

## СЪВРЕМЕННИ УРИННИ БИОМАРКЕРИ И ХРОНИЧНИ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТИ

**Теодорова И., Желязков К., Петров А., Бояджиева М., Икономов В.**

Клиника по нефрология, остра и перитонеална диализа - УМБАЛ „Св. Марина”- Варна  
Медицински Университет „Проф.д-р Параскев Стоянов” – Варна

### NOVEL URINE BIOMARKERS AND CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS

**Teodorova I., Zhelyazkov K., Petrov A., Boyadzhieva M., Ikononov V.**

Clinic of nephrology, acute and peritoneal dialysis with transplantation and apheresis, University hospital “St. Marina” – Varna  
Medical University of Varna, Bulgaria

#### **АБСТРАКТ:**

От прегледа на литературата се установява, че съществуват множество съвременни биомаркери, които могат да служат като индикатор за гломерулно заболяване. Моноцитният хемотаксичен протеин-1 (MCP-1), съдово клетъчна адхезионна молекула-1 (VCAM-1), СХС-лиганд-16 (CXCL16),  $\alpha$ 1-киселият гликопротеин (AAG), неутрофил-гелатиназа-свързан липокалин (NGAL) и др. участват в множество болестни процеси и могат да бъдат открити в серум, бъбречна тъкан и урина. Комбинацията между няколко уринни биомаркери може да насочи към специфичния хистологичен вариант при лупусен нефрит. Повишената експерсия на VCAM-1 в бъбречна тъкан и урина се наблюдава при пациенти с ANCA-асоцииран ГН, ОСГС и мембранозна нефропатия. Откритите през последните години фракталин, ламинин-G-подобен 3 пептид, IgG-к леки вериги, манан-свързващ лектин, разтворими CD 89-IgA комплекси и др. в серум и урина е възможно, при IgA нефропатия, да бъдат ползвани като неинвазивни диагностични тестове, които да идентифицират субклинична активност на заболяването.

Всичко това предлага нови хоризонти за разширяване на неинвазивните методи за диагностика, проследяване активността и ефекта от лечение при хроничните гломерулонефрити.

**Ключови думи:** биомаркери, хронични гломерулонефрити;

**Адрес за кореспонденция:** Клиника по нефрология и диализа УМБАЛ "Св. Марина" бул. "Хр. Смирненски" 1, Варна 9010 г-жа Р. Радева (технически секретар); email: r.radeva@yahoo.com

## **ABSTRACT:**

The literature analysis shows that there are many novel biomarkers, which can be used as indicators for glomerular disease. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1), Vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-1), Chemokine (C-X-C motif) ligand 16 (CXCL16), alpha-1-acid glycoprotein (AAG), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), etc. take part in a lot of pathological disorders and can be found in serum, kidney tissue and urine. The combination between a couple of urine biomarkers could guide directly to the specific histological type, presented in lupus nephropathy.

The increased expression of VCAM-1 in the kidneys and the urine can be observed in patients with ANCA-associated GN, FSGS and membranous nephropathy. The recently discovered fractalkine, laminin G-like-3-peptide, Ig κ light chains, mannan-binding lectin, soluble CD 89-IgA immune complexes, etc. in serum and urine, when IgA nephropathy is presented, can be used as noninvasive diagnostic, which is able to identify the subclinical activity of the disease. In summary, all those molecules offers new capabilities for noninvasive diagnostic tests, showing the dynamic of the glomerulonephritic disorders.

**Key words:** biomarkers, chronic glomerulonephritis.

**Address for correspondence:** Clinic of Nephrology, “St. Marina”-Varna, email: r.radeva@yahoo.com

## **ВЪВЕДЕНИЕ:**

В класическото определение Atkinson AE дефинира биомаркерите като обективно измерими характеристики, които могат да служат за „индикатори за нормални биологични процеси, патологични процеси или фармакологичния отговор спрямо дадена терапевтична интервенция“ (1). Според Ritsner MS и Gottesman IL те представляват „специфични индикатори за наличието или тежестта на биологичните процеси, свързани с клиничната изява и изхода на дадено заболяване“ (2). През последните години в съвременната медицинска наука и клинична практика рязко нараства интересът към тази група тестове, използването на които позволява ранно диагностициране на болестния процес, проследяване и оценка на фармакотерапевтичното повлияване. Задълбоченото изясняване на проблема на най-съременно ниво в редица изследователски центрове, научните изследвания и тестването на различни биомаркери при различни патофизиологични състояния са доказателство за тяхната роля за развитието на диагностиката и направляване на терапията в различните области на съвременната медицина.

## **ОБЗОР:**

От прегледа на литературата се установява, че съществуват множество биомаркери, които се откриват при изследване на урината и са индикатор за гломерулно заболяване. Експериментални научни изследвания са доказали тяхното участие в множество болестни процеси. Моноцитния хемотаксичен протеин-1 (MCP-1) или така познатия като CCL2 е първият открит хемокин от фамилията CC рецептори. Той се произвежда от множество клетки – ендотелни, епителни, гладкомускулни,

мезангиални, фибробласти, астроцити, моноцити и микроглиални клетки (3). Според Satish L et al. MCP-1 и неговите рецептори участват в генезата на редица заболявания: HIV1 инфекция, сърдечно съдови заболявания, атеросклероза, онкогенните процеси, вероятно имат връзка и с алерген индуцираната астма, както и ревматоидния артрит (4).

Съдово клетъчна адхезионна молекула-1 (VCAM-1) медира адхезията на лимфоцитите, моноцитите, еозинофилите и базофилите по съдовия ендотел. VCAM-1 участват в диапедезата на левкоцитите като намаляват тяхната скорост на „търкаляне“ по ендотелната стена (5) и спомагат за адхезията им към ендотела (6). Повишената левкоцитна адхезия и натрупването им често води до образуване на артеросклеротична лезия. CXCL16 (CXCL16) е хемокин произвеждан от дендритните клетки в Т клетъчните зони на лимфоидните органи и от клетки намиращи се в червената пулпа на слезката. Matloubian M. et al. смятат, че неговата функция е свързана с насочване на Т лимфоцитите от дендритните клетки (7). Освен това този хемокин може да служи като връзка между липидния метаболизъм и имунната активност на артеросклеротичната плака (8).

Липокалин-подобната простагландин-D синтетаза (LPGDS) има ефект опосредстващ миграционните способности на глиалните клетки, като освен това участва и в регулацията на морфологията им (9).

Nocheried T et al. изказват становище, че  $\alpha 1$ -киселият гликопротеин (AAG) има антиинфламаторен и имуномодулиращ ефект (10).

Неутрофил-гелатиназа-свързан-липокалин (NGAL) е основна част от имунитета и има способността да намалява бактериалния растеж, свързвайки се с бактериалните сидерофори (11, 12). Той бива

използван като биомаркер за остра увреда на бъбреците(13).

Множество проучвания докладват близката връзка на MCP-1 и VCAM-1 с гломерулното увреждане и могат да бъдат открити в серум, бъбречна тъкан и урина. Те са точни предиктори за гломерулна увреда.

В проспективно проучване на 215 пациенти с хронично бъбречно заболяване, Eardley KS et al. установяват тясна връзка между протеинурията, MCP-1 в урината и макрофагиалната инфилтрация на бъбречния интерстициум. Всеки един от тези фактори сам по себе си има прогностични роля за достигане на краен стадий на бъбречна недостатъчност (14).

MCP-1, VCAM-1 и CXCL16 са също така документирани да се увеличават в бъбреците, серума и урината при пациенти, страдащи от системен лупус еритематодес (СЛЕ) и изглежда са свързани с активността на заболяването, но тяхното клинично приложение за прогнозиране на болестната активност не е напълно изяснена. (15, 16, 17, 18, 19).

Hermine IB et al. са установили, че комбинацията между няколко уринни биомаркери може да насочи към специфичния хистологичен вариант при лупусния нефрит (ЛН). MCP-1,  $\alpha$ 1-киселият гликопротеин (AAG), нивата на церулоплазмин (СР) в серума и отношението протеин/креатинин могат да послужат за оценка активността на ЛН. Неутрофил-гелатиназа свързания липокалин (NGAL), креатининовият клирънс и MCP-1 са добър прогностичен маркер за хроничността на ЛН, а комбинацията между of MCP-1, AAG, трансферин (TF) и креатининовият клирънс със С4 фракция на комплемента е добър диагностичен тест за лупусна нефропатия кл. V(20).

При СЛЕ серумните нива и концентрацията на VCAM-1 в урина са повишени (21, 22). Sandeep S et al.

изследват връзката между уринните MCP-1, VCAM-1 и CXCL16 с хистоморфологичния резултат от пункционни бъбречни биопсии. В изследването са включени 74 пациенти с биопсично доказан лупусен нефрит, при 24 от които биохимичните маркери се определят в порция урина получена в деня на бъбречната биопсия и контролна група от 13 здрави доброволци и 22 пациенти с ANCA-асоцииран гломерулонефрит (23). Резултатите от изследването показват, че при ЛН и трите молекули са сигнификантно увеличени в бъбречна тъкан и това е по-изразено за MCP-1 и VCAM-1. Сравнявайки уринните концентрации на MCP-1 и VCAM-1 със SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) е установена корелационна зависимост с морфологичната активност на болестта. Авторите установяват, че нивата на VCAM-1 не са специфични за СЛЕ, а по-вероятно маркер за бъбречно увреждане. Този извод почива на факта, че повишено ниво на VCAM-1 се установява и при други нефрити като ANCA-асоциирани гломерулонефрити, както и нефропатии, които не се асоциират с възпалителен процес като фокалната и сегментна гломерулосклероза (24). Други изследвания също сочат към това, че повишената експересия на VCAM-1 в бъбречната тъкан и урина се наблюдава при пациенти с ANCA асоцииран ГН, ОСГС и мембранозна нефропатия (25, 26, 27) и вероятно корелира със стадия на заболяването при ANCA-гломерулонефритите и ОСГС (25).

В своя публикация Maixnerova D et al. представя обобщени данни за новооткрити маркери при IgA нефропатията. Серумните галактоза-дефицитен IgA1, IgA/IgG антитела срещу галактоза-дефицитният IgA1, разтворими CD 89-IgA комплекси и уринните разтворим трансферинов рецептор, фракталкин, ламинин G-

подобен 3 пептид, к леки вериги и манан-свързващ лектин са маркери открити през последните няколко години. Авторите заключват, че някой от тези биомаркери е възможно да бъдат използвани като неинвазивни диагностични тестове, които да идентифицират субклинична активност на заболяването. Това би намалило нуждата от извършването на бъбречни биопсии и би могло да допринесе до разработването на специфична за IgA нефропатията терапия (28).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Посочените серумни и уринна биомаркери предлагат нови хоризонти за разширяване на неинвазивните методи за диагностика, проследяване активността и ефекта от лечение на хроничните гломерулопатии. За съжаление обаче тяхното прилагане в широката нефрологична практика е все още твърде ограничено поради високата цена и необходимостта от високотехнологично оборудване. На този етап те са база за провеждане на редица клинични и експериментални научни изследвания, които в бъдеще биха дали нови насоки и възможности за диагноза и проследяване на пациентите с хронични гломерулопатии.

## **РЕФЕРЕНЦИИ:**

1. Atkinson AEA. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharm and Therapeutics* 2001;89:89–95.
2. Ritsner MS, Gottesman IL. Where do we stand in the quest for neuropsychiatric biomarkers and endophenotypes and what next? In: Ritsner MS, editor. *The handbook of neuropsychiatric biomarkers, endophenotypes and genes*. Springer; 2009. p. 3-22
3. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, Gerrity R, Schwartz CJ, Fogelman AM. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Jul; 87(13):5134-8.
4. Satish L. Deshmane, Sergey Kremlev, Shohreh Amini, and Bassel E. Sawaya. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. *J Interferon Cytokine Res*. 2009 Jun; 29(6): 313–326.
5. Carroll L. Ramos, Yuqing Huo, Unsu Jung, Shukti Ghosh, David R. Manka, Ian J. Sarembock, Klaus Ley. Direct demonstration of P-selectin- and VCAM-1-dependent mononuclear cell rolling in early atherosclerotic lesions of apolipoprotein E-deficient mice. *Circ Res*. 1999;84:1237–1244
6. Huo Y, Hafezi-Moghadam A, Ley K. Role of vascular cell adhesion molecule-1 and fibronectin connecting segment-1 in monocyte rolling and adhesion on early atherosclerotic lesions. *Circ Res*. 2000;87:153–159.
7. Matloubian M, David A, Engel S, Ryan J, Cyster J (2000). "A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo". *Nat Immunol*. 1 (4): 298–304.
8. Xinghua Zhou, Yuri Sheikine, Dick Wågsäter, Veronika Stemme, Ulf Hedin, Sten Stemme, Göran K. Hansson, Allan Sirsjö. CXCL16/SR-PSOX Is an Interferon- $\gamma$ -Regulated Chemokine and Scavenger Receptor Expressed in Atherosclerotic Lesions. Dirk M. Wuttge, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004;24:750-755.
9. Lee S, Jang E, Kim JH, Kim JH, Lee WH, Suk K. Lipocalin-type prostaglandin D2 synthase protein regulates glial cell migration and morphology through myristoylated alanine-rich C-kinase substrate: prostaglandin D2-independent effects. *J Biol Chem*. 2012 Mar 16;287(12):9414-28.
10. Hocheppied T, Berger FG, Baumann H, Libert C. Alpha(1)-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003 Feb;14(1):25-34.
11. Yang J, Goetz D, Li JY, Wang W, Mori K, Setlik D, Du T, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Strong R, Barasch J (November 2002). "An iron delivery pathway mediated by a lipocalin". *Mol. Cell*. 10 (5): 1045–56. doi:10.1016/S1097-2765(02)00710-4.
12. Goetz DH1, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell*. 2002 Nov;10(5):1033-43.
13. Devarajan P (June 2010). "Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury". *Nephrology (Carlton)*. 15 (4): 419–28.
14. Eardley KS, Zehnder D, Quinkler M, Lepenies J, Bates RL, Savage CO, Howie AJ, Adu D, Cockwell P. The relationship between albuminuria, MCP-1/CCL2, and interstitial macrophages in

chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2006; 69: 1189-1197.

15. Rovin BH, Song H, Birmingham DJ, Hebert LA, Yu CY, Nagaraja HN. Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:467-473. doi: 10.1681/ASN.2004080658.

16. Li Y, Tucci M, Narain S, Barnes EV, Sobel ES, Segal MS, Richards HB. Urinary biomarkers in lupus nephritis. *Autoimmun Rev.* 2006;5:383-388.

17. Enghard P, Riemekasten G. Immunology and the diagnosis of lupus nephritis. *Lupus.* 2009;18:287-290.

18. Wu T, Xie C, Wang HW, Zhou XJ, Schwartz N, Calixto S, Mackay M, Aranow C, Putterman C, Mohan C. Elevated urinary VCAM-1, P-selectin, soluble TNF receptor-1, and CXC chemokine ligand 16 in multiple murine lupus strains and human lupus nephritis. *J Immunol.* 2007;179:7166-7175.

19. Molad Y, Miroshnik E, Sulkes J, Pitlik S, Weinberger A, Monselise Y. Urinary soluble VCAM-1 in systemic lupus erythematosus: a clinical marker for monitoring disease activity and damage. *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20:403-406.

20. Rovin BH, Birmingham DJ, Nagaraja HN, Yu CY, Hebert LA. Biomarker discovery in human SLE nephritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2007;65:187-193.

21. Hermine IB, Michael RB, Rina M, Michiko S, Michelle P, Adnan NK, Joshua P, David W, Jun Y, Brad HR, Prasad D. Non-invasive renal protein biomarkers are associated with histological features of lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 2012Aug; 64(8): 2687-2697

22. Pizarro S, Monarrez Espino J, Ruiz A, Jara LJ, Nava A, Riebeling-Navarro C. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 indicates SLE disease activity and specific organ involvement. *Rev Alerg Mex.* 2007;54:189-195.

23. Ilic T, Mitic I, Durdevic-Mirkovic T, Vuckovic B, Milic B, Popovic M. Correlation between sera levels of sICAM-1 and sVCAM-1 and severity of kidney lesions in patients with lupus nephritis. *Med Pregl.* 2007;60(Suppl 2):128-132.

24. Sandeep S, Tianfu W, Chun X, Kamala V, Jie H, Tina M, Ho BO, Chul A, Xin JZ, Chaim P, Ramesh S, Chandra M. Urine VCAM-1 as a marker of renal pathology activity index in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther.* 2012; 14(4): R164.

25. Arrizabalaga P, Sole M, Iglesias C, Escaramis G, Ascaso C. Renal expression of ICAM-1 and VCAM-1 in ANCA-associated glomerulonephritis - are there differences among serologic subgroups? *Clin Nephrol.* 2006;65:79-86.

26. Abd-Elkareem MI, Al Tamimy HM, Khamis OA, Abdellatif SS, Hussein MR. Increased urinary levels of the leukocyte adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in human lupus nephritis with advanced renal histological changes: preliminary findings. *Clin Exp Nephrol.* 2010;14:548-557. doi: 10.1007/s10157-010-0322-z.

27. Zhang Q, Zeng C, Fu Y, Cheng Z, Zhang J, Liu Z. Biomarkers of endothelial dysfunction in patients with primary focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology (Carlton)* 2012;17:338-345.

28. Maixnerova D, Reily C, Bian Q, Neprasova M, Novak J, Tesar V. Markers for the progression of IgA nephropathy. *J Nephrol.* 2016 Aug;29(4):535-41.