

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Мальцева Л.Д.¹, Лакомова Д.Ю.², Захарова Н.Б.², Гурова Т.С.¹, Морозова О.Л.¹

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет), 119990, Москва, Россия;

² ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава РФ, 410112, г. Саратов, Россия

Высокая частота встречаемости, неблагоприятный прогноз, отсутствие методов диагностики начальных этапов развития острого повреждения почек (ОПП) у пациентов с COVID-19 (coronavirus disease 2019 – коронавирусное заболевание 2019) определяют актуальность выбранной темы. Целью обзора явился анализ литературы для поиска и обоснования выбора маркеров ранней диагностики ОПП на основе механизмов его формирования. Проанализированы результаты более двухсот работ следующих медицинских баз данных: РИНЦ, Scopus, The Cochrane Library, MEDLINE. Рассмотрены факторы риска развития и прогрессирования ОПП, такие как гипоксемия, повышение внутригрудного давления на фоне острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), артериальная гипертензия (АГ) с эндотелиальной дисфункцией, сахарный диабет. Раскрыты ключевые звенья патогенеза ОПП при COVID-19 как прямого цитопатического действием SARS-CoV-2, так и за счёт иммуноопосредованного (цитокинуиндуцированного) механизма. Обозначены различные методологические подходы к поиску и определению маркеров на основе анализа протеома и метаболома мочи. Выявлены перспективные направления в диагностике начальных этапов ОПП: определение маркеров повреждения проксимальных канальцев, как наиболее чувствительных к гипоксии, и метаболитов АТФ, отражающих начальные этапы расстройства энергетического обмена в эпителии канальцев. Для оценки прогноза течения патологии рассмотрена возможность одномоментного изучения ряда биомаркёров при помощи неинвазивных методов обследования. Идентификация высокочувствительных и специфичных маркёров начальных этапов развития ОПП позволит повысить точность диагностики, обосновать показания к раннему началу терапии, прогнозировать исход заболевания.

Ключевые слова: обзор; острое повреждение почек; коронавирусное заболевание 2019; факторы риска; протеом; метаболом; биомаркёры.

Для цитирования: Мальцева Л.Д., Лакомова Д.Ю., Захарова Н.Б., Гурова Т.С., Морозова О.Л. Потенциальные мишени для ранней диагностики острого повреждения почек у пациентов с COVID-19 (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (10): 586-592. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-586-592>

Для корреспонденции: Морозова Ольга Леонидовна, д-р. мед. наук, проф. каф. патофизиологии; e-mail: morozova_ol@list.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 18.04.2021

Принята к печати 22.04.2021

Maltseva L.D.¹, Lakomova D.Y.², Zakharova N.B.², Gurova T.S.¹, Morozova O.L.¹

POTENTIAL TARGETS FOR PRECLINICAL DIAGNOSTICS OF ACUTE KIDNEY INJURY IN COVID-19 PATIENTS (REVIEW OF LITERATURE)

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia (Sechenov University), 119990, Moscow, Russia;

²V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, 410112, Saratov, Russia

An relevance of the topic was defined by the high occurrence, unfavorable prognosis, lack of diagnostic techniques for early stages of acute kidney injury (AKI) disclosed in patients with COVID-19 (Coronavirus Disease 2019). Screening of medical literature for selection of AKI preclinical biomarkers was considered as main aim of this review. More than 200 publications from Russian Science Citation Index (RSCI), Scopus, The Cochrane Library, and MEDLINE were reviewed. Such risk factors as hypoxemia, increased intrathoracic pressure associated with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), hypertension (HT) involving endothelial dysfunction, and Diabetes mellitus were considered to be associated with AKI. There were explicated cytopathic and immune-mediated (cytokine-induced) mechanisms of COVID-19 associated AKI pathogenesis. Multiple methodological approaches were defined for detection and identification of the biomarkers based on urine proteome and metabolome screening. Perspective ways in the preclinical diagnostics of AKI such as detection of the markers of injury of the hypoxia-sensitive proximal canaliculi and the ATP metabolites that reflect first stages of the energy metabolism disorder in the epithelium lining canaliculi were identified in this study. The instantaneous and non-invasive investigation of different markers was regarded as possible method of the prognostication. The accuracy of the diagnosis on the initial stages of AKI, substantiate for preventive start of therapy, and make projections on the disease's outcome will be improved due to the identification of high-sensitive specific biomarkers.

Key words: review; acute kidney injury; coronavirus disease 2019; risk factors; proteome; metabolome; biomarkers.

For citation: Maltseva L.D., Lakomova D.Y., Zakharova N.B., Gurova T.S., Morozova O.L. Potential targets for preclinical diagnostics of acute kidney injury in covid-19 patients (review of literature). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (10): 586-592 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-586-592>

For correspondence: Morozova O.L., Doctor of Medical Sciences, professor, department of Pathophysiology; e-mail: morozova_ol@list.ru

Information about authors:

Maltseva L.D., <https://orcid.org/0000-0002-4380-4522>;

Lakomova D.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-7549-6915>;

Zaharova N.B., <https://orcid.org/0000-0001-9410-2240>;
Gurova T.S., <https://orcid.org/0000-0002-3003-4362>;
Morozova O.L., <https://orcid.org/0000-0003-2453-1319>.

Conflict of interest. *The author declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Received 18.04.2021

Accepted 22.04.2021

Введение. При тяжелых формах поражения лёгких, частота которых составила около 25%, основной мишенью для действия вируса явились почки [1]. Y. Cheng и соавт. [2] установили, что SARS-CoV-2 приводит к развитию ОПП, которое считали независимым фактором риска неблагоприятного исхода заболевания. Исследования показали, что частота ОПП у пациентов, инфицированных COVID-19, составляла 3-15% [3]. У пациентов с тяжелой инфекцией COVID-19 в отделениях интенсивной терапии (ОИТ) данный показатель повышался до 14,5–50%, а количество нуждающихся в заместительной почечной терапии (ЗПТ) – до 25% [4]. По последним данным частота ОПП среди поступающих в ОИТ достигала 80-89% [5]. Около 75% пациентов с COVID-19 госпитализировали уже с признаками ОПП, а именно с протеинурией и гематурией. Исключение из исследования больных с ранее установленным диагнозом «хроническая болезнь почек» (ХБП), позволило предположить вирусную этиологию ОПП [6]. Летальность среди пациентов находившихся на ЗПТ составила около 55%, а потребность в гемодиализе после выписки из стационара сохранялась у каждого третьего [7].

Используемые критерии диагностики нарушения почечной функции (повышение уровня креатинина и мочевины крови, наличие и уровни протеинурии и гематурии) неспецифичны и указывают на глубокое и необратимое поражение почек. Развитие ОПП можно предупредить ещё на этапе обратимых изменений, используя неинвазивные методы диагностики. Это позволит уменьшить показатели летальности, снизить число пациентов нуждающихся в ЗПТ, и, следовательно, в значительной мере снизить нагрузку на медицинских работников. Однако медленное внедрение этих методов диагностики в клиническую практику угрожает не только многочисленными человеческими жертвами, но и крупными экономическими потерями.

Цель обзора – поиск потенциальных мишеней для ранней диагностики ОПП у пациентов с COVID-19.

Факторы риска развития ОПП у пациентов с COVID-19. S. Peerapornratana и соавт. [8], анализируя результаты более двух сотен работ установили, что ОПП предопределяет тяжесть и исход любой патологии.

В качестве факторов риска развития ОПП у пациентов с COVID-19 рассматривались: гипоксемия, повышенное внутригрудное давление, обусловленные нарушением газообном на фоне острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), артериальная гипертензия (АГ) и сахарный диабет [9,10]. Эндотелиальная дисфункция при повышении артериального давления приводила к системной вазоконстрикции с последующим развитием тяжёлой гипоксии с исходом в некроз [11].

Мнение относительно влияния ингибиторов АПФ (ангиотензин-превращающий фермент) на частоту развития и тяжесть ОПП неоднозначно. W.H. Liang и соавт. [10] установили, что ингибиторы АПФ (иАПФ) нарушали регуляцию почечного кровотока, приводя к гиповоле-

мии и возможному формированию преренальной формы ОПП. Однако, L.F. Buckley и соавт. [12] определили, что прекращение приёма иАПФ усугубляло течение АГ и приводило к нарушению функции почек вплоть до развития ОПП. H.R. Reynolds и соавт. [13] не выявили связи между приёмом иАПФ и тяжестью течения COVID-19.

Среди факторов риска развития ОПП у пациентов с COVID-19 рассматривали нефротоксическое действие рентгеноконтрастных препаратов, однако данный вопрос до настоящего времени не изучен [14].

Закономерными факторами риска ОПП считали наличие у пациента ХБП. Y. Cheng и соавт. [2] установили, что частота ОПП у больных с ХБП была достоверно выше, чем без ХБП. Пациенты, несмотря на благоприятный исход ОПП, нуждались в последующем динамическом наблюдении с целью своевременной регистрации признаков хронизации процесса. Однако более конкретных данных относительно рассматриваемого вопроса в литературе нет.

Учитывая высокие показатели общей летальности у пациентов с ОПП на фоне COVID-19, особое внимание исследователей направлено на анализ факторов риска госпитальной летальности. Q. Ruan и соавт. [15] доказали, что исходно повышенные уровни креатинина и мочевины в крови, протеинурия и гематурия – независимые факторы риска данного показателя. G. Pei и соавт. [6] определили, что протеинурия и гематурия регистрировались у 65,5% и 41,7% пациентов соответственно. При этом смертность больных с ОПП и выявленными изменениями в крови и моче была в 5,3 раз, а по некоторым данным в 9 раз выше, чем без ОПП. Установлено, что неблагоприятный исход возможен и после полного купирования лёгочной симптоматики и, вероятно, обусловлен повреждением почек, что требовало дальнейшего наблюдения [6].

Механизмы формирования ОПП у пациентов с COVID-19. Среди причин развития ОПП рассматривали: 1. повреждение проксимальных канальцев; 2. гломерулонефрита, микротромботическую ангиопатию; 3. преренальную азотемию и осложнения лечения COVID-19 [9].

Результаты большинства работ указывали на то, что наиболее частой причиной развития ОПП (более 60% всех случаев) явился острый канальцевый некроз (ОКН). В одной из работ на долю ОКН, гломерулярной ишемии и микротромботической ангиопатии приходилось 75, 15 и 11% соответственно [16]. H. Su и соавт. [17] показали, что повреждение канальцев наблюдалось во всех образцах почек при аутопсии, тогда как патологических изменений со стороны гломерул и данных за тромбоз капилляров установлено не было.

Острый канальцевый некроз. ОКН и повреждение гломерул могли быть обусловлены как прямым цитотоксическим действием SARS-CoV-2, так и за счёт иммуноопосредованного (цитокининдуцированного) механизма [17].

Прямое цитопатическое действие вируса. E. Gkogkou и соавт. [18], проведя молекулярно-генетическое ис-

следование выявили высокую экспрессию генов рецептора ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2 – ангиотензин-превращающий фермент 2) и TMPRSS2 (cellular transmembrane serine proteases – трансмембранная сериновая протеаза 2) в подоцитах и проксимальных канальцах, которая не уступала уровню экспрессии в других органах. Анализ секвенирования РНК тканей человека подтвердил высокую коэкспрессию генов ACE2 и TMPRSS2 в подоцитах и проксимальных тубулоэпителиальных клетках (ТЭК) [19]. Экспрессия гена рецептора ACE2 в почках была в 100 раз выше, чем в легочной и других тканях [19]. Эти данные свидетельствовали о высокой тропности SARS-CoV-2 к этим клеткам, что позволило рассматривать почки как потенциальную мишень для первичного повреждения при COVID-19, а не как осложнение основного заболевания [18]. В 43,9-63% случаев инфицирование SARS-CoV-2, в том числе с развитием ОПП сопровождалось выраженной протеинурией, генез которой не установлен [20].

Прямое цитотоксическое действие подтверждено обнаружением фрагментов гена РНК SARS-CoV2 при помощи иммуногистохимии и гибридизации почечной ткани при аутопсии [21]. В. Diao и соавт. [22] подтвердили полученные данные путём обнаружения белка нуклеокапсида SARS-CoV-2 в почечных канальцах. Н. Su et al. [17] при помощи электронной микроскопии выявили скопления коронавирусных частиц в эпителии почечных канальцев и подоцитах. Однако J.H. Ng и соавт. [23] установили, что SARS-CoV-2 редко идентифицировался с помощью иммуногистохимии или гибридизации, а электронная микроскопия – неинформативный метод диагностики. Последний базируется исключительно на морфологии и размере вирусных частиц, что создаёт сложности в дифференцировке их от нормальных клеточных структур.

Цитокининдуцированный системный воспалительный ответ. Внутриклеточная вирусная репликация приводила к активации инфламмосомы, что сопровождалось массивной секрецией провоспалительных цитокинов. Последние приводили к пироптозу с последующим развитием CRS (cytokine release syndrome – синдром высвобождения цитокинов или «цитокиновый шторм») [24]. X.W. Pan и соавт. [19] подчеркнули, что именно цитокины повреждали здоровые ткани других органов, а не SARS-CoV-2.

Каждый из провоспалительных маркёров мог запустить или способствовать прогрессированию эндотелиальной и канальцевой дисфункции, тем самым участвуя в развитии и прогрессировании ОПП у пациентов с COVID-19 [26,27]. У этих больных неоднократно была выявлена повышенная сывороточная концентрация IL6 (Interleukin 6 – интерлейкин 6), что указывало на гиперовоспалительную реакцию в лёгких и почках с высоким риском исхода в ПОН [25].

Гломерулопатии и микротромботические ангиопатии. S. Kissling и соавт. [26] сообщили об очаговой гломерулопатии и определении в подоцитах вакуолей с многочисленными сферическими частицами, которые рассматривались в качестве вирусных включений. Z. Varga и соавт. [27] при аутопсии обнаружили преимущественную локализацию SARS-CoV-2 в эндотелии клубочках, однако сделать чёткие выводы о первичном повреждении вирусом гломерул или их вторичном повреждении на фоне ПОН не удалось. Это требовало экспериментальных работ по изучению биопсийного материала [28].

Исследование биоптатов почек у пациентов с ОПП на фоне COVID-19 позволило установить помимо ОКН выраженное повреждение гломерул с исходом в склероз [29]. Однако полное отсутствие вирусных частиц в структурах нефрона поставило под сомнение существование прямого цитотоксического действия SARS-CoV-2. По всей видимости, патологические эффекты вируса осуществлялись посредством провоспалительных цитокинов [29]. Генетический анализ и исследование цитокинового профиля сыворотки крови позволили выдвинуть предположение, что у данной категории пациентов повреждение гломерул обусловлено генетической предрасположенностью (экспрессия гена APOL1 (apolipoprotein L1 – аполипопротеин L1) и действием провоспалительных факторов: IL2, IL6, IL7, (Interleukin 2,6,7 – интерлейкин 2,6,7), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) [27]. Установлено, что внутрисосудистая коагуляция в гломерулярных капиллярах коррелировала с высокими сывороточными показателями IFN- α (Interferon- α – интерферон- α). Последний, в свою очередь, активируя экспрессию гена APOL1, приводил к так называемому «повторному удару» с массивным повреждением подоцитов [29].

Таким образом, доказана важная роль цитокинов в инициации, развитии и прогрессировании ОПП у пациентов с COVID-19, что даёт возможность использовать их в качестве молекулярных мишеней для ранней диагностики патологии.

Молекулярная диагностика ОПП у пациентов с COVID-19. Процесс должен быть автоматизирован, эффективен в соотношении «количество обнаруженных биомаркеров/продолжительность анализа», чувствителен к выбранным молекулам и иметь доступную себестоимость. Перспективный биомаркер – сочетать высокую специфичность к искомой патологии, иметь возможность раннего обнаружения, иметь спектр концентраций, позволяющий определить конкретную стадию повреждения и/или отследить реакцию пациента на терапию, быть получен из доступных образцов, взятых неинвазивным методом.

На декабрь 2020 г. не существует методов молекулярной диагностики (МД) почечных заболеваний (в данном случае – ОПП), которые бы отвечали всем заявленным требованиям [30].

Современные методы диагностики ОПП у пациентов с COVID-19. Отправными точками в диагностике ОПП у пациентов с COVID-19 в настоящее время остаются показатели креатинина и мочевины в биохимическом анализе крови [2]. Креатинин – функциональный биомаркер, уровень которого в крови повышается лишь спустя сутки после снижения скорости клубочковой фильтрации. Кроме того, у пациентов, чья функция почек исходно была снижена, определялось замедление роста показателей данного биомаркёра [29]. В ходе изучения роли плазменных факторов в диагностике ОПП, у больных с COVID-19 исходно высокий уровень креатинина и мочевины крови выявлен лишь в 15,5% и 14,1% соответственно [2].

Перспективной биологической жидкостью для определения повреждения почек является моча. Однако широкий спектр химического состава и разнообразный метаболом, который, во-первых, может быть не связан напрямую с исследуемой патологией, а во-вторых – находится под влиянием внешних и внутренних показателей (питания, образа жизни, водного баланса, возраста и

т.д.) ограничивают её использование. Наиболее распространенным способом обследования пациентов является общий анализ мочи. На ОПП при COVID-19 могут указывать протеинурия и/или гематурия, которые определялись в 44% и 26,7% случаев соответственно [2]. Однако данные изменения регистрировались на стадиях необратимого повреждения и не подходили для ранней диагностики.

Перспективные методы диагностики ОПП у пациентов с COVID-19. Протеомный анализ. Протеом – совокупность белков, транслированных из информационной РНК, или транскриптома. Протеомный анализ играет ведущую роль в поиске маркеров повреждения почек при COVID-19, так как большинство из них являются белками. Все из приведенных далее маркеров обнаруживаются в моче, но зачастую не при использовании масс-спектрометрии (МС), а с помощью ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – иммуноферментным анализом).

На данный момент МС – многообещающий и точный метод в данной области. Представляет собой инструментальный метод определения структуры соединений посредством перевода вещества в ионизированное состояние, разделения образующихся ионов по величинам отношения массы к заряду и регистрации ионов каждого вида [31]. Главным преимуществом МС является возможность определять одновременно большое количество молекул на множестве проб за небольшой промежуток времени. Следовательно, есть возможность сделать комплексный анализ на все маркеры ОПП, а не на ограниченное количество, как в случае с ELISA. Кроме того последний метод является дорогим и неавтоматизированным.

Наибольший интерес представляет исследование полимеров с массой до 20-25 kDa, позволяющие наблюдать спектры высокого разрешения и не требующие предварительного фракционирования и очищения проб от других низкомолекулярных соединений.

Среди известных полимеров, особое значение уделяют маркерам повреждения проксимальных канальцев, как наиболее чувствительных к гипоксии [32]: цистатин С, NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin – липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов), TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinases-2 – тканевой ингибитор металлопротеиназы-2), KIM-1 (Kidney Injury Molecule-1 – молекула повреждения почек-1), L-FABP (liver-type fatty acid-binding protein – протеин печеночного типа, связывающий жирные кислоты), IL-18 (interleukin-18 – интерлейкин-18), IGFBP-7 (insulin-like growth factor binding protein – инсулиноподобный белок-7, связывающий фактор роста), NAG (N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза).

Цистатин С – внеклеточный ингибитор цистеиновых протеаз, полипептид, состоящий из 120 аминокислотных остатков и синтезирующийся всеми ядродержащими клетками организма. Цистатин С свободно фильтруется через клубочковую мембрану, однако в норме, в отличие от креатинина, полностью метаболизируется проксимальными ТЭК. Цистатин С плазмы крови является биомаркером дисфункции гломерулярного аппарата, а цистатин С мочи – дисфункции проксимальных ТЭК [33]. Так, H. Fattah и соавт. [33] показали, что данный фактор – оптимальный индикатор гломерулярной дисфункции при определении его в сыворотке крови. Однако повышение уровня цистатина С в биологических средах мог-

ло быть ассоциировано не только с ОПП, но и сепсисом и неблагоприятным клиническим исходом [34].

NGAL, также известный как липокалин-2, в норме стимулирует дифференцировку и структурную реорганизацию эпителия канальцев [35]. Уровень данного протеина значительно повышался в моче (uNGAL) в ответ на ишемическое и токсическое повреждение почки. При ОПП uNGAL, синтезированный в дистальных частях нефрона, ингибировал бактериальный рост, связывал ионы железа, стимулировал пролиферацию клеток в данном сегменте и угнетал их апоптоз. NGAL, фильтруясь в гломерулах, реабсорбировался в проксимальных канальцах путем эндоцитоза с последующим расщеплением в лизосомах. Таким образом, увеличение концентрации данного маркера в моче могло указывать на повреждение проксимальных канальцев. Установлено, что уровни NGAL в сыворотке и моче коррелировали как с ОПП, так и с сепсисом и другими состояниями [35].

TIMP-2 с молекулярной массой 21 kDa – фермент, который экспрессируется преимущественно в клубочках и канальцах почки и участвует в блокировке клеточного цикла на уровне G1-фазы. Деление клеток почечных канальцев останавливалось на данном этапе преимущественно после ишемического повреждения, что подтверждалось высокой экспрессией TIMP-2 при ОПП [36].

TIMP-2 в биологических средах определялся вместе с IGFBP-7. Последний – белок, являющийся маркером стресса клетки в раннюю фазу повреждения канальцев. IGFBP-7 также может инициировать остановку G1-фазы, что блокирует деление потенциально поврежденной клетки. Возможен также и паракринный сигнальный эффект данного фактора на соседние клетки. Таким образом, данные белки, являясь маркерами остановки клеточного цикла, отражают острое и необратимое повреждение ТЭК. F. Husain-Syed и соавт. [36] установили, что IGFBP-7 и TIMP-2 могут выступать в качестве факторов риска прогрессирования ОПП у пациентов с COVID-19. Авторы доказали, что на начальной стадии ОПП мочевые уровни IGFBP-7 и TIMP-2 не отличались от нормальных показателей. Регистрация низких мочевых концентраций данных маркеров у пациентов без последующего прогрессирования ОПП подтверждало возможную распространенность субклинического повреждения почек при COVID-19 и требовало дальнейшего исследования. У пациентов со 2 и 3 стадией ОПП регистрировались высокие показатели этих маркеров. В ходе работы доказано, что у всех пациентов с исходными мочевыми уровнями TIMP-2 и IGFBP7 более 2 нг/мл 1 стадия ОПП неизбежно прогрессировала до 3-й стадии и требовала ЗПТ, менее 0,3 нг/мл – прогрессирование не наблюдалось [36].

Kidney injury molecule-1 (KIM-1) – трансмембранный гликопротеин, который не обнаруживается в нормальных тканях почек, однако высоко экспрессируется эпителием проксимальных канальцев при ишемии или токсическом повреждении. Гликопротеин является фосфатидилсеринным сквенджер-рецептором, который трансформирует эпителиальные клетки проксимальных канальцев в «полупрофессиональные» фагоциты для очистки просвета канальцев от апоптотического дебриса. Рост уровня мочевого KIM-1 регистрируется даже при небольшом повреждении почек (включая нефротоксическое действие), что позволяет использовать его для ранней диагностики ОПП. S.G. Cosa и соавт. [37] в

ходе изучения биомаркеров повреждения почек (NGAL, IL-18, KIM-1 и L-FABP) в моче установили повышение только уровня KIM-1, что позволило им сделать выводы о решающем значении данного фактора в прогнозировании течения ОПП и исхода заболевания.

T. Luther и соавт. [38] помимо KIM-1 в моче определяли содержание цистатина С, NGAL и TIMP-2. Авторы выявили, что при поступлении уровень цистатина С был повышен в моче в 75% случаев, NGAL – 25%, KIM-1 и TIMP-2 – 67% и 50% соответственно. Таким образом, исходные мочевые показатели всех вышеуказанных биомаркеров были повышены у большинства пациентов, однако это не позволяло достоверно судить о степени повреждения почек. У пациентов находящихся в ОРИТ повышение концентрации этих маркеров в моче коррелировало с тяжестью ОПП [38].

L-FABP (12-16 kDa) – белок, который экспрессируется в тканях с активным метаболизмом жирных кислот. У здорового человека он практически не обнаруживается в моче. В почечной ткани L-FABP экспрессируется в проксимальных канальцах и появляется в моче в ответ на гипоксию. D. Katagiri и соавт. [39] показали, что L-FABP – биомаркер ОПП и ХБП. Уровень протеина в моче резко возрастал у пациентов с тяжёлой степенью повреждения почек, требующих ЗПТ или непосредственно перед летальным исходом.

NAG (140 kDa) – лизосомальный фермент, локализованный преимущественно в почечных канальцах и расщепляющий химические связи гликозидов и аминокислот. NAG не проходит через мембрану клубочка из-за высокой массы, а обнаружение его в моче свидетельствует о повреждении канальцев, либо о высвобождении лизосомальных ферментов без разрушения клеток. Прямая корреляция между повышением индекса NAG/креатинин и тяжестью течения ОПП указывала на возможность использования данного маркера в качестве фактора риска формирования и прогрессирования патологии [40].

IL-18 – провоспалительный цитокин, который секретируется различными антиген-презентирующими клетками. IL-18 – медиатор ишемического повреждения, который полностью метаболизируется в проксимальных канальцах и появляется в моче при их дисфункции. Мочевой уровень цитокина возрастает при ОКН и представляет собой предиктор неблагоприятного исхода в кардиохирургической практике. L.M. LeBlanc и соавт. [41] установили, что изменение количества цитокина в моче позволяло констатировать ОПП за 24 часа до подъёма креатинина в сыворотке и прогнозировать потребность в ЗПТ. Однако другими авторами установлено, что повышение концентрации IL-18 в моче указывало на низкий риск формирования ОПП, а также было характерно для сепсиса без повреждения почек [35].

Помимо вышеуказанных протеомных маркеров, особое внимание в диагностике ОПП уделяется определению в моче таких белков, как UMA (urine microalbumin – микроальбумин мочи), A1M (α 1-microglobulin – α 1-микроглобулин), u-Tr (urine transferrin – трансферрин мочи).

UMA (~ 21 kDa) – маркер для мониторинга прогрессирования диабетической болезни почек. Повышенный уровень UMA может указывать на повреждение проксимальных канальцев. Однако отсутствие специфичности для ОПП может ограничить его полезность.

A1M (~27 kDa) – плазменный протеин, который синтезируется в печени и выполняет роль иммунорегуля-

тора и антиоксиданта. A1M свободно проникает через гломерулярный фильтр и примерно на 99% реабсорбируется в проксимальных канальцах, где и метаболизируется. Таким образом, протеин может указывать на дисфункцию проксимальных канальцев [42].

u-Tr (~76.5 kDa) – β -глобулин, отвечающий за транспорт железа в организме. Синтезируется преимущественно в печени в виде апоотрансферрина и обладает умеренным предиктивным значением в отношении тубулоинтерстициального склероза и атрофии канальцевого эпителия, а также является маркером нарушения клубочковой проницаемости.

X.W. Hong и соавт. [43] у пациентов с COVID-19 показали повышение уровней MA, A1M, Tr, Ig мочи при увеличении сывороточного креатинина и азота мочи. Эти маркеры могут быть полезными для мониторинга функции почек. Однако из-за малого количества изученных в исследовании образцов требуется дальнейшее изучение их диагностической значимости.

Метаболомный анализ. Метаболом – совокупность всех низкомолекулярных (не более 1,5 kDa) веществ, входящих в состав клетки. Подходят для ранней диагностики ОПП при использовании МС, однако у пациентов с COVID-19 они менее специфичны и чувствительны по сравнению с протеомными показателями. Таким образом, целесообразно исследовать их в комплексе.

Для анализа метаболома, помимо МС, подходит и ЯМР-спектроскопия (спектроскопия ядерного магнитного резонанса) – метод, основанный на поглощении радиочастотного электромагнитного излучения ядрами образца с ненулевым магнитным моментом, помещенного в постоянное магнитное поле. К преимуществам последнего относятся простота подготовки образцов и быстрота анализа. Недостатком – относительно низкая чувствительность в сравнении с МС.

Среди низкомолекулярных мочевых маркеров, особое внимание уделяется: креатинину, мочевой кислоте, ADMA (asymmetric dimethylarginine – асимметричный диметиларгинин), АМФ (аденозинмонофосфат), гипоксантину, инозину.

Креатинин (~113 Da) – продукт распада креатинфосфата в мышечной ткани. Креатинин свободно проходит через гломерулярный фильтр и при минимальной реабсорбции экскретируется без значительных метаболических изменений [2]. Отслеживание уровня применяется для оценки функционального состояния почек. Однако изменение концентрации при ОПП происходит поздно и наблюдалось при других состояниях.

Мочевая кислота (~168 Da) – конечный продукт пуринового метаболизма, который подвергается клубочковой фильтрации. Снижение содержания мочевой кислоты в моче свидетельствует о нарушении данной функции.

ADMA (~202 Da) – метилированный аналог аргинина, который высвобождается в процессе метаболизма белка. Он элиминируется из крови путем экскреции в мочу и деградации под действием ферментов. Снижение уровня маркера в моче из-за нарушенной элиминации обуславливает повышение его содержания в крови. ADMA – эндогенный ингибитор NO-синтазы. Отрицательный эффект на NO-синтазу является причиной повышения ADMA в крови, что свидетельствует об эндотелиальной дисфункции и прогрессировании повреждения почек при COVID-19. Более того, ADMA накапливается в почках во время оксидативного стресса и путем ингиби-

рования NO-синтазы обостряет ишемическое повреждение. Основным субстратом для выработки NO является L-аргинин [44]. При эндотелиальной дисфункции концентрация L-аргинина намного превышает концентрацию NO-синтазы, однако при введении L-аргинина извне происходит увеличение скорости кровотока, наблюдается так называемый «L-аргининовый парадокс». Этот феномен осуществляется при наличии в клетках определенных концентраций свободного асимметричного ADMA, который в условиях *in vivo* конкурирует с аргинином на уровне транспортера NO-синтаз [44].

Относительно показателей истощения АТФ (АМФ, гипоксантин, инозин, цАМФ) известно, что гипоксия и нефротоксические агенты могут вызывать истощение внутриклеточного АТФ. Метаболиты АТФ посредством диффузии свободно выходят из проксимальных эпителиальных клеток, поэтому могут быть использованы в качестве маркеров нарушения метаболизма АТФ при ОПП. Кроме того, цАМФ, который продуцируется в почках в ответ на недостаток энергии, является мощным индуктором апоптоза [45].

Заключение. Высокая частота развития ОПП у пациентов с COVID-19 напрямую коррелирует с показателями госпитальной летальности, и требуют особого внимания к вопросам его диагностики. Существующие методы определения острого нарушения функции почек позволяют установить её снижение только на этапе клинических проявлений и необратимых изменений в более чем 50 % функционирующих нефронов. Установлено, что ведущая роль в индукции и прогрессировании ОПП при COVID-19 принадлежит цитокиноопосредованному механизму. Учитывая вовлечение в процесс всех структур нефрона, исследование протеома и метаболома мочи с применением неинвазивных методов диагностики даст возможность идентифицировать как отдельные маркеры ОПП так и молекулярные комплексы. Продолжается активный поиск потенциальных молекулярных мишеней для регистрации начальных этапов развития ОПП у данной категории пациентов. Разработка панели высокочувствительных и специфичных биомаркеров повреждения почек позволит диагностировать ранние этапы ОПП, оценивать эффективность проводимой терапии и прогнозировать течение патологии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* 2020; 8(5):475–481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
2. Cheng Y., Luo R., Wang K., Zhang M., Wang Z., Dong L. et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney International.* 2020;97(5):829–838. doi:10.1016/j.kint.2020.03.005.
3. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020; 395(10229):1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
4. Zhang G., Hu C., Luo L., Fang F., Chen Y., Li J. et al. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China. *J. Clin. Virol.* 2020; 127:104364. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104364.
5. Fisher M., Neugarten J., Bellin E., Yunes M., Stahl L., Johns T.S. et al. AKI in hospitalized patients with and without COVID-19: a comparison study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2020; 31(9):2145–2157. doi: 10.1681/ASN.2020040509.
6. Pei G., Zhang Z., Peng J., Liu L., Zhang C., Yu C. et al. Renal involvement and early prognosis in patients with COVID19 pneumonia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2020; 31(6): 1157–65. doi: 10.1681/ASN.2020030276.
7. Ng J.H., Hirsch J.S., Hazzan A., Wanchoo R., Shah H.H., Malieckal D.A. et al. Northwell Nephrology COVID-19 Research Consortium. Outcomes Among Patients Hospitalized With COVID-19 and Acute Kidney Injury. *Am. J. Kidney Dis.* 2021; 77(2):204–215.e1. doi: 10.1053/j.ajkd.2020.09.002.
8. Peerapornratana S., Manrique-Caballero C.L., Gómez H., Kellum J.A. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment. *Kidney Int.* 2019;96:1083–1099. doi: 10.1016/j.kint.2019.05.026.
9. Grasselli G., Zangrillo A., Zanella A., Antonelli M., Cabrini L., Castelli A. et al. COVID-19 Lombardy ICU Network. Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA.* 2020;323(16):1574–1581. doi: 10.1001/jama.2020.5394.
10. Imai Y., Parodo J., Kajikawa O., de Perrot M., Fischer S., Edwards V. et al. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA.* 2003;289(16):2104–12. doi: 10.1001/jama.289.16.2104.
11. Wang M., Hao H., Leeper N.J., Zhu L. Thrombotic Regulation from the Endothelial Cell Perspectives. *Arter.Thromb.Vasc.Biol.* 2018;38:90–95. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.310367.
12. Buckley L.F., Cheng J.W.M., Desai A. Cardiovascular Pharmacology in the time of COVID-19: A focus on angiotensin converting enzyme 2. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2020;75(6):526–529. doi: 10.1097/FJC.0000000000000840.
13. Reynolds H.R., Adhikari S., Pulgarin C., Troxel A.B., Iturrate E., Johnson S.B. et al. Renin–angiotensin–aldosterone system inhibitors and risk of COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(25): 2441–8. doi: 10.1056/NEJMoa2008975.
14. Gabarre P., Duma G., Dupont T., Darmon M., Azoulay E., Zafrani L. Acute kidney injury in critically ill patients with COVID-19. *Intensive Care Med.* 2020;46(7):1339–1348. doi:10.1007/s00134-020-06153-9.
15. Ruan Q., Yang K., Wang W., Jiang L., Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):846–848. doi: 10.1007/s00134-020-05991-x.
16. Golmai P., Larsen C.P., DeVita M.V., Wahl S.J., Weins A., Rennke H.G. et al. Histopathologic and ultrastructural findings in post-mortem kidney biopsy material in 12 patients with AKI and COVID-19. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2020;31(9):1944–1947. doi:10.1681/ASN.2020050683.
17. Su H., Yang M., Wan C., Yi L.X., Tang F., Zhu H.Y. et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int.* 2020;98(1):219–227. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.003.
18. Gkogkou E., Barnasas G., Vougas K., Trougakos I.P. Expression profiling meta-analysis of ACE2 and TMPRSS2, the putative anti-inflammatory receptor and priming protease of SARS-CoV-2 in human cells, and identification of putative modulators. *Redox Biol.* 2020;36:101615. doi: 10.1016/j.redox.2020.101615.
19. Pan X.W., Xu D., Zhang H., Zhou W., Wang L., Cui X. Identification of a potential mechanism of acute kidney injury during the COVID-19 outbreak: a study based on single-cell transcriptome analysis. *Intensive Care Med.* 2020;46(6):1114–1116. doi: 10.1007/s00134-020-06026-1.
20. Martinez-Rojas M.A., Vega-Vega O., Bobadilla N.A. Is the kidney a target of SARS-CoV-2? *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2020;318(6):F1454–F1462. doi: 10.1152/ajprenal.00160.2020.
21. Ding Y., He L., Zhang Q., Huang Z., Che X., Hou J. et al. Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J. Pathol.* 2004;203(2):622–30. doi: 10.1002/path.1560.
22. Diao B., Wang C., Wang R., Feng Z., Tan Y., Wang H. et al. Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syn-

BIOCHEMISTRY

- drome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) *Infection*. 2020 doi: 10.1101/2020.03.04.20031120.
23. Ng J.H., Bijl V., Sparks M.A., Sise M.E., Izzedine H., Jhaveri K.D. Pathophysiology and Pathology of Acute Kidney Injury in Patients With COVID-19. *Adv. Chronic Kidney Dis*. 2020;27(5):365-376. doi: 10.1053/j.ackd.2020.09.003.
 24. Chousterman B.G., Swirski F.K., Weber G.F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin. Immunopathol*. 2017;39(5):517-528. doi: 10.1007/s00281-017-0639-8.
 25. Wu C., Chen X., Cai Y., Xia Jia'an, Zhou X., Xu S. et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern. Med*. 2020;180(7):934-943. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
 26. Kissling S., Rotman S., Gerber C., Halfon M., Lamoth F., Comte D. et al. Collapsing glomerulopathy in a COVID-19 patient. *Kidney Int*. 2020;98(1):228-231. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.006.
 27. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
 28. Lerolle N., Nochy D., Guérot E., Bruneval P., Fagon J.Y., Diehl J.L. et al. Histopathology of septic shock induced acute kidney injury: apoptosis and leukocytic infiltration. *Intensive Care Med*. 2010;36(3):471-8. doi: 10.1007/s00134-009-1723-x.
 29. Wu H., Larsen C.P., Hernandez-Arroyo C.F., Mohamed M.M.B., Caza T., Sharshir M. et al. AKI and Collapsing Glomerulopathy Associated with COVID-19 and APOL1 High-Risk Genotype. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2020;31(8):1688-1695. doi: 10.1681/ASN.2020050558.
 30. Summary of the advantages and disadvantages of various... [Electronic resource] // ResearchGate. URL: https://www.researchgate.net/figure/Summary-of-the-advantages-and-disadvantages-of-various-bio-fluids-The-figure-shows-the_fig2_341702537 (accessed: 06.12.2020).
 31. Awdishu L., Tsunoda S., Pearlman M., Kokoy-Mondragon C., Ghassemian M., Naviaux R.K. et al. Identification of Maltase Glucoamylase as a Biomarker of Acute Kidney Injury in Patients with Cirrhosis. *Crit. Care Res. Pract*. 2019; 2019: 5912804. doi: 10.1155/2019/5912804.
 32. Soveri I., Helmersson-Karlqvist J., Fellström B., Larsson A. Day-to-day variation of the kidney proximal tubular injury markers urinary cystatin C, KIM1, and NGAL in patients with chronic kidney disease. *Ren. Fail*. 2020;42(1):400-404. doi: 10.1080/0886022X.2020.1757463.
 33. Fattah H., Vallon V. Tubular Recovery after Acute Kidney Injury. *Nephron*. 2018;140(2):140-143. doi: 10.1159/000490007.
 34. Nejat M., Pickering J.W., Walker R.J., Westhuyzen J., Shaw G.M., Frampton C.M. et al. Urinary cystatin C is diagnostic of acute kidney injury and sepsis, and predicts mortality in the intensive care unit. *Crit. Care*. 2010;14(3):R85. doi: 10.1186/cc9014.
 35. Koyner J.L., Garg A.X., Coca S.G., Sint K., Thiessen-Philbrook H., Patel U.D. et al. TRIBE-AKI Consortium. Biomarkers predict progression of acute kidney injury after cardiac surgery. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2012;23(5):905-14. doi: 10.1681/ASN.2011090907.
 36. Husain-Syed F., Wilhelm J., Kassoumeh S., Birk H.W., Herold S., Vadász I. et al. Acute kidney injury and urinary biomarkers in hospitalized patients with coronavirus disease-2019. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2020;35(7):1271-1274. doi: 10.1093/ndt/gfaa162.
 37. Coca S.G., Nadkarni G.N., Garg A.X., Koyner J., Thiessen-Philbrook H., McArthur E. et al. TRIBE-AKI Consortium. First Post-Operative Urinary Kidney Injury Biomarkers and Association with the Duration of AKI in the TRIBE-AKI Cohort. *PLoS One*. 2016;11(8):e0161098. doi: 10.1371/journal.pone.0161098.
 38. Luther T., Bülow-Anderberg S., Larsson A., Rubertsson S., Lipcsey M., Frithiof R. et al. COVID-19 patients in intensive care develop predominantly oliguric acute kidney injury. *Acta Anaesthesiol. Scand*. 2021;65(3):364-372. doi: 10.1111/aas.13746.
 39. Katagiri D., Ishikane M., Asai Y., Kinoshita N., Ota M., Moriyama Y. et al. Evaluation of Coronavirus Disease 2019 Severity Using Urine Biomarkers. *Crit. Care Explor*. 2020;2(8):e0170. doi: 10.1097/CCE.000000000000170.
 40. Sun D.Q., Wang T.Y., Zheng K.I., Targher G., Byrne C.D., Chen Y.P. et al. Subclinical Acute Kidney Injury in COVID-19 Patients: A Retrospective Cohort Study. *Nephron*. 2020;144(7):347-350. doi: 10.1159/000508502.
 41. LeBlanc L.M., Paré A.F., Jean-François J., Hébert M.J., Surette M.E., Touaibia M. Synthesis and antiradical/antioxidant activities of caffeic acid phenethyl ester and its related propionic, acetic, and benzoic acid analogues. *Molecules*. 2012;17(12):14637-50. doi: 10.3390/molecules171214637.
 42. Pugia M.J., Valdes R. Jr., Jortani S.A. Bikunin (urinary trypsin inhibitor): structure, biological relevance, and measurement. *Adv. Clin. Chem*. 2007;44:223-45. doi: 10.1016/s0065-2423(07)44007-0.
 43. Hong X.W., Chi Z.P., Liu G.Y., Huang H., Guo S.Q., Fan J.R. et al. Characteristics of Renal Function in Patients Diagnosed With COVID-19: An Observational Study. *Front. Med (Lausanne)*. 2020;7:409. doi: 10.3389/fmed.2020.00409.
 44. Gambardella J., Khondkar W., Morelli M.B., Wang X., Santulli G., Trimarco V. Arginine and Endothelial Function. *Biomedicines*. 2020;8(8): 277. doi: 10.3390/biomedicines8080277.
 45. van Kempen TATG, Deixler E. SARS-CoV-2: influence of phosphate and magnesium, moderated by vitamin D, on energy (ATP) metabolism and on severity of COVID-19. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2021;320(1):E2-E6. doi: 10.1152/ajpendo.00474.2020.