

Диагностические возможности исследования цитокератина-18 при хронических заболеваниях почек у детей

¹О. А. Кондратенко, ²А. П. Мириленко, ³И. А. Козыро

¹10-я городская детская клиническая поликлиника,
Минск, Беларусь

²Белорусский государственный аграрный технический
университет, Минск, Беларусь

³Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Цель исследования. Оценить возможность использования лабораторного определения цитокератина-18 в комплексной диагностике хронических заболеваний почек у детей.

Материал и методы. Обследовано 137 пациентов с хроническими заболеваниями почек. В группу сравнения вошли условно здоровые дети без признаков поражения почек и аутоиммунного процесса. Количественное определение уровня цитокератина-18 проводили методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Отмечены различия концентраций цитокератина-18 в сыворотке крови пациентов всех групп ($p < 0,001$). В моче различия содержания цитокератина-18 по тесту Краскела — Уоллиса также показали статистическую значимость ($p < 0,001$). При уровне цитокератина-18 более 0,07 в сыворотке крови отношение шансов риска хронических заболеваний почек (ОШ) — 34,04 (95 % ДИ (9,5—122)). ROC-анализ показал диагностическую точность 85,0 % (95 % ДИ (76,9—93,1)), чувствительность — 81,6 %, специфичность — 88,5 %. При уровне цитокератина-18 более 0,09 в моче ОШ — 26,5 (95 % ДИ (8,4—84,3)), диагностическая точность — 83,7 % (95 % ДИ (74,9—92,6)), чувствительность — 73,8 %, специфичность — 84,6 %.

Заключение. Определение уровня цитокератина-18 в сыворотке крови и моче может быть использовано в диагностике хронических заболеваний почек у детей, в том числе для дифференциальной диагностики гломерулярных и негломерулярных хронических заболеваний почек, а также гломерулопатий между собой. Однако использование этого маркера апоптоза для прогнозирования прогрессирования заболевания и оценки тяжести процесса на данном этапе исследования не представляется возможным.

Ключевые слова: цитокератин-18, апоптоз, хронические заболевания почек, дети, гломерулопатии.

Objective. To evaluate the possibility of using laboratory determination of cytokeratin-18 in the complex diagnosis of chronic kidney diseases in children.

Materials and methods. 137 patients with chronic kidney diseases were examined. The comparison group included conditionally healthy children without signs of kidney damage and autoimmune process. Quantitative determination of cytokeratin-18 levels was performed by enzyme immunoassay.

Results. Differences in cytokeratin-18 concentrations in the blood serum of patients of all groups ($p < 0.001$), were noted. Differences in cytokeratin-18 levels in urine according to the Kraskel — Wallis test also showed statistical significance ($p < 0.001$). When the cytokeratin-18 level is > 0.07 in the blood serum, the odds ratio of the risk of chronic kidney disease (OR) is 34.04 (95 % CI (9.5—122)). ROC analysis showed diagnostic accuracy of 85.0 % (95 % CI (76.9—93.1)), sensitivity — 81.6 %, specificity — 88.5 %. With cytokeratin-18 levels > 0.09 in urine, the OR was 26.5 (95 % CI (8.4—84.3)), diagnostic accuracy was 83.7 % (95 % CI (74.9—92.6)), sensitivity was 73.8 %, and specificity was 84.6 %.

Conclusion. Determination of cytokeratin-18 levels in the blood serum and urine of pediatric patients can be used in the diagnosis of chronic kidney diseases in children, including for the differential diagnosis of glomerular and non-glomerular chronic kidney diseases,

as well as glomerulopathies among themselves. However, it is not possible to use this marker of apoptosis to predict the progression of the disease and assess the severity of the process at this stage of the study.

Key words: *cytokeratin-18, apoptosis, chronic kidney disease, children, glomerulopathies.*

HEALTHCARE. 2025; 3: 32—39

DIAGNOSTIC POSSIBILITIES OF CYTOKERATIN-18 INVESTIGATION IN CHRONIC KIDNEY DISEASES IN CHILDREN

O. Kondratenko, A. Mirilenko, I. Kazyra

Гибель клеток имеет как физиологическое, так и патологическое значение. Механизм уничтожения мертвых клеток работает гладко в нормальных условиях. Однако эта система может быть перегружена, в частности, во время хронического воспаления или повреждения тканей. В определенных обстоятельствах клетки могут регулировать («программировать») свою смерть, чтобы адаптировать иммунные реакции, тем самым изменяя влияние, которое их смерть окажет на окружающую среду [1].

Апоптоз — форма регулируемой гибели клеток, при которой умирающие клетки быстро поглощаются соседними клетками до разрыва плазматической мембраны и высвобождения внутриклеточного содержимого во внеклеточное пространство. Апоптоз считается неиммуногенным и невоспалительным процессом, который обеспечивает упорядоченное удаление нежелательных или поврежденных клеток [2].

Нарушения количества клеток, возникающие в результате дисбаланса между гибелью паренхиматозных клеток и пролиферацией, способствуют развитию заболеваний почек. Острое повреждение почек может возникнуть в результате быстрой и внезапной потери эпителиальных клеток. При хронической болезни почек происходит прогрессирующая потеря подоцитов и эпителиальных клеток канальцев. Гибель эндотелиоцитов вызывает гломерулосклероз и атрофию канальцев, а избыток лейкоцитов и миофибробластов провоцирует интерстициальное воспаление и фиброз. Регулируемая гибель способствует удалению нежелательных клеток, но непропорциональные реакции могут быть причиной пагубной потери почечных клеток. Действительно, путь регулируемой гибели клеток — апоптоз — стал центральным событием в патогенезе различных заболеваний почек [2].

Одним из маркеров апоптоза является цитокератин-18, который относится к семейству промежуточных филаментных белков и составляет около 5 % от общего количества клеточных белков в большинстве эпителиальных и паренхиматозных клеток. Данная молекула участвует в поддержании формы и целостности клеток, механической стабильности, внутриклеточной организации, передаче клеточных сигналов и клеточной дифференцировке. Повышенная экспрессия этого маркера была обнаружена в моделях почечного фиброза и при диабетической и волчаночной нефропатии. Также сообщалось о высоком уровне цитокератина-18 в моче при остром повреждении почек и хронической болезни почек [3].

Материал и методы

В исследование включено 137 пациентов с хроническими заболеваниями почек в возрасте от 1 года до 17 лет педиатрического отделения № 1 (для нефрологических больных) УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска, Республиканского центра детской нефрологии и заместительной почечной терапии.

Обследованные дети были распределены по группам: 1-я группа — с первичными иммуноопосредованными гломерулопатиями ($n = 32$); 2-я группа — с вторичными иммуноопосредованными гломерулопатиями ($n = 40$); 3-я группа — с негломерулярными хроническими заболеваниями почек ($n = 32$); 4-я группа — с неиммуноопосредованными гломерулопатиями ($n = 33$). Все дети с гломерулопатиями имели морфологически подтвержденный диагноз. В группу сравнения вошли 30 детей (пациенты педиатрического отделения № 2 (для кардиологических больных) УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска без признаков поражения почек, наличия аутоиммунного процесса и инфекционных заболеваний).

Количественное определение уровня цитокератина-18 в сыворотке крови и моче проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем Cytokeratin 18 ELISA Kit (E-EL-H2072, Elabscience, США), Keratin 18 (SEB231Hu, Cloud-Clone Corp., США), Cytokeratin 18 ELISA Kit (EH2820, FineTest, Китай), Human Cytokeratin 18 ELISA Kit (E1715Hu, BT LAB, Китай). Учет реакции проводили на фотометре универсальном Ф300ТП (ОАО «Витязь», Беларусь), спектрометре Sunrise Magellan V 7.1 (Tecan, Австрия), длина волны измерения — 450 нм. С учетом того что концентрации исследуемой молекулы в биологических средах были исключительно малые, а чувствительность использованных наборов разных производителей была различна, оценку проводили в баллах, исходя из нормирования пределов измерений на 10. Статистические данные представляли в виде: Me [25 % — 75 %], где Me — медиана; 25 % — 75 % — межквартильный размах. Статистическую обработку полученного материала проводили с применением стандартного пакета программ Statistica 10.0, SPSS Statistics.

Результаты и обсуждение

Неблагоприятный прогноз течения хронических заболеваний почек у детей требует поиска новых маркеров, которые обеспечили бы раннюю диагностику почечного повреждения и превенцию прогрессирования патологического процесса.

Цитокератин-18 рассматривался в экспериментальных и клинических исследованиях и оказался потенциальным маркером различных патологических состояний, таких как сердечная недостаточность, заболевания печени, онкологические заболевания, острое повреждение почек и хроническая болезнь почек. Цитокератин-18 высвобождается в кровь в ответ на гибель клеток. Присутствие его в моче, скорее всего, связано с прогрессирующей деградацией клеток канальцев. Повышение уровня этого маркера было обнаружено на животных моделях адениновой нефропатии, при синдроме Альпорта и у пациентов с острым почечным повреждением и хронической болезнью почек вследствие различных типов почечных заболеваний [4].

Полученные уровни содержания цитокератина-18 в сыворотке крови и моче у пациентов исследуемых групп, а также группы сравнения представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание цитокератина-18 в сыворотке крови и моче

Группа	Сыворотка крови	Моча
1-я	0,16 [0,00—0,64]	0,36 [0,00—1,03]
2-я	0,36 [0,11—1,28]	0,36 [0,09—1,04]
3-я	1,04 [0,43—1,36]	1,57 [0,79—2,55]
4-я	0,62 [0,26—1,46]	0,48 [0,15—0,83]
Сравнения	0,00 [0,00—0,00]	0,00 [0,00—0,00]

Отмечены различия концентраций цитокератина-18 в сыворотке крови у пациентов всех групп ($p < 0,001$). В моче различия содержания цитокератина-18 по тесту Краскала — Уоллиса также показали статистическую значимость ($p < 0,001$). Полученные результаты наглядно продемонстрированы на рис. 1.

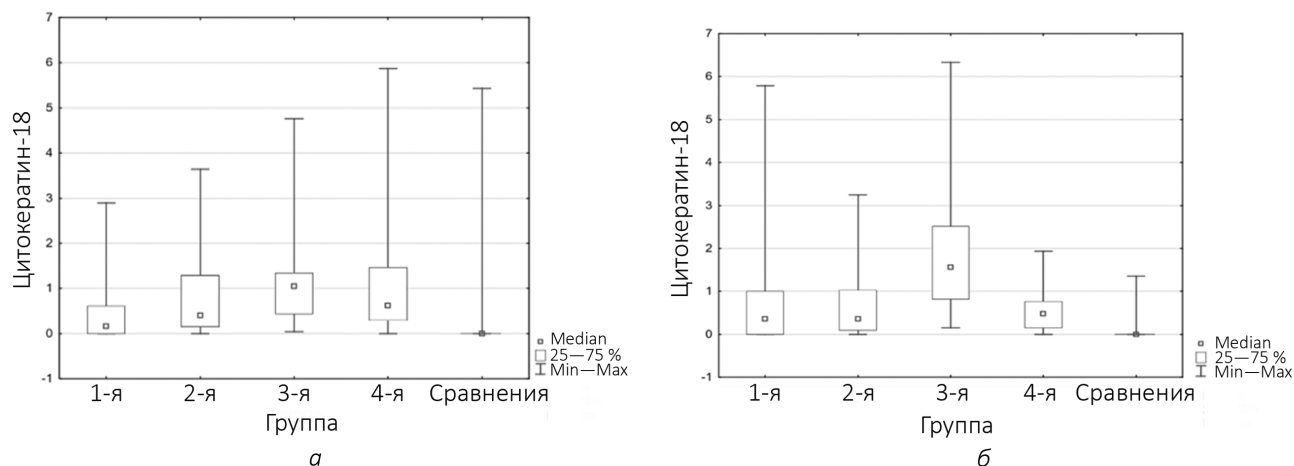


Рис. 1. Рассеяние уровня цитокератина-18 в сыворотке крови (а) и моче (б)

Полученные значимые различия содержания цитокератина-18 в сыворотке крови и моче у пациентов с хроническими заболеваниями почек и группы сравнения позволяют рассмотреть возможность использования данного маркера апоптоза в комплексной диагностике хронических нефропатий.

Интересно сравнить содержание цитокератина-18 в сыворотке крови и моче у пациентов исследуемых групп между собой (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение содержания цитокератина-18 в сыворотке крови и моче у пациентов разных групп

Биологическая среда	Уровень статистической значимости различий, p				
	Группа	1-я	2-я	3-я	4-я
Сыворотка крови	2-я	0,06	—	—	—
	3-я	< 0,001	0,03	—	—
	4-я	0,001	0,11	0,59	—
	Сравнения	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Моча	2-я	0,38	—	—	—
	3-я	< 0,001	< 0,001	—	—
	4-я	0,39	0,39	< 0,001	—
	Сравнения	0,008	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Статистически значимые различия содержания цитокератина-18 в сыворотке крови согласно критерию Манна — Уитни отмечены между пациентами с первичными иммуноопосредованными гломерулопатиями, с неиммуноопосредованными гломерулопатиями, с негломерулярными хроническими заболеваниями почек и пациентами группы сравнения ($p < 0,001$), а также между пациентами с вторичными иммуноопосредованными гломерулопатиями и негломерулярными хроническими заболеваниями

почек ($p < 0,05$) и группы сравнения ($p < 0,001$). Уровень цитокератина-18 в моче у пациентов с негломерулярными хроническими заболеваниями почек отличен от уровня такового показателя у детей из всех исследуемых групп ($p < 0,001$). Таким образом, исследование концентрации цитокератина-18 может быть использовано в дифференциальной диагностике гломерулярных и негломерулярных хронических заболеваний почек, а также гломерулопатий между собой.

Анализируя содержание цитокератина-18 в сыворотке крови, определили фактор риска хронических заболеваний почек. Так, при уровне цитокератина-18 более 0,07 отношение шансов (ОШ) — 34,04 (95 % ДИ (9,5—122)). ROC-анализ показал диагностическую точность 85,0 % (95 % ДИ (76,9—93,1)), чувствительность — 81,6 %, специфичность — 88,5 % (рис. 2, а).

При уровне цитокератина-18 менее 0,09 в моче ОШ — 26,5 (95 % ДИ (8,4—84,3)), диагностическая точность — 83,7 % (95 % ДИ (74,9—92,6)), чувствительность — 73,8 %, специфичность — 84,6 % (рис. 2, б).

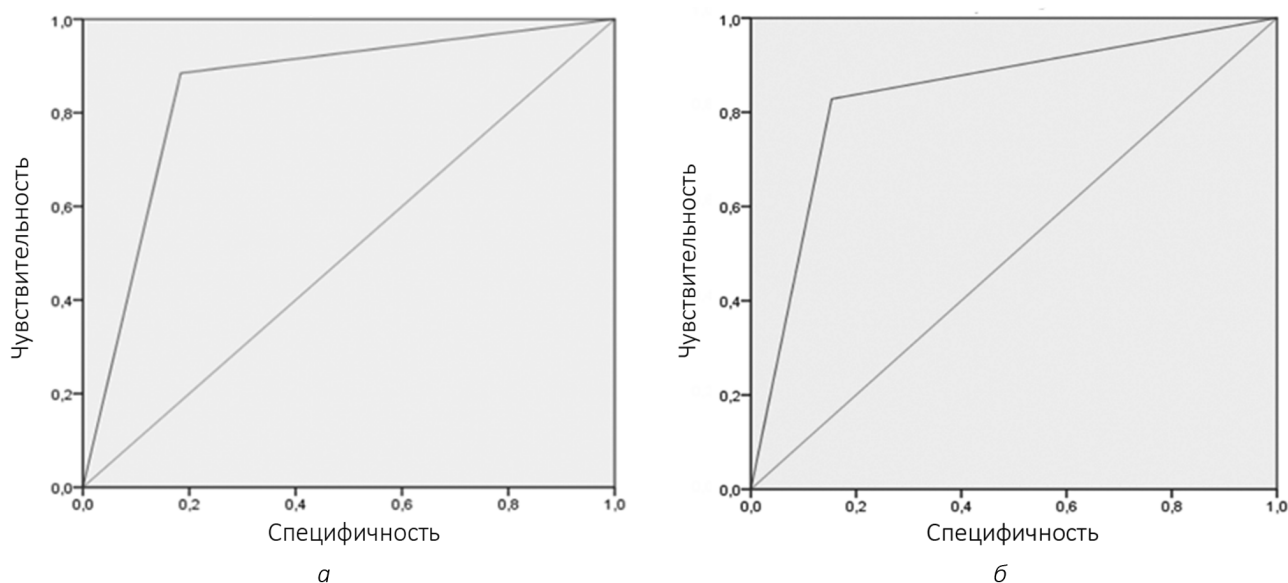


Рис. 2. Анализ содержания цитокератина-18 в сыворотке крови (а) и моче (б)

Проведен корреляционный анализ связи содержания цитокератина-18 в сыворотке крови и моче у пациентов исследуемых групп с показателями, характеризующими почечную функцию (уровень креатинина, мочевины, скорость клубочковой фильтрации (СКФ)), активность патологического процесса (С-реактивный белок (СРБ), СОЭ, суточная протеинурия) (табл. 3).

Таблица 3

Корреляционный анализ связи цитокератина-18, маркеров активности заболевания и почечной функции

Биологическая среда	Коэффициент Спирмена, ρ					
	Креатинин	Мочевина	СРБ	СОЭ	СКФ	Суточная протеинурия
Сыворотка крови	0,1216	0,1029	−0,0164	0,0068	−0,1867	−0,0288
Моча	0,1673	0,0246	−0,1311	−0,1536	−0,1936	−0,2538

Получена статистически значимая обратная связь между содержанием цитокератина-18 в сыворотке крови и моче с СКФ ($p < 0,05$), а также уровнем цитокератина-18 в моче и суточной протеинурией ($p < 0,05$).

Из полученных данных следует, что монотонная регрессионная зависимость между уровнем цитокератина-18 в исследуемых биологических средах и маркерами активности патологического процесса, а также показателями, характеризующими функциональное состояние почек, отсутствует. Поэтому для исследования характера возможной связи проведен визуальный анализ рассеяния показателей креатинина, мочевины, СРБ, СКФ, СОЭ, суточной протеинурии в зависимости от уровня цитокератина-18 в сыворотке крови и моче. Рассмотрим на примере креатинина (рис. 3).

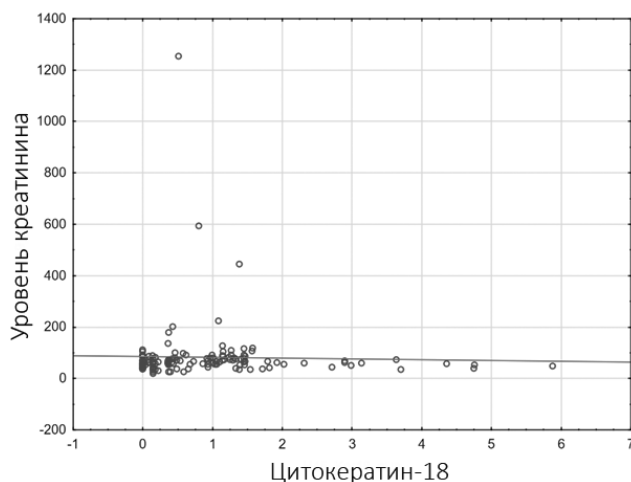


Рис. 3. Рассеяние уровня креатинина относительно цитокератина-18 в сыворотке крови

Визуальный анализ показывает, что при содержании цитокератина-18 в сыворотке крови меньше 1,7 концентрация креатинина не превышает 75 мкмоль/л. Аналогичная тенденция прослеживается и по остальным анализируемым показателям. Оценка статистической взаимосвязи уровня цитокератина-18 в сыворотке крови с маркерами активности патологического процесса и почечной функции приведена в табл. 4 (сравнение по точному критерию Фишера).

Таблица 4

Оценка взаимосвязи цитокератина-18 с маркерами активности заболевания

Показатель	Количество наблюдений		p
	Цитокератин-18 <1,7	Цитокератин-18 ≥1,7	
Креатинин < 75 мкмоль/л	80 (66,1 %)	17 (100 %)	0,003
Креатинин ≥ 75 мкмоль/л	41 (33,9 %)	0 (0 %)	
Мочевина < 6,3 ммоль/л	97 (80,2 %)	16 (94,1 %)	0,3
Мочевина ≥ 6,3 ммоль/л	24 (19,8 %)	1 (5,9 %)	
СРБ < 3,1 мг/л	106 (91,4 %)	16 (94,1 %)	0,6
СРБ ≥ 3,1 мг/л	10 (8,6 %)	1 (5,9 %)	
СОЭ < 17 мм/ч	88 (72,1 %)	11 (78,6 %)	0,44
СОЭ ≥ 17 мм/ч	34 (27,9 %)	3 (21,4 %)	
86 < СКФ < 155 мл/мин/1,73 м ²	86 (72,3 %)	15 (83,3 %)	0,25
СКФ < 86 или СКФ >155 мл/мин/1,73 м ²	33 (27,7 %)	3 (16,7 %)	

Критический уровень значимости достигнут только для креатинина, но во всех случаях наблюдается одинаковая тенденция.

Тот факт, что проверка гипотезы о статистической значимости различий для цитокератина-18, где он $\geq 1,7$ и $< 1,7$ подтверждается на шести показателях и позволяет говорить о возможности применения поправки Бонферрони на множественную проверку гипотез. В этом случае для шести последовательных проверок следовало бы ориентироваться на уровень значимости: $0,05 \times 6 = 0,3$.

Аналогичные результаты были получены при анализе взаимосвязи креатинина, мочевины, СРБ, СОЭ, СКФ со значениями цитокератина-18 в моче.

Таким образом, можно уверенно утверждать, что при значениях цитокератина-18 в сыворотке крови и моче больше 1,7 значительно снижается риск отклонения показателей креатинина, мочевины, СРБ, СОЭ, СКФ от нормальных. В то же время надо признать, что клиническое объяснение обнаруженного явления на настоящем этапе исследований может вызывать затруднение.

В отличие от проанализированных показателей активности патологического процесса и почечной функции, для которых различия с уровнем цитокератина-18 в моче были менее выражены, уровень суточной протеинурии и цитокератина-18 показали более сильную статистическую зависимость (рис. 4).

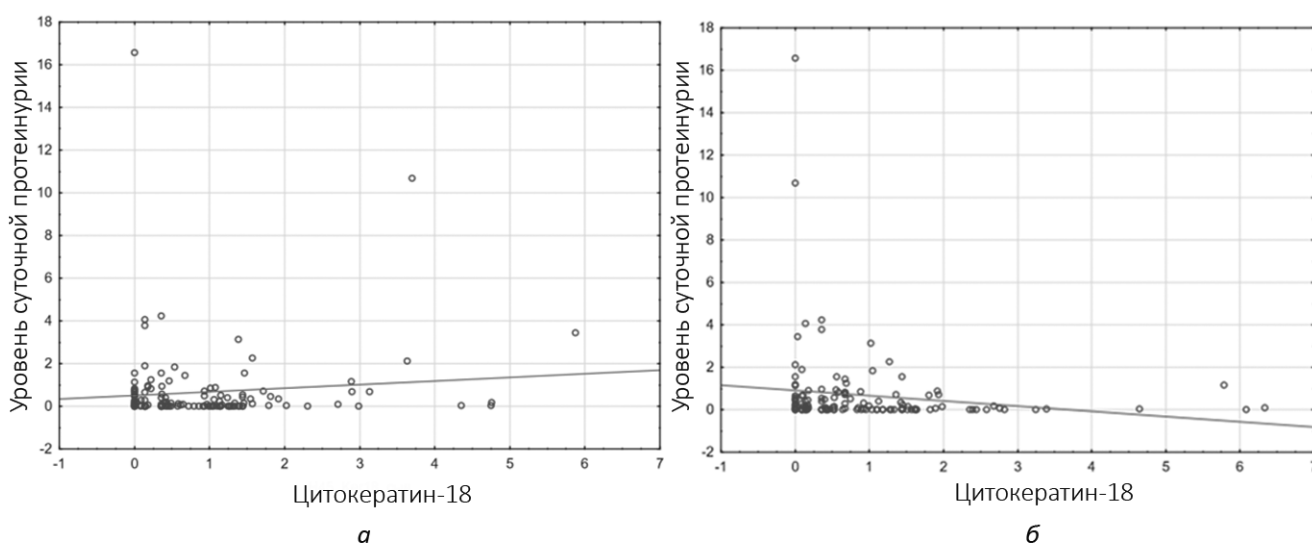


Рис. 4. Рассеяние уровня суточной протеинурии относительно цитокератина-18 в сыворотке крови (а) и моче (б)

Также установлено, что при уровне цитокератина-18 менее 2,0 значения суточной протеинурии $< 0,17$ г встречаются в 65 случаях, а $\geq 0,17$ г — в 54 случаях. В то время как при значении цитокератина-18 $\geq 2,0$ количество наблюдений составило 12 и 1 соответственно ($p = 0,008$).

Таким образом, определение уровня цитокератина-18 в сыворотке крови и моче у детей может быть использовано в диагностике хронических заболеваний почек, в том числе для дифференциальной диагностики гломерулярных и негломерулярных хронических заболеваний почек, а также гломерулопатий между собой. Однако использование этого маркера апоптоза для прогнозирования прогрессирования заболевания и оценки тяжести процесса на данном этапе исследования не представляется возможным.

Литература

1. Bertheloot, D. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death / D. Bertheloot, E. Latz, B. S. Franklin // *Cellular & Molecular Immunology*. — 2021. — Vol. 18. — P. 1106—1121.
2. Regulated cell death pathways in kidney disease / A. B. Sanz, M. D. Sanchez-Nino, A. M. Ramos, A. Ortiz // *Nature Reviews Nephrology*. — 2023. — Vol. 19. — P. 281—299.
3. The usefulness of urinary periostin, cytokeratin-18, and endoglin for diagnosing renal fibrosis in children with congenital obstructive nephropathy / A. Turczyn, M. Panczyk-Tomaszewska, G. Krzemien [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. — 2021. — Vol. 10. — DOI: 10.3390/jcm10214899.
4. Serum and urine periostin and cytokeratin-18 in children with congenital obstructive nephropathy / A. Turczyn, G. Krzemien, E. Gorska [et al.] // *Central European Journal of Immunology*. — 2022. — Vol. 47. — P. 63—72.

Контактная информация:

Кондратенко Оксана Александровна — заместитель главного врача по медицинской экспертизе и реабилитации.
10-я городская детская клиническая поликлиника.
Ул. Шишкина, 24, 220118, г. Минск.
Сл. тел.+375 17 301-86-99.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: О. А. К., И. А. К.
Сбор информации и обработка материала: О. А. К.
Статистическая обработка данных: О. А. К., А. П. М.
Написание текста: О. А. К.
Редактирование: И. А. К.

Конфликт интересов отсутствует.

Поступила 14.01.2025
Принята к печати 21.01.2025