

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНДОТЕЛИНА-1 ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ

Кондратенко О.А.<sup>1</sup>, Козыро И.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Учреждение здравоохранения  
«10-я городская детская клиническая поликлиника»,  
<sup>2</sup>Учреждение образования  
«Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь

**Резюме.** Неуклонный рост хронических заболеваний почек у детей, их частое прогрессирование до терминальной почечной недостаточности, приводящей к ранней инвалидизации пациентов уже в детском возрасте, остается одной из наиболее актуальных проблем современной педиатрии и детской нефрологии [1]. Несмотря на широкие возможности современных методов терапии, раннее выявление хронических заболеваний почек разной этиологии, замедление их прогрессирования, снижение осложнений, обусловленных почечной дисфункцией, по-прежнему требует совершенствования. В статье представлены результаты определения уровня маркера эндотелиальной дисфункции – эндотелина-1 в сыворотке крови и моче детей с хроническими заболеваниями почек для оценки возможности его использования в диагностике как гломерулярной, так и негломерулярной патологии. Установлено, что эндотелиальная дисфункция является центральным компонентом механизмов, лежащих в основе развития и поддержания хронического почечного повреждения. Исследование концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови и моче позволит расширить диагностические возможности в выявлении хронических заболеваний почек у детей.

**Ключевые слова:** эндотелин-1, неиммуноопосредованные гломерулопатии, иммуноопосредованные гломерулопатии, негломерулярные заболевания, эндотелиальная дисфункция.

**Введение.** Эндотелины – мощные вазоконстрикторные пептиды, состоящие из 21 аминокислоты и присутствующие во многих тканях. Эндотелины выполняют множество физиологических функций и участвуют в качестве медиаторов при многих патологических состояниях. Эндотелин-1 (ЭТ-1) – самый распространенный среди эндотелинов, вырабатывается сосудистым эндотелием, а также эпителиальными клетками почек, легких и толстой кишки. Это мощный вазоконстриктор, который в том числе способствует сердечному, сосудистому и почечному воспалению, гипертрофии и фиброзу. ЭТ-1 участвует в развитии фокального сегментарного склероза при различных болезнях почек, включая диабетическую и серповидноклеточную нефропатию, а также интерстициального фиброза в почечной ткани даже при отсутствии гипертензии [2].

Связь между заболеванием почек и эндотелином-1 (ЭТ-1) достаточно хорошо изучена. Современная морфологическая концепция хронической болезни почек (ХБП) базируется на том, что патологические изменения, такие как гломерулярный склероз, интерстициальный фиброз, гломерулярная гипертензия, клеточная гипертрофия, воспаление и застой внеклеточного матрикса, лежат в основе патофизиологии [3]. При хронических заболеваниях почек ЭТ-1 играет центральную и хорошо картированную физиологическую роль в механизме, который может предшествовать обнаруживаемому снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и альбуминурии, вызывая

повышенную гломерулярную гипертонию, клеточную гипертрофию и воспаление. Эти изменения в разной степени способствуют снижению функции почек [4]. Эндотелий клубочков вырабатывает основную часть ЭТ-1 в почках и называется «паракринным производством», однако именно сывороточные уровни обычно доступны для анализа. Повышенные уровни ЭТ-1 могут повреждать подоциты (висцеральные эпителиальные клетки капилляров клубочка), вызывать структурные изменения и снижение их барьерной функции. Предположительно, дискретная эндотелиальная дисфункция у более молодой популяции может предшествовать другим наблюдаемым факторам риска, таким как снижение СКФ или альбуминурия, которые являются суррогатами прогрессирования заболевания, а ЭТ-1 может выступать в качестве маркера риска метаболических нарушений, связанных с эндотелиальной дисфункцией [5].

Метаболический ацидоз при ХБП стимулирует выработку внутрипочечных паракринных гормонов, включая ангиотензин II, альдостерон и ЭТ-1, которые способствуют воспалению и фиброзу, что приводит к ускоренному снижению СКФ [6]. Для предотвращения этого пагубного развития и предоставления надлежащей профилактической помощи осложнений раннее выявление почечной дисфункции имеет большое значение.

**Цель работы:** определить уровень эндотелина-1 в сыворотке крови и моче пациентов с хроническими заболеваниями почек и оценить возможность использования этого маркера в их диагностике.

**Материалы и методы.** В исследование включены 135 пациентов педиатрического отделения №1 (для нефрологических больных) Белорусского Центра детской нефрологии и заместительной почечной терапии УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска с хроническими заболеваниями почек в возрасте от 2 до 17 лет. Обследованные дети были распределены по группам: с первичными иммуноопосредованными гломерулопатиями (ГП) (n=32), с вторичными иммуноопосредованными ГП (n=37), с неиммуноопосредованными ГП (n=32), а также с негломерулярными хроническими заболеваниями почек (n=34), составившие группу сравнения. Все дети с гломерулопатиями имели морфологически подтвержденный диагноз. Критерием включения пациентов в группу сравнения было отсутствие поражения почечных клубочков. В группу контроля вошли 30 детей (пациенты педиатрического отделения №2 (для кардиологических больных) УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска) без признаков поражения почек и наличия аутоиммунного процесса.

Объектом исследования была сыворотка крови и моча пациентов исследуемых групп и группы контроля. Для определения уровня эндотелина-1 в сыворотке крови производился забор венозной крови с последующим центрифугированием образцов. Полученная сыворотка хранилась в пробирках без использования консерванта при температуре -20 °С. Для определения концентрации исследуемого маркера эндотелиальной дисфункции в моче забор материала производился из утренней порции, полученной путем естественного мочеиспускания. Образцы также хранились в пробирках без использования консерванта при температуре -20 °С.

Молекулы эндотелиальной дисфункции исследовались с использованием тест-систем для ИФА-диагностики нескольких производителей с различной чувствительностью: Endothelin-1 ELISA Kit (EH0648, FineTest, Китай); Endothelin 1 ELISA Kit (E-EL-H0064, Elabscience, США); Endothelin 1 ELISA Kit (E1238Hu, BT LAB, Китай); Endothelin 1 (CEA482Hu, Cloud-Clone Corp., США). С учетом того, что концентрации исследуемой молекулы в биологических средах были исключительно малые, и чувствительность использованных наборов разных производителей отличалась, оценка производилась в баллах исходя из нормирования пределов измерений на 10.

Статистические данные представляли в виде Ме (25–75 %), где Ме – медиана, (25–75 % – межквартильный размах). Статистическая обработка полученного материала проводилась с применением стандартного пакета «Statistica 10.0», программы Microsoft Excel. Различия в группах были приняты статистически значимыми на уровне значимости  $p < 0,05$ .

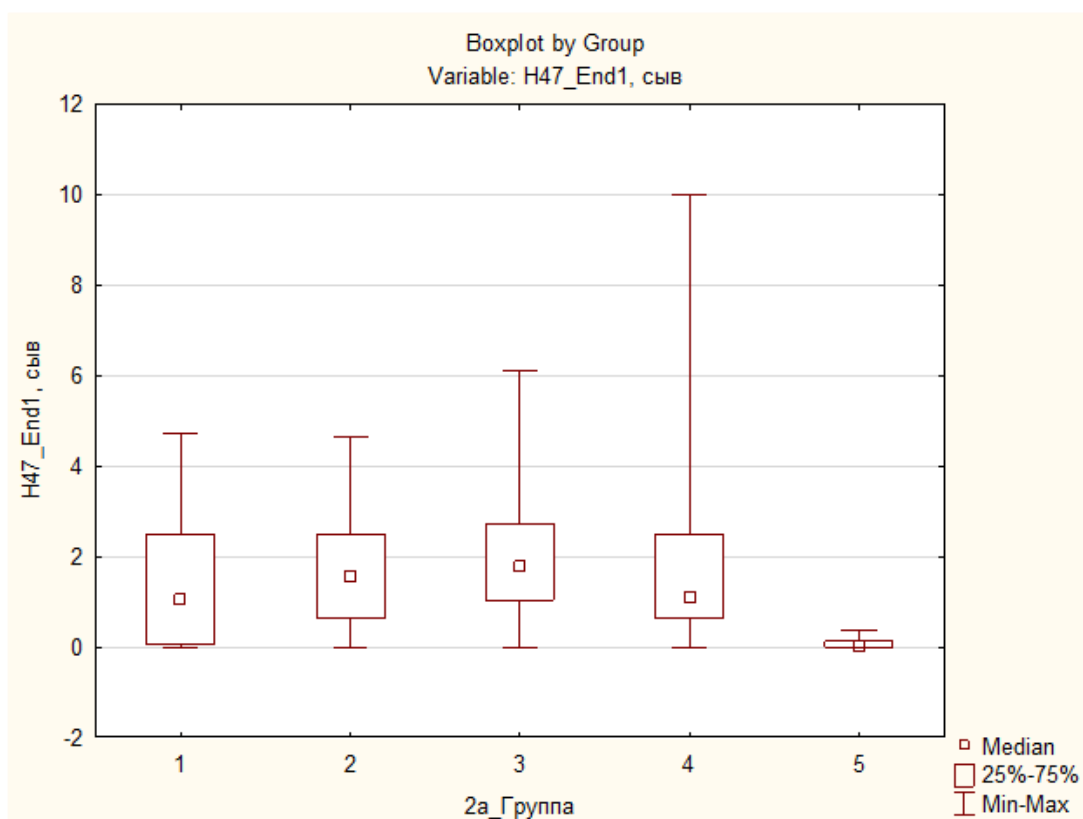
**Результаты и их обсуждение.** Эндотелиальная дисфункция представляет собой наиболее раннее и стойкое проявление сердечно-сосудистых заболеваний и является начальным признаком атеросклероза. Дети с ХБП имеют высокий риск развития сердечно-сосудистой патологии, которая может не проявляться до начала взрослой жизни. Появляется все больше доказательств того, что дети с ХБП, в свою очередь, имеют высокую частоту сердечно-сосудистых факторов риска и развивают на ранних стадиях заболевания изменения со стороны сердца и сосудов, которые считаются суррогатными маркерами ранних сердечно-сосудистых заболеваний и включают гипертрофию левого желудочка, дисфункцию левого желудочка, атеросклероз, кальцификаты аорты, утолщение интимы сонных артерий [7]. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии эндотелиальной дисфункции у пациентов с хроническими заболеваниями почек.

Уровни содержания эндотелина-1 в сыворотке крови и моче пациентов исследуемых групп, а также пациентов группы контроля представлены в баллах исходя из нормирования пределов измерений на 10 в таблице 1.

Таблица 1 – Концентрация эндотелина-1 в сыворотке крови и моче

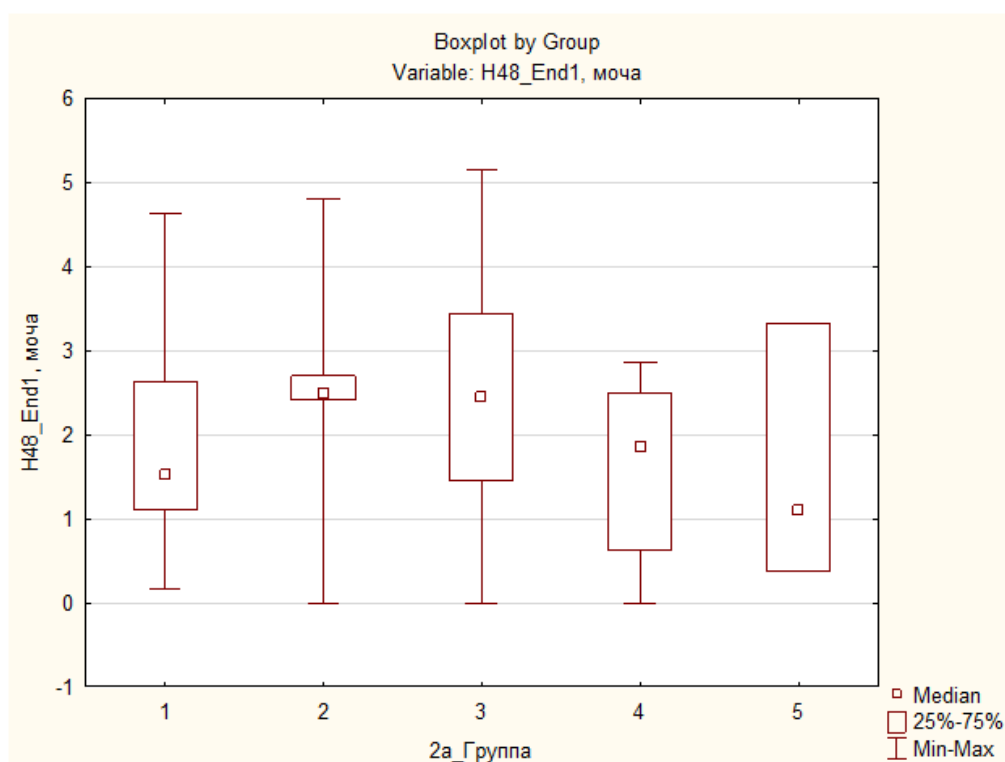
| Исследуемая группа                       | Эндотелин-1, сыворотка крови, Ме (25–75 %) | Эндотелин-1, моча, Ме (25–75 %) |
|------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------|
| Первичные иммуноопосредованные ГП (n=32) | 1,03<br>(0,06–2,5)                         | 1,52<br>(1,11–2,64)             |
| Вторичные иммуноопосредованные ГП (n=37) | 1,54<br>(0,63–2,5)                         | 2,5<br>(2,41–2,7)               |
| Неиммуноопосредованные ГП (n=32)         | 1,10<br>(0,63–2,5)                         | 1,86<br>(0,63–2,5)              |
| Негломерулярные заболевания (n=34)       | 1,78<br>(1,04–2,73)                        | 7,68<br>(5,12–12,8)             |
| Группа контроля (n=30)                   | 0<br>(0–0,1)                               | 1,1<br>(0,4–3,3)                |

По тесту Краскела-Уоллиса отмечены различия концентраций эндотелина-1 в сыворотке крови пациентов всех групп,  $p < 0,001$ . Полученные результаты наглядно демонстрирует рисунок 1.



**Рисунок 1 – Рассеяние уровня эндотелина-1 в сыворотке крови у детей исследуемых групп и контроля**

В моче различия содержания эндотелина-1 по тесту Краскела-Уоллиса также статистически значимы,  $p=0,001$  (рисунок 2).



**Рисунок 2 – Рассеяние уровня эндотелина-1 в моче у детей исследуемых групп и контроля**

Исходя из полученных достоверных различий содержания эндотелина-1 в сыворотке крови и моче детей с хроническими заболеваниями почек и пациентов

из группы контроля можно сделать вывод о возможном использовании данного маркера эндотелиальной дисфункции в комплексной диагностике хронических заболеваний почек у детей.

Интересно проанализировать, как отличается содержание эндотелина-1 в сыворотке крови и моче пациентов исследуемых групп между собой. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнение содержания эндотелина-1 в сыворотке крови и моче между пациентами разных групп

| Биологическая среда | Уровень значимости различий, р |          |          |          |          |
|---------------------|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|                     | Группы                         | 1 группа | 2 группа | 3 группа | 4 группа |
| Сыворотка крови     | 2 группа                       | 0,082    |          |          |          |
|                     | 3 группа                       | <0,05    | 0,077    |          |          |
|                     | 4 группа                       | 0,20     | 0,86     | <0,05    |          |
|                     | 5 группа                       | <0,001   | <0,001   | <0,001   | <0,001   |
| Моча                | 2 группа                       | <0,05    |          |          |          |
|                     | 3 группа                       | <0,05    | 0,75     |          |          |
|                     | 4 группа                       | 0,30     | <0,05    | <0,05    |          |
|                     | 5 группа                       | 0,13     | <0,001   | <0,05    | 0,85     |

Статистически достоверные различия содержания эндотелина-1 в сыворотке крови согласно критерию Манна-Уитни (U) отмечены между пациентами с первичными иммуноопосредованными ГП и неиммунными ГП, неиммунными ГП и негломерулярными заболеваниями почек ( $p<0,05$ ), между пациентами всех групп и контролем ( $p<0,001$ ). Уровень эндотелина-1 в моче у пациентов с первичными иммуноопосредованными ГП значимо отличен между группами с вторичными иммуноопосредованными ГП и неиммунными ГП ( $p<0,05$ ). Также достоверные различия содержания эндотелина-1 в моче получены между пациентами со вторичными иммуноопосредованными ГП, неиммунными ГП и негломерулярными заболеваниями, а также среди пациентов с вторичными иммуноопосредованными ГП, неиммунными ГП и контролем ( $p<0,05$ ). Таким образом, можно предположить, что эндотелин-1 может быть использован в дифференциальной диагностике гломерулярных и негломерулярных хронических заболеваний почек, а также гломерулопатий между собой.

Основываясь на анализе концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови можно оценить характеристики наличия хронического заболевания почек у детей. Параметры математической модели представлены в таблице 3.

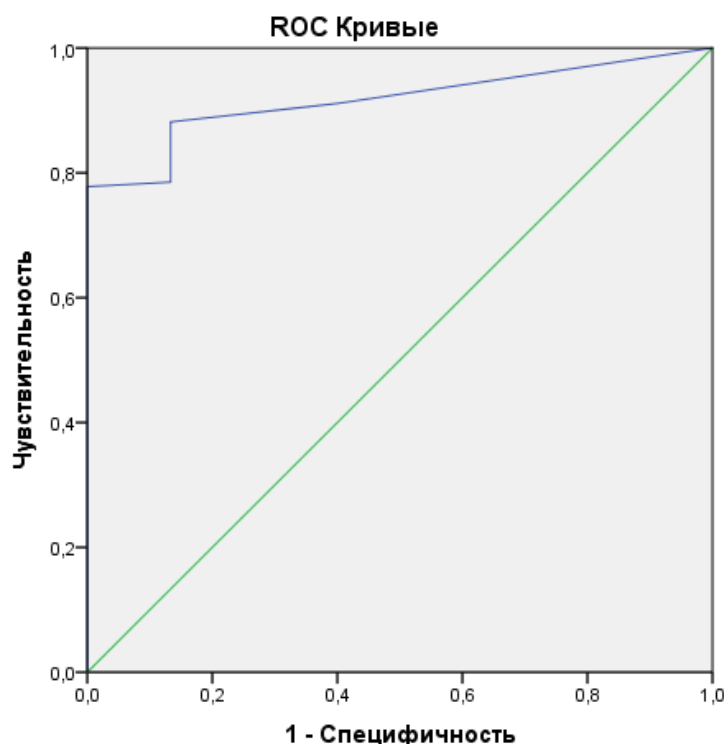
Таблица 3 – Параметры математической модели отношения шансов наличия заболевания по уровню эндотелина-1 в сыворотке крови

|                                  | В      | Средне-квадратичная ошибка | Значимость | Exp (В) | 95 % доверительный интервал для Exp (В) |          |
|----------------------------------|--------|----------------------------|------------|---------|-----------------------------------------|----------|
|                                  |        |                            |            |         | Нижняя                                  | Верхняя  |
| Уровень эндотелина-1 в сыворотке | 5,589  | 1,445                      | 0,000      | 267,379 | 15,745                                  | 4540,700 |
| Константа                        | -0,505 | 0,322                      | 0,117      | 0,603   |                                         |          |

Таким образом, при уровне эндотелина-1 5,59 статистическая значимость составила  $p<0,001$ , а отношение шансов достигло Exp (В) 267,38, из чего можно сделать

вывод, что определение эндотелина-1 в сыворотке крови обладает высоким свойством в отношении наличия ХБП у пациента.

На рисунке 3 представлены полученные результаты ROC-анализа.



Диагональные сегменты, сгенерированные связями.

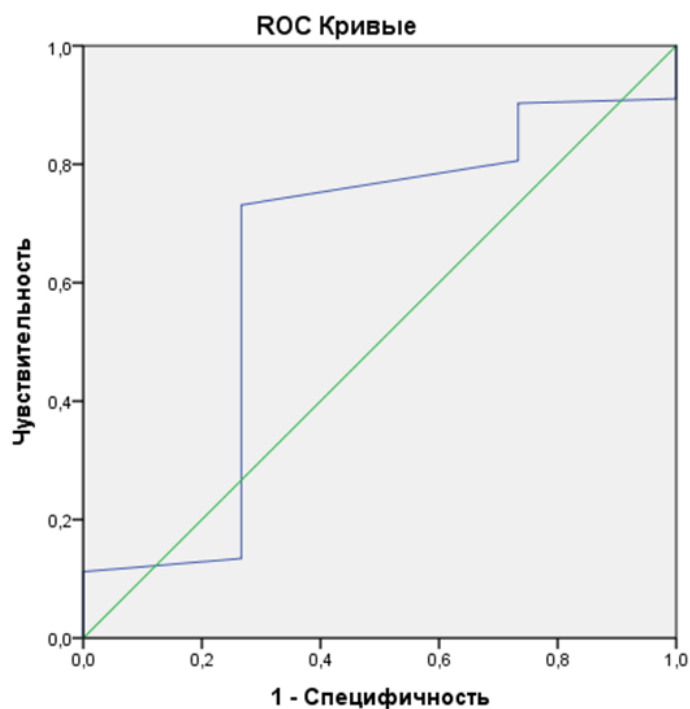
**Рисунок 3 – Анализ концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови**

При пороговом значении 0,80 для уровня эндотелина-1 в сыворотке крови чувствительность (Se) составляет 78,5 %, специфичность (Sp) – 86,7 %. AUC составила 0,92 при 95 % ДИ 87,5–95,8.

Таким же образом была рассчитана монофакторная логистическая регрессия для оценки диагностической возможности определения уровня эндотелина-1 в моче. Отношение шансов при концентрации эндотелина-1 в моче 0,46 достигло 1,58 при  $p < 0,05$  (таблица 4). Как видно, статистическая значимость значительно ниже относительно значения измерений эндотелина-1 в сыворотке крови. В целом AUC составила 0,63 при 95 % ДИ 51,2–75,5, что для нашей клинической задачи следует считать неудовлетворительным (рисунок 4).

Таблица 4 – Параметры математической модели отношения шансов наличия заболевания по уровню эндотелина-1 в моче

|                                | В     | Средне-<br>квадратичная<br>ошибка | Значимость | Exp (В) | 95 % доверительный<br>интервал для Exp (В) |         |
|--------------------------------|-------|-----------------------------------|------------|---------|--------------------------------------------|---------|
|                                |       |                                   |            |         | Нижняя                                     | Верхняя |
| Уровень эндотелина-1<br>в моче | 0,455 | 0,186                             | 0,014      | 1,577   | 1,096                                      | 2,268   |
| Константа                      | 0,673 | 0,363                             | 0,064      | 1,960   |                                            |         |



Диагональные сегменты, сгенерированные связями.

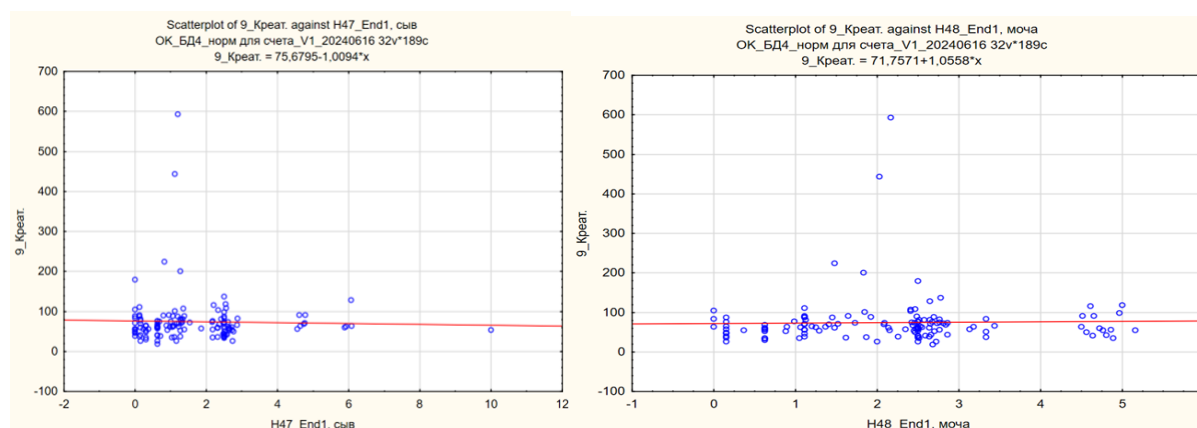
**Рисунок 4 – Анализ концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови**

Нами проведен корреляционный анализ статистической связи ( $\rho$ ,  $p < 0,05$ ) содержания эндотелина-1 в сыворотке крови и моче пациентов исследуемых групп с показателями, характеризующими почечную функцию (креатинин сыворотки, мочевины сыворотки, скорость клубочковой фильтрации (СКФ)), активность патологического процесса (С-реактивный белок, СОЭ, суточная протеинурия). Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Корреляционный анализ эндотелина-1, маркеров активности заболевания и почечной функции

|                              | Уровень значимости различий, $\rho$ |          |        |         |         |                      |
|------------------------------|-------------------------------------|----------|--------|---------|---------|----------------------|
|                              | Креатинин                           | Мочевина | СРБ    | СОЭ     | СКФ     | Суточная протеинурия |
| Эндотелин-1, сыворотка крови | 0,0639                              | 0,1178   | 0,0030 | -0,0494 | -0,1318 | -0,2282              |
| Эндотелин-1, моча            | 0,0323                              | 0,1840   | 0,0948 | -0,0211 | -0,1767 | -0,1987              |

Из полученных данных следует, что корреляционной связи между уровнем эндотелина-1 в исследуемых биологических средах и маркерами активности патологического процесса и почечной функции нет либо она слабая. Однако с учетом того, что корреляционный анализ актуален только при наличии пропорциональных соотношений показателей, было проведено исследование зависимостей с помощью диаграмм рассеяния. Рассмотрим на примере креатинина (рисунок 5).



**Рисунок 5 – Рассеяние уровня креатинина относительно эндотелина-1 в сыворотке крови и моче**

Визуальный анализ выявил закономерность, при которой концентрация креатинина, превышающая нормальные значения, наблюдается при уровне эндотелина-1 в сыворотке меньше 2,9, однако достигнутый уровень статистической значимости этой гипотезы составил  $p=0,64$ . Исходя из анализа рассеяния остальных показателей относительно уровня эндотелина-1 в сыворотке крови и моче с учетом мощности исследования также можно говорить только о тенденции к взаимосвязи, что не может претендовать на диагностический метод.

**Заключение.** Нарушение функции эндотелия является важным звеном патогенеза хронических заболеваний почек. Достоверные различия содержания эндотелина-1 в сыворотке крови и моче детей с хроническими заболеваниями почек против контроля позволяют предложить использовать данный маркер эндотелиальной дисфункции в комплексной диагностике хронических заболеваний почек у детей. Исследование концентрации эндотелина-1 для дифференциальной диагностики гломерулярных и негломерулярных заболеваний почек, а также гломерулопатий между собой представляется актуальным. На данном этапе исследования говорить об использовании эндотелина-1 в качестве маркера прогрессирования патологического процесса в почечной ткани не представляется возможным.

### Литература

1. Epidemiology of chronic kidney disease in children: a report from Lithuania / J. Masalskiene [et al.] // Medicina (Kaunas). – 2021. – P. 2–9.
2. Schiffrin, E.L. Endothelin System in Hypertension and Chronic Kidney Disease / E.L. Schiffrin, D.M. Pollock // Hypertension. – 2024. – P. 691–701.
3. Jankowich, M. Endothelin-1 levels and cardiovascular events / M. Jankowich, G. Choudhary // G Trends Cardiovasc. Med. – 2020. – P. 1–8.
4. Barton, M. Endothelin and the glomerulus in chronic kidney disease / M. Barton, A. Sorokin // Semin. Nephrol. – 2015. – P. 156–167.
5. Hellgren, M. Circulating endothelin-1 levels are positively associated with chronic kidney disease in women but not in men: a longitudinal study in the Vara-Skövde cohort / M. Hellgren [et al.] // BMC Nephrol. – 2021. – P. 2–22.
6. Wesson, D.E., Buysse, J.M., Bushinsky D.A. Mechanisms of Metabolic Acidosis-Induced Kidney Injury in Chronic Kidney Disease / D.E. Wesson [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2020. – P. 469–482.
7. García-Bello, J.A. Endothelial dysfunction in children with chronic kidney disease / J.A. García-Bello [et al.] // Nefrologia (Engl. Ed). – 2021. – P. 436–445.

# DIAGNOSTIC POSSIBILITIES OF DETERMINING ENDOTHELIN-1 IN CHRONIC KIDNEY DISEASES IN CHILDREN

**Kondratenko O.A.<sup>1</sup>, Kazyra I.A.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*10th City Children's Clinical Polyclinic,*

<sup>2</sup>*Belarusian State Medical University,*

*Minsk, Republic of Belarus*

The steady increase in chronic kidney diseases in children, their frequent progression to terminal renal failure, leading to early disability of patients already in childhood, remains one of the most pressing problems of modern pediatrics and pediatric nephrology. Despite the wide possibilities of modern methods of therapy, early detection of chronic kidney diseases of various etiologies, slowing down their progression, reducing complications caused by renal dysfunction, still requires improvement. The article presents the results of determining the level of the endothelial dysfunction marker – endothelin-1 in the serum and urine of children with chronic kidney diseases to assess the possibility of its use in the diagnosis of both glomerular and non-glomerular pathology. It was found that endothelial dysfunction is a central component of the mechanisms underlying the development and maintenance of chronic kidney damage. The study of the concentration of endothelin-1 in the serum and urine will expand the diagnostic capabilities in identifying chronic kidney diseases in children.

**Keywords:** endothelin-1, non-immune-mediated glomerulopathies, immune-mediated glomerulopathies, non-glomerular diseases, endothelial dysfunction.

*Поступила 30.09.2024*