**Результати основних клініко-лабораторних параметрів**

Показник	Хворі на ХГН (n=49)	Хворі на ГХ (n=44)
Пол ч/ж, %	69/31	36/64
Вік, років	36,4±11,5	50,2±11,2
Тривалість, міс.	87,1±85,8	133,6±92,3
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,2±5,0	30,2±4,8
Гемоглобін, г/л	135,5±16,8	135,0±14,0
Альбумін, г/л	39,8±7,2	43,5±3,6
Холестерин, ммоль/л	5,9±2,1	5,7±1,3
Креатинін крові, мкмоль/л	101,9±26,4	80,5±14,6
Мочевина крові, ммоль/л	6,0±2,0	5,1±1,3
ШКФ (MDRD), мл/хв/1,73 м <sup>2</sup>	80,0±27,0	82,8±14,7
ШКФ (Cockcroft-Gault), мл/хв/1,73 м <sup>2</sup>	91,7±29,3	96,8±17,4

Встановлено, що жінки частіше хворіють ГХ, а чоловіки – ХГН (p<0,001). Середній вік хворих на ГХ на 38% вище, тривалість захворювання на 53% довше, ніж у хворих на ХГН. Статистично достовірні відмінності виявлені за показником індексу маси тіла (ІМТ): у хворих ГХ він на 15% вище, ніж у хворих ХГН (p<0,001).

Статистично значущих відмінностей за показниками основних лабораторних параметрів не виявлено. Всі пацієнти мали збережену функцію нирок (див. табл. 1).

При морфологічному дослідженні 88% випадків склав мезангіопроліферативний гломерулонефрит, 7% – мембранозний, 5% – мембрано-

проліферативний. У 98% хворих ХГН спостерігалася дистрофія епітелію каналців. Інтерстиціальний фіброз (ІФ) зустрічався у всіх пацієнтів із ХГН, причому у 45% він мав вогнищевий характер, а у 55% – дифузний. Некротичні зміни епітелію каналців спостерігалися в 69% випадків, потовщення тубулярної базальної мембрани – у 61% пацієнтів.

У групі ГХ мікроальбумінурія (МАУ) виявлена у 32% хворих. У пацієнтів зі ХГН середній рівень добової протеїнурії склав 0,5 (0,1:1,2) г/доб.

Дані біомаркерів за аналізованими групами представлені у табл. 2.

Таблиця 2

**Досліджувані біомаркери**

Показник	Хворі на ГН (n=49)	Хворі на ГХ (n=44)
NGAL сироватки крові, нг/мл	6,4±2,6	9,7±5,5
NGAL сечі, нг/мл	5,9±2,4	6,1±2,7
ІЛ-18 сироватки крові, пг/мл	850,2±515,0	720,7±249,2

При кореляційному аналізі виявлено зв'язок між рівнем NGAL сироватки крові та ІФ (r=0,35, p=0,05), потовщенням тубулярної базальної мембрани (r=0,42, p=0,05); рівнем NGAL сечі та дистрофією епітелію каналців (r=0,29, p=0,05). Показник ІЛ-18 сироватки крові корелював із дистрофією епітелію каналців (r=0,69, p=0,05),

некрозом епітелію каналців (r=0,37, p=0,05), ІФ (r=0,31, p=0,05).

Значення NGAL сироватки крові у групі хворих на ГН підвищені у 67% пацієнтів, а в групі хворих ГХ – у 74% хворих (p<0,001). Встановлено, що у пацієнтів з ГХ показник NGAL сироватки крові на 51% вище, ніж у хворих на

ХГН. В обох групах середнє значення NGAL сечі не має статистично достовірних відмінностей ( $p < 0,001$ ). Показник NGAL сечі підвищений практично у однакової кількості хворих – 69% у хворих ХГН, 63% – ГХ. Також, статистично достовірно ( $p < 0,001$ ) визначено, що рівень IL-18 сироватки крові у хворих з ГХ нижче, ніж у хворих з ХГН. IL-18 сироватки крові в групі хворих ХГН підвищений у 69% пацієнтів, а в групі хворих ГХ – у 67% хворих.

Таким чином, виявлені нами кореляційні зв'язки між маркерами та даними морфологічного дослідження нирок у хворих ХХН: ГН дозволяють використовувати NGAL сироватки крові та сечі, IL-18 сироватки крові для оцінки ураження ТІТ нирок у пацієнтів з ГН і ГХ. Незважаючи на збережену функцію нирок і відсутність МАУ (в 64% випадків), показники, які оцінюють ТІТ нирок, у хворих ГХ є підвищеними.

Виявлення маркерів раннього ураження ТІТ нирок дозволить запобігти прогресуванню фіброзу ТІТ і підвищити ефективність раннього застосування інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту.

#### ВИСНОВКИ:

- Для оцінки ураження ТІТ нирок у хворих на ХХН: ГН і ГХ можливе використання таких маркерів, як NGAL сироватки крові, сечі і IL-18 сироватки крові.
- NGAL сироватки крові найбільш точно відображає ІФ та зміни тубулярної базальної мембрани; NGAL сечі – дистрофію епітелію каналців.
- IL-18 сироватки крові є показником дистрофії та некрозу епітелію каналців, ІФ.
- Незважаючи на збережену функцію нирок і відсутність МАУ (в 64% випадків), показники, які оцінюють ТІТ нирок, у хворих ГХ є підвищеними.

#### ЛІТЕРАТУРА:

- Арутюнов Г.П. Тубулоинтерстициальный аппарат почки и его поражение при артериальной гипертензии / Г.П. Арутюнов, Л.Г. Оганезова // Клиническая нефрология. – 2011. – №1. – С. 52-57.
- Арутюнов Г.П. Экспериментальные модели поражения тубулоинтерстициальной ткани почек при артериальной гипертензии / Г.П. Арутюнов, А.В. Соколова, Л.Г. Оганезова // Клиническая нефрология. – 2011. – №2. – С. 75-78.
- Пролетов Я.Ю. Роль некоторых биомаркеров в оценке характера хронического повреждения почек у пациентов с первичными гломерулопатиями / Я.Ю. Пролетов, Е.С. Саганова, О.В. Галкина и др. // Нефрология. – 2013. – №1(17). – С. 60-69.
- Савош В.В. Клеточные механизмы формирования тубулоинтерстициальных изменений при первичных гломерулопатиях / В.В. Савош, Т.А. Летковская, Е.Д. Черствый и др // Мед. журнал. Белорусский государственный медицинский университет. – 2007. – №4. – С. 98-100.
- Blumczynski A. Hypertensive nephropathy in children – do we diagnose early enough? /A. Blumczynski, J. Soltysiak, K. Lipkowska, M. Silska et al. // Blood Press. – 2012. – №21(4). – P. 233-9 [Epub 2012 Mar 19].
- Fasset R.G. Biomarkers in chronic kidney disease / R.G. Fasset, S.K. Venuthurupalli, G.C. Gobe et al. // Kidney Int. – 2011. – №80(8). – P. 806-821.

Надійшла до редакції 11.08.2014

Прийнята до друку 28.08.2014