

Лабораторная диагностика болезней почек

Greg Miller, PhD

Virginia Commonwealth University

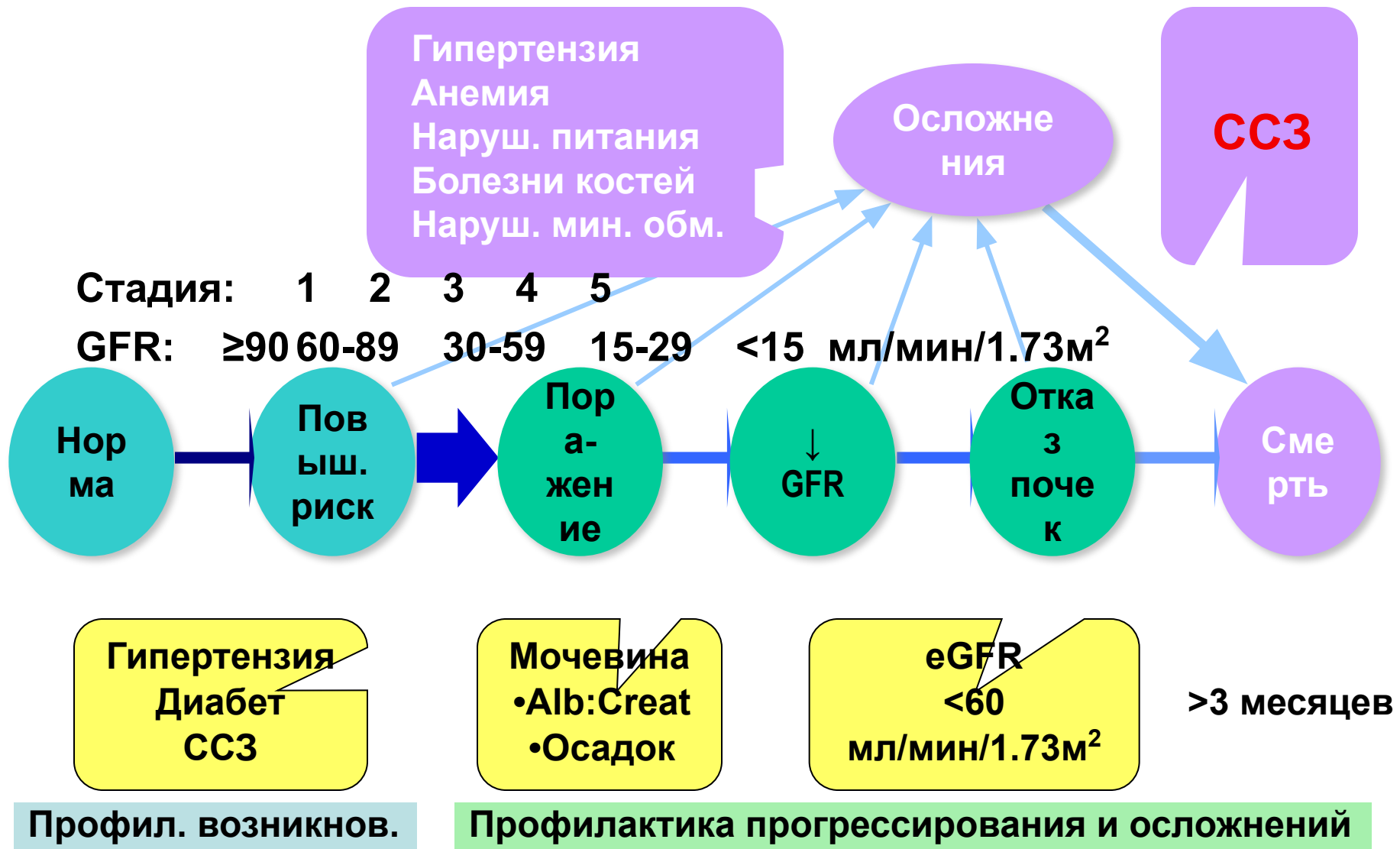
Richmond, VA, USA

Приглашенный лектор от Американской
ассоциации клинической химии

Оглавление

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

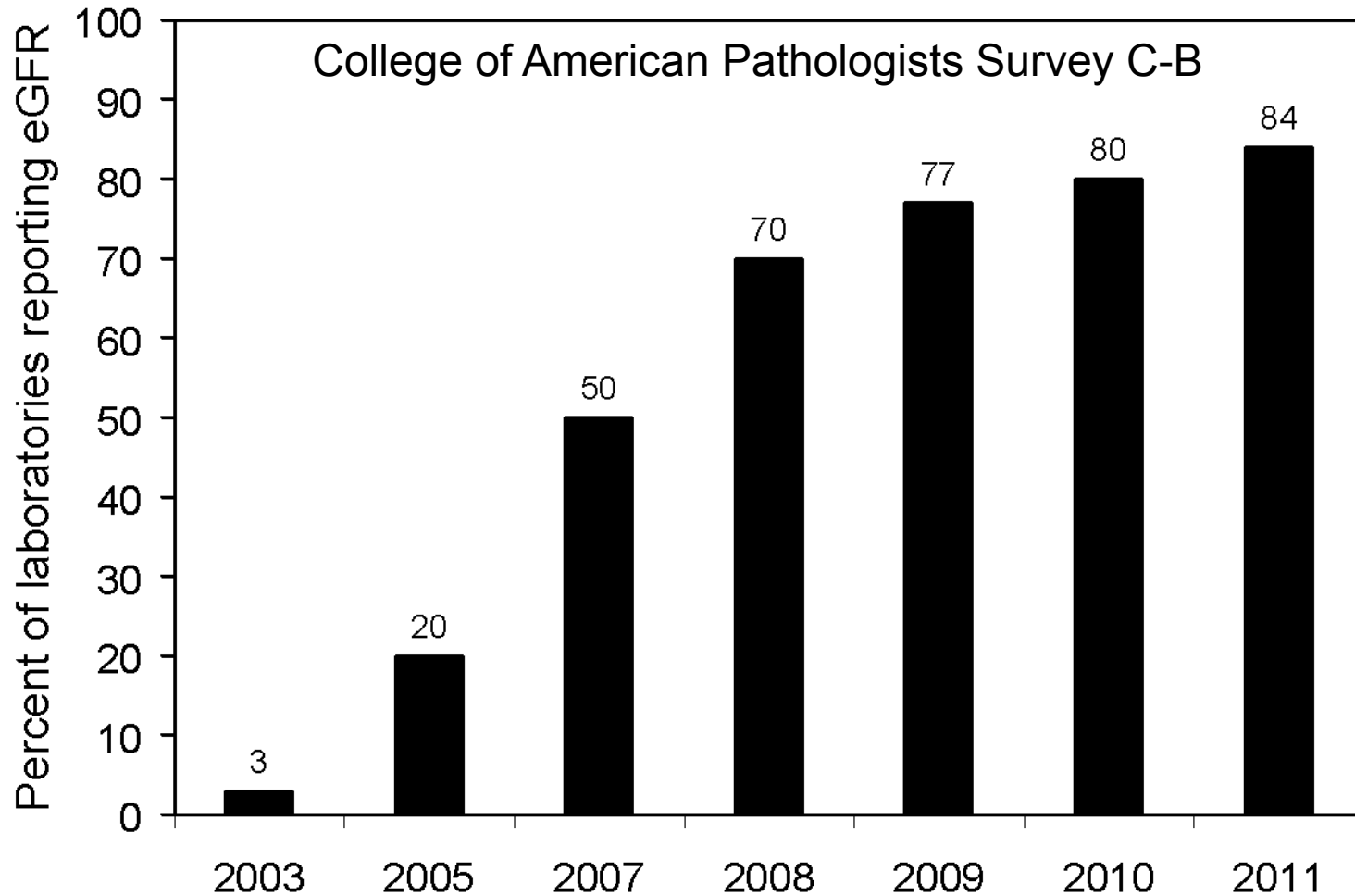
Концептуальная модель ХБП



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

NKDPR 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 м²

Оглавление

□ Креатинин

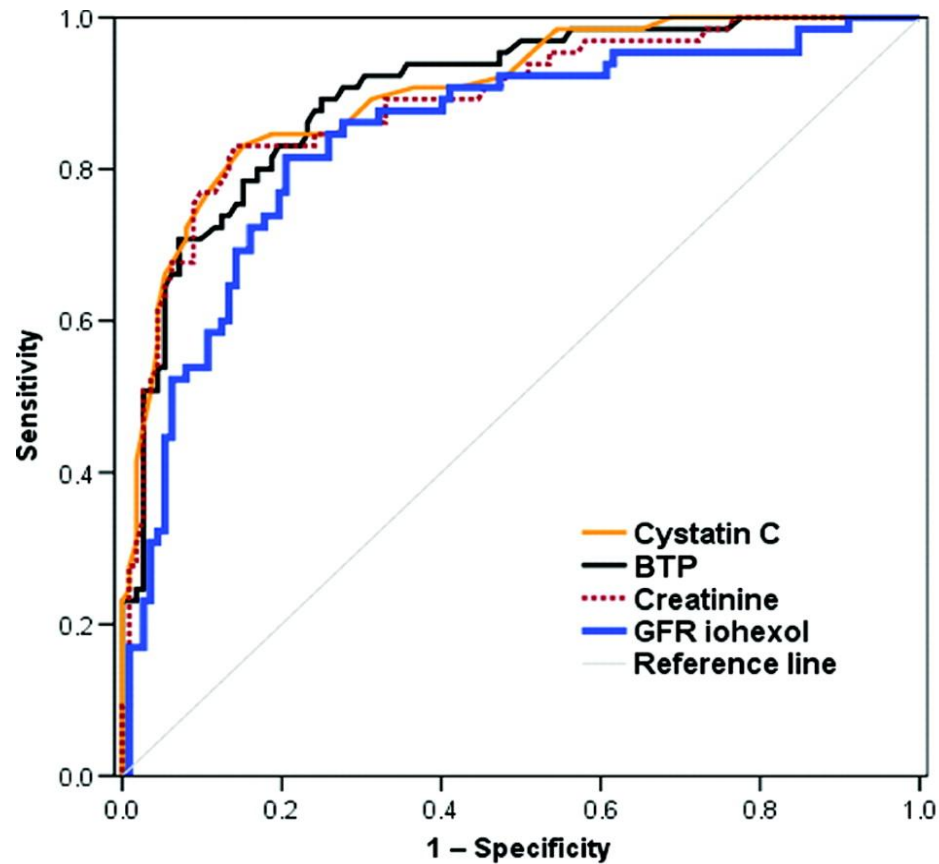
- Проблема «границ нормы»
- Расчетная скорость клубочковой фильтрации (eGFR)
- Измерение
- Дозировка лекарств на основе eGFR

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»

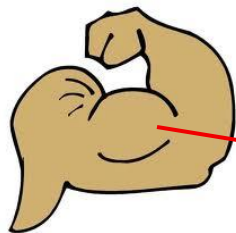
Креатинин, цистатин С, β -следы белка имеют одинаковую предсказательную ценность развития ХБП

(277 пациентов без диабета в течение 7 лет)



Ограниченные возможности креатинина

НАКОПЛЕНИЕ

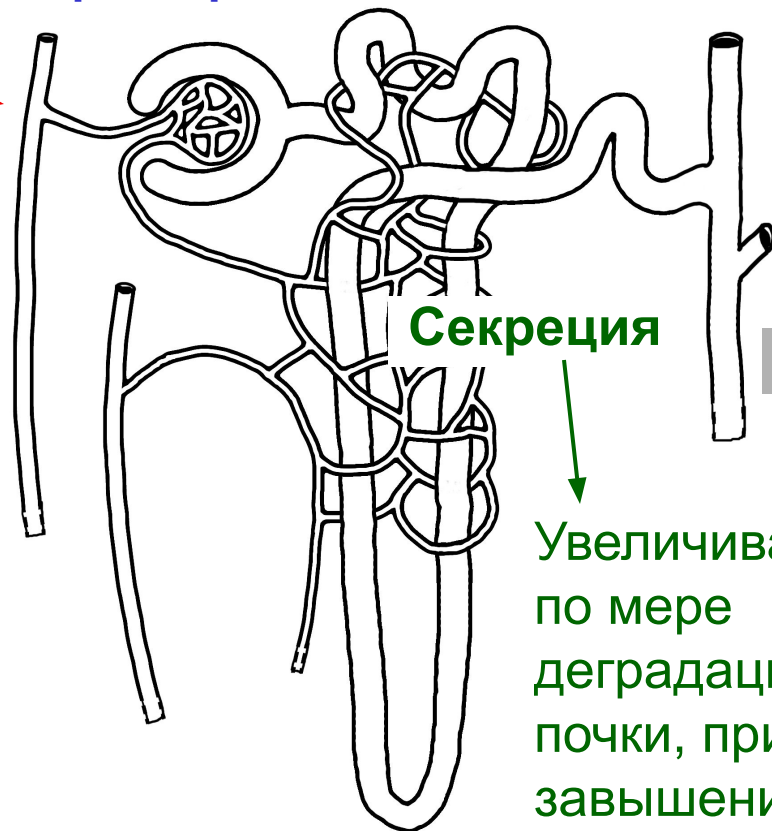


- Мышечная масса (напр., возраст, пол, этнос)
- Дегенерация мускулатуры (напр., рак, потеря мышечной массы, паралич, ампутация)
- Экстремальные формы тела (тощие, ожирение, культуризм)
- Диета (мясо ↑; овощи ↓; добавки креатинина)

УДАЛЕНИЕ

Клубочковая
фильтрация

КРОВЬ



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

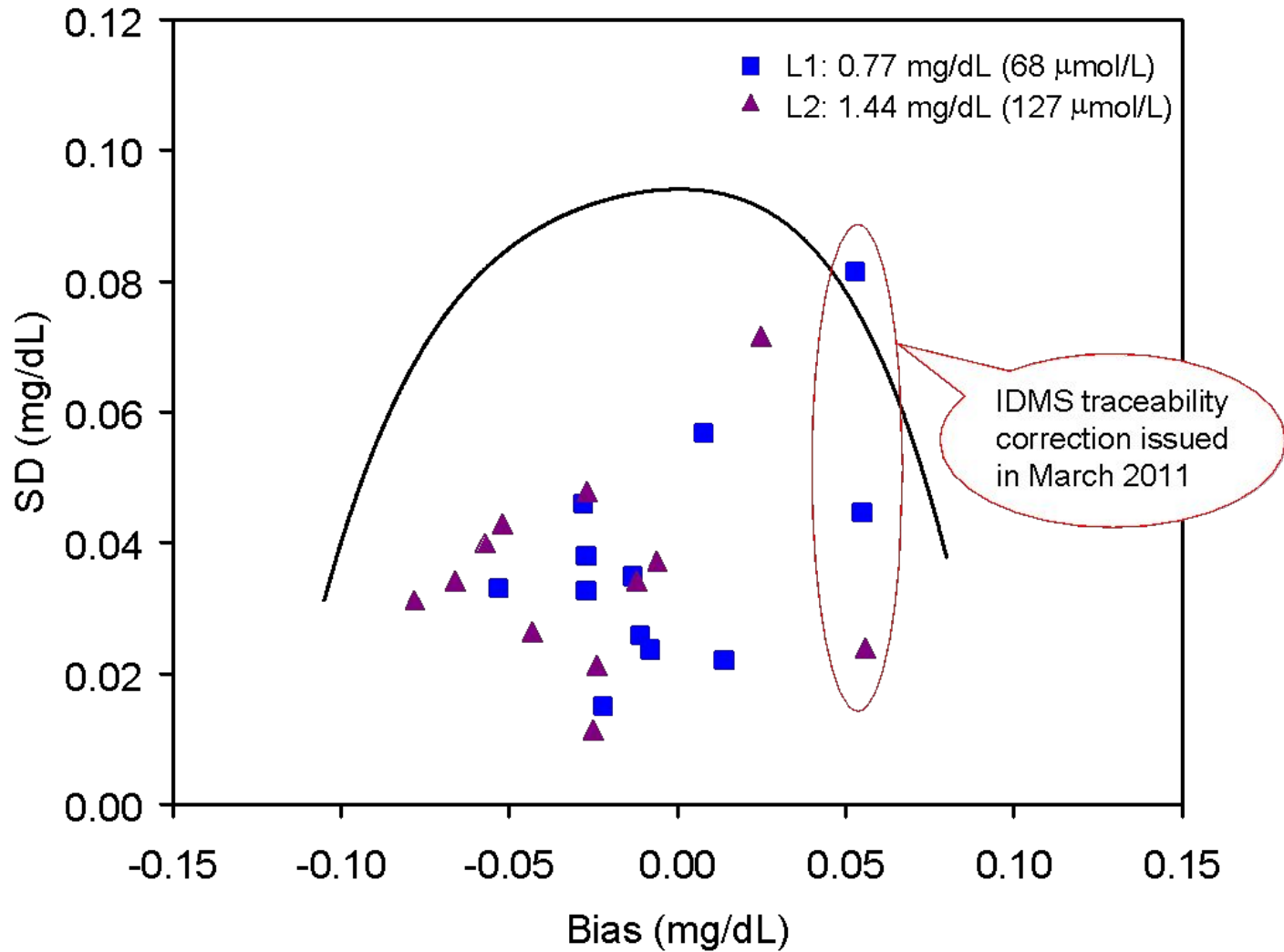
Лабораторные исследования

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)

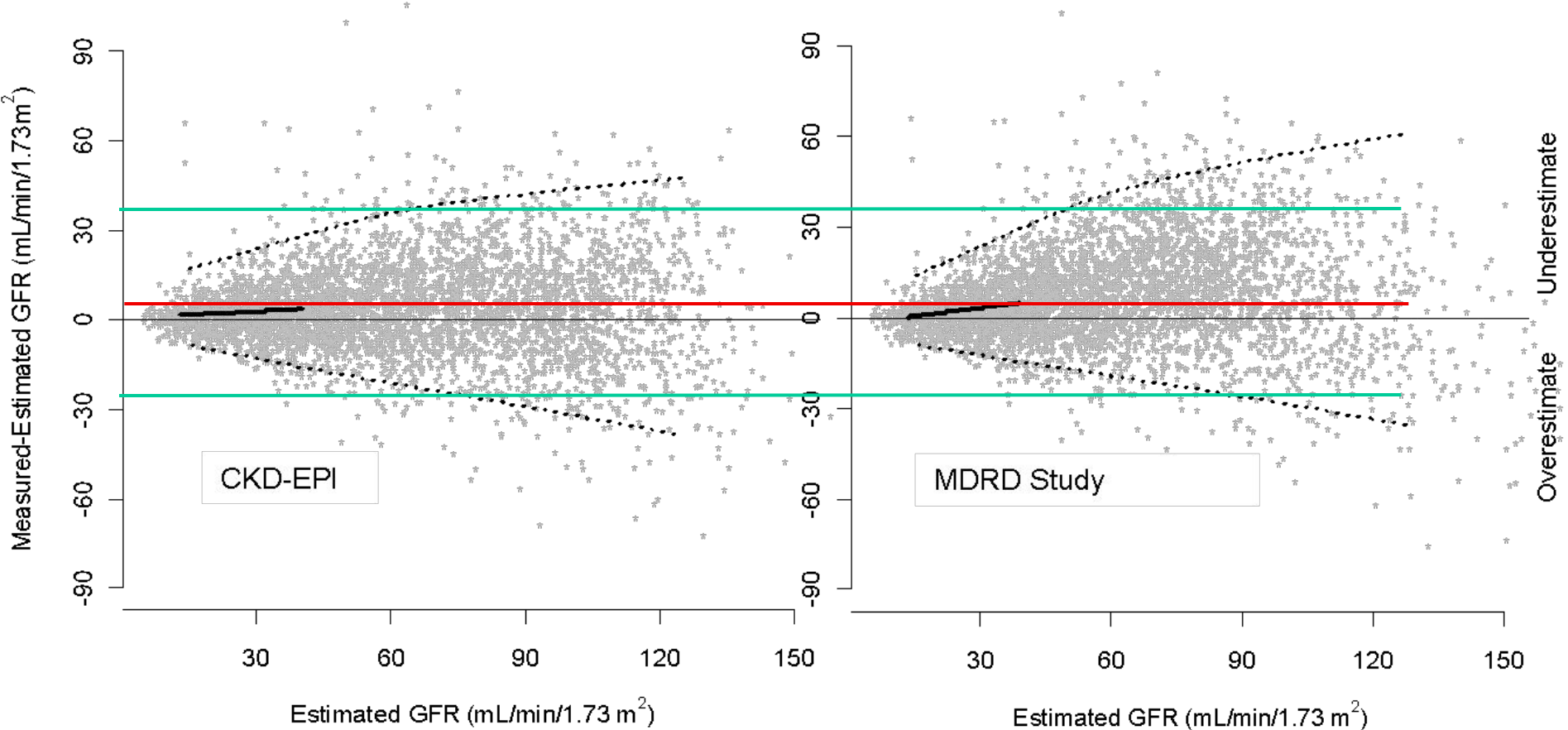
- Занижает GFR на стадиях 1 и 2 ХБП
- Рекомендовано не выдавать eGFR >60 мл/мин/1.73м²

СКД-ЕРІ (2009)

- Более правильно по отношению к измеренному GFR выше 60 мл/мин/1.73м²
- 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 1.73м^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	
Diabetes mellitus																
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 _{1c} , 8.1-13.2%	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	16	
Cardiovascular disease w HTN	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6	
Drugs																
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	
Endogenous substances																
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 ^c	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	
Protein abnormalities																
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	
Kidney disease																
Pre-dialysis	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
eGFR 15-30 mL/min/1.73m ²	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
Diabetes mellitus																	
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 _{1c} , 8.1-13.2%	20	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	16
Cardiovascular disease w HTN	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6
Drugs																	
Cephalosporins	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5	1	0	0	0	0	10
Dobutamine	18	3	0	1	0	2	0	2	0	0	3	0	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	4	4	0	0	0	0	5
Endogenous substances																	
Bilirubin, 9-38 mg/dL	20	13	0	1	0	10	0	18	0	0	0	19	0	0	0	0	3
Delayed separation, 24-48 hr	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	3	0	0	0	8
Hemolysis, Hb >350 mg/dL	20 ^c	11	0	2	0	0	1	6	0	0	6	0	5	2	0	0	0
Lipemia	20	2	0	1	1	8	0	5	0	1	2	4	1	0	0	0	8
Protein abnormalities																	
Albumin, 1.4-4.0 g/dL	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	1	0	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
Kidney disease																	
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 ²	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

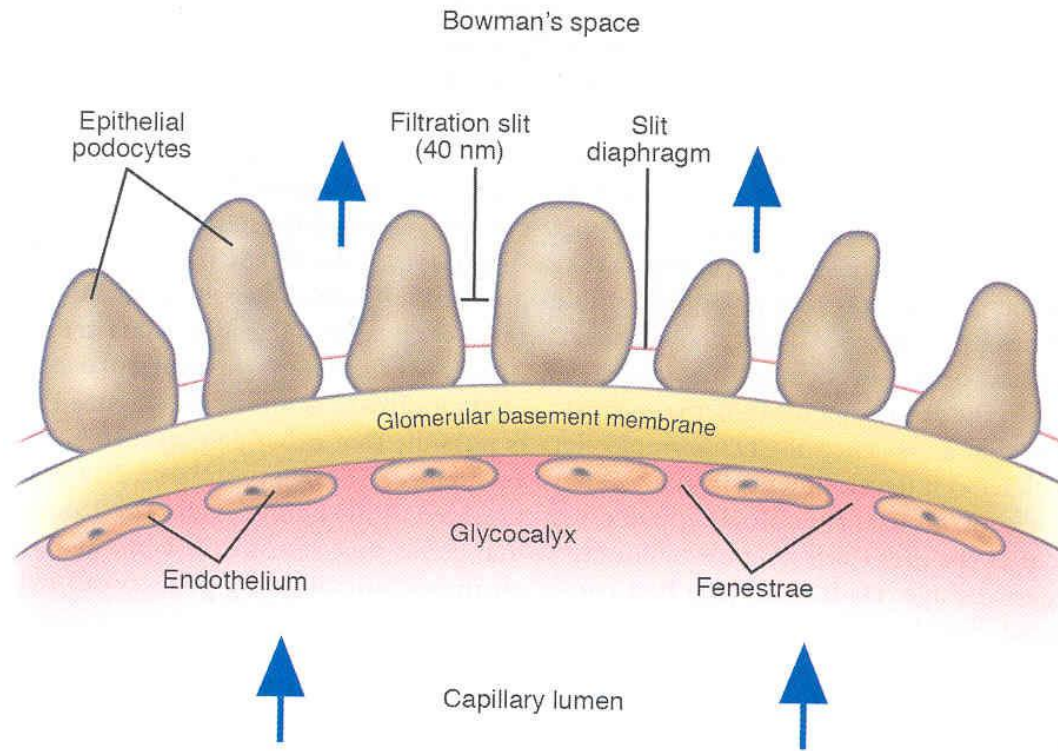
□ Альбумин мочи

- 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

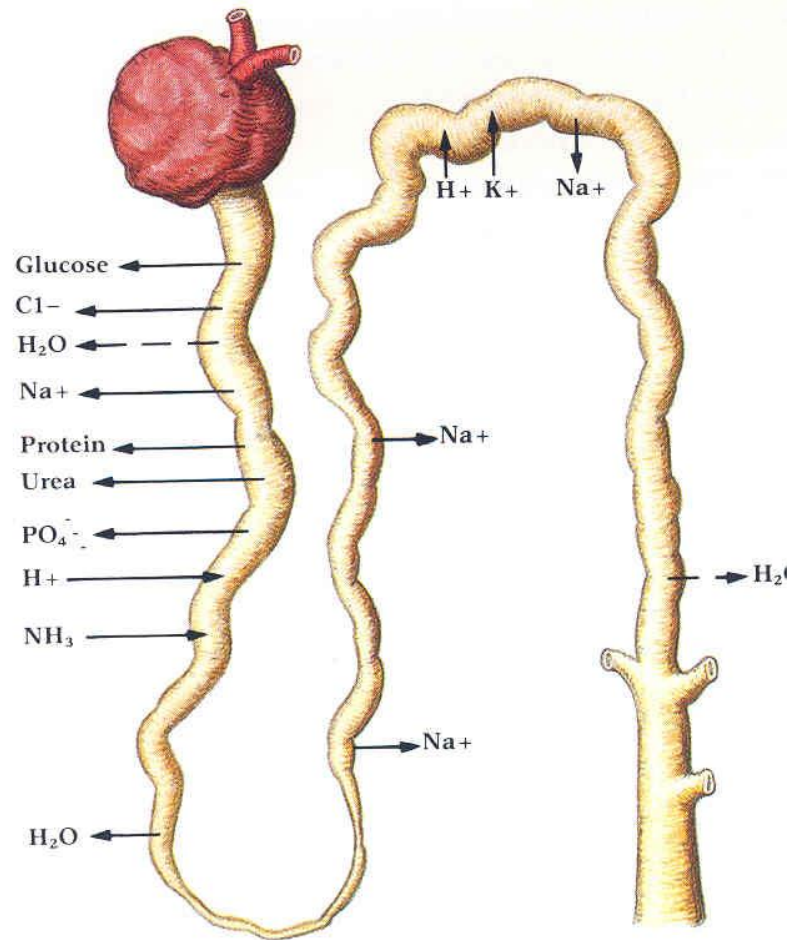
- Опосредованное рецептором поглощение более 99% альбумина
- Кроме того, вода и другие вещества

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,^{1*} David E. Bruns,² Glen L. Hortin,³ Sverre Sandberg,⁴ Kristin M. Aakre,⁴ Matthew J. McQueen,⁵ Yoshihisa Itoh,⁶ John C. Lieske,⁷ David W. Secombe,⁸ Graham Jones,⁹ David M. Bunk,¹⁰ Gary C. Curhan,¹¹ and Andrew S. Narva,¹² 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

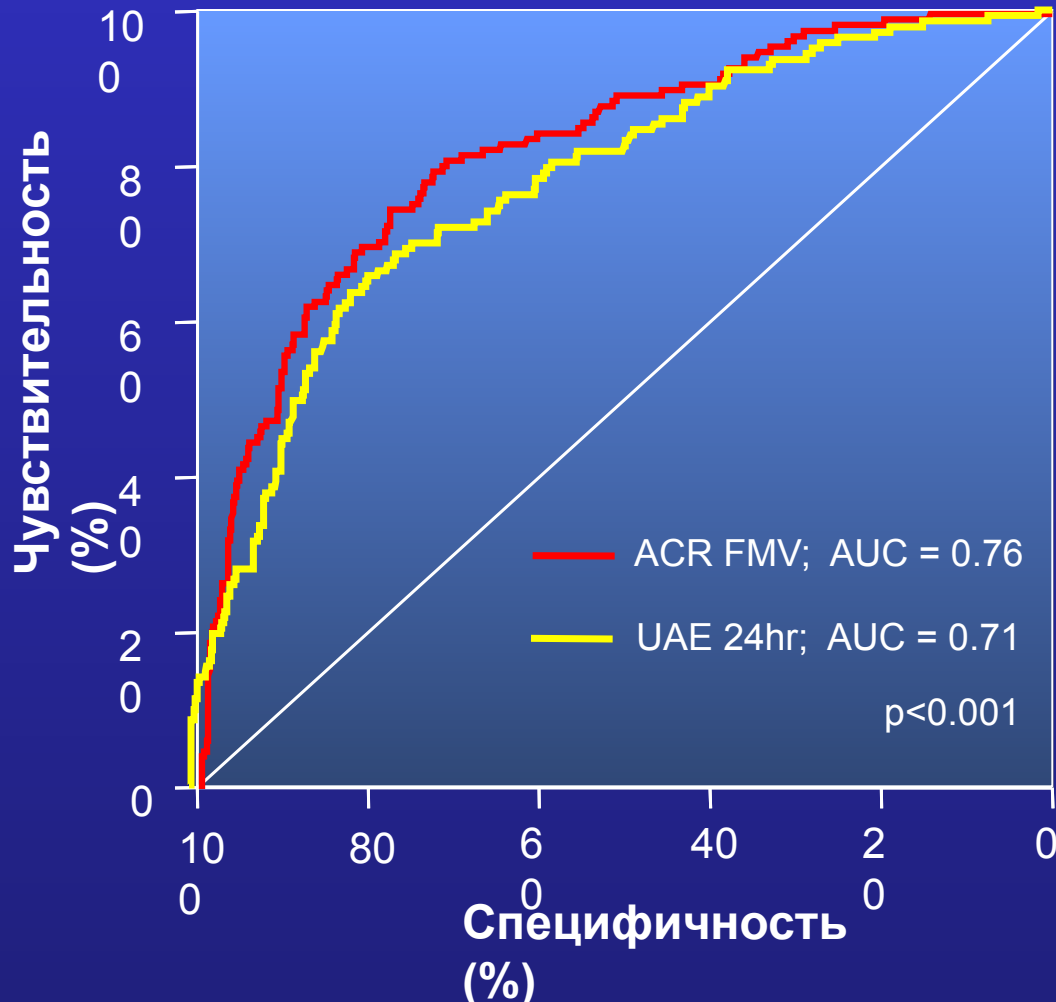
Рекомендации для немедленного внедрения

- 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

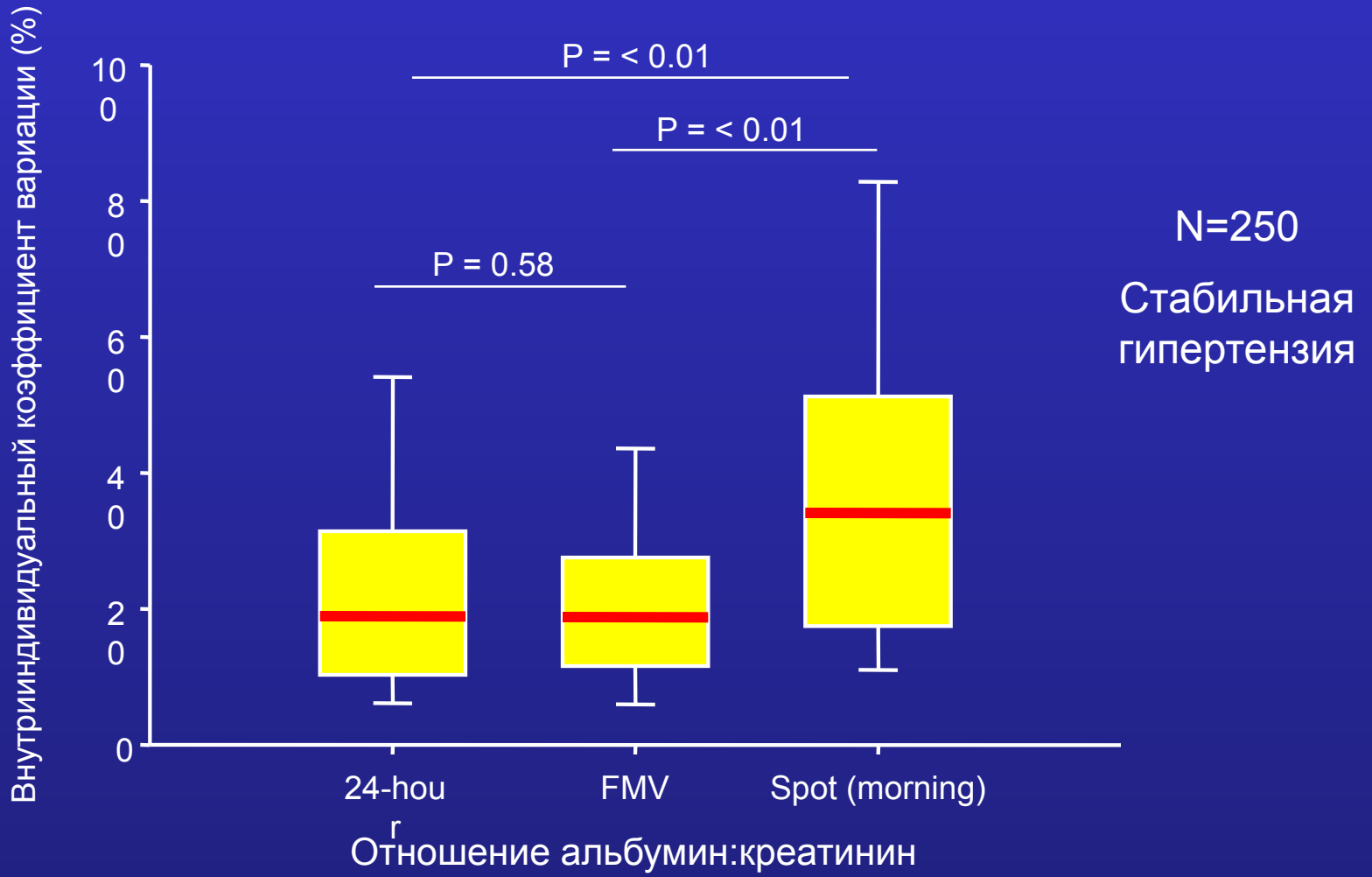
Комбинированная ренальная конечная точка
(ESRD или удвоение уровня креатинина сыворотки)



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, mg/g	ACR, mg/mmol
Male	30	17 *	1.9 *
Female	31	25 *	2.8 *

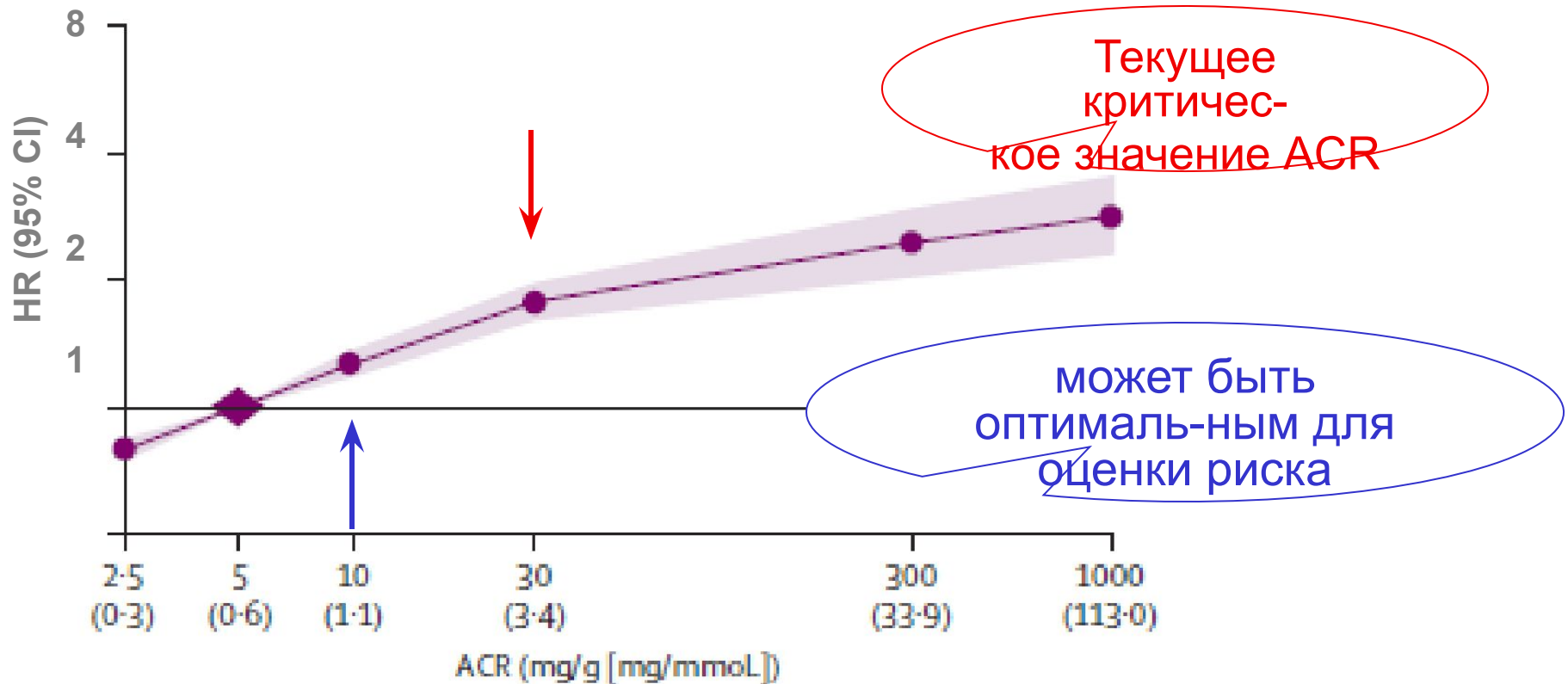
* 95% процентиля

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 секретруется 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 гликокортикостероидов (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.)

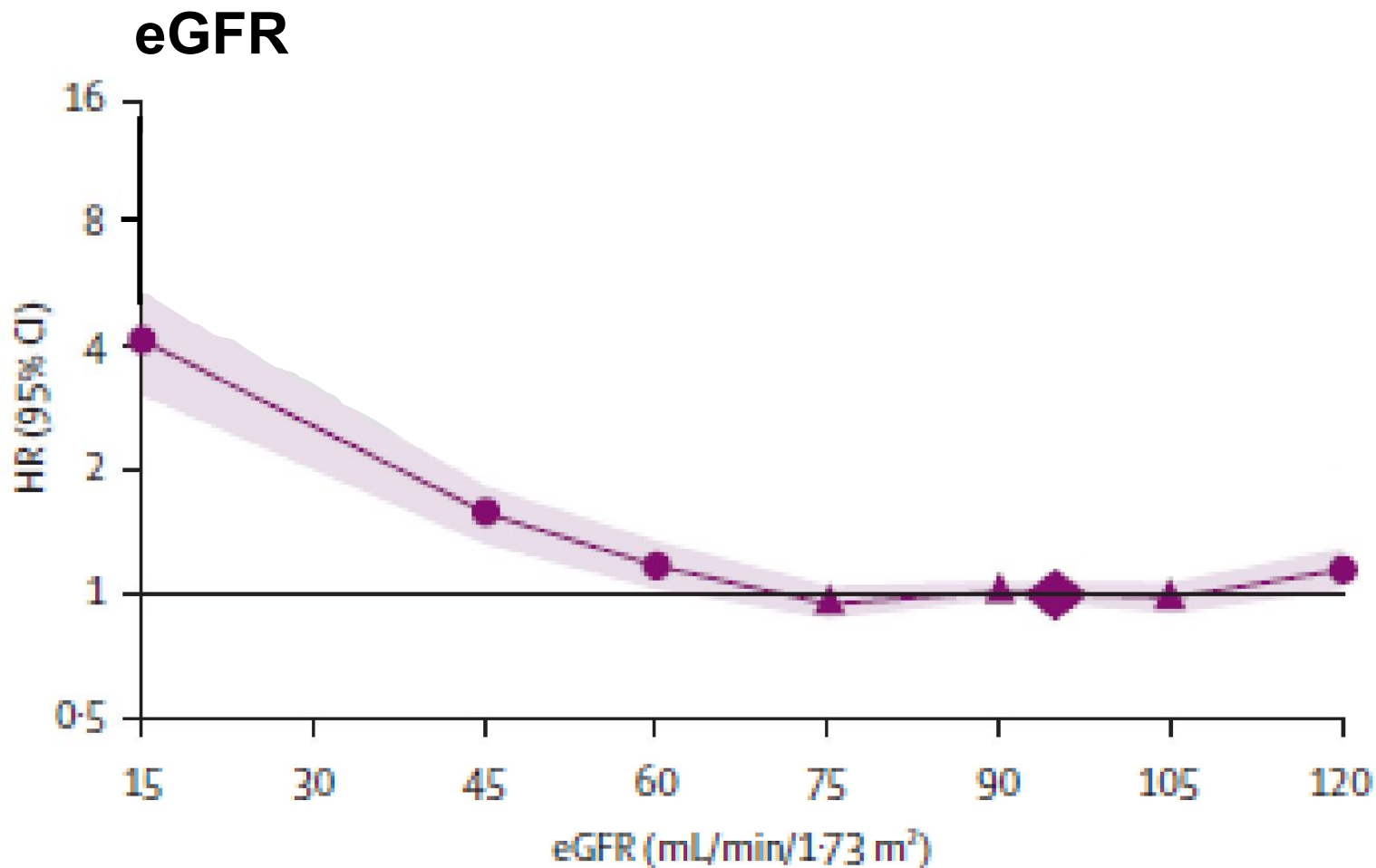
- Хороший предиктор риска ССЗ

Использование множественных биомаркеров

- Креатинин
- Альбумин мочи
- Цистатин С

Смертность от всех причин (осложнения)

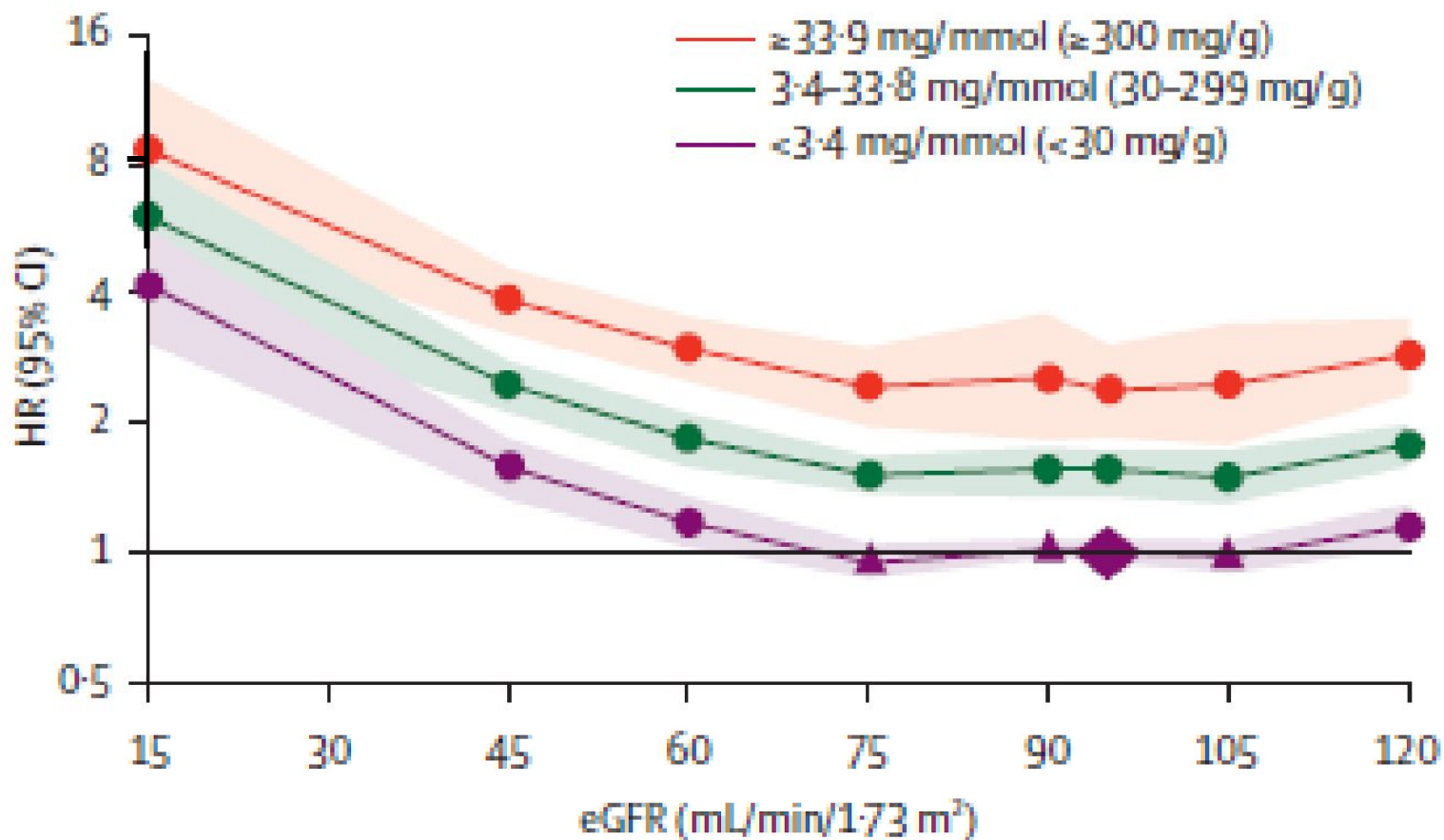
Все население; 21 когорта; N = 1,2 млн.



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:

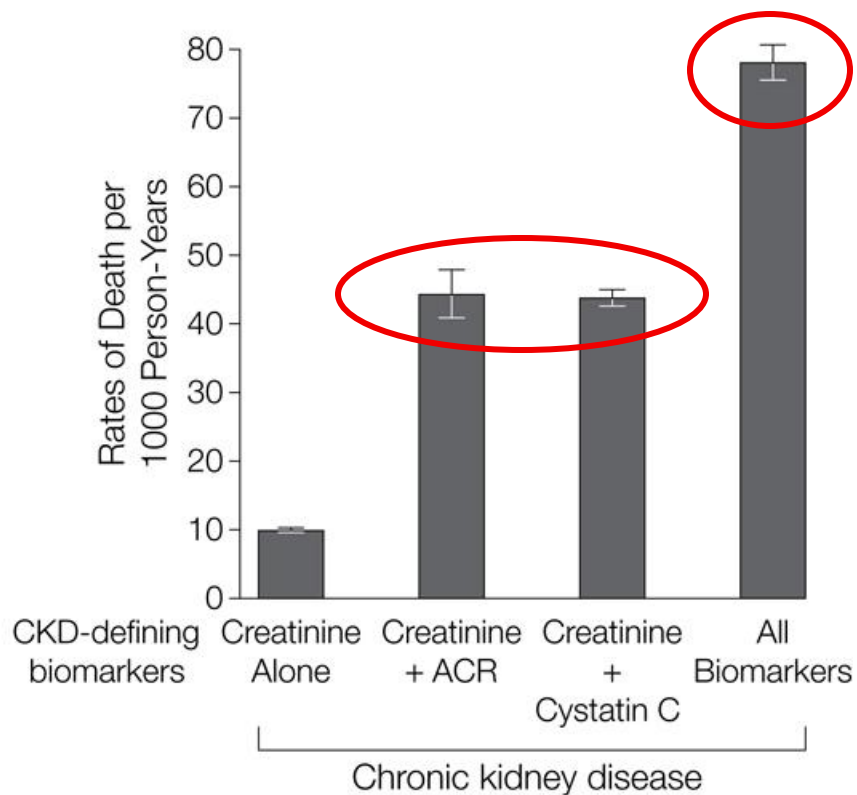
Composite Ranking for
Relative Risks by GFR
and Albuminuria
(KDIGO 2009)

				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 ²)	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/1.73м²



Лучше
прогноз
осложнений

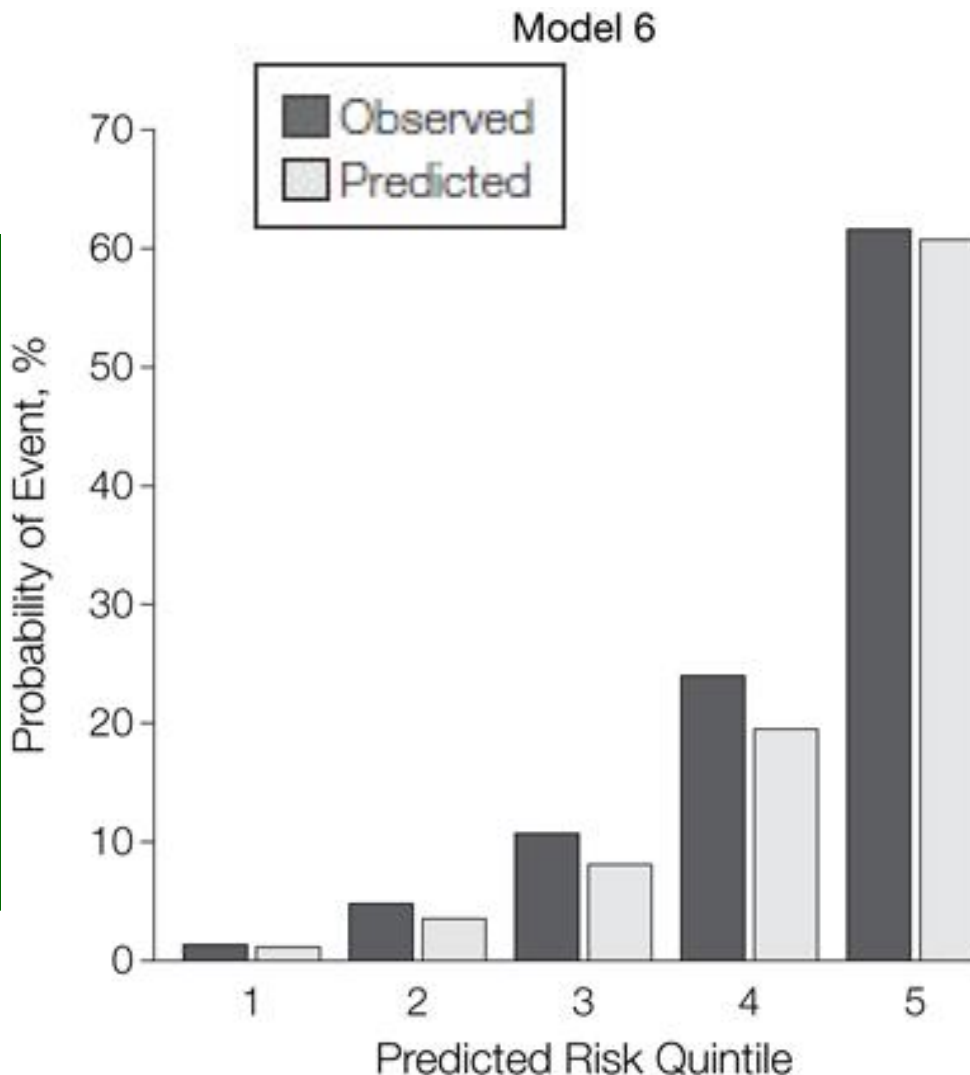
No. of deaths 32 27 223 276

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