

## Биомаркеры нефротоксичности: роль и значимость в диагностике лекарственного повреждения почек

\*О. В. Муслимова<sup>1</sup>, В. А. Евтеев<sup>1</sup>, И. А. Мазеркина<sup>1</sup>, Е. А. Сокова<sup>1,2</sup>, А. Б. Прокофьев<sup>1</sup>,  
А. В. Шапченко<sup>3</sup>, Т. В. Александрова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет),  
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, Москва, 127473, Российская Федерация

**Резюме.** Лекарственное поражение почек составляет от 8 до 60% эпизодов острого повреждения почек (ОПП) среди госпитализированных пациентов. Как можно более раннее распознавание этого состояния и своевременное принятие мер по коррекции лечения могут уменьшить количество выявленных случаев почечного повреждения и летальных исходов. Цель работы: анализ данных научной литературы о биомаркерах, используемых при проведении диагностики лекарственного поражения почек. Выявлено, что такие маркеры повреждения почек, как уровень сывороточного креатинина, объем выделяемой мочи, концентрация азота мочевины, экскреция натрия, микроскопия мочевого осадка, ограничены в применении в связи с тем, что они не отражают в полном объеме динамику и степень повреждения почек и не позволяют диагностировать развитие ОПП на ранних этапах. Установлено, что наиболее перспективными биомаркерами являются в первую очередь KIM-1, L-FABP, NAG, NGAL, цистатин С, кластерин, β2-микроглобулин, MCP-1, IGFBP7 и TIMP-2. Однако определение концентрации новых биомаркеров в моче или в крови для диагностики ОПП может носить лишь рекомендательный характер, так как клинических и доклинических исследований по установлению валидности такого рода тестов проведено недостаточно. До настоящего времени не разработаны точные алгоритмы оценки рисков развития, диагностики, мониторинга течения и терапии ОПП, основанные на определении наличия и уровней данных маркеров в моче и/или в сыворотке крови. Таким образом, необходимо продолжать исследования различных биомаркеров ОПП и совершенствовать экспериментальные модели (как *in vivo*, так и *in vitro*), в том числе для изучения потенциальных нефротоксических свойств уже известных и разрабатываемых лекарственных средств.

**Ключевые слова:** биомаркеры; лекарственная нефротоксичность; острое повреждение почек; NAG; L-FABP; KIM-1; NGAL; β2-микроглобулин; MCP-1; цистатин С; IGFBP7; TIMP-2

**Для цитирования:** Муслимова ОВ, Евтеев ВА, Мазеркина ИА, Сокова ЕА, Прокофьев АБ, Шапченко АВ, Александрова ТВ. Биомаркеры нефротоксичности: роль и значимость в диагностике лекарственного повреждения почек. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021;9(4):173–184. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-4-173-184>

\***Контактное лицо:** Муслимова Ольга Валерьевна; [muslimova@expmed.ru](mailto:muslimova@expmed.ru)

## Nephrotoxicity Biomarkers: Role and Significance in the Diagnosis of Drug-Induced Kidney Injury

\*O. V. Muslimova<sup>1</sup>, V. A. Evteev<sup>1</sup>, I. A. Mazerkina<sup>1</sup>, E. A. Sokova<sup>1,2</sup>, A. B. Prokofiev<sup>1</sup>, A. V. Shapchenko<sup>3</sup>, T. V. Alexandrova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,  
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),  
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

<sup>3</sup> A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,  
20/1 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russian Federation

**Abstract.** Drug-induced kidney injury (DIKI) accounts for 8 to 60% of episodes of acute kidney injury (AKI) among hospital patients. Early DIKI detection and timely adjustment of therapy will help reduce the kidney injury incidence and mortality. The aim of the study was to analyse scientific literature on the biomarkers used in DIKI diagnosis. The study revealed that the use of such kidney damage markers as serum creatinine, urinary output, urea nitrogen, sodium excretion, urinary sediment microscopy is limited because they do not give a full picture of the kidney injury degree and progression and do not allow for early AKI diagnosis. It was demonstrated that some of the most promising biomarkers are KIM-1, L-FABP, NAG, NGAL, cystatin C, clusterin, β2-microglobulin, MCP-1, IGFBP7, and TIMP-2. However, recommendations for determination of these biomarkers' urine or blood concentrations for AKI diagnosis are somewhat preliminary, because there have been in-

sufficient clinical and preclinical studies to establish validity of such tests. No precise algorithms based on determination of the biomarkers levels in urea and/or blood serum have been developed for AKI risk assessment, diagnosis, monitoring, and treatment. Thus, further research is necessary to investigate different AKI biomarkers and improve experimental models (both *in vivo* and *in vitro*), which will support assessment of potential nephrotoxic properties of existing and new medicinal products. **Key words:** biomarkers; drug nephrotoxicity; acute kidney injury; NAG; L-FABP; KIM-1; NGAL;  $\beta$ 2-microglobulin; MCP-1; cystatin C; IGFBP7; TIMP-2

**For citation:** Muslimova OV, Evteev VA, Mazerkina IA, Sokova EA, Prokofiev AB, Shapchenko AV, Alexandrova TV. Nephrotoxicity biomarkers: role and significance in the diagnosis of drug-induced kidney injury. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2021;9(4):173–184. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-4-173-184>

\*Corresponding author: Olga V. Muslimova; muslimova@expmed.ru

Лекарственное поражение почек (ЛПП) составляет от 8 до 60% эпизодов острого повреждения почек (ОПП) у пациентов, находящихся на стационарном лечении [1]. ОПП — патологическое состояние, развивающееся в результате непосредственного острого воздействия ренальных и/или экстраренальных повреждающих факторов, продолжающееся до 7 суток и характеризующееся быстрым (часы–сутки) развитием признаков повреждения или дисфункции почек различной степени выраженности. В случае персистенции острого повреждения почечной паренхимы может развиваться патологический континуум повреждения почек, который представлен динамикой (временными критериями) перехода от ОПП к острой болезни почек (ОБП) и к хронической болезни почек (ХБП). Таким образом, ОПП является независимым фактором риска развития ХБП, терминальной почечной недостаточности, серьезных внепочечных осложнений и летального исхода<sup>1</sup>. Существует прямая корреляция между временем выявления ОПП и смертностью. Быстрая идентификация лекарственного препарата (ЛП), который стал причиной развития повреждения почек, и своевременная коррекция этого состояния позволит уменьшить тяжесть ЛПП и смертность [2].

По данным исследования, проведенного на базе Мичиганского университета, более 20 из 100 ЛП, наиболее часто назначаемых взрослым пациентам в отделениях реанимации и интенсивной терапии, классифицируются как нефротоксичные [3]. Нефротоксическое действие ЛП реализуется по различным патогенетическим механизмам на уровне разных структур почек (клубочки, трубочки, интерстиций), некоторые препараты могут влиять на ткани почек сразу на нескольких уровнях. Наиболее часто ЛПП вызывают противоопухолевые, противовирусные и антибактериальные препараты, иммунодепрессанты, препараты для лечения язвенной болезни, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) [4]. К сожалению, в большинстве случаев ЛПП остается

нераспознанным, так как ухудшение функции почек врачи в первую очередь связывают с течением основного заболевания и его осложнениями, а не с применением ЛП.

Для диагностики, оценки тяжести, прогнозирования исходов того или иного патологического процесса в организме, в том числе ЛПП, используют биомаркеры.

**Цель работы** — анализ данных научной литературы о биомаркерах, используемых при проведении диагностики лекарственного поражения почек.

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), биомаркер может иметь химическую, физическую, биологическую природу, а его измерение может быть функциональным, физиологическим, биохимическим, клеточным или молекулярным<sup>2</sup>. Глоссарий BEST (Biomarkers, EndpointS and other Tools)<sup>3</sup> определяет биомаркер как характеристику, которая измеряется в качестве индикатора нормального биологического процесса, патологического процесса или ответа организма на вмешательство, включая терапевтическое воздействие. В качестве биомаркеров могут рассматриваться молекулярные, гистологические, радиографические или физиологические характеристики пациента. Биомаркеры для применения в клинической практике должны обладать высокой чувствительностью и специфичностью (>90%) [5].

### Критерии острого повреждения почек

В клинической практике используют следующие критерии ОПП, рекомендованные KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes)<sup>4</sup>: повышение концентрации сывороточного креатинина на 0,3 мг/дл ( $\geq 26,5$  ммоль/л) и выше в течение 48 ч, либо нарастание уровня сывороточного креатинина в 1,5–1,9 раза и выше от исходного (базального) уровня в течение 7 сут от начала лечения, либо снижение темпа диуреза до <0,5 мл/кг/ч

<sup>1</sup> Острое повреждение почек (ОПП). Клинические рекомендации. М.; 2020. [https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI\\_final.pdf](https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI_final.pdf)

<sup>2</sup> Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. WHO; 1993. <https://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm>

<sup>3</sup> BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. FDA–NIH Biomarker Working Group; 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>

<sup>4</sup> <https://kdigo.org/guidelines/acute-kidney-injury/>

в течение 6 ч. Однако использование концентрации креатинина в качестве маркера ОПП имеет ряд ограничений, таких как плохая корреляция с гломерулярной фильтрацией в динамике, особенности продукции креатинина в индивидуальном организме (характер питания, пол, возраст, вес, физические нагрузки и др.), его секреции и внепочечной экскреции. Кроме того, повышение уровня креатинина в сыворотке крови происходит только после нарушения экскреторной функции почек, поэтому в клинической практике он не может быть использован в качестве маркера для ранней диагностики ОПП.

Широкое использование объема выделяемой мочи в качестве диагностического критерия ОПП ограничено в связи с трудоемкостью процесса сбора мочи и оценки ее объема, частого применения диуретиков, а также затруднено у пациентов с постоянными мочевыми катетерами. Другие маркеры повреждения почек, такие как концентрация азота мочевины, экскреция натрия, микроскопия мочевого осадка, ограничены в применении в связи с их низкой чувствительностью и специфичностью [6]. Таким образом, актуальной проблемой остается поиск биомаркеров нефротоксичности, которые не зависят от фильтрационной функции почек и позволяют прогнозировать на ранних этапах формирование ОПП, а также осуществлять мониторинг течения ЛПП.

### Виды биомаркеров нефротоксичности

Биомаркер, используемый при проведении диагностики ОПП, должен удовлетворять следующим требованиям [7]: а) иметь легкий и доступный способ измерения; б) иметь возможность обнаружения раньше, чем повысится уровень сывороточного креатинина, для установления диагноза ОПП в ранние сроки; в) позволять проводить дифференциальную диагностику преренальной азотемии и ХБП; г) позволять идентифицировать тип и место возникновения ОПП; д) указывать на тяжесть ОПП и позволять оценить время его начала; е) позволять прогнозировать исход для пациента (выздоровление, диализ, летальный исход); ж) позволять осуществлять мониторинг фармакологического ответа на терапию.

В качестве потенциальных биомаркеров ОПП рассматривались многие биологические вещества, такие как<sup>5</sup>: а) низкомолекулярные белки мочи (цистатин С мочи,  $\alpha$ 1-микроглобулин,  $\beta$ 2-микроглобулин, ретинол-связывающий белок, аденозин); б) внутриклеточные энзимы: N-ацетил-D-глюкозаминидаза (NAG), глутатион-S-трансфераза- $\alpha$  (GST $\alpha$ ), глутатион-S-трансфераза- $\pi$  (GST $\pi$ ), гамма-глутамилтранс-

пептидаза (ГГТП), щелочная фосфатаза (ЩФ), аланинаминотрансфераза (АЛТ); в) функциональные маркеры (цистатин С сыворотки, проэнкефалин); г) белки, экспрессия которых повышается при ОПП: липокалин, связанный с желатиназой нейтрофилов (NGAL), молекула почечного повреждения (KIM-1), печеночный протеин, связывающий жирные кислоты (L-FABP), интерлейкин-18 (IL-18), биомаркеры ареста клеточного цикла — задержки клеточного цикла в фазе G2 (TIMP-2, IGFBP7); д) маркеры воспаления (IL-18) и др.

Маркеры ОПП можно классифицировать также по возможности проведения топической диагностики почечного повреждения с учетом его патофизиологических механизмов.

I. Топическая классификация, указывающая на локализацию повреждения:

- 1) клубочек (альбумин, цистатин С сыворотки,  $\alpha$ 1-микроглобулин,  $\beta$ 2-микроглобулин и др.);
- 2) проксимальный каналец (NGAL, KIM-1, L-FABP, цистатин С мочи, IL-18 и др.);
- 3) дистальный каналец (GST, NGAL);
- 4) собирательная трубочка (калибиндин D28);
- 5) петля Генле (остеопонтин, натриево-водородный антипортер 3 (NHE-3)).

II. Патофизиологическая классификация, отражающая роль биомаркера в том или ином патологическом процессе:

- 1) биомаркеры функции почек (креатинин, цистатин С сыворотки и др.);
- 2) биомаркеры оксидативного стресса (8(A2a)-изопростан, 4-ОН-2-ноненал и др.);
- 3) биомаркеры структурного и клеточного повреждения: подоцитов (подокаликсин, нефрин), тубулоинтерстиция (NGAL, KIM-1, L-FABP, аденозинтрифосфат-3); факторы экзосомальной транскрипции;
- 4) маркеры иммунного ответа (иммуноглобулины, хемокины, компоненты комплемента);
- 5) маркеры фиброза (трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), фактор роста соединительной ткани (CTGF), Big-H3, коллаген IV типа);
- 6) маркеры апоптоза (аннексин-5, TIMP-2, IGFBP7);
- 7) маркеры ареста клеточного цикла (TIMP-2, IGFBP7).

### Биомаркеры, рекомендованные для диагностики острого повреждения почек в доклинических и клинических исследованиях

Результаты системного обзора интервенционных исследований ОПП с использованием новых биомаркеров, проведенных с 1992 по 2017 г., показали, что новые биомаркеры в качестве критерия

<sup>5</sup> Острое повреждение почек (ОПП). Клинические рекомендации. М.: 2020. [https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI\\_final.pdf](https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI_final.pdf)

диагностики лекарственно-индуцированного ОПП использовали лишь в 7,9% из 76 клинических исследований и в 42,6% из 75 доклинических исследований [8].

Для диагностики ОПП при доклинических исследованиях токсического воздействия на почки крыс новых ЛП в 2008 г. Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) и в 2009 г. Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) рекомендованы такие биомаркеры ОПП, как альбумин,  $\beta$ 2-микроглобулин, общий белок, трефил-фактор-3 (TFF3), цистатин С в моче, KIM-1. В 2010 г. к этому перечню был добавлен почечный папиллярный антиген (RPA-1)<sup>6</sup>. В 2016 г. EMA также рекомендовало использование GST $\alpha$  в качестве биомаркера ОПП у крыс<sup>7</sup>.

В 2018 г. FDA рекомендовало для выявления почечного канальцевого повреждения при диагностике ОПП в I фазе клинических исследований новых ЛП у здоровых добровольцев такие биомаркеры ОПП, как кластерин (CLU), цистатин С, KIM-1, NAG, NGAL, остеоопонтин (OPN) в сочетании с традиционными показателями оценки нефротоксичности: повышением уровня сывороточного креатинина и концентрации азота мочевины в крови<sup>8</sup>.

В последнее время в научном сообществе обсуждение сосредоточено на оценке использования в качестве маркеров лекарственной нефротоксичности в первую очередь KIM-1, L-FABP, NAG, NGAL, цистатина С, кластерина,  $\beta$ 2-микроглобулина, моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) [9].

**KIM-1** (kidney injury molecule, молекула почечного повреждения) — трансмембранный гликопротеин, имеющий отходящий внешний домен с молекулярной массой 90 кДа, концентрацию которого возможно определить в моче. Предполагается, что эта молекула участвует в регенераторных процессах при повреждении эпителиальных клеток. В физиологических условиях этот гликопротеин практически не определяется в почечной ткани, но при воздействии на почку различных повреждающих факторов в клетках тубулярного эпителия происходит значительное повышение экспрессии KIM-1. В клинических исследованиях данный маркер показал себя наиболее

значимым в диагностике острого канальцевого некроза по сравнению с другими патогенетическими вариантами ОПП<sup>9</sup>. Результаты клинического исследования с участием 11 пациентов с раком легких свидетельствуют о том, что мочевой KIM-1 индивидуально или в комбинации с MCP-1 может выступать биомаркером ЛПП, вызванного цисплатином [10]. В другом исследовании при выяснении причины ОПП, развившегося у пациента после применения в течение 3 мес. иммунодепрессанта такролимуса по поводу трансплантации печени, выявлено повышение экспрессии KIM-1 в биоптате почки. После отмены такролимуса уровень креатинина вернулся к норме. Авторы сделали вывод о том, что KIM-1 является эффективным маркером нефротоксичности такролимуса [11]. В доклинических исследованиях на животных моделях также продемонстрировано, что KIM-1 может применяться в качестве маркера цисплатиновой нефротоксичности [12–14], маркера почечного повреждения при применении гентамицина [15], адриамицина [16], при отравлении ртутью, хромом [17], гербицидными ядами [18], при интоксикации фторидами [19]. Кроме того, в литературе есть сообщения о специфичности и чувствительности определения наличия KIM-1 в моче при прогнозировании возможности развития ОПП после кардиохирургического вмешательства [20], у пациентов с сахарным диабетом, подвергшихся чрескожному коронарному вмешательству [21], с острым коронарным синдромом после коронарографии [22] и при сердечной недостаточности [23].

**L-FABP** (liver fatty acid binding protein, печеночный протеин, связывающий жирные кислоты) — цитоплазматический белок с молекулярной массой 15 кДа, который экспрессируется в тканях с повышенным метаболизмом жирных кислот. Относится к семейству белков-переносчиков жирных кислот, которые участвуют в транспорте длинноцепочечных жирных кислот между интра- и экстрацеллюлярным пространством, а также регулируют окислительный стресс, связывая липофильные продукты окисления и ограничивая их повреждающее действие на клеточные мембраны. В организме человека L-FABP синтезируется в основном в печени, но в небольших количествах обнаруживается в почках и тонком кишечнике. В моче в нормальных условиях отсутствует, так как, фильтруясь в клубочках, полностью

<sup>6</sup> List of qualified biomarkers. FDA; 2021. <https://www.fda.gov/drugs/biomarker-qualification-program/list-qualified-biomarkers>

Final conclusions on the pilot Joint EMEA/FDA VXDS experience on qualification of nephrotoxicity biomarkers. EMEA/679719/2008 Rev. 1. EMA; 2009.

<sup>7</sup> Letter of support for drug-induced renal tubular injury biomarker(s). EMA/715025/2016. EMA; 2016.

<sup>8</sup> Biomarker qualification submissions. FDA; 2021. <https://www.fda.gov/drugs/biomarker-qualification-program/biomarker-qualification-submissions>

List of qualified biomarkers. FDA; 2021. <https://www.fda.gov/drugs/biomarker-qualification-program/list-qualified-biomarkers>

<sup>9</sup> Острое повреждение почек (ОПП). Клинические рекомендации. М.; 2020. [https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI\\_final.pdf](https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI_final.pdf)

реабсорбируется в проксимальных канальцах, что позволяет диагностировать ОПП при их повреждении. Данный маркер проявил себя в качестве чувствительного предиктора ОПП у детей после кардиохирургических вмешательств с применением аппарата искусственного кровообращения. У пациентов с ОПП на фоне септического шока уровень L-FABP повышен и определяет относительный риск смертности<sup>10</sup>. Мониторинг концентрации L-FABP в моче у пациентов, поступающих в отделения реанимации, позволил говорить о нем как о приемлемом биомаркере ОПП (площадь под фармакокинетической кривой (AUC) 0,95, положительная прогностическая значимость (PPV) 100%, отрицательная прогностическая значимость (NPV) 85%) [24]. L-FABP, определяемый в моче, может также служить предиктором контраст-индуцированного ОПП, демонстрируя 100% чувствительность и 81,8% специфичность теста [25]. В эксперименте на животных моделях (мыши) экспрессия L-FABP повышалась в проксимальных почечных канальцах и в моче в связи с ОПП, вызванным применением цисплатина [26].

**NAG** (N-ацетил-D-глюкозаминидаза) — лизосомальный фермент с молекулярной массой >130 кДа, в основном определяется в проксимальных почечных канальцах. Благодаря большой молекулярной массе NAG исключается возможность клубочковой фильтрации этого фермента внепочечного происхождения. Повышение мочевого экскреции NAG отражает не только повреждение клеток, но и увеличение их лизосомальной активности при сохранении целостности [27]. Повышение активности этого фермента в моче может быть связано с ЛПП [28, 29], повреждением аллотрансплантата [30], прогрессированием ХБП [31]. Повышение уровня NAG (наряду с ЩФ и ГГТП) в моче (в период до повышения уровня сывороточного креатинина) является высокочувствительным маркером ОПП у критически больных пациентов [32]. Недостатком определения NAG в моче в качестве биомаркера ЛПП является низкая специфичность в связи с возможностью получения ложноположительных результатов теста при ревматоидном артрите, нарушении толерантности к глюкозе, гипертиреозе. Кроме того, экспрессия NAG может подавляться эндогенной мочевиной и тяжелыми металлами [9].

**NGAL** (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) поступает в плазму из вторичных гранул активированных нейтрофилов, но может синтезироваться в разных органах и в разных типах клеток. NGAL человека представляет собой одну полипептидную цепь, состоящую из 178 аминокислотных остатков и имеющую молекулярную массу 22 кДа. Гликозилированная форма имеет молекулярную

массу 25 кДа. В нейтрофилах и в моче NGAL присутствует как мономер с малым процентным содержанием димерной и тримерной форм [33]. Основными функциями NGAL являются стимулирование пролиферации поврежденных клеток, в особенности эпителиальных, и противодействие бактериальным инфекциям. При ОПП происходит повышение уровня NGAL сыворотки крови, однако молекулы соединения абсорбируются в проксимальных канальцах и в мочу не секретируются. Ренальный NGAL синтезируется в тонком восходящем отделе петли Генле и в собирательных трубках и поступает в мочу. NGAL сыворотки крови, поступающий в почки, способствует восстановлению поврежденных клеток, а синтезирующийся в почках NGAL, обладающий бактериостатическим действием (препятствует поступлению железа в бактериальные клетки), предотвращает последующее развитие инфекций мочевыводящего тракта [34]. При повреждении почечных канальцев происходит повышение уровня NGAL как в сыворотке (в 7–16 раз), так и в моче (в 25–1000 раз) [35, 36].

В эксперименте на животных моделях NGAL показал себя как высокочувствительный биомаркер гентамициновой нефротоксичности [37, 38], но клинических исследований его использования в качестве маркера ОПП при лечении гентамицином проведено недостаточно [9]. Результаты одного клинического исследования свидетельствуют о том, что NGAL может быть предикторным биомаркером нефротоксичности ванкомицина [39]. При изучении нефротоксичности иммуносупрессора такролимуса у больных после трансплантации печени выяснилось, что NGAL является наиболее чувствительным среди новых биомаркеров (MCP-1, L-FABP, IL-18, остеокальцин, цистатин С и кластерин) — высокие уровни NGAL в моче были ассоциированы с ОПП у таких пациентов [40]. В нескольких клинических исследованиях показано, что раннее повышение уровня NGAL в моче помогает выявить ОПП и, таким образом, предотвратить у пациентов цисплатиновую нефротоксичность [41]. Определение NGAL в моче выявляет ЛПП после применения препаратов платины раньше, чем это можно определить по уровню сывороточного креатинина [42, 43]. Повышение уровня NGAL позволяет прогнозировать наступление цисплатиновой нефротоксичности лучше, чем уровень альбуминурии и уровень цистатина С в моче, он может быть ранним маркером ЛПП, вызванным цисплатином [44]. Кроме того, NGAL в исследованиях при различных патологиях показывает себя хорошим предиктором ОПП и тяжести ОПП, например в кардиохирургии [45, 46], после проведения ударно-волновой литотрипсии [47].

<sup>10</sup> Там же.

Однако возможность использования биомаркера NGAL для диагностики ОПП в клинической практике ограничена. Доказано, что уровень сывороточного NGAL может повышаться при уже имеющихся у пациентов ХБП, артериальной гипертензии, инфекциях, анемии, гипоксии, злокачественных новообразованиях. Имеются экспериментальные и клинические данные, демонстрирующие зависимость экскреции NGAL с мочой от уровня протеинурии<sup>11</sup> [44, 48]. Кроме того, уровень NGAL повышается в клетках проксимальных почечных канальцев в ответ на ишемию-реперфузию [49, 50].

**Цистатин С** представляет собой полипептидную цепочку массой 13 кДа, состоящую из 120 аминокислот. Является ингибитором лизосомальных протеиназ и продуцируется всеми ядерными клетками организма, предохраняя организм от неконтролируемой активации протеолиза собственных белков. Цистатин С поступает из клеток в кровоток равномерно, и его сывороточная концентрация поддерживается на постоянном уровне. Небольшая молекулярная масса и низкое сродство к другим сывороточным белкам определяют способность данной молекулы свободно фильтроваться в почечных клубочках, поступать в канальцы, где она реабсорбируется за счет мегалин-кубулин-опосредованного эндоцитоза и затем полностью метаболизируется в эпителиоцитах проксимальных канальцев, вследствие чего в норме цистатин С экскретируется с мочой в минимальных количествах<sup>12</sup>. Концентрация цистатина С в крови не зависит от возраста, пола, диеты, в связи с чем он может быть использован как маркер почечного повреждения, альтернативный креатинину [51]. По данным метаанализа результатов 28 клинических исследований, проведенных к 2017 г., определение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), основанное на концентрации цистатина С, позволяло более точно дозировать нефротоксичные ЛП и прогнозировать их элиминацию, чем определение СКФ, рассчитанной по уровню сывороточного креатинина [52]. Это особенно оправдано для лиц с очень низким уровнем сывороточного креатинина (пациенты старческого и детского возраста) [53]. Концентрация цистатина С в крови может повышаться при применении больших доз кортикостероидов, воспалении, сахарном диабете, гипертиреозидизме, гипербилирубинемии и ревматоидном артрите [54, 55].

В экспериментах на животных моделях (крысы) концентрация цистатина С, наряду с концентрацией NGAL и KIM-1, значительно повышалась в моче после введения токсической дозы

гентамицина, что, по мнению авторов исследования, в перспективе позволит рассматривать цистатин С в качестве раннего маркера ЛПП в клинической практике [56]. Цистатин С применялся в качестве маркера нефротоксичности при диагностике ЛПП у крыс, которым вводили цисплатин [57]. В клиническом исследовании, включавшем детей с лимфобластным лейкозом, получавших лечение потенциально нефротоксичными высокими дозами метотрексата, выявлено, что плазменный цистатин С может быть маркером для мониторинга почечной функции у данной категории пациентов [58]. Цистатин С используют в клинических исследованиях по выявлению и определению тяжести контраст-индуцированного ОПП [59, 60].

**Кластерин** — гликопротеин, имеющий молекулярную массу 70–80 кДа, синтезируется во многих тканях и обнаруживается во многих физиологических жидкостях, таких как плазма, цереброспинальная и семенная жидкость. Кластерин участвует в регуляции активности комплемента, защите клеток от стресса, транспорте липидов, созревании спермы. Продукция кластерина повышается на ранних стадиях органогенеза и после повреждения тканей, а также при гипертиреозидизме [61]. Концентрация кластерина в моче повышается из-за стимуляции его синтеза в ответ на ОПП преимущественно на уровне дистальных почечных канальцев. Кластерин хорошо себя зарекомендовал в качестве чувствительного маркера ОПП. По данным исследований на животных моделях, уровень кластерина достоверно повышался в моче в ответ на введение препарата железа (венофер), контрастных веществ, сахарозы, маннитола, высоких доз гипертонического раствора [62]. Также отмечалось повышение кластерина у людей [63] и у собак [64] при отравлении ядом гадюки. В другом исследовании у мышей после введения цисплатина повысились уровни кластерина и других биомаркеров повреждения почечных канальцев, что позволило выявить ЛПП в ранние сроки, однако концентрация кластерина (а также KIM-1) в моче достоверно не изменилась после лечения ОПП α-липоевой кислотой. Авторы пришли к выводу, что кластерин является чувствительным маркером ОПП, но не подходит для осуществления мониторинга проводимой терапии [65]. Кластерин был использован в качестве биомаркера при диагностике ЛПП в исследовании по сравнению профиля безопасности ванкомицина и комбинации ванкомицина с препаратом пиперацилин+тазобактам у крыс [66]. В проспективном клиническом исследовании с участием пациентов, получавших

<sup>11</sup> Острое повреждение почек (ОПП). Клинические рекомендации. М.; 2020. [https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI\\_final.pdf](https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI_final.pdf)

<sup>12</sup> Там же.

терапию препаратами с известным нефротоксическим действием (ванкомицин, ингибиторы кальциневрина, аминогликозиды), наибольшую прогностическую ценность при диагностике ОПП показал кластерин, затем —  $\beta$ 2-микроглобулин, цистатин С, МСР-1 и КИМ-1 [67].

**$\beta$ 2-микроглобулин** — компонент неизменяемой легкой цепи главного комплекса гистосовместимости класса I (МНС I), представленный практически на всех ядродержащих клетках организма человека, в особенности на лимфоцитах. Это негликозилированный полипептид с молекулярной массой 11,729 кДа, нормальная физиологическая функция которого пока неизвестна. Концентрация  $\beta$ 2-микроглобулина в плазме крови варьирует в пределах 1–3 мг/мл. Благодаря малому размеру  $\beta$ 2-микроглобулин фильтруется через гломерулярные почечные мембраны и в норме обнаруживается в моче в небольших количествах [68] (обычно менее 360 мг/л), так как 99,9% профильтрованного  $\beta$ 2-микроглобулина реабсорбируется и катаболизируется в проксимальных почечных канальцах посредством мегалинкубулинового комплекса. В ряде исследований (как доклинических, так и клинических) показано, что  $\beta$ 2-микроглобулин может быть использован для оценки уровня гломерулярной фильтрации и тубулярной патологии [69]. По уровню мочевого  $\beta$ 2-микроглобулина в некоторых исследованиях было выявлено повреждение канальцев токсичными металлами — кадмием [70], литием [71], а также препаратами тенофовир у пациентов с ВИЧ-инфекцией [72, 73], цисплатин [74], гентамицин (в эксперименте у крыс) [75]. Уровень  $\beta$ 2-микроглобулина повышается в моче и после назначения такого нефротоксичного ЛП, как циклоспорин. Тем не менее связь между повышением  $\beta$ 2-микроглобулина в моче и развитием ОПП остается неопределенной, а корреляция между кратковременным повышением уровня этого маркера и снижением СКФ — неясной [76].

Уровень  $\beta$ 2-микроглобулина в плазме крови не зависит от пола, расы и этнической принадлежности пациента. Однако он может быть повышен при солидных опухолях, лимфопролиферативных заболеваниях (миеломная болезнь, хронический лимфобластный лейкоз), многих аутоиммунных заболеваниях (болезнь Крона, синдром Шегрена, системная красная волчанка), ревматоидном артрите, то есть при состояниях, сопровождающихся увеличением количества клеток, несущих на себе молекулы МНС I [70]. Кроме того, по данным исследований последних лет, в общей популяции выявлена независимая и сильная ассоциация повышения уровня  $\beta$ 2-микроглобулина с общей смертностью и сердечно-сосудистыми неблагоприятными исхода-

ми у пациентов с бессимптомным атеросклерозом сонных артерий [77].

**Биомаркеры ареста клеточного цикла IGFBP7 (insulin-like growth factor-binding protein-7) и TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinases-2)** экспрессируются и секретируются клетками эпителия проксимальных почечных канальцев и подавляют фазу G1 клеточного цикла на ранних стадиях клеточного стресса или повреждения, вызванного различными патологическими состояниями (например, ишемия, оксидативный стресс, воздействие токсинов). В результате стресса клетки эпителия проксимальных почечных канальцев могут экспрессировать и выделять IGFBP7 и TIMP-2. TIMP-2 стимулирует экспрессию белка p27, а IGFBP7 напрямую повышает экспрессию белков p53 и p21, которые блокируют эффекты циклинзависимых протеинкиназных комплексов (CyclD-CDK4 и CyclE-CDK2). Это приводит к временной остановке G1 фазы клеточного цикла в ранние стадии клеточного стресса, что дает клетке возможность устранить повреждение и распад ДНК, восстановить энергетический баланс и функции.

В 2014 г. в США было одобрено применение тест-системы NephroCheck® для диагностики ОПП средней и тяжелой степени тяжести у пациентов старше 21 года в отделениях интенсивной терапии и реанимации. Выявление при помощи данной тест-системы биомаркеров ареста клеточного цикла IGFBP7 и TIMP-2 в моче позволяет прогнозировать развитие ОПП в течение первых 12 ч от момента забора мочи [78].

На данный момент проведено много исследований по изучению прогностической ценности тестов для определения уровней IGFBP7 и TIMP-2 в моче при различных патологиях и клинических ситуациях (операции на сердце, операции по трансплантации почки, другие полостные операции, сепсис, декомпенсация хронической сердечной недостаточности, после остановки сердца, после воздействия нефротоксических лекарственных препаратов, например цисплатина) [78]. Прогностическая значимость, чувствительность и специфичность тестов по определению биомаркеров ОПП была изучена в трех крупных клинических исследованиях (Sapphire, Opal, Topaz), одной из целей которых была валидация теста на определение уровня IGFBP7 и TIMP-2. В исследовании Sapphire анализировали прогностическую ценность 340 почечных биомаркеров в гетерогенной популяции находившихся в критическом состоянии пациентов с различными сопутствующими заболеваниями. Маркеры IGFBP7 и TIMP-2 продемонстрировали значительное преимущество в прогнозировании и стратификации риска развития ОПП (уровень статистической значимости  $p < 0,002$ ). По данным проведенных исследований,

биомаркеры ареста клеточного цикла позволяли прогнозировать развитие тяжелого ОПП (2-й и 3-й стадии) с большей достоверностью, чем NGAL, KIM-1 или цистатин С, прогностическая ценность положительного результата составила 49%, отрицательного — 97% [78, 79].

Однако арест клеточного цикла может привести к фенотипу стареющей клетки и фиброзу, ассоциирован не только с ОПП, но также может служить механистической связью между ОПП и ХБП [80]. Таким образом, для оценки значимости теста NephroCheck® требуется проведение дополнительных исследований в популяциях пациентов с разными патологиями в разнообразных клинических ситуациях [78].

### **Использование биомаркеров нефротоксичности в исследованиях лекарственных препаратов *in vitro***

Биомаркеры ОПП используют при создании *in vitro* моделей для изучения потенциальных нефротоксических свойств как вновь синтезированных фармацевтических субстанций, так и уже применяемых в клинической практике ЛП [81].

Х. Qiu и соавт. в 2018 г. [82] опубликовали результаты изучения возможности использования модели на основе клеточной линии НК-2 для оценки нефротоксичности 22 соединений, в том числе ЛП. В качестве биомаркеров почечного повреждения были рассмотрены ЛДГ, ГГТ, KIM-1, кластерин, цистатин С, NGAL, TIMP-1, GSTπ и остеокальцин. Для подтверждения нефротоксического эффекта в результате экспозиции клеток почечного эпителия с выбранными соединениями в различных концентрациях оценивали количество погибших и оставшихся жизнеспособными клеток, а также выявляли белки, свидетельствующие о процессе апоптоза в данной клеточной линии. Затем оценивали экспрессию белков биомаркеров в условиях доказанного лекарственного повреждения почечного эпителия. Прогностическая ценность для оценки возможности развития нефротоксического эффекта была высокой для KIM-1, кластерина, остеокальцина и цистатина С (значение AUC 0,84, 0,83, 0,81 и 0,79 соответственно), а использование комбинации кластерина, KIM-1 и/или остеокальцина позволило повысить точность диагностики по сравнению с данными по одному биомаркеру (значения AUC варьировали от 0,88 до 0,95). По мнению авторов, такая модель позволит предположить наличие нефротоксических свойств при исследовании препаратов *in vitro* на ранних стадиях доклинического изучения [82].

Те же авторы в 2020 г. провели исследование возможности использования 18 биомаркеров (коллаген IV типа, калибиндин, FABP-1, GSTα, GSTπ, интерферон-гамма индуцибельный

протеин 10 (IP-10), KIM-1, остеокальцин, ренин, TFF-3, TIMP-1, α1-микроглобулин, альбумин, кластерин, цистатин С, эпидермальный фактор роста, NGAL и остеокальцин) в качестве биомаркеров ОПП при применении нефротоксичных ЛП и других веществ на модели клеточной линии RPTEC/TERT1. После подсчета погибших и оставшихся жизнеспособными клеток почечного эпителия в результате воздействия цисплатина, циклоспорина, аристовой кислоты и гентамицина и подтверждения процессов апоптоза оценивали экспрессию указанных биомаркеров и экспрессию мРНК кластерина, цистатина С, GSTπ и TIMP-1. Было выявлено достоверное повышение экспрессии биомаркеров (кластерин, цистатин С, GSTπ и TIMP-1), сопровождавшееся активацией транскрипции. Авторы пришли к выводу, что указанные маркеры могут быть использованы в экспериментальных моделях *in vitro* для изучения нефротоксичности на клеточных линиях RPTEC/TERT1 [83].

Еще одним перспективным направлением для диагностики ЛПП является использование генных биомаркеров ЛПП. Воздействие нефротоксического ЛП на клетки *in vitro* может изменить уровень экспрессии генов (оценивали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) по уровню соответствующей мРНК), кодирующих белки, ранее ассоциированные с почечным повреждением. Так, в исследовании, проведенном в США в 2017 г., было показано, что воздействие гентамицина вызывает повышение экспрессии четырех генов, кодирующих HAVcr1, ICAM-1, EXOC6 и каспазу-3. Сделан вывод о том, что эти гены играют важную роль в механизмах нефротоксичности, вызванной гентамицином, и могут быть использованы в качестве ранних биомаркеров нефротоксичности в исследованиях *in vitro* при разработке безопасных ЛП [84].

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Применение традиционных маркеров ОПП (уровень сывороточного креатинина, снижение темпа диуреза, концентрация азота мочевины, экскреция натрия, микроскопия мочевого осадка) ограничено в связи с их низкой чувствительностью и специфичностью.

Среди новых биомаркеров лекарственной нефротоксичности наиболее перспективными для раннего распознавания лекарственно-индуцированного ОПП являются KIM-1, L-FABP, NAG, NGAL, цистатин С, кластерин, β2-микроглобулин, MCP-1, TIMP-2, IGFBP7. В то же время ни один новый биомаркер пока не рекомендован для использования в рутинной клинической практике. Лишь некоторые из них локально доступны

для клинического применения (например, TIMP-2 и IGFBP7 — в США). Объем клинических и доклинических исследований по изучению валидности диагностических тестов, основанных на определении концентрации новых биомаркеров в моче и/или в крови, в настоящее время еще недостаточен, и точные алгоритмы оценки рисков развития ОПП, его диагностики, мониторинга течения и терапии с использованием этих биомаркеров не разработаны. Поэтому определение указанных биомаркеров носит лишь рекомендательный характер.

Учитывая важность изучения потенциальных нефротоксических свойств разрабатываемых ЛП, необходимо продолжить исследование как новых, так и потенциальных биомаркеров, в первую очередь позволяющих проводить раннюю диагностику ОПП и даже идентифицировать пациентов с риском ОПП, а также продолжить создание и совершенствование экспериментальных моделей для изучения нефротоксичности *in vitro* и *in vivo*.

**Вклад авторов.** *О. В. Муслимова* — идея исследования, работа с источниками литературы, анализ данных, формулировка выводов, написание и редактирование текста; *В. А. Евтеев* — работа с источниками литературы, анализ данных, формулировка выводов, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; *И. А. Мазеркина* — работа с источниками литературы, анализ данных; *Е. А. Сокова* — работа с источниками литературы, анализ данных; *А. Б. Прокофьев* — идея исследования, анализ данных, формулировка выводов;

*А. В. Шапченко* — сбор и анализ данных литературы; *Т. В. Александрова* — работа с источниками литературы, редактирование текста.

**Authors' contributions.** *Olga V. Muslimova*—elaboration of the study concept, collection and analysis of literature data, formulation of conclusions, writing and editing of the text; *Vladimir A. Evteev*—collection and analysis of literature data, formulation of conclusions, approval of the final version of the paper for publication; *Irina A. Mazerkina*— collection and analysis of literature data; *Elena A. Sokova*—collection and analysis of literature data; *Alexey B. Prokofiev*—elaboration of the study idea, collection and analysis of literature data, formulation of conclusions; *Anna V. Shapchenko*—collection and analysis of literature data; *Tatiana V. Alexandrova*—collection of literature data, editing of the text.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400082-4).

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400082-4).

**Конфликт интересов.** А. Б. Прокофьев является членом редколлегии журнала «Безопасность и риск фармакотерапии». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Conflict of interest.** Alexey B. Prokofiev is a member of the Editorial Board of the *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Mody H, Ramakrishnan V, Chaar M, Lezeau J, Rump A, Taha K, et al. A review on drug-induced nephrotoxicity: pathophysiological mechanisms, drug classes, clinical management, and recent advances in mathematical modeling and simulation approaches. *Clin Pharmacol Drug Dev.* 2020;9(8):896–909. <https://doi.org/10.1002/cpdd.879>
2. Malyszko J. Biomarkers of acute kidney injury in different clinical settings: a time to change the paradigm? *Kidney and Blood Press Res.* 2010;33(5):368–82. <https://doi.org/10.1159/000319505>
3. Taber SS, Mueller BA. Drug-associated renal dysfunction. *Crit. Care Clin.* 2006;22(2):357–74. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2006.02.003>
4. Wu H, Huang J. Drug-induced nephrotoxicity: pathogenic mechanisms, biomarkers and prevention strategies. *Curr Drug Metab.* 2018;19(7):559–67. <https://doi.org/10.2174/1389200218666171108154419>
5. Brower V. Biomarkers: Portents of malignancy. *Nature.* 2011;471(7339):S19–21 <https://doi.org/10.1038/471S19a>
6. Rizvi MS, Kashani KB. Biomarkers for early detection of acute kidney injury. *J Appl Lab Med.* 2017;2(3):386–99. <https://doi.org/10.1373/jalm.2017.023325>
7. Andreucci M, Faga T, Pisani A, Perticone M, Michael A. The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. *Eur J Intern Med.* 2017;39:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.12.001>
8. Fiorentino M, Castellano G, Kellum JA. Differences in acute kidney injury ascertainment for clinical and preclinical studies. *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(11):1789–805. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfx002>
9. Tajima S, Yamamoto N, Masuda S. Clinical prospects of biomarkers for the early detection and/or prediction of organ injury associated with pharmacotherapy. *Biochem Pharmacol.* 2019;170:113664. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.113664>
10. Shinke H, Masuda S, Togashi Y, Ikemi Y, Ozawa A, Sato T. Urinary kidney injury molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 are noninvasive biomarkers of cisplatin-induced nephrotoxicity in lung cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;76(5):989–96. <https://doi.org/10.1007/s00280-015-2880-y>
11. Cosner D, Zeng X, Zhang PL. Proximal tubular injury in medullary rays is an early sign of acute tacrolimus nephrotoxicity. *J Transplant.* 2015;(6):142521. <https://doi.org/10.1155/2015/142521>
12. Shin YJ, Kim TH, Won AJ, Jung JY, Kwack SJ, Kacew S, et al. Age-related differences in kidney injury biomarkers induced by cisplatin. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014;37(3):1028–39. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.03.014>
13. Sinha V, Vence LM, Salahudeen AK. Urinary tubular protein-based biomarkers in the rodent model of cisplatin nephrotoxicity: a comparative analysis of serum creatinine, renal histology, and urinary KIM-1, NGAL, and NAG in the initiation, maintenance, and recovery phases of acute kidney injury. *J Invest Med.* 2013;61(3):564–8. <https://doi.org/10.2310/JIM.0b013e31828233a8>
14. Vinken P, Starckx S, Barale-Thomas E, Loosova A, Sonee M, Goeminne N, et al. Tissue KIM-1 and urinary clusterin as early indicators of cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Toxicol Pathol.* 2012;40(7):1049–62. <https://doi.org/10.1177/0192623312444765>
15. Luo QH, Chen ML, Sun FJ, Chen Z, Li M, Zeng W, et al. KIM-1 and NGAL as biomarkers of nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Mol Cell Biochem.* 2014;397(1–2):53–60. <https://doi.org/10.1007/s11010-014-2171-7>

16. Kramer AB, van Timmeren MM, Schuurs TA, Vaidya VS, Bonventre JV, van Goor H, et al. Reduction of proteinuria in adriamycin-induced nephropathy is associated with reduction of renal kidney injury molecule (KIM-1) over time. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;296(5):F1136–45. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00541.2007>
17. Zhou Y, Vaidya VS, Brown RP, Zhang J, Rosenzweig BA, Thompson KL, et al. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. *Toxicol Sci.* 2008;101(1):159–70. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm260>
18. Wunnapak K, Liu X, Gobe GC, Endre ZH, Peake PW, Grice JE, et al. Kidney biomarkers in MCPA induced acute kidney injury in rats: reduced clearance enhances early biomarker performance. *Toxicol Lett.* 2014;225(3):467–78. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.01.018>
19. Cardenas-Gonzalez MC, Del Razo LM, Barrera-Chimal J, Jacobo-Estrada T, López-Bayghen E, Bobadilla NA, et al. Proximal renal tubular injury in rats sub-chronically exposed to low fluoride concentrations. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013;272(3):888–94. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.07.026>
20. Ho J, Tangri N, Komenda P, Kaushal A, Sood M, Brar R, et al. Urinary, plasma, and serum biomarkers' utility for predicting acute kidney injury associated with cardiac surgery in adults: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(6):993–1005. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.06.018>
21. Li W, Yu Y, He H, Chen J, Zhang D. Urinary kidney injury molecule-1 as an early indicator to predict contrast-induced acute kidney injury in patients with diabetes mellitus undergoing percutaneous coronary intervention. *Biomed Rep.* 2015;3(4):509–12. <https://doi.org/10.3892/br.2015.449>
22. Torregrosa I, Montoliu C, Urios A, Andrés-Costa MJ, Giménez-Garzó C, Juan I, et al. Urinary KIM-1, NGAL and L-FABP for the diagnosis of AKI in patients with acute coronary syndrome or heart failure undergoing coronary angiography. *Heart Vessels.* 2015;30(6):703–11. <https://doi.org/10.1007/s00380-014-0538-z>
23. Yang CH, Chang CH, Chen TH, Fan PC, Chang SW, Chen CC, et al. Combination of urinary biomarkers improves early detection of acute kidney injury in patients with heart failure. *Circ J.* 2016;80(4):1017–23. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0886>
24. Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Hara M, Sugaya T, Kodama T, Fujitani S, et al. Clinical significance of tubular and podocyte biomarkers in acute kidney injury. *Clin Exp Nephrol.* 2011;15(2):220–5. <https://doi.org/10.1007/s10157-010-0384-y>
25. Katoh H, Nozue T, Kimura Y, Nakata S, Iwaki T, Kawano M, et al. Elevation of urinary liver-type fatty acid-binding protein as predicting factor for occurrence of contrast-induced acute kidney injury and its reduction by hemodiafiltration with blood suction from right atrium. *Heart Vessels.* 2014;29(2):191–7. <https://doi.org/10.1007/s00380-013-0347-9>
26. Negishi K, Noiri E, Sugaya T, Li S, Megyesi J, Nagothu K, Portilla D, et al. A role of liver fatty acid-binding protein in cisplatin-induced acute renal failure. *Kidney Int.* 2007;72(3):348–58. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002304>
27. Geus H, Betjes M, Bakker J. Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges. *Clin Kidney J.* 2012;5(2):102–8. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfs008>
28. Gautier JC, Zhou X, Yang Y, Gury T, Qu Z, Palazzi X, et al. Evaluation of novel biomarkers of nephrotoxicity in Cynomolgus monkeys treated with gentamicin. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016;303:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.04.012>
29. D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12(6):639–43. <https://doi.org/10.1097/01.mnh.0000098771.18213.a6>
30. Garcia-Garcia PM, Martin-Izquierdo E, de Basoa CM, Jarque-Lopez A, Perez-Suarez G, Rivero-Gonzales A, et al. Urinary Clara cell protein in kidney transplant patients: a preliminary study. *Transplant Proc.* 2016;48(9):2884–7. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2016.09.022>
31. Hsu CY, Xie D, Waikar SS, Bonventre JV, Zhang X, Sabbiseti V, et al. Urine biomarkers of tubular injury do not improve on the clinical model predicting chronic kidney disease progression. *Kidney Int.* 2017;91(1):196–203. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.09.003>
32. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ, et al. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(3):543–51. <https://doi.org/10.1093/ndt/18.3.543>
33. Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem.* 1993;268(14):10425–32. PMID: 7683678
34. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, Barasch J. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(2):407–13. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080882>
35. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, Lee HT. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology.* 2006;105(3):485–91. <https://doi.org/10.1097/0000542-200609000-00011>
36. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet.* 2005;365(9466):1231–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)74811-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)74811-X)
37. Udupa V, Prakash V. Gentamicin induced acute renal damage and its evaluation using urinary biomarkers in rats. *Toxicol Rep.* 2019;6:91–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.11.015>
38. Uchino H, Fujishima J, Fukuoka K, Iwakiri T, Kamikuri A, Maeda H, Nakama K. Usefulness of urinary biomarkers for nephrotoxicity in cynomolgus monkeys treated with gentamicin, cisplatin, and puromycin aminonucleoside. *J Toxicol Sci.* 2017;42(5):629–40. <https://doi.org/10.2131/jts.42.629>
39. Pang HM, Qin XL, Liu TT, Wei WX, Cheng DH, Lu H, et al. Urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as early biomarkers for predicting vancomycin-associated acute kidney injury: a prospective study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(18):4203–13. PMID: 29028077
40. Tsuchimoto A, Shinke H, Uesugi M, Kikuchi M, Hashimoto E, Sato T, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a useful biomarker for tacrolimus-induced acute kidney injury in liver transplant patients. *PLoS One.* 2014;9(10):110527. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110527>
41. Gaspari F, Cravedi P, Mandala M, Perico N, de Leon FR, Stucchi N, et al. Predicting cisplatin-induced acute kidney injury by urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin excretion: a pilot prospective case-control study. *Nephron Clin Pract.* 2010;115(2):154–60. <https://doi.org/10.1159/000312879>
42. Seker MM, Deveci K, Seker A, Sancakdar E, Yılmaz A, Turesin AK, et al. Predictive role of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in early diagnosis of platinum-induced renal injury. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(2):407–10. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.2.407>
43. Shahbazi F, Sadighi S, Dashti-Khavidaki S, Shahi F, Mirzania M. Urine ratio of neutrophil gelatinase-associated lipocalin to creatinine as a marker for early detection of cisplatin-associated nephrotoxicity. *Iran J Kidney Dis.* 2015;9(4):306–10. PMID: 26174458
44. Lin HY, Lee SC, Lin SF, Hsiao HH, Liu YC, Yang WC, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels predict cisplatin-induced acute kidney injury better than albuminuria or urinary cystatin C levels. *Kaohsiung J Med Sci.* 2013;29(6):304–11. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2012.10.004>
45. Balkanay OO, Goksedef D, Omeroglu SN, Ipek G. The dose-related effects of dexmedetomidine on renal functions and serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin values after coronary artery bypass grafting: a randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015;20(2):209–14. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivu367>
46. Tasanarong A, Hutayanon P, Piyayotai D. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts the severity of contrast-induced acute kidney injury in chronic kidney disease patients undergoing elective coronary procedures. *BMC Nephrol.* 2013;14:270. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-14-270>
47. Kardakos IS, Volanis DI, Kalikaki A, Tzortzis VP, Serafinides EN, Melekos MD, et al. Evaluation of neutro-

- phil gelatinase-associated lipocalin, interleukin-18, and cystatin C as molecular markers before and after unilateral shock wave lithotripsy. *Urology*. 2014;84(4):783–8. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2014.05.034>
48. Nielsen BS, Borregaard N, Bundgaard JR, Timshel S, Sehested M, Kjeldsen L. Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut*. 1996;38(3):414–20. <https://doi.org/10.1136/gut.38.3.414>
49. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(10):2534–43. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000088027.54400.c6>
50. Woodson BW, Wang L, Mandava S, Lee BR. Urinary cystatin C and NGAL as early biomarkers for assessment of renal ischemia-reperfusion injury: a serum marker to replace creatinine? *J Endourol*. 2013;27(12):1510–5. <https://doi.org/10.1089/end.2013.0198>
51. Aksun SA, Ozmen D, Ozmen B, Parildar Z, Mutaf I, Turgan N, et al. Beta2-microglobulin and cystatin C in type 2 diabetes: assessment of diabetic nephropathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2004;112(4):195–200. <https://doi.org/10.1055/s-2004-817933>
52. Barreto EF, Rule AD, Murad MH, Kashani KB, Lieske JC, Erwin PJ, et al. Prediction of the renal elimination of drugs with cystatin C vs creatinine: a systematic review. *Mayo Clin Proc*. 2019;94(3):500–14. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.08.002>
53. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*. 2004;66(3):1115–22. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00861.x>
54. Bokenkamp A, van Wijck JA, Lentz MJ, Stoffel-Wagner B. Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and beta2-microglobulin concentrations. *Clin Chem*. 2002;48(7):1123–6. PMID: 12089191
55. Manetti L, Pardini E, Genovesi M, Campomori A, Grasso L, Morselli LL, et al. Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *J Endocrinol Invest*. 2005;28(4):346–9. <https://doi.org/10.1007/BF03347201>
56. Udupa V, Prakash V. Gentamicin induced acute renal damage and its evaluation using urinary biomarkers in rats. *Toxicol Rep*. 2019;6:91–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.11.015>
57. Pianta TJ, Pickering JW, Succar L, Chin M, Davidson T, Buckley NA, et al. Dexamethasone modifies cystatin C-based diagnosis of acute kidney injury during cisplatin-based chemotherapy. *Kidney Blood Press Res*. 2017;42(1):62–75. <https://doi.org/10.1159/000469715>
58. Ylinen E, Jahnukainen K, Saariinen-Pihkala UM, Jahnukainen T. Assessment of renal function during high-dose methotrexate treatment in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(12):2199–202. <https://doi.org/10.1002/pbc.25137>
59. Torigoe K, Tamura A, Watanabe T, Kadota J. 20-Hour preprocedural hydration is not superior to 5-hour preprocedural hydration in the prevention of contrast-induced increases in serum creatinine and cystatin C. *Int J Cardiol*. 2013;167(5):2200–3. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.05.122>
60. Poletti PA, Saudan P, Platon A, Mermillod B, Sautter A-M, Vermeulen B, et al. IV N-acetylcysteine and emergency CT: use of serum creatinine and cystatin C as markers of radiocontrast nephrotoxicity. *AJR Am J Roentgenol*. 2007;189(3):687–92. <https://doi.org/10.2214/AJR.07.2356>
61. Masood A, Benabdelkamel H, Ekhzaimy A, Alfadda A. Plasma-based proteomics profiling of patients with hyperthyroidism after antithyroid treatment. *Molecules*. 2020;25(12):2831. <https://doi.org/10.3390/molecules25122831>
62. Kohl K, Herzog E, Dickneite G, Pestel S. Evaluation of urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury in a rat nephropathy model. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2020;105:106901. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2020.106901>
63. Ratnayake I, Mohamed F, Buckley NA, Gawarammana IB, Dissanayake DM, Chathuranga U, et al. Early identification of acute kidney injury in Russell's viper (*Daboia russelii*) envenoming using renal biomarkers. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(7):e0007486. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007486>
64. Gordin E, Gordin D, Viitanen S, Szlosek D, Coyne M, Farace G, et al. Urinary clusterin and cystatin B as bio-markers of tubular injury in dogs following envenomation by the European adder. *Res Vet Sci*. 2021;134:12–8. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.019>
65. Pianta TJ, Succar L, Davidson T, Buckley NA, Endre ZH, et al. Monitoring treatment of acute kidney injury with damage biomarkers. *Toxicol Lett*. 2017;268:63–70. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.01.001>
66. Pais GM, Liu J, Avedissian SN, Hiner D, Xanthos T, Chalkias A, et al. Lack of synergistic nephrotoxicity in uremic patients and piperacillin/tazobactam in a rat model and a confirmatory cellular model. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(5):1228–36. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz563>
67. Da Y, Akalya K, Murali T, Vathsala A, Tan CS, Low S, et al. Serial quantification of urinary protein biomarkers to predict drug-induced acute kidney injury. *Curr Drug Metab*. 2019;20(8):656–64. <https://doi.org/10.2174/1389200220666190711114504>
68. Zumrutdal A. Role of  $\beta$ 2-microglobulin in uremic patients may be greater than originally suspected. *World J Nephrol*. 2015;4(1):98–104. <https://doi.org/10.5527/wjn.v4.i1.98>
69. Argyropoulos CP, Chen SS, Ng Y-H, Roumelioti M-E, Shaffi K, Singh PP, Tzamaloukas AH. Rediscovering beta-2 microglobulin as a biomarker across the spectrum of kidney diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2017;4:73. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00073>
70. Kim Y-D, Yim D-H, Eom S-Y, Moon S-I, Park C-H, Kim G-B, et al. Temporal changes in urinary levels of cadmium, N-acetyl- $\beta$ -d-glucosaminidase and  $\beta$ 2-microglobulin in individuals in a cadmium-contaminated area. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015;39(1):35–41. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.10.016>
71. Rybakowski JK, Abramowicz M, Chłopocka-Wozniak M, Czekalski S. Novel markers of kidney injury in bipolar patients on long-term lithium treatment. *Hum Psychopharmacol*. 2013;28(6):615–8. <https://doi.org/10.1002/hup.2362>
72. Nishijima T, Gatanaga H, Komatsu H, Tsukada K, Shimbo T, Aoki T, et al. Renal function declines more in tenofovir- than abacavir-based antiretroviral therapy in low-body weight treatment-naïve patients with HIV infection. *PLoS One*. 2012;7:e29977. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029977>
73. Oboho I, Abraham A, Benning L, Anastos K, Sharma A, Young M, et al. Tenofovir use and urinary biomarkers among HIV-infected women in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013;62(4):388–95. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31828175c9>
74. George B, Joy MS, Aleksunes LM. Urinary protein biomarkers of kidney injury in patients receiving cisplatin chemotherapy. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2018;243(3):272–82. <https://doi.org/10.1177/1535370217745302>
75. Gautier JC, Gury T, Guffroy M, Masson R, Khan-Malek R, Hoffman D, et al. Comparison between male and female Sprague-Dawley rats in the response of urinary biomarkers to injury induced by gentamicin. *Toxicol Pathol*. 2014;42(7):1105–16. <https://doi.org/10.1177/019262314524489>
76. Griffin BR, Faubel S, Edelstein CL. Biomarkers of drug-induced kidney toxicity. *Ther Drug Monit*. 2019;41(2):213–26. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000589>
77. Amighi J, Hoke M, Mlekusch W, Schlager O, Exner M, et al. Beta 2 microglobulin and the risk for cardiovascular events in patients with asymptomatic carotid atherosclerosis. *Stroke*. 2011;42(7):1826–33. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.600312>
78. Fan W, Ankawi G, Zhang J, Digvijay K, Giavarina D, Yin Y, Ronco C. Current understanding and future directions in the application of TIMP-2 and IGFBP<sub>1</sub> in AKI clinical practice. *Clin Chem Lab Med*. 2019;57(5):567–76. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0776>
79. Bihorac A, Chawla LS, Shaw AD, Al-Khafaji A, Davison DL, Demuth GE, et al. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189(8):932–9. <https://doi.org/10.1164/rccm.201401-0077OC>
80. Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, Shah JV, Bonventre JV. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Med*. 2010;16(5):535–43. <https://doi.org/10.1038/nm.2144>
81. Мазеркина ИА, Евтеев ВА, Прокофьев АБ, Муслимова ОВ, Демченкова ЕО. Экспериментальные модели

- клеточных линий для скрининга нефротоксичности. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(3):160–6. [Mazerkina IA, Evteev VA, Prokofiev AV, Muslimova OV, Demchenkova EYu. Experimental cell line models for nephrotoxicity screening. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(3):160–6 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-160-166>
82. Qiu X, Zhou X, Miao Y, Li B. An in vitro method for nephrotoxicity evaluation using HK-2 human kidney epithelial cells combined with biomarkers of nephrotoxicity. *Toxicol Res (Camb)*. 2018;7(6):1205–13. <https://doi.org/10.1039/c8tx00095f>
83. Qiu X, Miao Y, Geng X, Zhou X, Li B. Evaluation of biomarkers for in vitro prediction of drug-induced nephrotoxicity in RPTEC/TERT1 cells. *Toxicol Res (Camb)*. 2020;9(2):91–100. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa005>
84. Silva SCT, de Almeida LA, Soares S, Grossi MF, Valente AMS, Tagliati CA. In vitro study of putative genomic biomarkers of nephrotoxicity through differential gene expression using gentamicin. *Toxicol Mech Methods*. 2017;27(6):435–41. <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1313345>

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

- Муслимова Ольга Валерьевна**, канд. мед. наук. *Olga V. Muslimova*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-1009-9609>
- Евтеев Владимир Александрович**. *Vladimir A. Evteev*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>
- Мазеркина Ирина Анатольевна**, канд. мед. наук. *Irina A. Mazerkina*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3733-6822>
- Сокова Елена Андреевна**, канд. мед. наук, доцент. *Elena A. Sokova*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6389-2099>
- Прокофьев Алексей Борисович**, д-р мед. наук, профессор. *Alexey B. Prokofiev*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7024-5546>
- Шапченко Анна Валерьевна**, канд. мед. наук, доцент. *Anna V. Shapchenko*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4856-9346>
- Александрова Татьяна Владимировна**, канд. мед. наук. *Tatiana V. Alexandrova*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3855-5899>

Статья поступила 24.08.2021  
После доработки 13.10.2021  
Принята к печати 09.12.2021

Article was received 24 August 2021  
Revised 13 October 2021  
Accepted for publication 9 December 2021

## ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ СЕМИНАРЫ ЦЕНТРА ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ФГБУ «НЦЭСМП» МИНЗДРАВА РОССИИ

### Расписание семинаров на январь–март 2022 года

28 января	Вебинар «Предоставление документов и данных в модуле 3 (Качество) регистрационного досье»
31 января	Вебинар «Требования к отчету по фармакокинетической части исследования биоэквивалентности лекарственных средств»
31 января	Вебинар «Требования ЕАЭС к доклиническим исследованиям лекарственных средств»
15–17 февраля	Онлайн-программа повышения квалификации «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств – GMP»
3 марта	Вебинар «Валидация досье в процессе регистрации нового лекарственного препарата. Требования к оформлению в рамках регистрации ЕАЭС»
4 марта	Вебинар «Рекомендации по представлению информации в общей характеристике лекарственного препарата (ОХЛП) по процедуре приведения в соответствие в рамках требований ЕАЭС»
10 марта	Вебинар «Рекомендации по представлению информации в ИМП (листке-вкладыше) по процедуре регистрации с учетом требований ЕАЭС»

Перечень образовательных мероприятий и научных конференций  
доступен на сайте ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России<sup>1</sup>

<sup>1</sup> <https://www.regmed.ru/edu/education/SeminarPlan>