

# Лабораторная диагностика болезней почек

Greg Miller, PhD

Virginia Commonwealth University

Richmond, VA, USA

Приглашенный лектор от Американской  
ассоциации клинической химии

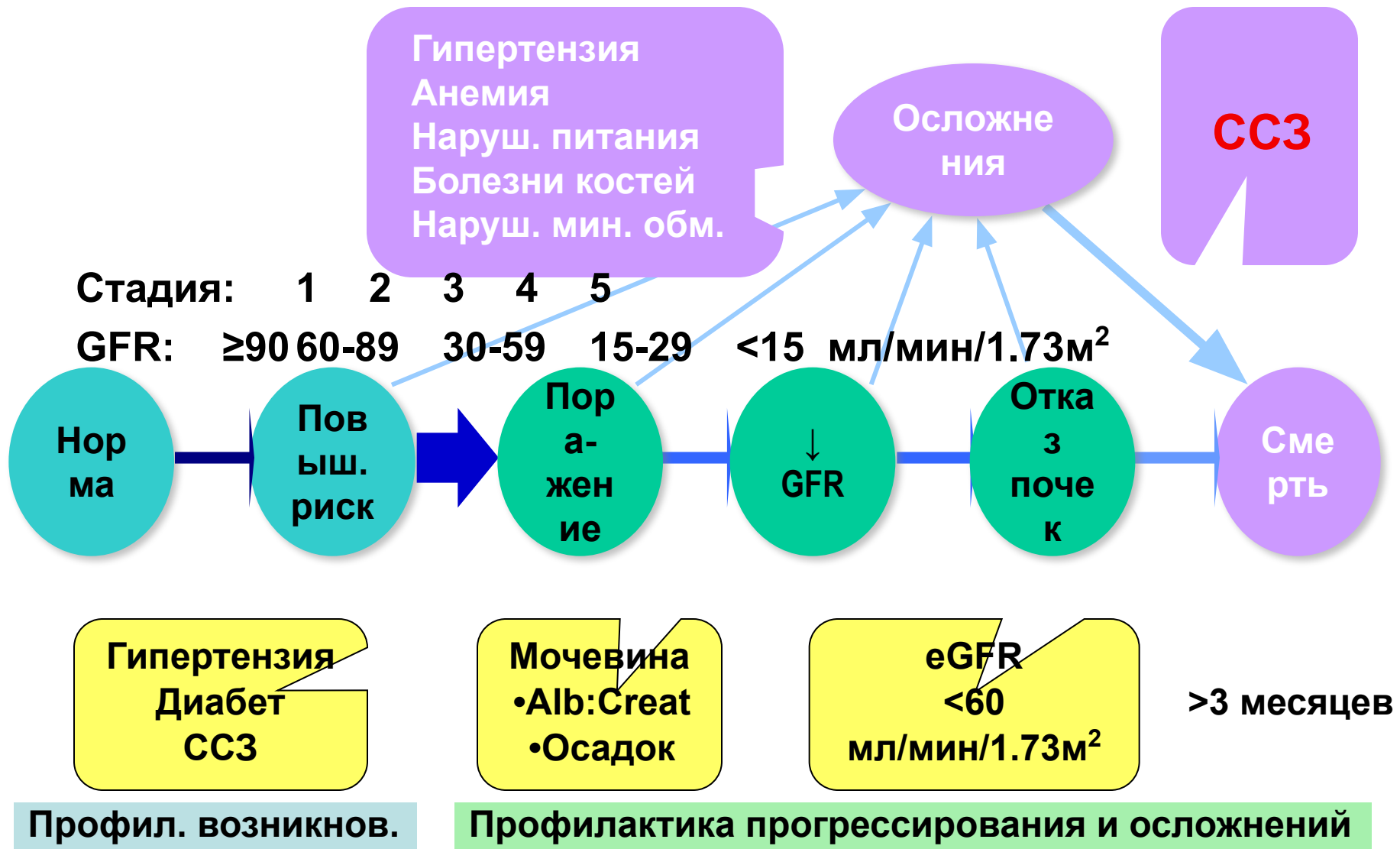
[900igr.net](http://900igr.net)

# Оглавление

---

- **Хроническая болезнь почек (ХБП)**
- Креатинин
- Альбумин мочи
- Цистатин С

# Концептуальная модель ХБП

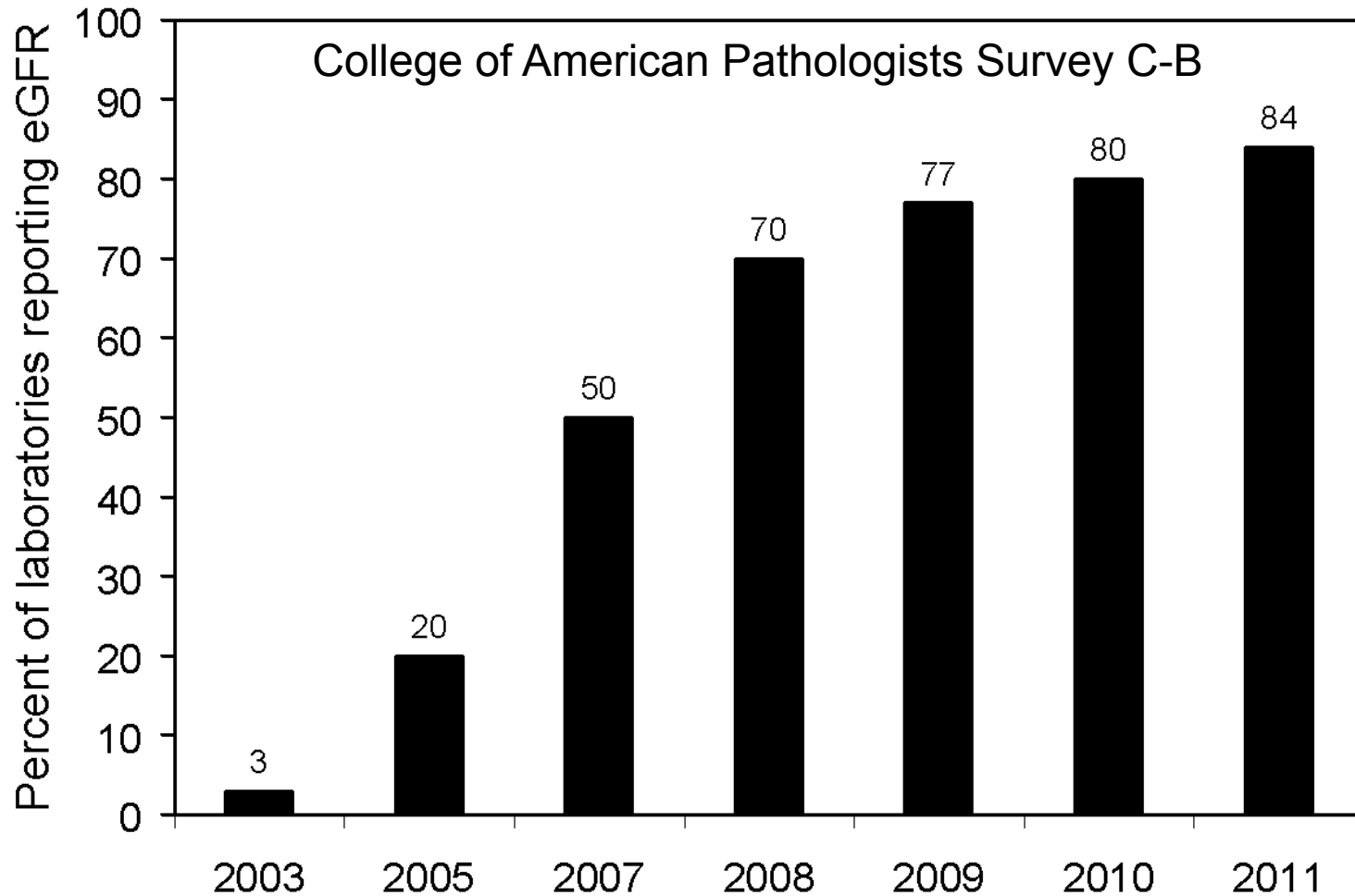


# Национальная образовательная программа по болезни почек (США)

---

- 1) Отказ почек является проблемой здравоохранения
  - ХБП поражает ~9% населения США и ее распространенность возрастает
- 2) Существуют экономичные и эффективные анализы и терапия
- 3) Анализы и терапия применяются неадекватно

# NKDEP рекомендует сообщать eGFR наряду с креатинином



## Почему следует использовать расчет eGFR, основанный на клиренсе креатинина?

---

- Необходимо выявлять лиц, которые не знают о том, что у них хроническая болезнь почек
- Анализ креатинина широко распространен

# Помогает ли определение eGFR ?

---

- Когорта населения (N = 1,1 млн.) в штате Альберта, Канада
- На 68% увеличилась частота первого обращения к нефрологу
  - Увеличение на 62% при eGFR < 30 мл/мин/1.73 м<sup>2</sup>

# Оглавление

---

## □ Креатинин

- Проблема «границ нормы»
- Расчетная скорость клубочковой фильтрации (eGFR)
- Измерение
- Дозировка лекарств на основе eGFR



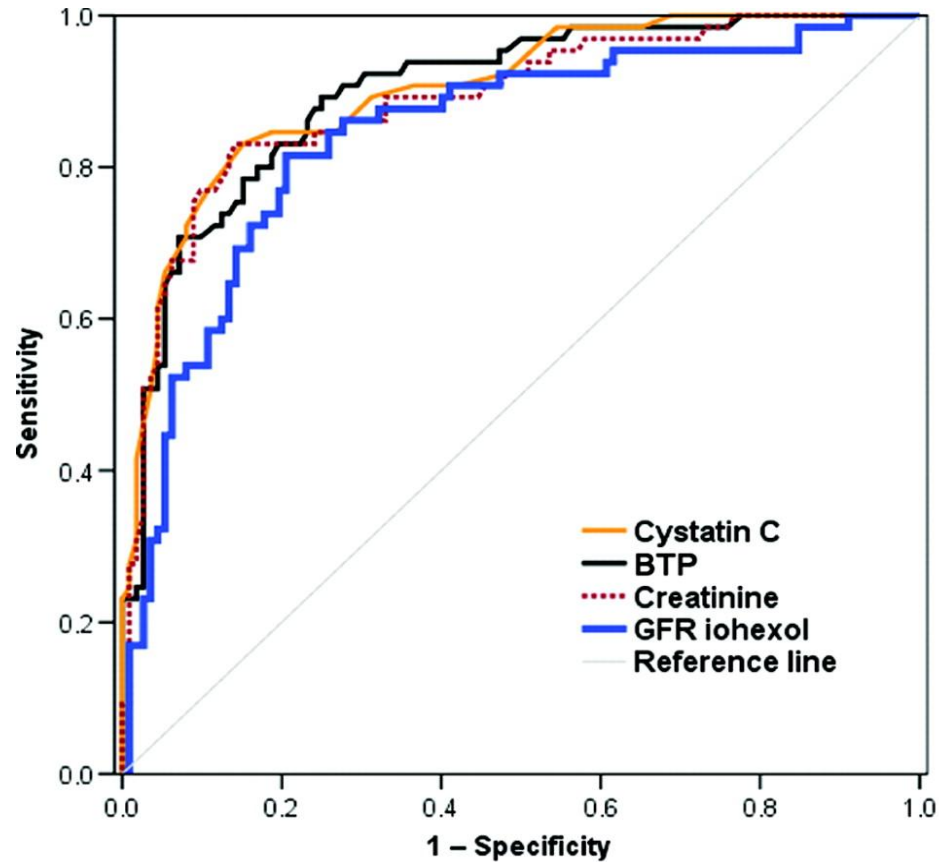
# Проблема «границ нормы» для креатинина

---

- Референтный интервал = центральная 95%-ная область распределения значений у «здоровой» референтной группы
  - Неизвестно количество случаев раннего бессимптомного заболевания почек
  - Неизвестно распределение мышечной массы
- Верхняя граница референтного интервала соответствует снижению функции почек примерно наполовину
  - НЕ соответствует понятию «норма»

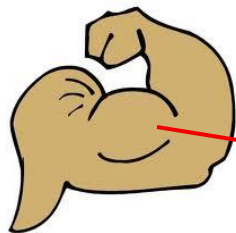
# Креатинин, цистатин С, $\beta$ -следы белка имеют одинаковую предсказательную ценность развития ХБП

(277 пациентов без диабета в течение 7 лет)



# Ограниченные возможности креатинина

## НАКОПЛЕНИЕ

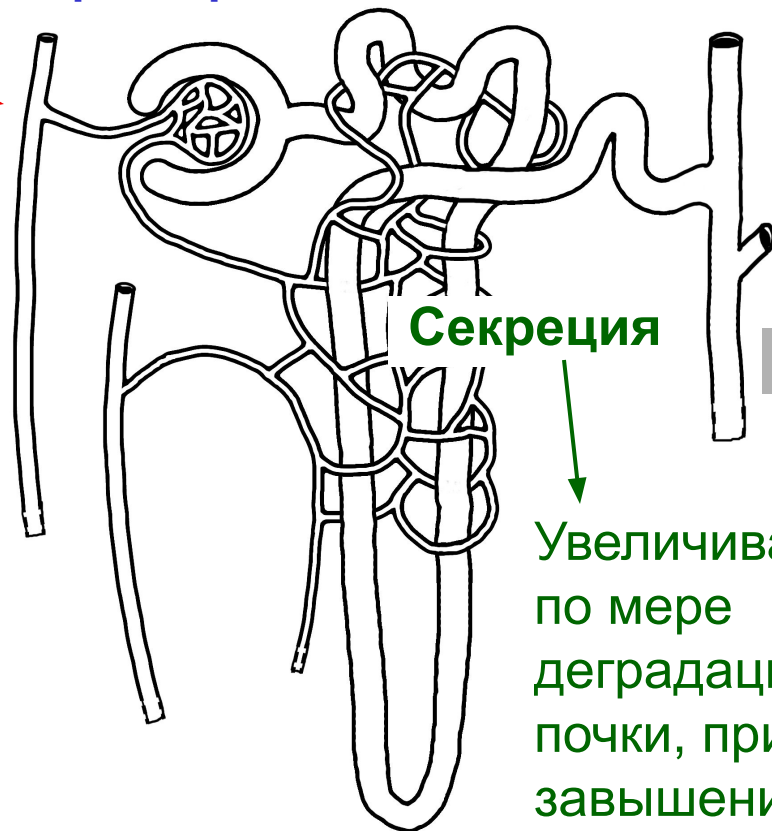


- Мышечная масса (напр., возраст, пол, этнос)
- Дегенерация мускулатуры (напр., рак, потеря мышечной массы, паралич, ампутация)
- Экстремальные формы тела (тощие, ожирение, культуризм)
- Диета (мясо ↑; овощи ↓; добавки креатинина)

## УДАЛЕНИЕ

Клубочковая  
фильтрация

КРОВЬ



Секреция

МОЧА

Увеличивается  
по мере  
деградации  
почки, приводя к  
завышению  
GFR

# Почему нужно выдавать eGFR ?

---

- Учет факторов возраста, пола, расовой принадлежности частично корректирует зависимость выработки креатинина от величины мышечной массы
- Частично нивелирует эффект увеличения секреции по мере ухудшения функции почек
- Интерпретация креатинина в непрерывной шкале, что знакомо врачам
- Минимизация проблемы «границ нормы»

# Ограниченные возможности eGFR

---

- eGFR = вычисляемый показатель
- Не является величиной GFR для данного пациента
- Представляет GFR для «среднего» пациента
  - Формулы представляют собой оценки, полученные на большой группе людей
- Чем больше пациент отличается от «среднего», тем больше погрешность величины eGFR

# Для вычисления GFR необходимо стабильное состояние функции почек

---

Увеличение погрешности при:

- беременности (GFR завышена, креатинин снижен)
- госпитализации пациентов
- сопутствующих заболеваниях
- механическом повреждении почек

# Лабораторные исследования

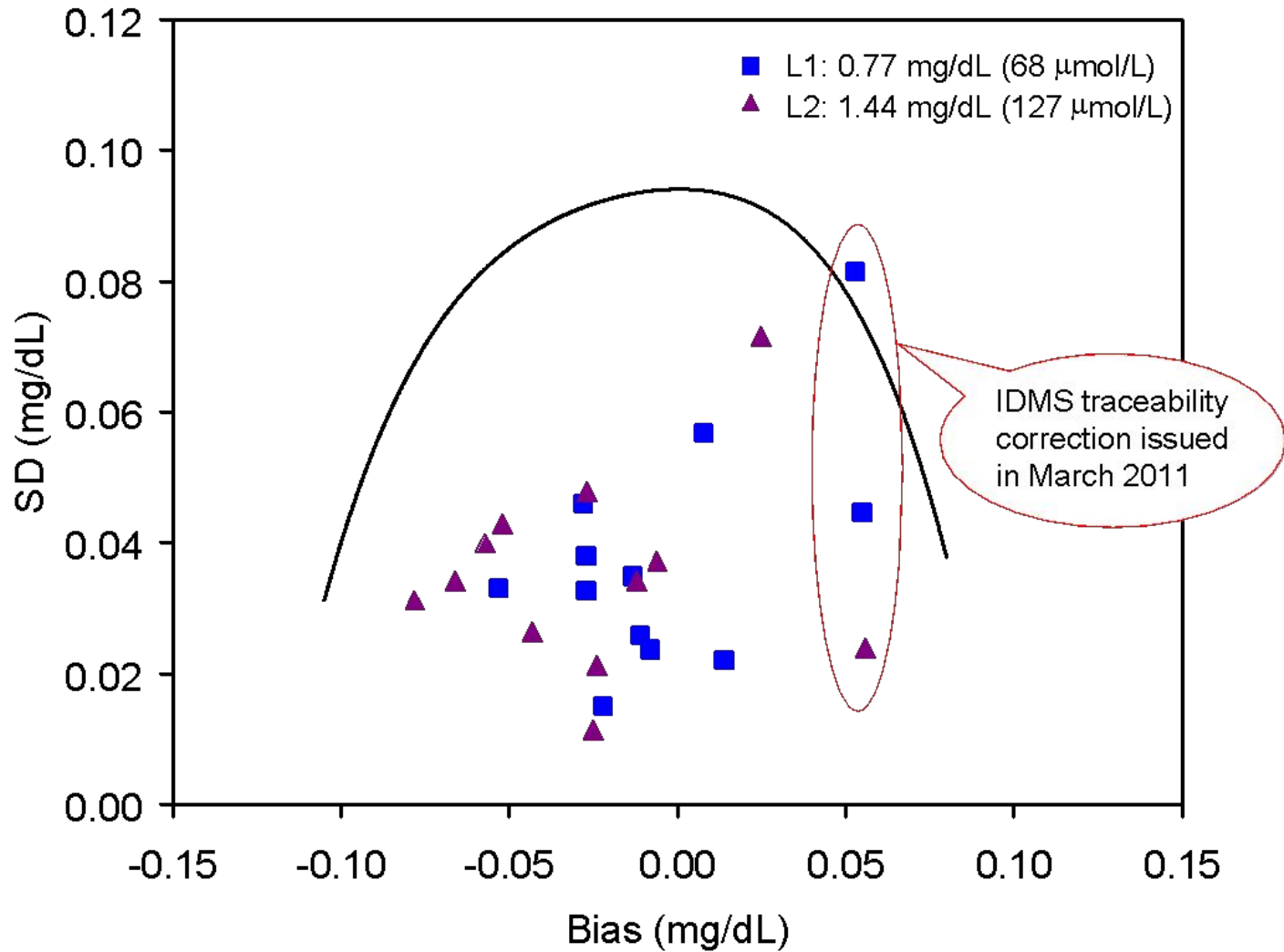
---

## Программа стандартизации калибровки креатинина

- Устраняет разброс между методиками измерений
- Снижает вариабельность eGFR
- Myers et al. Clin Chem 2006;52:5-18.

# Определение креатинина, 2011 г.

## CAP Accuracy Based Survey LN24





# Какова расчетная формула для взрослых?

---

## MDRD (1999, 2007 для калибровки по IDMS)

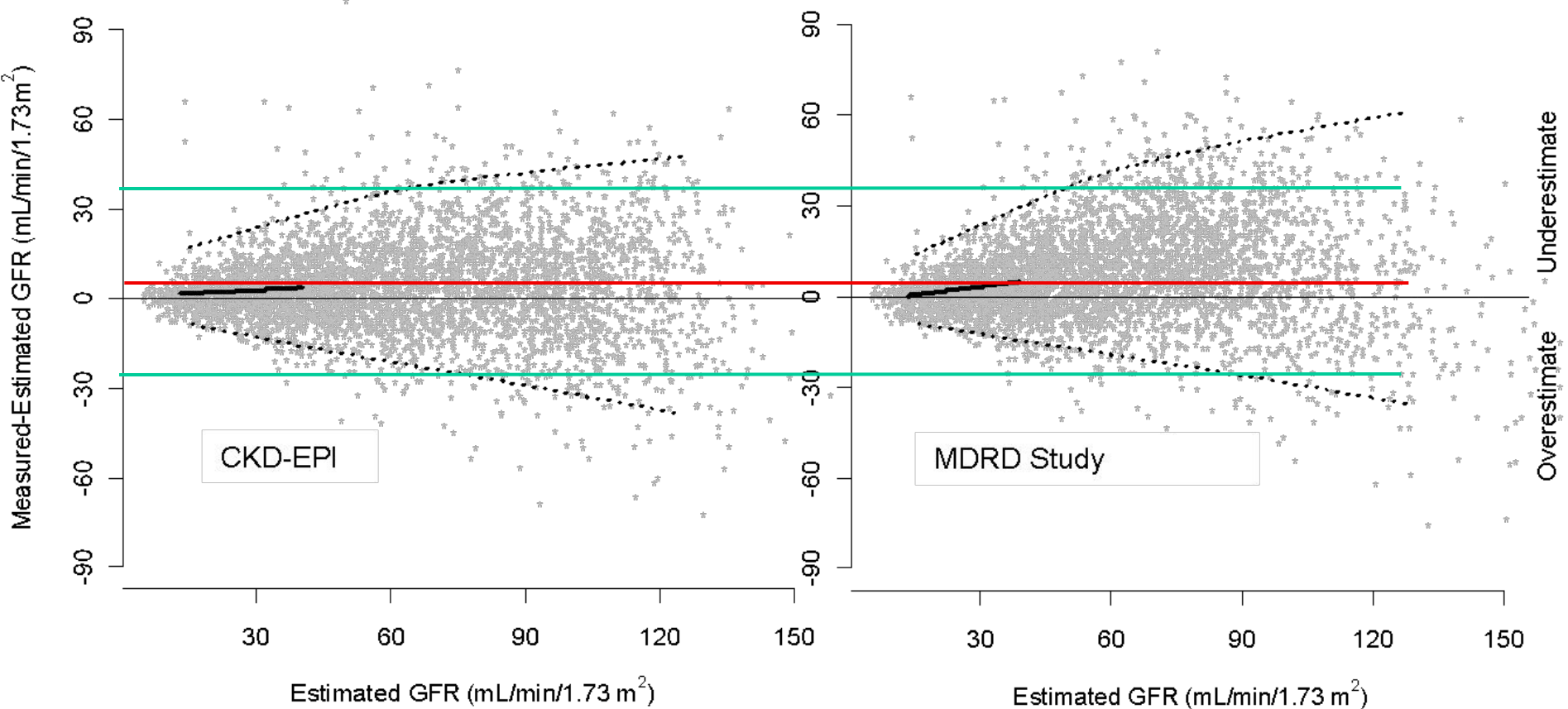
- Занижает GFR на стадиях 1 и 2 ХБП
- Рекомендовано не выдавать eGFR  $>60$  мл/мин/1.73м<sup>2</sup>

## СКД-ЕРІ (2009)

- Более правильно по отношению к измеренному GFR выше 60 мл/мин/1.73м<sup>2</sup>
- Не зависит от вида исследования и подгруппы (возраст, пол, раса, диабет, наличие трансплантатов, ИМТ)
- Невоспроизводимость определения креатинина накладывает ограничения на высокие значения

# Сравнение СКД–ЕРІ и MDRD

В группе валидизированных пациентов, N=3896 (16 исследований)



# Дозировка лекарств на основе eGFR

---

- В условиях стандартизации креатинина:
  - ▶ Оценки GFR имеют меньший разброс
  - ▶ Другие формулы (например, Cockcroft-Gault) дают завышенные значения eGFR
  - ▶ Риск передозировки лекарств

# Сравнение решений по дозировке лекарств

---

- Доза была рассчитана по 15 лекарствам для 5 504 пациентов, у которых измерялась GFR :
  - 88% соответствия с формулой MDRD
  - 85% соответствия с Cockcroft-Gault (P <0.001)
- 89% соответствия в лекарственных дозах между формулами MDRD и Cockcroft-Gault

## ВЫВОДЫ:

- Формулы MDRD и Cockcroft-Gault не дают принципиальной разницы в дозах для большинства лекарств и большинства пациентов
- Соответствие теряется, когда расчет дозы был основан на более узком интервале GFR

# Подход к дозировке лекарств, предложенный NKDEP

---

- Используйте формулы MDRD, СКD-EPI или Cockcroft-Gault для расчета дозировки лекарств
- Если Вы используете eGFR (нормализованную к  $1.73\text{м}^2$ ) для очень крупных или очень маленьких пациентов, внесите поправку на площадь поверхности тела, чтобы получить eGFR в мл/мин
- Используйте измеренный клиренс креатинина или измеренную GFR:
  - для лекарств с узким терапевтическим или токсическим интервалом
  - когда формулы дают различные дозы
  - когда любая оценка функции почек, основанная на креатинине, представляется неправильной

# Дозировка лекарств для детей

---

- Более низкие концентрации креатинина
- Более выраженная зависимость от:
  - ▶ Случайной и систематической ошибки метода
  - ▶ Более низкие концентрации белка вызывают занижение метода Яффе с «компенсацией» (завышение eGFR)
- Может потребоваться использование измеренного клиренса креатинина или измеренной GFR

# Прослеживаемость калибровки до метода IDMS не устраняет влияния мешающих компонентов

- Лекарства
- Эндогенные вещества, например:
  - Белок
  - Глюкоза
  - Кетоновые тела
  - Билирубин
  - Гемоглобин

# Оценка специфичности NKDEP – IFCC

---

- 19 наборов, в каждом по ~20 индивидуальных сывороток с широким диапазоном концентраций потенциально мешающих веществ
- 1 набор с 20 контрольными сыворотками относительно здоровых лиц
- 4 ферментных методики и 3 методики Яффе для определения креатинина + референтная методика IDMS
- Калибровка всех методик имела прослеживаемость до метода IDMS через посредство стандартного образца креатинина в замороженной сыворотке NIST SRM 967



**В целом, методики Яффе оказались более чувствительны к мешающим веществам (49% против 18%).**

		Number of samples per group with a negative or positive bias >0.10 mg/dL (>8.8 mmol/L) or >10% whichever is greater														
		Highlight →														
		3-5 samples with bias				≥6 samples with bias										
		E1		E2		E3		E4		J1		J2		J3		
Subject group	n	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	
Apparently healthy subjects	20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
<b>Diabetes mellitus</b>																
β-hydroxybutyrate, 33-103 mg/dL	19	0	0	0	3	0	1	0	0	0	11	5	1	0	14	
Glucose, 388-816 mg/dL	20	1	2	0	1	1	0	0	0	0	14	0	8	0	19	
HbA <sub>1c</sub> , 8.1-13.2%	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	16	
<b>Cardiovascular disease w HTN</b>	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6	
<b>Drugs</b>																
Cephalosporins	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5	1	0	0	10	
Dobutamine	18	3	0	1	0	2	0	2	0	0	3	0	0	0	7	
Dopamine	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Lidocaine	20	0	10	0	11	0	9	0	8	0	4	4	0	0	5	
<b>Endogenous substances</b>																
Bilirubin, 9-38 mg/dL	20	13	0	1	0	10	0	18	0	0	0	19	0	0	3	
Delayed separation, 24-48 hr	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	3	0	8	
Hemolysis, Hb >350 mg/dL	20 <sup>c</sup>	11	0	2	0	0	1	6	0	0	6	0	5	2	0	
Lipemia	20	2	0	1	1	8	0	5	0	1	2	4	1	0	8	
<b>Protein abnormalities</b>																
Albumin, 1.4-4.0 g/dL	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	1	7	
Protein, 7-18 g/dL	20	1	0	0	8	0	0	0	0	0	7	2	0	0	17	
Protein, 3.1-6.2 g/dL	20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	
<b>Kidney disease</b>																
Pre-dialysis	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
eGFR 15-30 mL/min/1.73m <sup>2</sup>	19	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
Post kidney transplant	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
Protein, urine, 15 were 3-22 g/L	18	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

# Влияние мешающих веществ зависело от деталей конкретной реализации методики как в случае метода Яффе, так и для ферментных методов.

		Number of samples per group with a negative or positive bias >0.10 mg/dL (>8.8 mmol/L) or >10% whichever is greater															
		Highlight →		3-5 samples with bias				≥6 samples with bias									
				E1		E2		E3		E4		J1		J2		J3	
Subject group	n	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos
Apparently healthy subjects	20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<b>Diabetes mellitus</b>																	
β-hydroxybutyrate, 33-103 mg/dL	19	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0	11	5	1	0	14
Glucose, 388-816 mg/dL	20	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	14	0	8	0	19
HbA <sub>1c</sub> , 8.1-13.2%	20	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	16
<b>Cardiovascular disease w HTN</b>	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6
<b>Drugs</b>																	
Cephalosporins	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5	1	0	0	0	10
Dobutamine	18	3	0	1	0	2	0	2	0	0	0	3	0	0	0	0	7
Dopamine	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Lidocaine	20	0	10	0	11	0	9	0	8	0	0	4	4	0	0	0	5
<b>Endogenous substances</b>																	
Bilirubin, 9-38 mg/dL	20	13	0	1	0	10	0	18	0	0	0	0	0	10	0	0	3
Delayed separation, 24-48 hr	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	3	0	0	8
Hemolysis, Hb >350 mg/dL	20 <sup>c</sup>	11	0	2	0	0	1	6	0	0	0	6	0	5	2	0	0
Lipemia	20	2	0	1	1	8	0	5	0	1	2	4	1	0	0	0	8
<b>Protein abnormalities</b>																	
Albumin, 1.4-4.0 g/dL	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	1	0	7
Protein, 7-18 g/dL	20	1	0	0	8	0	0	0	0	0	7	2	0	0	0	0	17
Protein, 3.1-6.2 g/dL	20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2
<b>Kidney disease</b>																	
Pre-dialysis	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
eGFR 15-30 mL/min/1.73m <sup>2</sup>	19	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Post kidney transplant	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Protein, urine, 15 were 3-22 g/L	18	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

# Оглавление

---

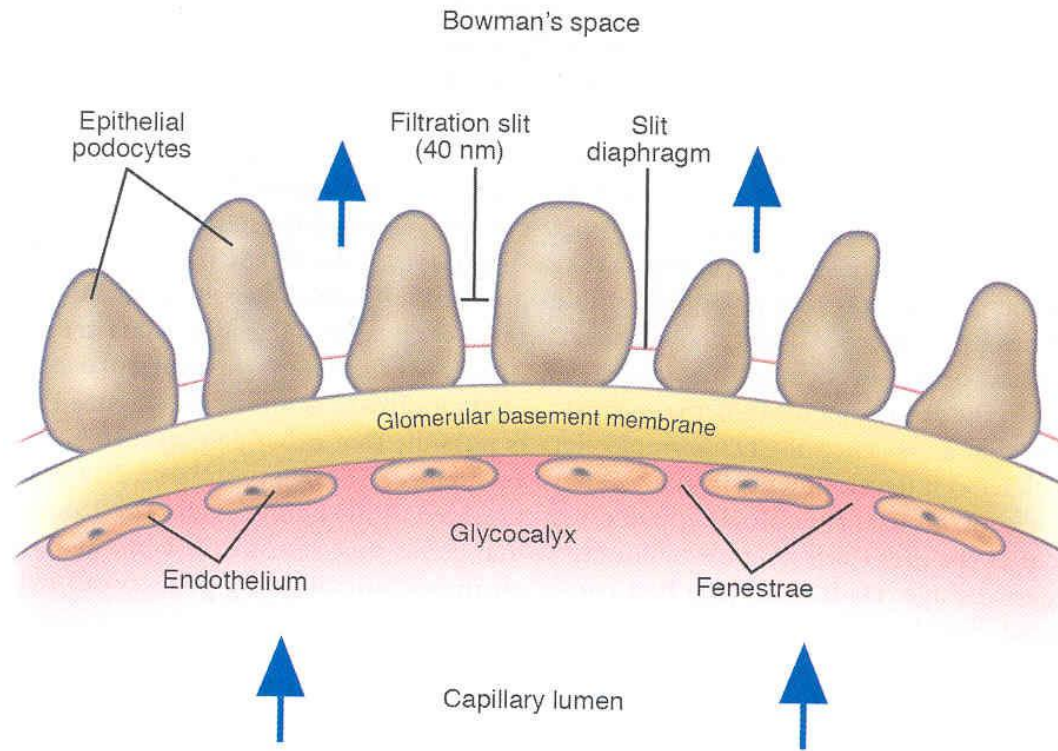
## □ Альбумин мочи

- Сбор образцов и представление результатов
- Измерение
- Интервалы принятия решений

# Альбумин мочи

Проксимальные канальцы: 140 л/день = 1.4 г альбумина/день

Ультрафильтрат: 10 мг/л альбумина



Кровь: 45 000 мг/л альбумина

# Тубулярные процессы

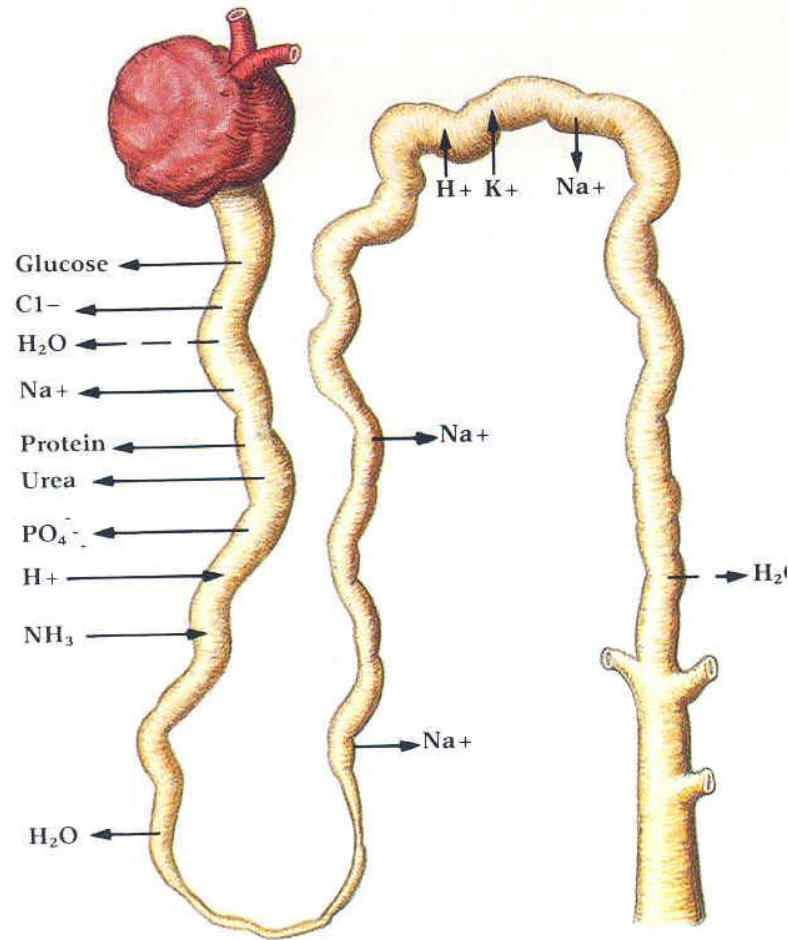
- Опосредованное рецептором поглощение более 99% альбумина
- Кроме того, вода и другие вещества

**Альбумин**

**10 мг/л в 140 л**



**<10 мг/л в 1.4 л  
МОЧИ**



---

## Current Issues in Measurement and Reporting of Urinary Albumin Excretion

W. Greg Miller,<sup>1\*</sup> David E. Bruns,<sup>2</sup> Glen L. Hortin,<sup>3</sup> Sverre Sandberg,<sup>4</sup> Kristin M. Aakre,<sup>4</sup> Matthew J. McQueen,<sup>5</sup> Yoshihisa Itoh,<sup>6</sup> John C. Lieske,<sup>7</sup> David W. Secombe,<sup>8</sup> Graham Jones,<sup>9</sup> David M. Bunk,<sup>10</sup> Gary C. Curhan,<sup>11</sup> and Andrew S. Narva,<sup>12</sup> on behalf of the National Kidney Disease Education Program–IFCC Working Group on Standardization of Albumin In Urine

---

- Рекомендации для немедленного внедрения
- Рекомендации для изучения

# Рекомендации для немедленного внедрения

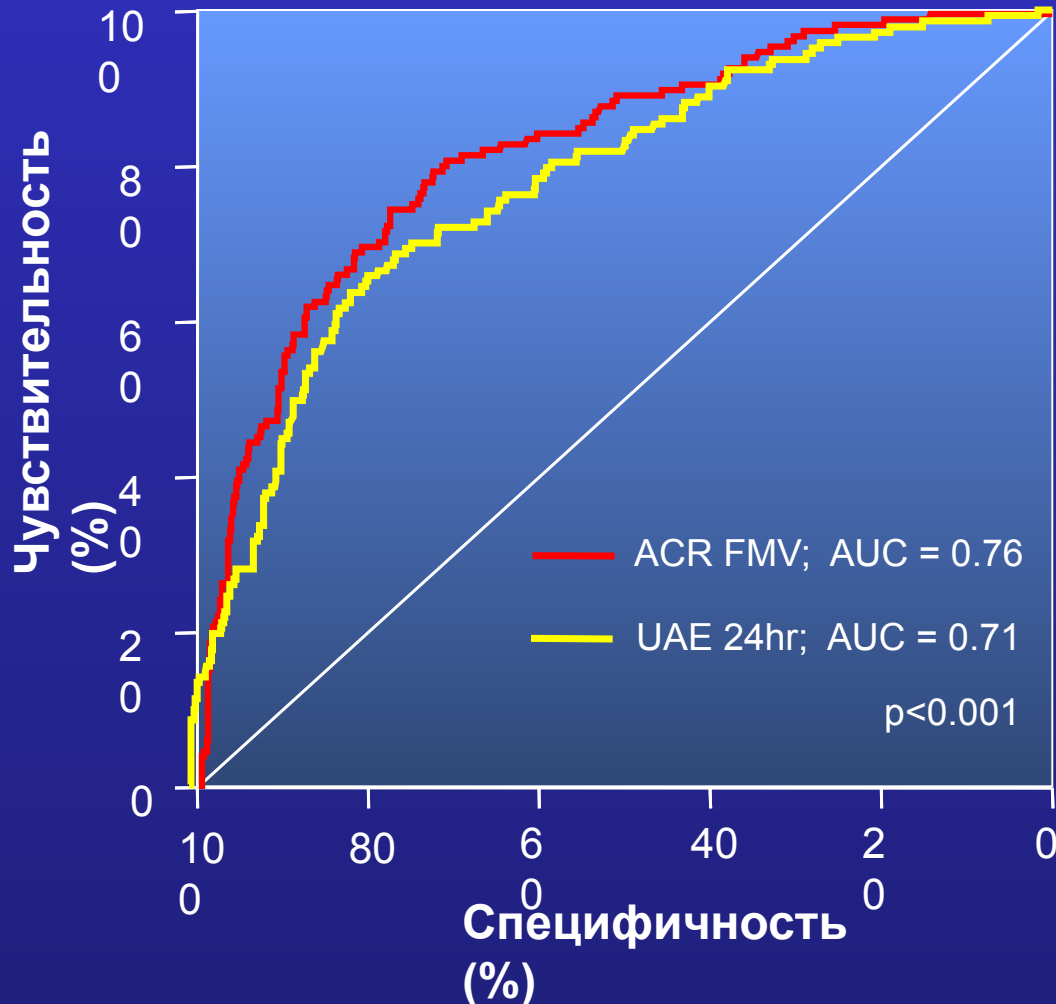
---

- Концентрация альбумина (мг/л) с трудом поддается интерпретации и не должна выдаваться сама по себе
- Всегда следует сообщать отношение альбумин/креатинин (ACR)
  - единицы измерения (“мг/ммоль” или “мг/г”) должны быть унифицированы по всей стране или региону
- Сбор суточной мочи не требуется
  - Предпочтительна первая утренняя порция  
(может зависеть от типичных клинических условий)



# Какой показатель альбуминурии следует использовать ? Прогноз ренального исхода

Комбинированная ренальная конечная точка  
(ESRD или удвоение уровня креатинина сыворотки)

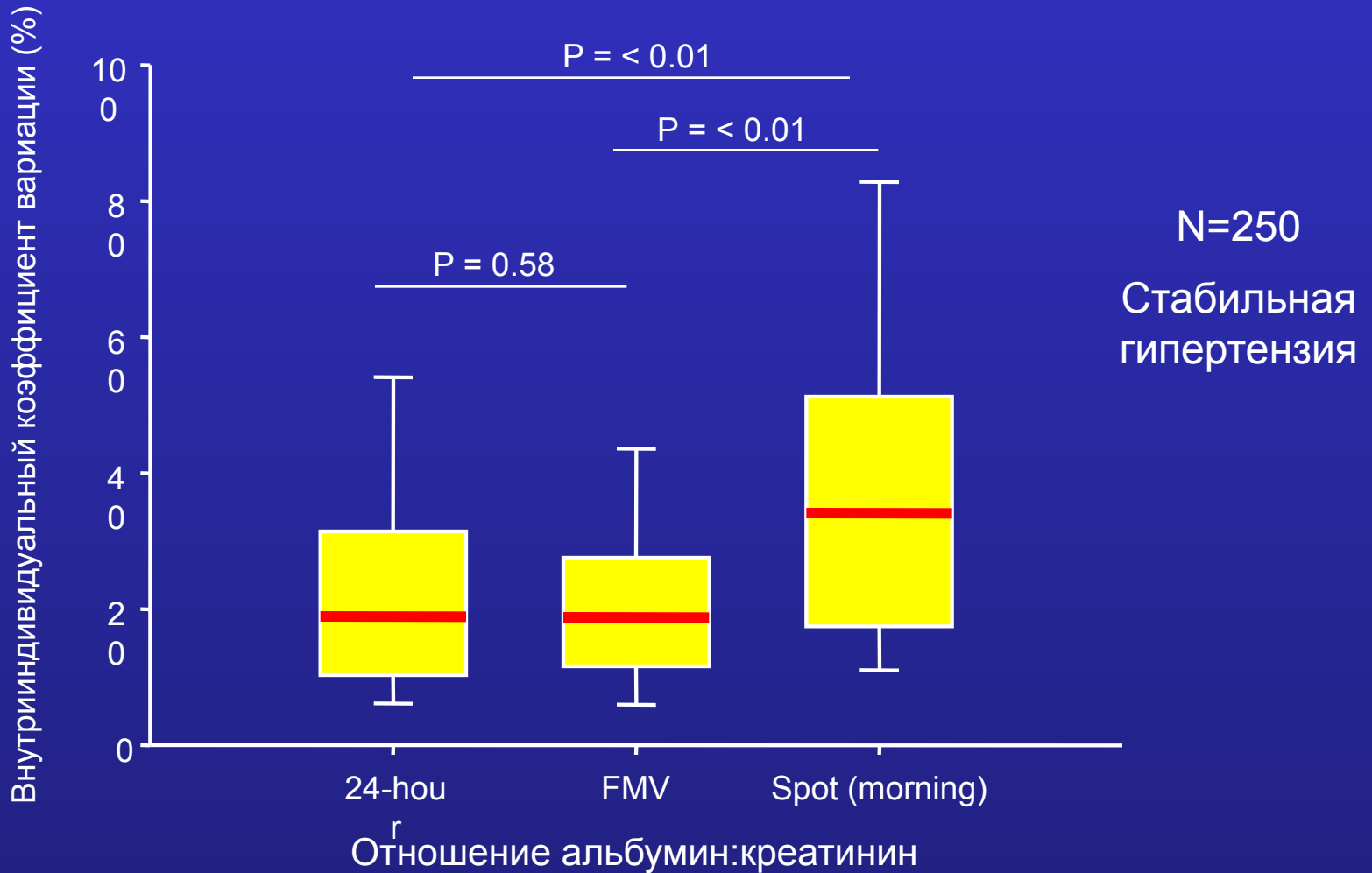


N=1513  
СД2  
нефропатия



# Какие пробы мочи следует использовать?

## Внутрииндивидуальный коэффициент вариации



# Текущее состояние гармонизации альбумина мочи (NKDEP – IFCC)

---

- 343 индивидуальных образца мочи было представлено для анализа альбумина
- Образцы были направлены без заморозки производителям 17 коммерческих иммунологических тест-систем
- Замороженная аликвота анализировалась методом IDMS в клинике Майо

# Гармонизация результатов определения альбумина в моче 17 методами

---

Интервал кон-Разность  
центраций (мг/л) медиан

---

12-30      45%

30-200    38%

200-1270    42%

# Новые референтные материалы для альбумина мочи

---

- Вторичный референтный материал альбумина от JSCC
  - Раствор очищенного мономерного альбумина человека в буфере (225 мг/л)
  - Прослеживаем до стандартного образца белков в сыворотке человека ERM DA 470
  
- Альбумин и креатинин в матриксе мочи от NIST
  - В разработке
  - Прослеживаемость до метода IDMS
  
- Время до публикации JCTLM: ? лет

# Референтные методы определения альбумина в моче

---

- В разработке
- Основаны на методе ID-LC-MS/MS
  - John Lieske клинике Майо
  - David Bunk в NIST
- Время до публикации JCTLM: ? лет

# Референтные интервалы и точки принятия решений

---

- Установленные в настоящее время критические точки для отношения альбумин/креатинин (ACR) и скорости экскреции альбумина (AER) могут недостаточно адекватно отражать риск возникновения или прогрессирования заболевания
- Величину риска следует определять после стратификации по возрасту, полу, этносам и сопутствующим заболеваниям
- Точки принятия решений зависят от условий сбора мочи

# Пороговое значение ACR должно быть различным для мужчин и женщин

N = 218, здоровые взрослые, без диабета

	AER, $\mu\text{g}/\text{min}$	ACR, $\text{mg}/\text{g}$	ACR, $\text{mg}/\text{mmol}$
Male	30	17 *	1.9 *
Female	31	25 *	2.8 *

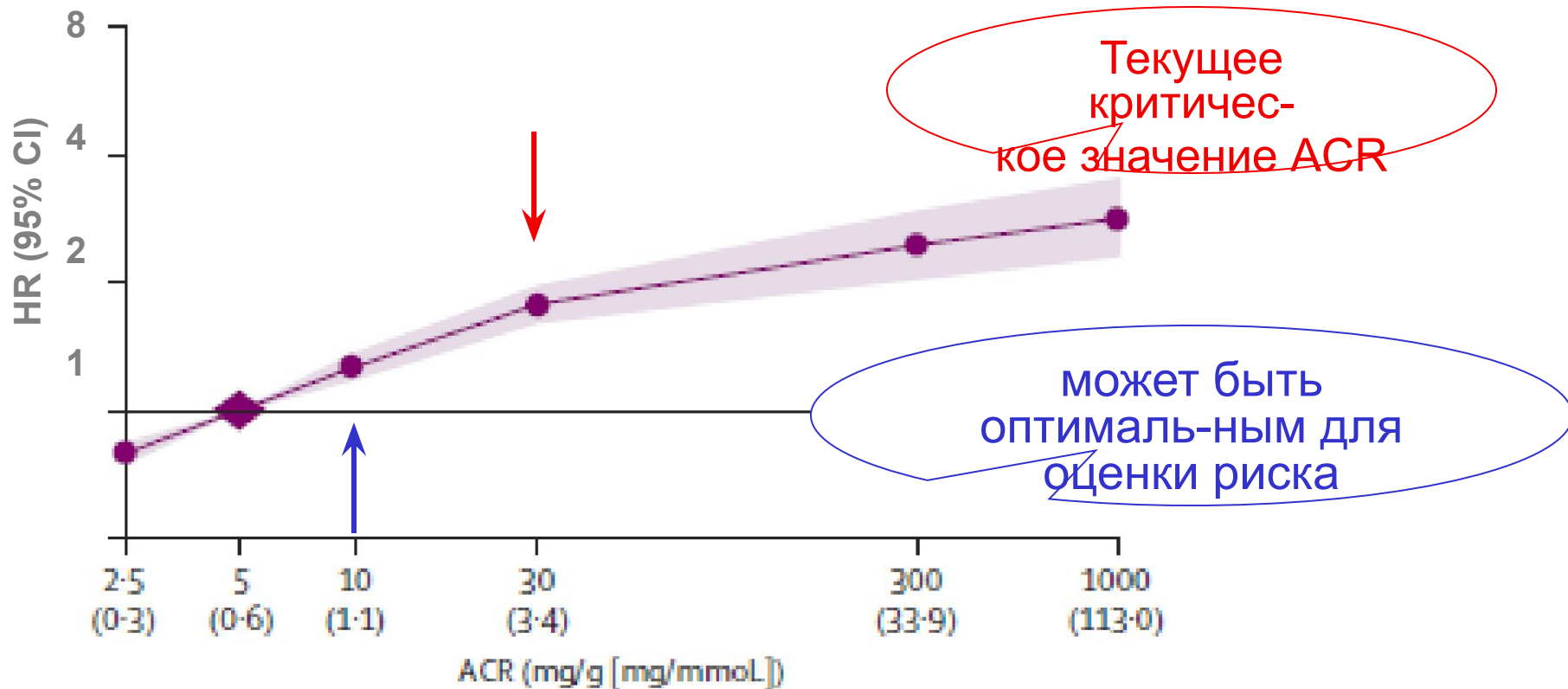
\* 95% процентиля

Уровень креатинина у женщин ниже, чем у мужчин.

# Риск возрастает при низких концентрациях

Все население; 21 когорта; N = 1,2 млн.

Смертность от ССЗ; отношение альбумин:креатинин





# Оглавление

---

- Цистатин С
  - Определение
  - Расчетная GFR

# Цистатин С

---

- Ингибитор лизосомальных цистеиновых протеиназ с молекулярной массой 13 кДа, синтезируется с постоянной скоростью всеми ядродержащими клетками
- Свободно фильтруется через клубочковую мембрану
- Реабсорбируется и катаболизируется в проксимальных канальцах (если функционально интактен)
- Не секретировается в проксимальных канальцах
- Практически не зависит от мышечной массы и диеты
- Не зависит от возраста в пределах от 1 до 55 лет
- Отличный маркер GFR

# Ограниченные возможности цистатина

## С

---

- Влияние дисфункции щитовидной железы и глюкокортикостероидов (возможны и другие условия)
- Редко встречается в обычных наборах
- **Результаты, полученные разными методами, не согласуются между собой**
- Имеются расчетные формулы для eGFR, но:
  - ▶ Использование ограничено той методикой, по которой выводилась формула
  - ▶ Требуется проверка на больших популяциях

# Стандартизация цистатина С

---

Рабочей группой IFCC были разработаны:

- Референтный материал ERM-DA 471/IFCC (IRMM)
  - ▶ Рекомбинантный цистатин С человека в пуле сыворотки
  - ▶ Коммутабельность исследуется
  - ▶ Ведется работа над расчетной формулой для eGFR на основе стандартизованного цистатина С и на большой гетерогенной популяции
- Ожидается, что производители тест-систем обеспечат прослеживаемость до этого нового референтного материала

# Цистатин С

---

- Играет заметную роль в наблюдении за ХБП и расчете дозировки лекарств, особенно для:
  - ▶ детей
  - ▶ пожилых людей
  - ▶ в условиях, когда креатинин сыворотки непригоден (мышечная масса и т.п.)
  
- Хороший предиктор риска ССЗ

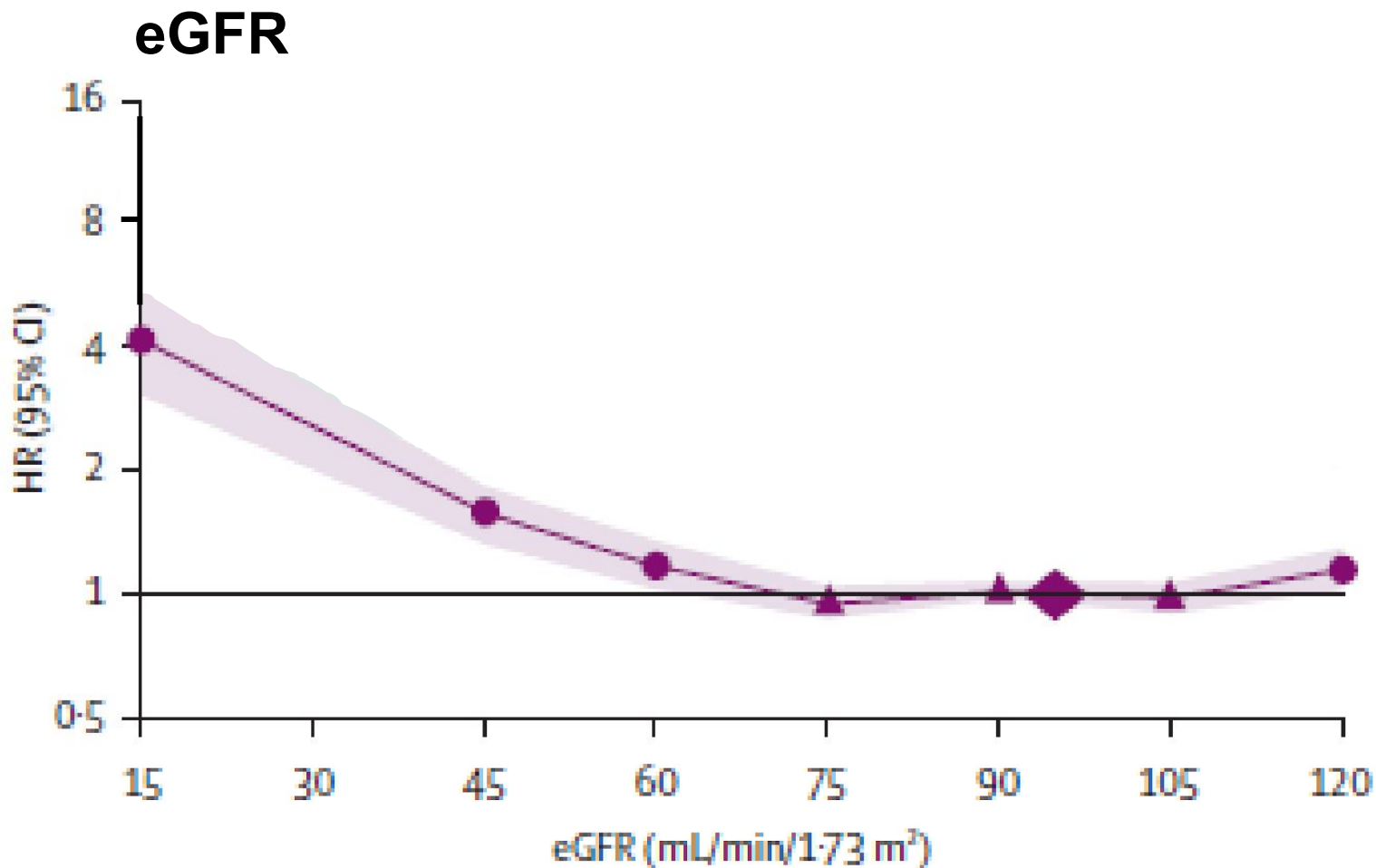
# Использование множественных биомаркеров

---

- Креатинин
- Альбумин мочи
- Цистатин С

# Смертность от всех причин (осложнения)

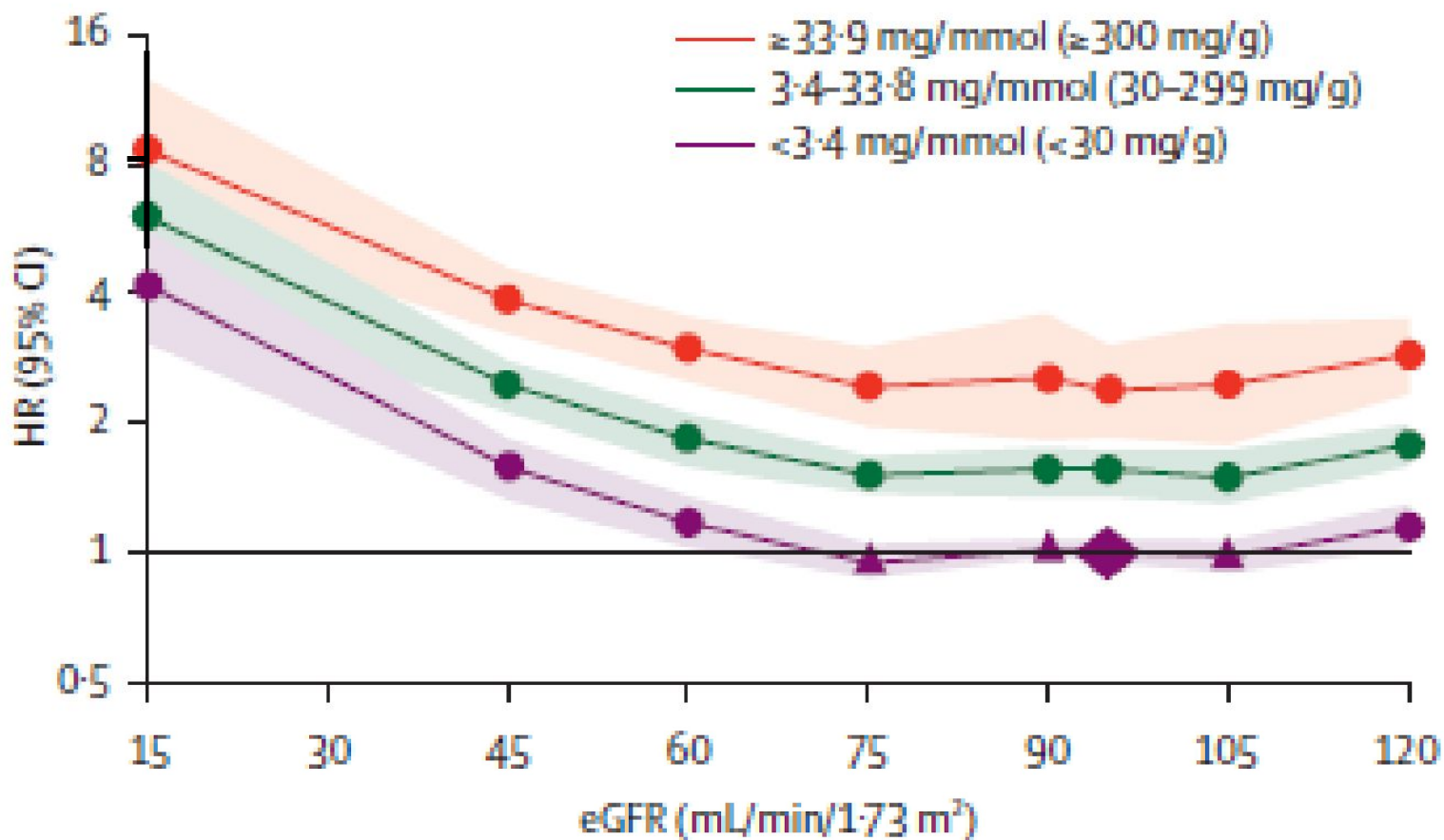
Все население; 21 когорта; N = 1,2 млн.



# Смертность от всех причин (осложнения)

Все население; 21 когорта; N = 1,2 млн.

## еGFR и отношение альбумин:креатинин





# Конференция KDIGO, 2009: определение ХБП, классификация и прогноз

## □ ПРЕДЛОЖЕНО:

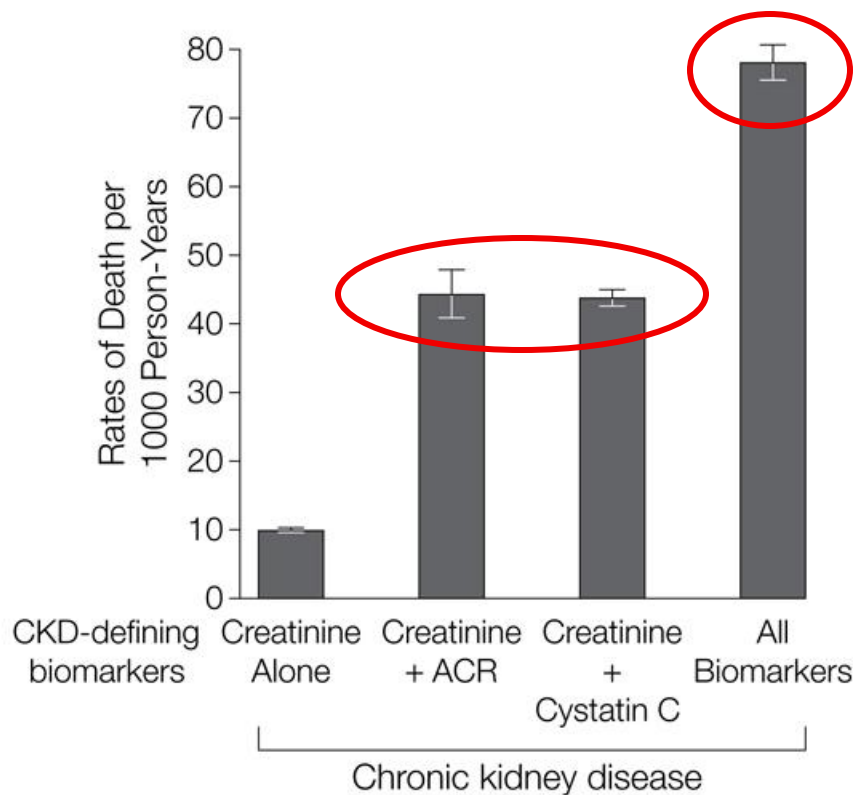
Composite Ranking for  
Relative Risks by GFR  
and Albuminuria  
(KDIGO 2009)

				Albuminuria Stages, Description and Range (mg/g)				
				A1		A2	A3	
				optimal and high-normal	high	very high and nephrotic		
				<10	10-29	30-299	300- 1999	≥2000
GFR Stages, Description and Range (mL/min/ 1.73m <sup>2</sup> )	G1	high and optimal	>105					
			90-104					
	G2	mild	75-89					
			60-74					
	G3a	mild- moderate	45-59					
	G3b	moderate- severe	30-44					
	G4	severe	15-29					
G5	kidney failure	<15						

# Смертность от всех случаев (осложнения)

N = 26 643 взрослых, США, исследование по оценке инсульта, 2003-2010

eGFR <60 мл/мин/1.73м<sup>2</sup>



Лучше  
прогноз  
осложнений

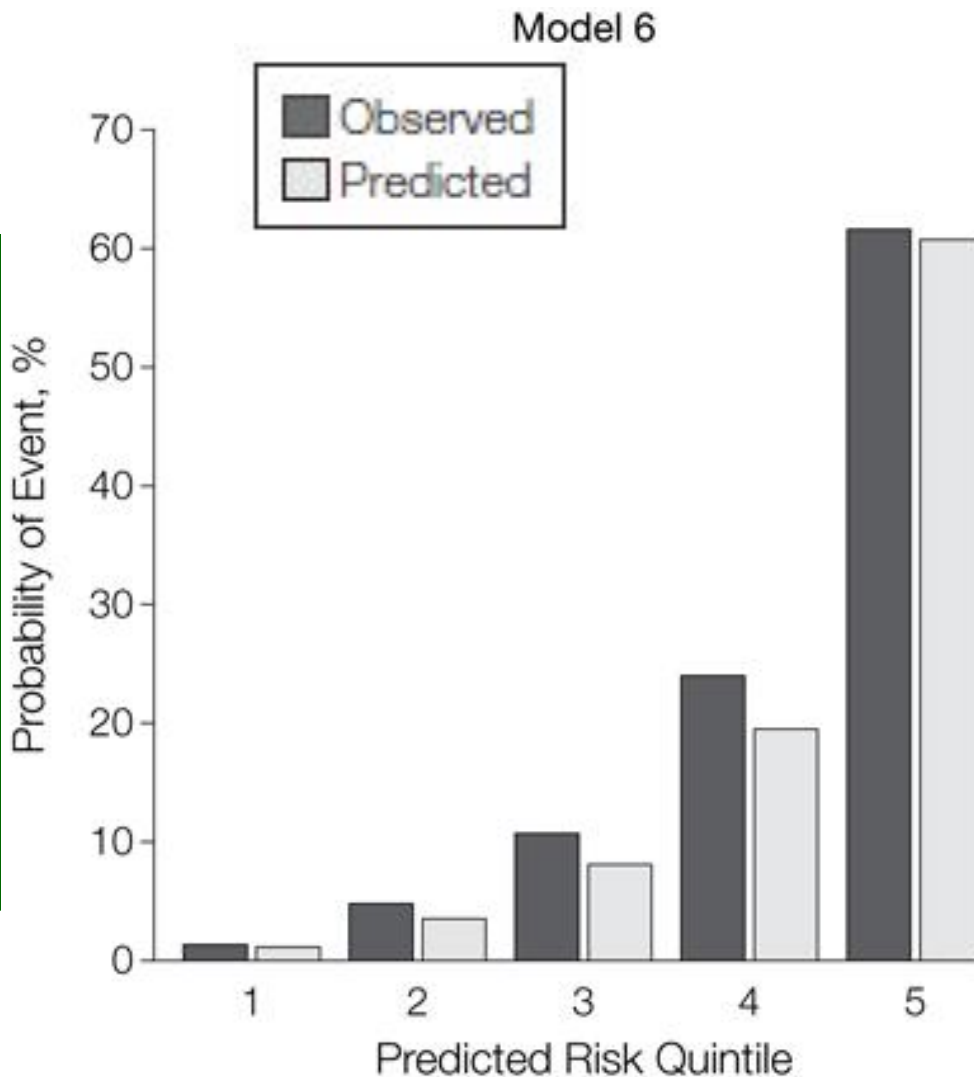
No. of deaths      32                      27                      223                      276

# Наблюдаемая и предсказанная вероятность отказа почек в течение 3 лет с использованием набора лабораторных тестов

N = 4626 стадии 3-5

## Параметры модели 6:

- GFR
- Возраст
- Пол
- ACR в моче
- Альбумин сыворотки
- Бикарбонат сыворотки
- Фосфат сыворотки
- Кальций сыворотки



# Выводы

---

- eGFR лучше увязывает креатинин с функцией почек
  - Креатинин непригоден при некоторых клинических условиях
  - Остается проблема специфичности некоторых методик
- Стандартизация альбумина мочи находится в стадии разработки
- Цистатин С, будучи стандартизованным, может быть полезен в условиях, когда креатинин менее надежен
- Разрабатываются многофакторные алгоритмы прогноза риска прогрессирования заболевания