

**Смирнов
Кирилл Алексеевич**

**Диагностика острого повреждения почек после трансплантации
гемопозитических стволовых клеток**

14.01.29- Нефрология

14.01.21- Гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Добронравов Владимир Александрович - доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе Научно-исследовательского института нефрологии, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Афанасьев Борис Владимирович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии факультета последипломного образования, директор клиники Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Бобкова Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии, ведущий научный сотрудник НИО здоровьесберегающих технологий ФГАО ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Богданов Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры последипломного медицинского образования ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__» _____ 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д208.090.01 по защите диссертации на соискание ученой степени кандидата наук на базе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ (197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ. по адресу: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6-8 и на сайте www.1spbgmu.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



В.Н.Марченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), применяемая в терапии гематологических и онкологических заболеваний, нарушений метаболизма, аутоиммунных процессов, по-прежнему ассоциирована с высокой летальностью пациентов, обусловленной множественными осложнениями этой лечебной технологии [Gratwohl A. et al. 2015]. Одним из наиболее частых осложнений ТГСК является острое повреждение почек (ОПП), связанное с ухудшением выживаемости больных, неблагоприятными ближайшими и отдалёнными посттрансплантационными исходами [Ando M. 2018, Krishnappa V. et al. 2016; Hahn T. et al. 2003], увеличением затрат на лечение [McLaughlin A.M. et al. 2009; Lopes J.A. et al. 2011, Weiss A.S. et al. 2006, Ando M. 2018; Kerr M. et al. 2012].

2) Рутинная клиническая диагностика и стратификация тяжести ОПП, в том числе, у пациентов перенёвших ТГСК, базируется на оценке двух общепринятых критериев - повышения концентрации креатинина сыворотки крови (P_{Cr}) и снижения темпов диуреза [Bellomo R., Kellum J.A., Ronco C. 2004, Смирнов, А.В., Добронравов В.А., Румянцев А.Ш. и соавт. 2016., Kellum J.A. et al. 2012]. Вместе с тем, эти критерии отражают развитие функционального дефекта, возникающего в условиях выраженного и необратимого повреждения клеточных популяций органа, когда время для проведения превентивных терапевтических интервенций упущено [Hjortrup P.V. et al. 2013; Coca, S.G., Parikh C.R. 2008]. Подходы к предиктивной диагностике, выявлению ранних и обратимых стадий повреждения почек после ТГСК с возможностью эффективной профилактики развития явной дисфункции органа (ОПП) остаются неразработанными [Hahn T. et al. 2003].

Известно, что инициальное повреждение почки и последующее развитие ее дисфункции разделяет целый ряд молекулярных событий, происходящих в жизнеспособных клетках [Добронравов В.А. и соавт. 2016]. Молекулы, экспрессируемые резидентными клетками и иммунными, могут служить биомаркерами (БМ) ранних стадий патологического процесса и предикторами снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ) [Vaidya V.S., Ferguson M.A., Bonventre J.V. 2008, Смирнов, А.В., Добронравов В.А., Румянцев А.Ш. и соавт. 2015, Смирнов А.В., Каюков И.Г., Добронравов В.А. и соавт. 2008]. Высокая эффективность применения ряда БМ была показана для прогнозирования некоторых этиопатогенетических вариантов ОПП [Soni S.S. et al. 2010, Ghatanatti R. et al. 2014, Field M. et al. 2014, Мензоров М.В. и соавт. 2013], однако подобные данные для ОПП, ассоциированного с ТГСК, ограничены результатами единичных исследований последних лет [Morito T. et al. 2011, Shingai N. et al. 2014, Taghizadeh-Ghehi M. et al. 2015]. Детекция молекул, экспрессируемых клетками тубулярного эпителия, наиболее чувствительными к многочисленным повреждающим факторам посттрансплантационного периода, была положена в основу определения подхода к предиктивной диагностике ОПП при ТГСК в представляемом исследовании [Basile D.P., Anderson M.D., Sutton T.A. 2012, Vaidya, V.S., Ferguson M.A., Bonventre J.V. 2008, Смирнов, А.В., Добронравов В.А., Румянцев А.Ш. и соавт. 2015].

Цель работы: Определение клинического значения ОПП, ассоциированного с ТГСК и возможности его предиктивной диагностики на основе применения молекулярных биомаркеров (БМ), отражающих повреждение клеток тубулярного эпителия.

Задачи исследования:

1. Оценить заболеваемость ОПП в ранние сроки после аллогенной ТГСК
2. Определить прогностическое значение развития ОПП в отношении общей выживаемости больных после аллогенной ТГСК

3. Изучить направленность и выраженность почечной экскреции биомаркеров повреждения эпителия канальцев в разные сроки раннего посттрансплантационного периода
4. Определить возможности применения биомаркеров повреждения тубулярного эпителия для прогнозирования развития ОПП после ТГСК
5. Исследовать связи между мочевой экскрецией анализируемых БМ и общей выживаемостью больных после ТГСК

Научная новизна. Впервые проанализирована динамика изменения мочевой экскреции молекулярных маркеров, отражающих субклинические стадии структурных и функциональных изменений клеток проксимальных и дистальных канальцев почки в раннем периоде после аллогенной ТГСК. Установлено, что субклиническое повышение мочевой экскреции анализируемых БМ после аллогенной ТГСК является закономерным ответом почки на события посттрансплантационного периода и предшествует возникновению клинически явной дисфункции органа - ОПП. Выявлено, что некоторые БМ ассоциированы с последующим повышением креатинина сыворотки крови и являются независимыми предикторами развития ОПП после аллогенной ТГСК. Обнаружена взаимосвязь повышенной экскреции БМ с ухудшением выживаемости больных после аллогенной ТГСК. В целом, полученные данные могут быть основой для развития подходов к предиктивной диагностике ОПП в посттрансплантационном периоде и прогнозирования исходов аллогенной ТГСК.

Научно-практическая значимость исследования. Разработаны основы практического подхода к прогнозированию и предиктивной диагностике острой дисфункции почек у больных после аллогенной ТГСК, который основан на применении БМ и позволяет выявлять ранние, доклинические и потенциально обратимые стадии повреждения клеток тубулярного эпителия. Мониторинг развития и выраженности субклинического острого повреждения тубулярного эпителия (СОПТЭ) дает возможность оценивать риск развития явной дисфункции почек (ОПП) – независимого предиктора выживаемости, своевременно индивидуализировать тактику лечебно-профилактических мероприятий в раннем посттрансплантационном периоде. Применение данного подхода предиктивной диагностики ОПП может быть использовано как практический инструмент улучшения ближайшего и отдалённого исходов и повышения эффективности аллогенной ТГСК за счет своевременных превентивных мероприятий.

Основные положения, выносимые на защиту:

- 1) ОПП - клиническое проявление выраженной альтерации органа, является частым осложнением раннего периода после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аТГСК), имеющим негативное прогностическое значение.
- 2) Субклинические проявления ранних стадий повреждения клеток тубулярного эпителия в виде увеличения экскреции с мочой молекулярных биомаркеров (БМ) являются распространенным событием в ранние сроки после аТГСК и предшествуют развитию ОПП
- 3) Увеличение почечной экскреции ряда БМ является независимым фактором риска развития ОПП (МСР-1 и КИМ-1) и ухудшения выживаемости больных (кластерин) после аллогенной ТГСК
- 4) Мониторинг выделения БМ с мочой может быть использовано для оперативной оценки прогноза развития ОПП с целью своевременной коррекции лечебно-профилактических мероприятий и улучшения результатов аТГСК

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в практическую и научно-исследовательскую работу кафедры пропедевтики внутренних болезней, НИИ нефрологии научно-клинического исследовательского центра, в образовательную программу на кафедре гематологии, трансфузиологии и трансплантологии, а также в практическую работу клиник ФГБОУ ВО “Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова” Министерства здравоохранения РФ.

Структура работы. Диссертация состоит из введения, 3 глав, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка. Работа изложена на 161 странице машинописного текста, содержит 16 таблиц и 20 рисунков. Библиографический список включает 11 источников на русском языке и 291 на иностранных языках.

Апробация результатов. Результаты исследования были представлены в форме устных докладов: на VIII съезде научного общества нефрологов России (Москва 2015 год), конференции педиатров-нефрологов, урологов “Памяти Альберта Вазгеновича Папаяна посвящается” (Санкт-Петербург 2016 год), всероссийской научно-практической конференции “Боткинские чтения” (Санкт-Петербург 2017 год). Полученные результаты были также представлены в форме постерных сообщений на IX международном симпозиуме памяти Р.М. Горбачёвой “Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия” (Сочи 2015 год), на 53 международном конгрессе европейской ассоциации нефрологов, трансплантологов и врачей диализа ERA-EDTA (European Renal Association- European Dialysis and Transplantation Association) (Вена 2016 год), и на 54 международном конгрессе ERA-EDTA (Мадрид 2017 год). По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 2 оригинальных статьи и 1 обзорная статья в отечественных изданиях, рекомендованных ВАК.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Данное открытое одноцентровое проспективное наблюдательное исследование выполнено на базе ИДОГиТ им. Р.М. Горбачёвой и НИИ Нефрологии НКЦ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, одобрено этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. В исследование включены 90 пациентов, которым была выполнена аллогенная ТГСК в период с 2013 по 2015 г. Основные клинические и демографические показатели обследуемой группы представлены в таблице 1.

Таблица 1- Клинические и демографические данные больных с ТГСК (n=90)

| Показатель | N больных (%) / M±SD |
|---|----------------------|
| Пол (Ж/М) | 44/46 (49/51) |
| Средний возраст, лет | 33,8±11,9 |
| Режим кондиционирования (МА/НМА) | 26/64 (29/71) |
| Основной диагноз: | |
| ХЛ | 7 (8) |
| ОМЛ | 37 (41) |
| ОЛЛ | 22 (25) |
| МДС | 9 (10) |
| ХМЛ | 9 (10) |
| Другие (талассемия) | 6 (6) |
| Ремиссия основного заболевания (да/нет) | 56/34 (62/38) |
| Полная ремиссия | 37 (41) |
| Неполная ремиссия | 19 (21) |

| | |
|---|----------------------|
| Совместимость донора и реципиента по HLA: | |
| Полная | 66 (73,3) |
| Неполная (n MM 8-9/10) | 24 (26,7) |
| Пол донора: | |
| Мужской | 68 (75,6) |
| Женский | 22 (24,4) |
| ТГСК в анамнезе (да/нет) | 3/86 (3,5/96,5) |
| Артериальная гипертензия до ТГСК (да/нет) | 14/76 (15,6/84,4) |
| рСКФ до ТГСК, мл/мин/1,73 м ² | 94,9±23,5 |
| Курсы химиотерапии до ТГСК, n | 6,3±5,6; M=5 (25-75) |

Примечание: МА-миелоаблативный режим кондиционирования; НМА-немиелоаблативный режим кондиционирования (РК с редуцированной токсичностью); ХЛ-лимфома Ходжкина; ОМЛ- острый миелоидный лейкоз; ОЛЛ- острый лимфобластный лейкоз; МДС-миелодиспластический синдром; ХМЛ-хронический миелоидный лейкоз; НХЛ-неходжкинская лимфома; ТГСК-трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; рСКФ-расчётная скорость клубочковой фильтрации; SD- стандартное отклонение; nMM- число несовпадений по аллелям генов HLA (human leucocyte antigens- группа человеческих лейкоцитарных антигенов гистосовместимости)

Критерием включения была планируемая ТГСК. Критериями невключения были: ОПП на момент ТГСК (до проведения процедуры кондиционирования), хроническая болезнь почек, возраст моложе 18 лет, полиорганная недостаточность на момент трансплантации, либо ТГСК, выполняемая как терапия отчаянья в связи с тяжестью основного заболевания.

Дизайн исследования. Формирование клинической базы данных производили при изучении историй болезни текущих госпитализаций, электронной базы данных пациентов ИДОГиТ им. Р.М. Горбачёвой. *Регистрировали нижеследующие клинические параметры на момент включения в исследование:*

- параметры реципиента: пол, возраст на момент ТГСК, наличие ТГСК в анамнезе, количество курсов химиотерапии до ТГСК, группа крови, ЦМВ инфекция, базальная функция почек
- параметры донора: пол, группа крови, ЦМВ инфекция, наличие родственной связи с реципиентом
- совместимость реципиента и донора по системе HLA (полная:10/10; неполная: 8-9/10 совпадений генов локусов HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-DRB1)
- диагноз основного заболевания
- результаты лечения основного заболевания на этапе до ТГСК: наличие и характер ремиссии - полная/неполная; наличие минимальной остаточной болезни
- коморбидность, которая могла бы влиять на функцию почек (сахарный диабет тип 1 и 2, артериальная гипертензия, ИБС, гепатиты В и С до ТГСК).
- параметры планируемой ТГСК: тип кондиционирования (миелоаблативный/ немиелоаблативный)

Динамические клинические данные. *Период проспективного наблюдения с оценкой предиктивной роли БМ для прогнозирования ОПП составил 5 недель и включал: неделю 0 (до выполнения процедуры кондиционирования и ТГСК), недели 1-5 после трансплантации, когда производили забор лабораторного материала. В дальнейшем (в течение трёх лет) осуществляли наблюдение пациентов с оценкой краткосрочной и долгосрочной выживаемости в случае наличия или отсутствия ОПП, а также в случаях повышения БМ и отсутствия такового в раннем посттрансплантационном периоде (недели 0-5).*

На каждой неделе периода наблюдения (0-5) у всех больных анализировали следующие клинические показатели: уровни систолического и диастолического артериального давления (АД); суммарный объём введённой жидкости за сутки ($\sum V_{\text{жидк.}}$), диурез; развитие типичных осложнений ТГСК (мукозита, оРТПХ, ВОБ, ТМА, СЛОК и др.); наличие прогрессии/рецидива основного заболевания; клинически значимые инфекционные осложнения (локальные и системные); применение потенциально нефротоксичных препаратов (антибиотики, антимикотики, противови-

русные препараты, химиотерапевтические агенты, иммуносупрессанты); концентрации ингибиторов кальциневрина (CIN): такролимуса (высокими считали концентрации >15 нг/мл); циклоспорина (ЦСА), (высокими считали концентрации >200 нг/мл); наличие приживления; выполнение повторной ТГСК; основные лабораторные параметры: аланинаминотрансферазу (АлТ), аспартатаминотрансферазу (АсТ), общий билирубин, альбумин, лактатдегидрогеназу (ЛДГ), гемоглобин (Hb), щелочную фосфатазу (ЩФ), с-реактивный белок (СРБ), число эритроцитов (Эр), тромбоцитов и лейкоцитов (L); общий анализ мочи; фракционную экскрецию натрия с мочой; развитие белково-энергетической недостаточности (значимым считали снижение уровня общего белка <50 г/л)

Методы оценки функционального состояния почек (креатинин, скорость клубочковой фильтрации). Концентрацию креатинина в крови/моче определяли с помощью модифицированного метода Яффе (реактивы фирмы Beckman Coulter, США) на анализаторе Synchron того же производителя. В качестве единиц измерения был взят мкмоль/л. Диагностику и стратификацию тяжести ОПП осуществляли в соответствии с рекомендациями KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes, 2012). Расчёт базальной СКФ (в мл/мин/1,73 м²) производили по формуле MDRD (Modification of Diet in Renal Disease): $175 * (\text{креатинин сыворотки})^{-1,154} * (\text{возраст пациента})^{-0,203} * (0,742 \text{ у женщин}) * 1,212$ (у темнокожих лиц).

Биомаркеры - предикторы острого повреждения почек.

А. Выбор биомаркеров. Выбранные кандидатные БМ (кальбиндин, кластерин, интерлейкин-18 (IL-18), молекула повреждения почек-1 (KIM-1), глутатион-S-трансфераза π -класса (GST- π), протеин хемотаксиса моноцитов-1 (MCP-1)) отражают развитие *субклинического острого повреждения тубулярного эпителия (СОПТЭ)*- преимущественной альтерации проксимальных и дистальных канальцев, наиболее уязвимых структур нефрона в случае вероятных гемодинамических и токсических воздействий ТГСК.

С учётом литературных данных относительно применения NGAL (neutrophil gelatinase associated lipocalin-липокалин ассоциированный с желатиназой нейтрофилов) для предиктивной диагностики ряда этиологических вариантов ОПП небезинтересной представлялась оценка прогностической роли данного БМ у обследуемой группы больных в связи с: а) уже имеющимися, но лимитированными данными, относительно использования мочевого NGAL для прогнозирования ОПП после ТГСК и б) теоретически обоснованной, но не подтверждённой на практике, неэффективностью определения NGAL сыворотки для целей предиктивной диагностики острой дисфункции почек в посттрансплантационном периоде.

Б. Методика определения биомаркеров мочи. Согласно общепринятой методике у больных (n=90) производили забор образцов утренней мочи, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 минут, аликвотировали и криоконсервировали при температуре -80°C до момента выполнения анализов. В образцах мочи всех больных на каждой неделе (0-5) периода проспективного наблюдения были определены концентрации следующих потенциальных БМ: кальбиндина, кластерина, IL-18, KIM-1, GST- π и MCP-1 с применением реагентов BIO-RAD Laboratories, Inc., США на мультиплексном проточном анализаторе Bio-Plex 200 того же производителя. Концентрации всех БМ были скорректированы на креатинин мочи. С целью определения клинически значимого критерия повышения БМ была отобрана контрольная группа здоровых добровольцев (24 мужчины и 9 женщин), в возрасте от 17 до 40 лет. Повышением уровня БМ считали концентрации, превышающие значения верхней границы 95%-доверительного интервала концентраций БМ контрольной группы. Дополнительно в образцах мочи и сыворотки крови (недели 0-5) части больных (n=30) было выполнено определение концентраций NGAL методом хемилюмини-

-сцентного двухступенчатого иммуноанализа на микрочастицах с использованием прибора ARCHITECT i2000SR (Abbott Laboratories, США) и реактивов того же производителя.

Методы статистического анализа данных. Статистический анализ полученных результатов был выполнен с использованием стандартных пакетов прикладных статистических программ SPSS for Windows 14.0 (США) и Statistica 6.1 for Windows (США). В зависимости от задач анализа отдельными наблюдениями были клинические случаи (пациенты, (n=90), в анализах выживаемости, ряде межгрупповых анализов) или отдельные временные точки проспективного наблюдения (всего n=474, с вычетом неполных наблюдений, при оценке изменения БМ в динамике, определении предиктивной роли БМ, заболеваемости ОПП). При исследовании выживаемости применяли метод Каплана-Мейера, используя лог-ранк тест для оценки достоверности различий. Случаи смертельного исхода учитывали как полные наблюдения, выживших больных - как цензурированные. Для сравнительного межгруппового анализа применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Множественную линейную регрессию использовали для выявления связи БМ с непрерывными переменными типа концентрации креатинина сыворотки (P_{cr}). Для оценки прогностической значимости изучаемых БМ в отношении факта развития ОПП применяли мультивариантный логистический регрессионный анализ. Для анализа связей исследуемых показателей с риском дожития применяли модель пропорциональных интенсивностей Кокса. В многомерных регрессионных моделях в качестве независимых переменных использовали только те клинические показатели и БМ, которые имели значение p для коэффициента регрессии в одновариантном анализе не более 0,1). Корректировка мультивариантных регрессионных моделей по потенциальным клиническим факторам риска изучаемого исхода была проведена путем их принудительного включения с последующим пошаговым исключением или без него. Для определения чувствительности и специфичности отдельных молекул в отношении прогнозирования ОПП использовали ROC-анализ. Данные представлены как среднее и стандартное отклонение ($M \pm SD$), медиана с интерквартильным размахом (m (25-75%)), среднее и 95% доверительный интервал (95%ДИ), если не указано иное. Межгрупповые различия и регрессионные (корреляционные) коэффициенты считали статистически достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования

Заболеваемость ОПП в раннем посттрансплантационном периоде. ОПП в период наблюдения было выявлено у 67 из 90 больных (74%). У подавляющего числа пациентов (84%) имело место ОПП 1 стадии (KDIGO). Острую дисфункцию почек 2 и 3 стадии (KDIGO) перенесли 16% пациентов. Случаев со снижением диуреза, удовлетворяющим рутинным диагностическим критериям ОПП (KDIGO), в проанализированной нами общей группе пациентов выявлено не было, очевидно, вследствие интенсивной гидратации пациентов и поддержания высокого темпа диуреза. Заместительная почечная терапия применялась только у 4 (6%) больных с ОПП.

Доля случаев ОПП, диагностированная с применением критерия нарастания P_{cr} в первые две недели раннего посттрансплантационного периода была относительно низкой (рисунок 1).

С недели 3 отмечали увеличение заболеваемости ОПП, продолжавшееся в динамике и достигшее максимума (35,9%) на неделе 5 (Рисунок 1). Кумулятивная частота ОПП к концу исследуемого периода составила 55% (рисунок 2).

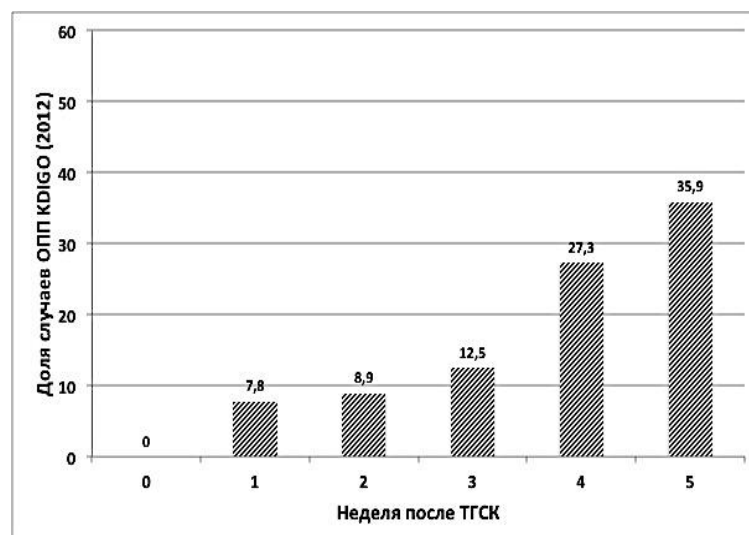


Рисунок 1– Доля случаев ОПП (KDIGO 1-3) в посттрансплантационном периоде

Примечание: ОПП-острое повреждение почек; KDIGO- Kidney Disease Improving Global Outcomes (стадия 1-3), классификация 2012 года, ось ординат дана в %

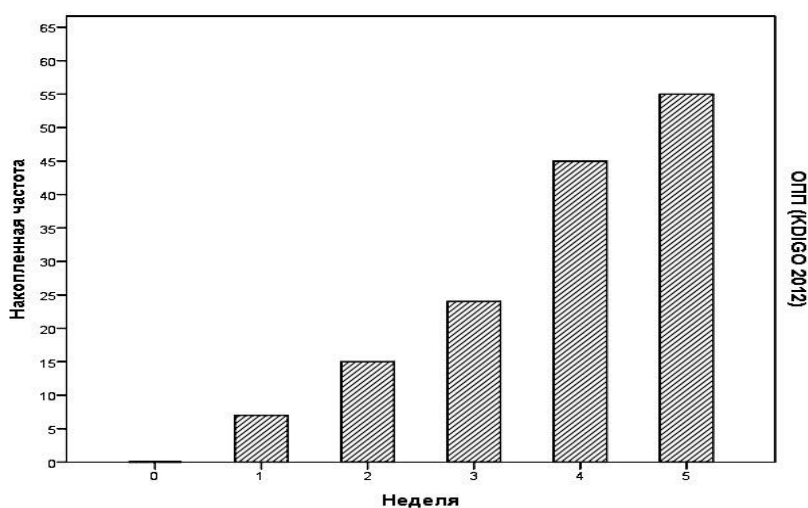


Рисунок 2- Кумулятивная частота ОПП (KDIGO 1-3) в посттрансплантационном периоде

Примечание: ОПП-острое повреждение почек; KDIGO 2012- Kidney Disease Improving Global Outcomes (стадия 1-3), классификация 2012 года, ось ординат дана в %

ОПП и выживаемость больных в раннем посттрансплантационном периоде. В период наблюдения (3 года) зарегистрировано 28 смертельных исходов (31%), подавляющее большинство которых имело место в течение первого года после ТГСК. В ходе дальнейшего анализа выживаемости в группах больных с наличием и отсутствием ОПП было установлено, что развитие острой дисфункции почек в посттрансплантационном периоде связано со значительным ухудшением выживаемости пациентов (рисунок 3А). Выживаемость в группах с одним и несколькими эпизодами ОПП (KDIGO 1-3) значительно не отличалась (рисунок 3Б).

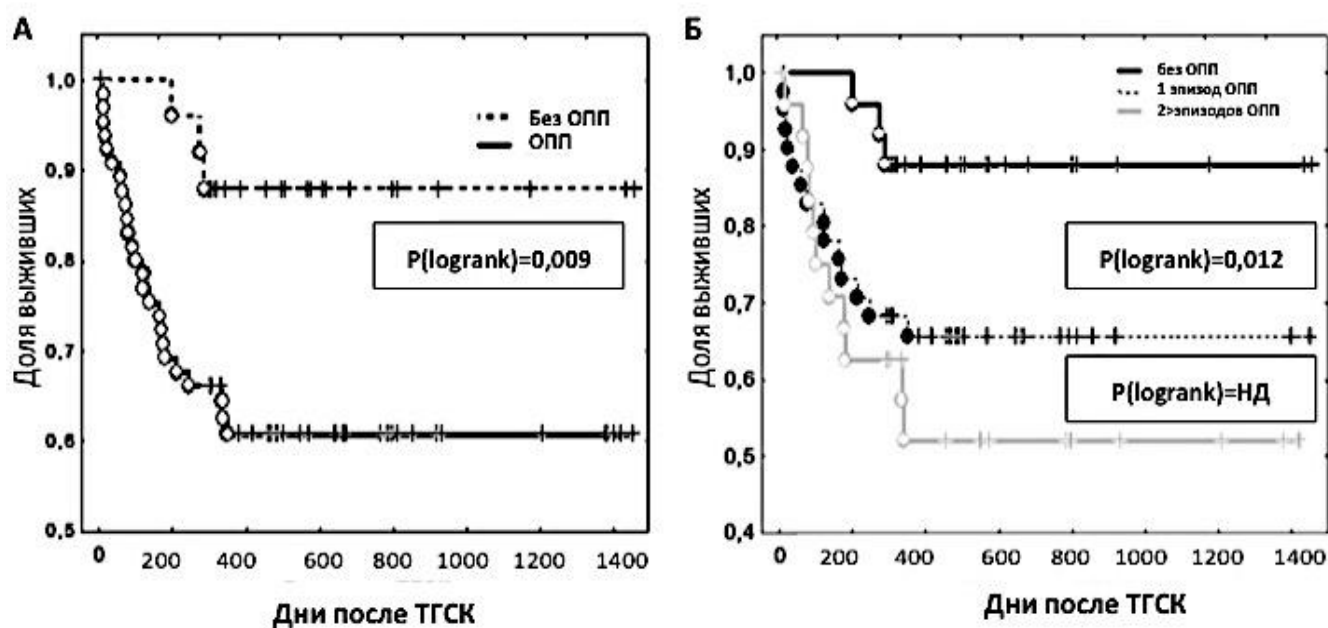


Рисунок 3 (А и Б)- Общая кумулятивная выживаемость больных после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от развития ОПП

Примечание: ОПП- острое повреждение почек; ТГСК-трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; НД- не достоверно

В ходе дальнейшего одновариантного регрессионного анализа был выявлен целый ряд *посттрансплантационных* факторов достоверно ассоциированных с выживаемостью, таких как белково-энергетическая недостаточность, суммарное число применяемых нефротоксичных препаратов, развитие системных инфекционных осложнений, прогрессии основного заболевания, ОРТПХ, ОПП. Среди *дотрансплантационных* параметров достоверную связь с выживаемостью в исследуемой группе больных имели отсутствие ремиссии основного заболевания и неполная совместимость донора и реципиента по системе HLA. При пошаговом исключении переменных в финальной регрессионной модели в ходе мультивариантного анализа независимые и достоверные связи с относительным риском смерти имели следующие показатели: ОПП, прогрессия основного заболевания и неполная совместимость по системе HLA (таблица 2).

Таблица 2- Мультивариантный анализ факторов, ассоциированных с выживаемостью больных после ТГСК

| Фактор | Значение P | Exp(β) (95% ДИ) |
|----------------------------------|--------------|-------------------------|
| ОПП | 0,004 | 6,55 (1,82-23,5) |
| Прогрессия основного заболевания | 0,001 | 6,35 (2,11-19,1) |
| Неполная совместимость по HLA | 0,026 | 2,45 (1,11-5,38) |

Примечание: ТГСК-трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; ОПП-острое повреждение почек; ОРТПХ-острая реакция трансплантат против хозяина; HLA-human leucocyte antigens (человеческие лейкоцитарные антигены); ДИ-достоверный интервал

Динамика биомаркеров тубулярного эпителия в раннем посттрансплантационном периоде

Мочевая экскреция большинства БМ в абсолютных значениях кратно возрастала на неделях 1-5 в сравнении с исходными показателями на неделе 0, хотя вариабельность изменения их концентраций была существенной. Обращало на себя внимание то, что экскреция с мочой большинства БМ на неделе 0 была, в среднем, значительно (на порядок) выше соответствующих показателей контрольной группы (рисунок 4).

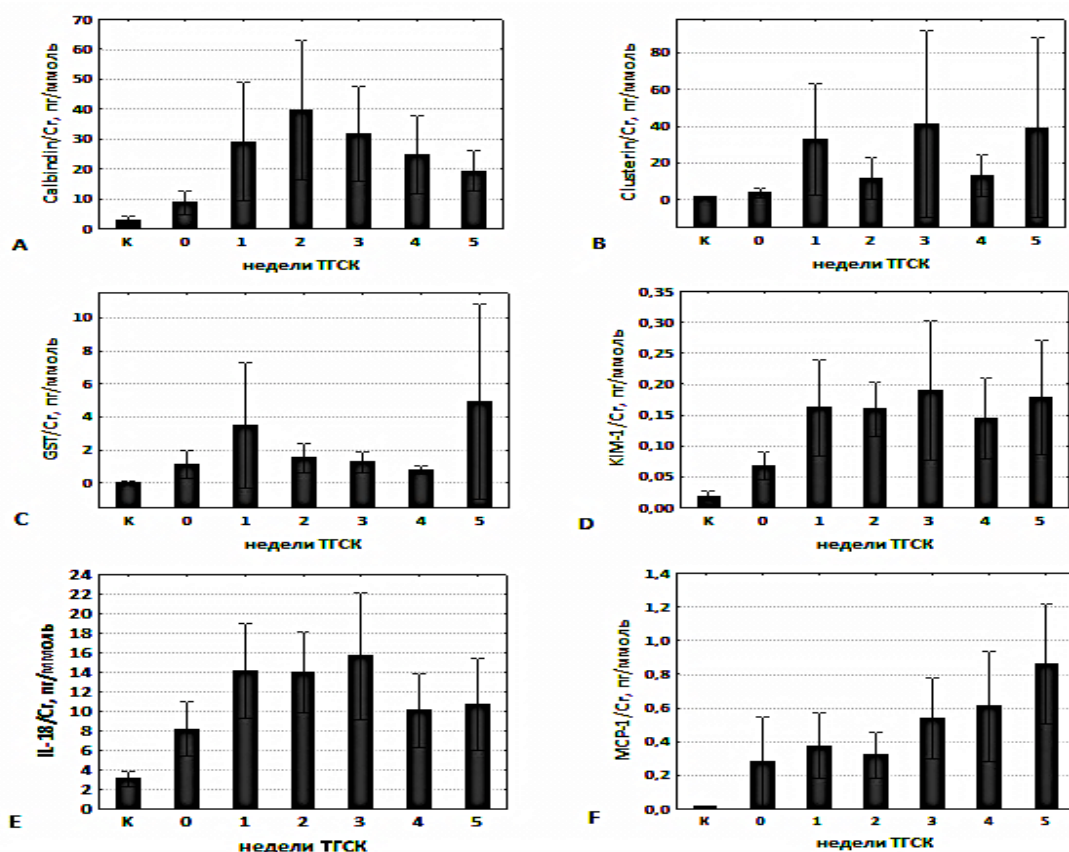


Рисунок 4- Динамика концентраций мочевых БМ в раннем пострасплатационном периоде*

Примечание: БМ-биомаркер; Calbindin/Cr- кальбиндин/креатинин мочи; Clusterin/Cr - кластерин/креатинин мочи; IL-18/Cr -интерлейкин-18/креатинин мочи; KIM-1/Cr - молекула повреждения почек-1/креатинин мочи; GST-π/Cr – глутатион-S-трансфераза (π-класс)/креатинин мочи; MCP-1/Cr - протеин хемотаксиса моноцитов-1/креатинин мочи; К-контрольная группа *-для всех БМ $P_{ANOVA} < 0,001$, р для различий между значениями БМ в контроле и у больных на любой неделе ТГСК от 0,02 до $< 0,001$ (за исключением Clusterin/Cr на неделе 0)

Мы провели сравнительный анализ частот повышения мочевых биомаркеров. Уже на неделе 0 (до выполнения режима кондиционирования и ТГСК) имела место высокая частота повышения БМ (случаи превышения верхней границы 95%ДИ контроля), преимущественно кластерина и GST-π, молекул отражающих повреждение как проксимальных, так и дистальных структур нефрона. Случаев дисфункции почек (ОПП KDIGO 1-3) в этот период времени зафиксировано не было. Недели 1-5 характеризовались различной частотой повышения БМ, у ряда молекул нарастающей в динамике к концу периода наблюдения. Доля случаев с повышением мочевых БМ существенно превышала частоту ОПП в те же временные периоды. На всех неделях исследуемого периода характерным было одновременное повышение нескольких БМ, медиана их числа составила 3 (2;5) за весь период наблюдения и незначительно варьировала на разных его сроках (таблица 3).

Таблица 3- Частота повышения молекулярных биомаркеров в зависимости от сроков после ТГСК

| Неделя ТГСК | Кальбиндин/Cr % | Кластерин/Cr % | GSTπ/Cr % | IL-18/Cr % | KIM-1/Cr % | MCP-1/Cr % | N БМ, М (25-75%) |
|-------------|-----------------|----------------|-----------|------------|------------|------------|------------------|
| 0 | 16,7 | 70,4 | 66,7 | 24,1 | 38,9 | 44,4 | 3 (1; 3) |
| 1 | 32,4 | 89,7 | 91,2 | 30,9 | 58,8 | 48,5 | 3 (2; 5) |
| 2 | 42,6 | 86,8 | 88,2 | 32,4 | 60,3 | 50,0 | 4 (2; 5) |

| | | | | | | | |
|---|------|------|------|------|------|------|----------|
| 3 | 30,0 | 90,0 | 78,6 | 28,6 | 67,1 | 58,6 | 4 (2; 5) |
| 4 | 23,5 | 92,6 | 86,8 | 23,5 | 60,3 | 70,6 | 3 (3; 4) |
| 5 | 46,9 | 96,9 | 90,6 | 34,4 | 62,5 | 93,8 | 4 (4; 5) |

Примечание: GST- π - глутатион-S-трансфераза (π -класс); IL-18-интерлейкин-18; KIM-1- молекула повреждения почек-1; MCP-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1; N BM – медиана числа BM со значениями больше медианы в соответствующий период ТГСК

Только в 30,7% случаев наблюдения отсутствовало ОПП и реакция молекулярных маркеров канальцевого эпителия (Рисунок 5). В большинстве случаев имело место изолированное увеличение экскреции BM, очевидно, отражающее субклинические стадии повреждения тубулярного эпителия почки. Значительно реже ОПП сопровождалось повышением BM, отражая поздние (необратимые) стадии повреждения с функциональным дефектом органа. Только в редких случаях ($n=5$) развитие острой дисфункции почек не сопровождалось повышением BM, т.е. происходило в отсутствие существенного повреждения клеток канальцевого эпителия, что указывает на иную этиологию ОПП (гломерулярное повреждение/преренальная острая дисфункция почек) (рисунок 5).

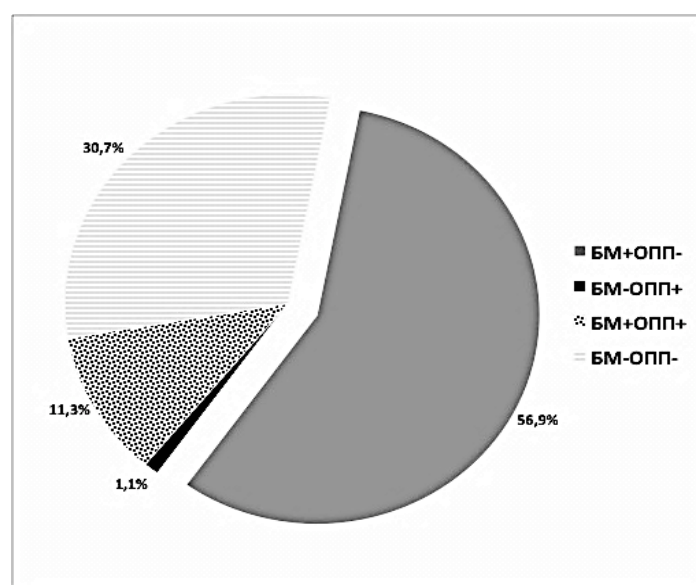


Рисунок 5- Стратификация наблюдаемых случаев в зависимости от сочетания повышения BM и наличия ОПП ($n=474$)

Примечание: ОПП-острое повреждение почек; BM-биомаркер

Взаимосвязи BM. Были обнаружены высокодостоверные прямые связи между BM, характеризующими альтерацию дистальных отделов нефрона: между кластерином и GST- π ($r=0,61$; $p<0,01$); кальбиндином и кластерином ($r=0,64$; $p<0,01$). Такие же тесные взаимосвязи были выявлены между BM, отражающими повреждение проксимальных отделов нефрона: MCP-1 и KIM-1 ($r=0,46$; $p<0,01$). Наконец, обнаружена взаимосвязь между повышением BM повреждения проксимальных и дистальных канальцев (таблица 4).

Таблица 4- Взаимосвязи между биомаркерами повреждения проксимального и дистального канальца

| Дистальный каналец | Проксимальный каналец | | |
|--------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| | MCP-1/Cr | IL-18/Cr | KIM-1/Cr |
| Calbindin/Cr | $r=0,54$; $p<0,001$ | $r=0,37$; $p<0,002$ | $r=0,45$; $p<0,001$ |
| GST- π /Cr | $r=0,55$; $p<0,001$ | $r=0,36$; $p<0,001$ | НД |

Примечание: НД-не достоверно; GST- π - глутатион-S-трансфераза (π -класс); IL-18-интерлейкин-18; KIM-1- молекула повреждения почек-1; MCP-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1; Calbindin-кальбиндин

Оценка предиктивной способности биомаркеров. По результатам проведённого анализа (множественная линейная регрессия) было установлено, что большинство биомаркеров (кластерин, кальбиндин, IL-18, MCP-1 и KIM-1) имело прямую, достоверную связь с показателями P_{Cr} , независимую от других анализируемых параметров (таблица 5).

Таблица 5- Связь биомаркеров и показатели P_{Cr} (результаты множественного линейного регрессионного анализа)*

| Зависимая переменная | Биомаркер на текущей неделе | Beta±SEM | p |
|--|--------------------------------|--------------|--------|
| P_{Cr} на текущей неделе | Кальбиндин/Cr | 0,121±0,050 | 0,016 |
| | Кластерин/Cr | 0,343±0,047 | <0,001 |
| | GST-п/Cr | -0,013±0,049 | 0,790 |
| | IL-18/Cr | 0,136±0,050 | 0,007 |
| | KIM-1/Cr | 0,358±0,046 | <0,001 |
| | MCP-1/Cr | 0,361±0,046 | <0,001 |
| Абсолютное увеличение P_{Cr} по сравнению с неделей 0 | Кальбиндин/Cr | 0,127±0,055 | 0,023 |
| | Кластерин/Cr | 0,377±0,051 | <0,001 |
| | GST-п/Cr | 0,0003±0,055 | 0,995 |
| | IL-18/Cr | 0,187±0,055 | <0,001 |
| | KIM-1/Cr | 0,399±0,050 | <0,001 |
| | MCP-1/Cr | 0,384±0,050 | <0,001 |
| Абсолютное увеличение P_{Cr} по сравнению с предыдущей неделей | Кальбиндин/Cr | 0,132±0,056 | 0,019 |
| | Кластерин/Cr | 0,348±0,052 | <0,001 |
| | GST-п/Cr | -0,014±0,055 | 0,80 |
| | IL-18/Cr | 0,142±0,055 | 0,011 |
| | KIM-1/Cr | 0,307±0,052 | <0,001 |
| | MCP-1/Cr | 0,139±0,054 | 0,011 |
| Зависимая переменная | Биомаркер на предыдущей неделе | Beta±SEM | p |
| Абсолютное увеличение P_{Cr} по сравнению с предыдущей неделей | Кальбиндин/Cr | 0,107±0,052 | 0,041 |
| | Кластерин/Cr | 0,104±0,051 | 0,040 |
| | GST-п/Cr | 0,051±0,051 | 0,31 |
| | IL-18/Cr | 0,003±0,052 | 0,95 |
| | KIM-1/Cr | 0,120±0,051 | 0,018 |
| | MCP-1/Cr | 0,114±0,0508 | 0,033 |
| Абсолютное увеличение P_{Cr} по сравнению с неделей 0 | Кальбиндин/Cr | 0,102±0,051 | 0,05 |
| | Кластерин/Cr | 0,121±0,050 | 0,02 |
| | GST-п/Cr | 0,027±0,050 | 0,59 |
| | IL-18/Cr | 0,025±0,051 | 0,63 |
| | KIM-1/Cr | 0,234±0,048 | <0,001 |
| | MCP-1/Cr | 0,183±0,049 | <0,001 |
| P_{Cr} на следующей неделе | Кальбиндин/Cr | 0,099±0,050 | 0,048 |
| | Кластерин/Cr | 0,113±0,049 | 0,023 |
| | GST-п/Cr | 0,012±0,049 | 0,81 |
| | IL-18/Cr | -0,018±0,050 | 0,71 |
| | KIM-1/Cr | 0,202±0,048 | <0,001 |
| | MCP-1/Cr | 0,165±0,049 | <0,001 |

*- все модели скорректированы по следующим показателям: возраст на момент трансплантации; пол; сист.АД; диаст.АД; $\Sigma V_{жидк.}$; Hb; L.; Эр; альбумин крови; АлТ; ЛДГ; мукозит степень (0-3); инфекция (о-нет инфекции, 1-локальная инфекция; 2-системная инфекция); оРТПХ (да/нет); сумма нефротоксичных медикаментов (n) *Примечание:* MCP-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1; KIM-1- молекула повреждения почек-1; IL-18-интерлейкин-18; GST-п - глутатион-S-трансфераза (π-класс)/креатинин мочи; P_{Cr} -концентрация креатинина сыворотки; сист.АД- систолическое артериальное давление; диаст.АД-диастолическое артериальное давление; $\Sigma V_{жидк.}$ - суммарный объём введённой жидкости за сутки; Hb-гемоглобин; L-лейкоциты крови; Эр-эритроциты крови; АлТ- аланинаминотрансфераза; ЛДГ-лактатдегидрогеназа; оРТПХ- острая реакция трансплантат против хозяина; БМ- биомаркер

С целью выявления молекул, определение мочевых концентраций которых могло бы иметь значение в отношении предиктивной диагностики ОПП после ТГСК, мы применили множественную логистическую регрессию. По результатам проведённого анализа было установлено, что относительный риск (ОР) развития ОПП на неделе, следующей за определением БМ, достоверно увеличивался при повышении концентрации КИМ-1 и (или) МСР-1 (таблица 6).

Таблица 6- Результаты логистического регрессионного анализа факторов, ассоциированных с риском развития ОПП (пошаговое исключение переменных*)

| Модели | Переменные, ед. изменения | B | Стд. Ошиб. | Ст. Вальд. | Знач. P | Exp(β) | 95% ДИ для Exp(β) |
|-----------|---------------------------------------|--------|------------|------------|---------|----------------|---------------------------|
| Модель 1 | Ким-1/Сг, x2CI * | 0,087 | 0,034 | 6,608 | 0,010 | 1,091 | 1,021-1,097 |
| | $\Sigma V_{\text{жидк.}}$ 1 л | -0,512 | 0,099 | 26,545 | <0,001 | 0,599 | 0,493-0,728 |
| | Нб, 1 г/л | -0,021 | 0,008 | 7,603 | 0,006 | 0,979 | 0,964-0,994 |
| | L, 1×10^9 /л | 0,139 | 0,050 | 7,675 | 0,006 | 1,149 | 1,042-1,268 |
| | АДср, 1 мм. рт. ст. | 0,031 | 0,015 | 4,261 | 0,039 | 1,031 | 1,002-1,062 |
| | Уровень СКФ (MDRD) до ТГСК, 1 мл/мин | 0,012 | 0,006 | 4,216 | 0,040 | 1,012 | 1,001-1,024 |
| | Сумма нефротоксичных медикаментов, +1 | 0,109 | 0,053 | 4,244 | 0,039 | 1,115 | 1,005-1,237 |
| Константа | -1,491 | 1,573 | 0,899 | 0,343 | 0,225 | | |
| Модель 2 | МСР-1/Сг, x2CI * | 0,056 | 0,019 | 8,775 | 0,003 | 1,057 | 1,019-1,097 |
| | $\Sigma V_{\text{жидк.}}$ 1 л | -0,520 | 0,100 | 26,843 | <0,001 | 0,595 | 0,488-0,724 |
| | Нб, 1 г/л | -0,025 | 0,007 | 11,312 | 0,001 | 0,976 | 0,962-0,990 |
| | L, 1×10^9 /л | 0,120 | 0,047 | 6,528 | 0,011 | 1,128 | 1,028-1,237 |
| | АДср, 1 мм. рт. ст. | 0,036 | 0,015 | 5,717 | 0,017 | 1,037 | 1,006-1,067 |
| | Уровень СКФ (MDRD) до ТГСК, 1 мл/мин | 0,013 | 0,006 | 4,394 | 0,036 | 1,013 | 1,001-1,024 |
| | Константа | -1,491 | 1,573 | 0,899 | 0,343 | 0,225 | |
| Модель 3 | КИМ-1+МСР-1/Сг, x2CI * | 0,040 | 0,014 | 8,519 | 0,004 | 1,041 | 1,013-1,069 |
| | $\Sigma V_{\text{жидк.}}$ 1 л | -0,505 | 0,102 | 24,361 | <0,001 | 0,604 | 0,494-0,738 |
| | Нб, 1 г/л | -0,023 | 0,007 | 10,009 | 0,002 | 0,977 | 0,963-0,991 |
| | L, 1×10^9 /л | 0,118 | 0,050 | 5,532 | 0,019 | 1,125 | 1,020-1,241 |
| | АДср, 1 мм. рт. ст. | 0,035 | 0,015 | 5,550 | 0,018 | 1,036 | 1,006-1,067 |
| | Константа | -0,378 | 1,400 | 0,073 | 0,787 | 0,685 | |

*Переменные принудительно включённые в модель на шаге 1: возраст на момент трансплантации, пол, $R_{\text{Сг}}$, тип кондиционирования, $\Sigma V_{\text{жидк.}}$, Нб, L, АлТ, мукозит (степень 0-3), оРТПХ (да/нет), сумма нефротоксичных медикаментов (n), КИМ-1, МСР-1, АДср, инфекция (0-нет, 2-системная), уровень СКФ до ТГСК (MDRD), нефротоксичная терапия до ТГСК, полная совместимость (да/нет)

Примечание: **x2CI***- увеличение на значение двух верхних границ 95% ДИ соответствующего показателя контроля; $\Sigma V_{\text{жидк.}}$ - суммарный объём введённой жидкости за сутки; Нб-гемоглобин; L-лейкоциты крови; МСР-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1; КИМ-1- молекула повреждения почек-1; ДИ-доверительный интервал; АДср-среднее артериальное давление; СКФ-скорость клубочковой фильтрации; АлТ-аланинаминотрансфераза; оРТПХ- острая реакция трансплантат против хозяина; ТГСК-трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Возрастание экскреции КИМ-1, МСР-1 или суммы их мочевых экскреций на величину двух верхних границ 95%-ДИ контрольной группы было связано с увеличением ОР развития ОПП на 4-9%, достоверные для всех случаев (Таблица 6). Связь повышения концентрации КИМ-1 и (или) МСР-1 с ОР ОПП была независимой от действия других потенциальных предикторов, в том числе тех, которые имели достоверную связь с ОР в финальной модели. Другие исследованные БМ не были ассоциированы с риском развития ОПП, ни по отдельности, ни в различных комбинациях.

В ходе дальнейшего ROC-анализа нами было установлено, что как изолированное, так и сочетанное увеличение экскреции КИМ-1/МСП-1 обладает достаточно высокой информативностью для предиктивной диагностики ОПП (таблица 7).

Таблица 7- ROC-анализ чувствительности биомаркеров для диагностики ОПП в раннем посттрансплантационном периоде

| Прогнозируемое событие | Тестовая переменная(ые) | AUC | Стандартная ошибка | Асимптотическое значение p | Асимптотический 95% ДИ |
|--|-------------------------|-------|--------------------|----------------------------|------------------------|
| ОПП на текущей неделе и(или) на следующей неделе | КИМ-1/Cr | 0,704 | 0,029 | <0,001 | 0,648-0,759 |
| | МСП-1/Cr | 0,719 | 0,028 | <0,001 | 0,665-0,773 |
| | КИМ-1+МСП-1/Cr | 0,742 | 0,025 | <0,001 | 0,694-0,791 |
| ОПП на текущей неделе | КИМ-1/Cr | 0,701 | 0,037 | <0,001 | 0,597-0,780 |
| | МСП-1/Cr | 0,730 | 0,035 | <0,001 | 0,662-0,799 |
| | КИМ-1+МСП-1/Cr | 0,736 | 0,030 | <0,001 | 0,676-0,795 |
| ОПП на следующей неделе | КИМ-1/Cr | 0,703 | 0,033 | <0,001 | 0,637-0,769 |
| | МСП-1/Cr | 0,677 | 0,033 | <0,001 | 0,612-0,742 |
| | КИМ-1+МСП-1/Cr | 0,715 | 0,028 | <0,001 | 0,659-0,770 |

Примечание: КИМ-1- молекула повреждения почек-1; МСП-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1; AUC (area under curve)-площадь под характеристической кривой; ДИ-доверительный интервал

Анализ характера ROC-кривых и для КИМ-1 и для МСП-1 указывал на отсутствие оптимальной отсечки значения показателей экскреции БМ, для которой значения чувствительности и специфичности были бы одинаково приемлемыми. Высокая чувствительность (80-93%) достигается при значениях экскреции КИМ-1/ МСП-1 более 2 значений верхней границы 95% ДИ контроля (для их суммы > 4-х). При этом специфичность предсказания развития ОПП на текущей и (или) следующей неделе колеблется около 50%. По мере увеличения относительной экскреции БМ, специфичность возрастает, достигая значений около 80% (таблица 8).

Таблица 8- Чувствительность и специфичность относительного увеличения экскреции БМ для прогнозирования ОПП

| Предсказываемое состояние | Биомаркер | Пороговое знач. (в/граница 95% ДИ контроля x2) | Чувствительность | Специфичность |
|---------------------------|-------------|--|------------------|---------------|
| ОПП, текущая неделя | КИМ-1/Cr | >1 | 82% | 52% |
| | | >2 | 50% | 73% |
| | | >3 | 31% | 81% |
| | МСП-1/Cr | >1 | 88% | 50% |
| | | >2 | 72% | 67% |
| | | >3 | 49% | 76% |
| | КИМ+МСП /Cr | >2 | 94% | 49% |
| | | >3 | 75% | 60% |
| | | >6 | 43% | 80% |
| ОПП, следующая неделя | КИМ-1/Cr | >1 | 83% | 54% |
| | | >2 | 55% | 75% |
| | | >3 | 35% | 84% |
| | МСП-1/Cr | >1 | 82% | 51% |
| | | >2 | 54% | 68% |
| | | >3 | 41% | 78% |
| | КИМ+МСП /Cr | >2 | 93% | 47% |
| | | >3 | 75% | 60% |
| | | >6 | 35% | 78% |
| ОПП, текущая и следующая | КИМ-1/Cr | >1 | 80% | 54% |

| | | | | |
|--------|----------------|----|-----|-----|
| недели | | >2 | 51% | 76% |
| | | >3 | 32% | 85% |
| | | >1 | 85% | 54% |
| | MCP-1/Cr | >2 | 60% | 70% |
| | | >3 | 43% | 80% |
| | | >2 | 92% | 50% |
| | KIM+MCP /Cr | >3 | 74% | 63% |
| | | >6 | 45% | 80% |

Примечание: KIM-1- молекула повреждения почек-1; MCP-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1; ДИ- доверительный интервал

Сравнение эффективности определения мочевых и сывороточных концентраций липокалина ассоциированного с желатиназой нейтрофилов для предиктивной диагностики острого повреждения почек у больных после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

И мочевые и сывороточные концентрации NGAL в раннем посттрансплантационном периоде положительно коррелировали между собой ($r=0,65$; $p<0,001$). Примечательно, что у больных в раннем посттрансплантационном периоде после ТГСК отмечалась достоверная положительная взаимосвязь между концентрациями NGAL сыворотки и уровнем лейкоцитов крови, и только у некоторых больных с лейкопенией имели место высокие концентрации NGAL (рисунок 7).

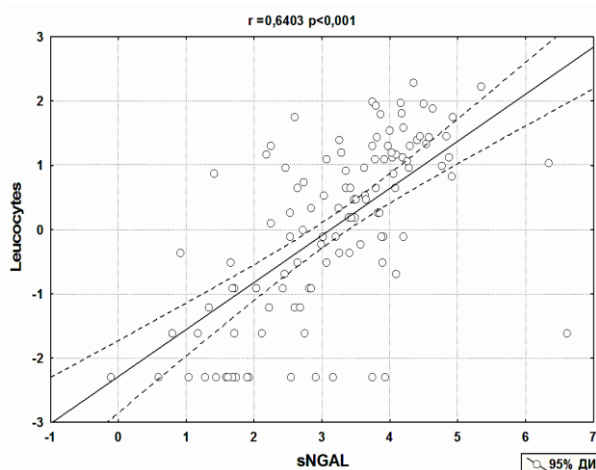


Рисунок 7 -Зависимость NGAL сыворотки крови от уровня лейкоцитов (N больных=30, N случаев наблюдения=127)

Примечание (Рисунок 7): sNGAL- serum neutrophil gelatinase associated lipocalin (пг/мл)- сывороточный липокалин ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (натуральный логарифм концентрации); Leucocytes- натуральный логарифм числа лейкоцитов периферической крови ($\cdot 10^9/\text{л}$) (натуральный логарифм концентрации); ДИ- доверительный интервал

Подобной зависимости для NGAL мочи нами выявлено не было. Как сывороточные, так и мочевые концентрации NGAL коррелировали с P_{Cr} на тех же неделях, когда выполнялось определение NGAL ($r=0,24$; $p<0,007$ и $r=0,20$; $p=0,022$ соответственно). Для предварительной оценки прогностической значимости NGAL мочи и сыворотки крови в отношении выявления ОПП, в подгруппе, состоявшей из 30 больных, мы применили мультивариантный регрессионный анализ Кокса с коррекцией модели по другим потенциальным предикторам ОПП. Нами было установлено, что динамика мочевых концентраций NGAL по сравнению с предыдущей неделей была связана с увеличением риска формирования острой дисфункции почек ($\text{Exp}(\beta)=4,16$ (95%ДИ 1,22-14,22), $p=0,02$). Динамика концентраций NGAL сыворотки такой связи не имела.

Биомаркеры, риски смерти и общая выживаемость. В ходе анализа данных выявлено, что относительное повышение уровня ряда БМ было достоверно выше в группе умерших. К этим БМ относились кластерин, КИМ-1, МСР-1 и кальбиндин (рисунок 8).

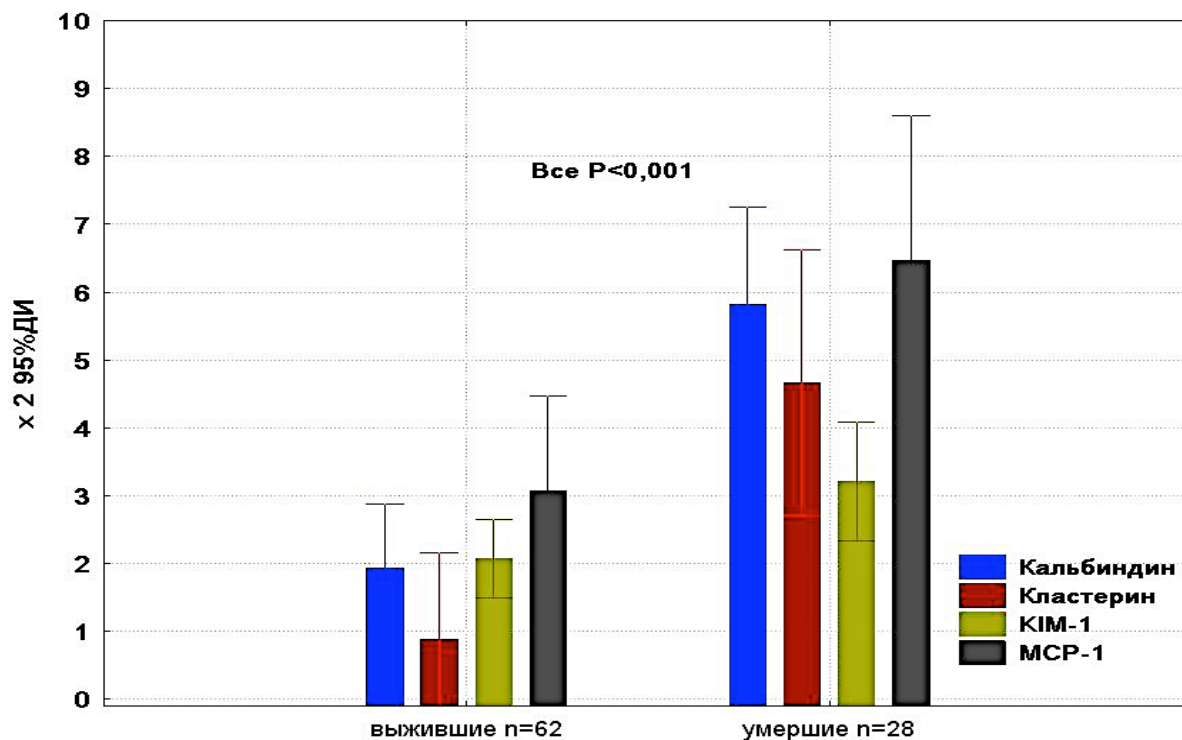


Рисунок 8 – Относительное повышение уровня ряда БМ мочи в группах умерших и выживших после ТГСК.

Примечание: КИМ-1-kidney injury molecule-1 (молекула повреждения почек-1); МСР-1-monocyte chemoattractant protein-1 (протеин хемотаксиса моноцитов-1); ДИ-доверительный интервал; Ордината - Усредненная кратность превышения биомаркером двух значений верхней границы 95% ДИ контроля

При проведении одновариантного регрессионного анализа кальбиндин, кластерин, МСР-1 и КИМ-1 были достоверно связаны с риском смерти в отдаленном периоде после ТГСК (таблица 9).

Таблица 9 – Одновариантный регрессионный анализ связи БМ (средняя мочевая экскреция БМ за время наблюдения) и риска смерти после ТГСК (модель Кокса)

| Показатели (концентрации) | B | Стд. Ошибка | Статистика Вальда | p | Exp(β) | 95% ДИ для Exp(β) |
|---------------------------|-------|-------------|-------------------|--------|--------|-------------------|
| Calbindin/Cr | 0,096 | 0,024 | 16,418 | <0,001 | 1,100 | 1,051-1,153 |
| Clusterin/Cr | 0,085 | 0,020 | 17,301 | <0,001 | 1,089 | 1,046-1,134 |
| GST-п/Cr | 0,001 | 0,006 | 0,001 | 0,972 | 1,000 | 0,989-1,012 |
| IL-18/Cr | 0,064 | 0,108 | 0,352 | 0,553 | 1,066 | 0,863-1,317 |
| KIM-1/Cr | 0,124 | 0,051 | 5,811 | 0,016 | 1,132 | 1,023-1,252 |
| MCP-1/Cr | 0,026 | 0,008 | 10,302 | 0,001 | 1,026 | 1,010-1,042 |

Примечание: Cr-креатинин мочи; Calbindin-кальбиндин; Clusterin-кластерин; GST-п- глутатион-S-трансфераза (п-класс); IL-18-интерлейкин-18; КИМ-1-kidney injury molecule-1 (молекула повреждения почек-1); МСР-1-monocyte chemoattractant protein-1 (протеин хемотаксиса моноцитов-1); ДИ-доверительный интервал

В мультивариантных моделях, скорректированных по ранее установленным клиническим факторам, связанным с прогнозом (ОПП, прогрессия основного заболевания, неполная HLA-совместимость пациента и донора и др.) связи КИМ-1, МСР-1 и кальбиндина со смертностью не

были достоверными. Для кластерина эта связь была достоверной и независимой от других существенных клинических факторов, включая и ОПП (таблица 10).

Таблица 10 – Множественный регрессионный анализ связи средних значений мочевой экскреции кластерина (недели 0-5) и общей выживаемости после ТГСК (модели Кокса)

| Регрессионные модели (Кокс) | B | Стд. Ошибка | Статистика Вальда | p | Exp(β) | 95% ДИ для Exp(β) |
|--|-------|-------------|-------------------|--------|----------------|---------------------------|
| Clusterin/Cr (одновариантный анализ) | 0,085 | 0,020 | 17,301 | <0,001 | 1,089 | 1,046-1,134 |
| Модель 1 Пол, возраст | 0,082 | 0,021 | 15,428 | <0,001 | 1,086 | 1,042-1,131 |
| Модель 2 Пол, возраст, прогрессия основного заболевания | 0,090 | 0,023 | 15,694 | <0,001 | 1,094 | 1,047-1,144 |
| Модель 3 Пол, возраст, прогрессия основного заболевания, неполная совместимость по HLA | 0,081 | 0,023 | 11,913 | 0,001 | 1,084 | 1,035-1,135 |
| Модель 4 Пол, возраст, прогрессия основного заболевания, неполная совместимость по HLA, ОПП | 0,077 | 0,024 | 10,429 | 0,001 | 1,080 | 1,031-1,131 |
| Модель 5 Возраст, прогрессия основного заболевания, неполная совместимость по HLA, ОПП | 0,081 | 0,025 | 10,892 | 0,001 | 1,085 | 1,034-1,138 |
| Модель 6 Прогрессия основного заболевания, неполная совместимость по HLA, ОПП, оРТПХ | 0,085 | 0,024 | 12,195 | <0,001 | 1,089 | 1,038-1,142 |
| Модель 7 Прогрессия основного заболевания, неполная совместимость по HLA, ОПП, оРТПХ, ремиссия до ТГСК | 0,082 | 0,025 | 10,801 | 0,001 | 1,085 | 1,034-1,139 |

Примечание: Clusterin/Cr-концентрация кластерина мочи, скорректированная на креатинин мочи; ОПП-острое повреждение почек; оРТПХ-острая реакция трансплантат против хозяина; ТГСК-трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; HLA-human leucocyte antigens (человеческие лейкоцитарные антигены)

Установлено, что общая выживаемость в группе со средними значениями кластерина в раннем посттрансплантационном периоде (5 недель после ТГСК) превышающими верхнюю границу 95%ДИ группы контроля, достоверно ниже в сравнении с группой без повышения кластерина (рисунок 9).

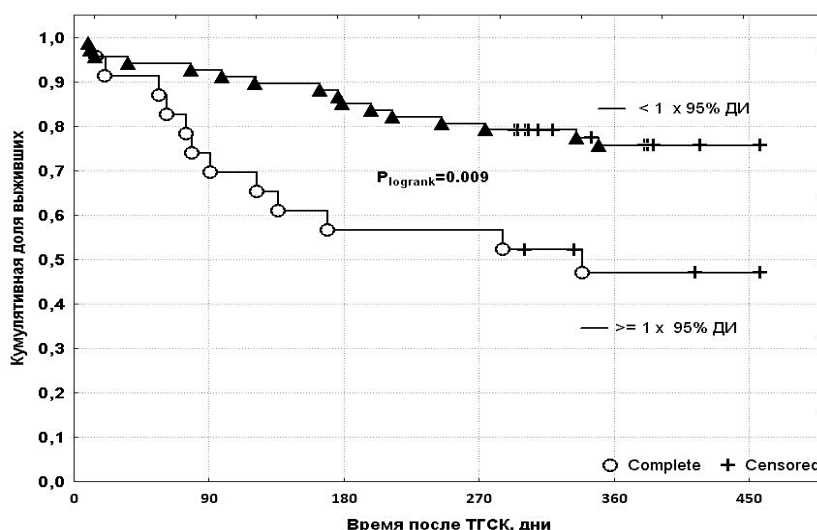


Рисунок 9– Кумулятивная выживаемость в группах со средними значениями мочевого экскреции кластерина, превышающими значения верхней границы 95% ДИ нормы и находящимися в пределах нее

Примечание: ДИ-доверительный интервал, ТГСК - трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ВЫВОДЫ:

- 1) Острое повреждение почек является частым осложнением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и развивается у 74% больных; заболеваемость ОПП прогрессивно увеличивается в течение 1-5 недель посттрансплантационного периода, составляя, соответственно, 7,8%; 8,9%; 12,5%; 27,3%; 35,9%; кумулятивная доля случаев ОПП достигает 55% к 5 неделе после ТГСК
- 2) Острое повреждение почек является независимым фактором, ассоциированным с существенным увеличением относительного риска смерти больных после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток ($\text{Exp}(\beta)=6,55$; 95%ДИ(1,82-23,5))
- 3) Почечная экскреция всех исследованных молекулярных БМ повреждения тубулярного эпителия почки – кластерина, кальбиндина, (IL) ИЛ-18, MCP-1, KIM-1, GST-п характеризуется выраженным нарастанием, которое предшествует развитию клинически явного ОПП в раннем посттрансплантационном периоде
- 4) Среди исследованных БМ, экскреция кальбиндина, кластерина, MCP-1 и KIM-1 прямо и достоверно связана с абсолютными значениями концентраций креатинина сыворотки крови и их динамикой на текущей неделе и неделе следующей за определением БМ; эти связи были независимы от других клинических параметров при множественном регрессионном моделировании
- 5) В отличие от NGAL сыворотки крови, мочевого экскреция этой молекулы ассоциирована с увеличением риска формирования острой дисфункции почек в раннем посттрансплантационном периоде ($\text{Exp}(\beta)=4,16$; 95%ДИ (1,22-14,22))
- 6) Увеличение мочевого экскреции MCP-1 и(или) KIM-1 является независимым фактором риска развития ОПП, а эти показатели или их суммарное значение обладают хорошей информативностью для предиктивной диагностики ОПП
- 7) Почечная экскреция кластерина, кальбиндина, KIM-1 и MCP-1 была достоверно выше в группе умерших больных; увеличение экскреции кластерина, превышающее значение верхней

границы 95% ДИ нормы было ассоциировано с риском смерти независимо от других клинических факторов, включая ОПП, как таковое

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

По результатам проведенного исследования для использования в клинической практике мы предлагаем:

- 1) расценивать ОПП как существенный фактор неблагоприятного прогноза у больных после ТГСК.
- 2) в течение раннего посттрансплантационного периода проводить тщательную динамическую оценку общепринятых клинических критериев ОПП с регистрацией в медицинской документации.
- 3) исследовать базальные уровни почечной экскреции МСР-1, кластерина и КИМ-1 до выполнения режима кондиционирования и трансплантации с последующим еженедельным мониторингом
- 4) относить пациентов после ТГСК с мочевого экскрецией МСР-1 и/или КИМ-1, превышающей два значения верхней границы 95%-ДИ нормы к случаям субклинического острого повреждения тубулярного эпителия (СОПТЭ) с высоким риском развития ОПП
- 5) в случае обнаружения СОПТЭ в виде повышения мочевых концентраций МСР-1 и/или КИМ-1 проводить превентивные мероприятия, направленные на предупреждение развития острой дисфункции почек: идентифицировать и минимизировать этиотропные факторы риска ОПП, интенсифицировать мониторинг клинических критериев ОПП – креатинина сыворотки крови и диуреза
- 6) NGAL сыворотки нецелесообразно использовать для предикции ОПП в виду существенной зависимости его концентраций от лейкоцитов крови
- 7) при выявлении ОПП после ТГСК начинать выполнение диагностических и лечебных мероприятий в соответствии с действующими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению ОПП.
- 8) относить пациентов после ТГСК с мочевого экскрецией кластерина, превышающей значение верхней границы 95%-ДИ нормы к случаям высокого риска неблагоприятного прогноза.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

- 1) **Смирнов, К.А. Острое повреждение почек при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / К.А. Смирнов, В.А. Добронравов// Нефрология.- 2014.-Т.18.- №6.-С. 26-42**
- 2) **Смирнов, К.А. Динамика биомаркеров повреждения почек после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (пилотное исследование) / К.А. Смирнов, В.А. Добронравов, Б.В. Афанасьев, О.В. Галкина, И.М. Зубина, Е.О. Богданова, Т.В. Блинова, И.М. Бархатов, А.В. Смирнов // Нефрология.- 2015.-Т.19.-№6.-С. 28-33**
- 3) **Добронравов, В.А. Острое повреждение почек и тубулярные биомаркеры / В.А. Добронравов, К.А. Смирнов, Б.В. Афанасьев, О.В. Галкина, А.В. // Терапевтический Архив.- 2016.-Т.88.-№6.-С. 14-20**
- 4) Dobronravov, V.A. Subclinical tubular epithelium damage and acute kidney injury following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / V.A. Dobronravov, K.A. Smirnov, B.V. Afansiev, O.V. Galkina, A.V. Smirnov // Cellular Therapy and Transplantation.-2016.-Т.5.- №4(17).-С. 8-14
- 5) Smirnov, K.A. Kidney injury tubular biomarkers following hematopoietic stem cell transplantation (pilot study) / K.A. Smirnov, V.A. Dobronravov, B.V. Afanasiev, O.V. Galkina, I.M. Zubina // Nephrology Dialysis Transplantation.- 2016.- Т.31.-Supplement №1.-С. i419-i420
- 6) Smirnov, K.A. Serum versus urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin for acute kidney injury prediction in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (pilot study) / K.A. Smirnov, V.A. Dobronravov, B.V. Afanasiev, O.V. Galkina, I.M. Zubina // Nephrology Dialysis Transplantation.-2017.-Т.32.- Supplement№3.- С. iii188

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АД-артериальное давление
 АлТ-аланинаминотрансфераза
 аТГСК-аллогенная ТГСК
 БМ-биомаркер(ы)
 ВОб-веноокклюзионная болезнь печени
 ДИ-доверительный интервал
 ЗПТ-заместительная почечная терапия
 ЛДГ-лактатдегидрогеназа
 МДС-миелодиспластический синдром
 МА-миелоаблативный режим кондиционирования
 НМА-немиелоаблативный режим кондиционирования
 НХЛ-неходжкинская лимфома
 ОПП-острое повреждение почек
 ОЛЛ-острый лимфобластный лейкоз
 ОМЛ-острый миелоидный лейкоз
 оРТПХ-острая реакция трансплантат против хозяина
 ПЦР-полимеразная цепная реакция
 рСКФ-расчётная скорость клубочковой фильтрации
 СКФ-скорость клубочковой фильтрации
 СЛОК-синдром лизиса опухолевых клеток
 СОПТЭ-субклиническое острое повреждение тубулярного эпителия
 ТГСК-трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
 ТМА-тромботическая микроангиопатия
 ХБП-хроническая болезнь почек
 ХМЛ-хронический миелоидный лейкоз
 ЦМВ-цитомегаловирус
 Эр-число эритроцитов сыворотки крови
 AUC-area under the curve-площадь под характеристической кривой
 GST-Glutathione- π -transpherase (GST- π) -глутатион- π -трансфераза
 Hb-гемоглобин
 HLA-human leucocyte antigens- группа человеческих лейкоцитарных антигенов гистосовместимости
 IL-18-Interleukin 18- интерлейкин-18
 KDIGO-kidney disease improving global outcomes
 KIM-1-Kidney injury molecule-1- молекула повреждения почек-1
 L-число лейкоцитов сыворотки крови
 MCP-1-Monocyte chemottractant protein-1- протеин хемотаксиса моноцитов-1
 MDRD- Modification of Diet in Renal Disease
 NGAL-neutrophil gelatinase associated lipocalin-липокалин ассоциированный с желатиназой нейтрофилов
 nMM- число несовпадений по аллелям генов HLA (human leucocyte antigens- группа человеческих лейкоцитарных антигенов гистосовместимости)
 P_{Cr}-концентрация креатинина сыворотки крови
 SD-standart deviation (стандартное отклонение)
 $\Sigma V_{\text{жидк.}}$ - суммарный объём введённой жидкости за сутки