

© О.В. Галкина, Е.О. Богданова, И.М. Зубина, Е.Н. Левыкина, С.В. Лапин, О.Ю. Ткаченко, А.В. Мазинг, В.А. Добронравов, А.В. Смирнов, 2020
УДК 577.152.31 : 616-097.3

doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-6-71-77

*О.В. Галкина¹, Е.О. Богданова¹, И.М. Зубина¹, Е.Н. Левыкина¹, С.В. Лапин²,
О.Ю. Ткаченко², А.В. Мазинг², В.А. Добронравов^{1*}, А.В. Смирнов¹*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ К РЕЦЕПТОРУ ФОСФОЛИПАЗЫ A₂

¹Научно-исследовательский институт нефрологии, ²Научно-методический центр Минздрава России по молекулярной медицине, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: сравнение методов непрямой иммунофлуоресценции (НИФ) и иммуноферментного анализа (ИФА) при определении циркулирующих антител к подоцитному трансмембранному рецептору секретируемой фосфолипазы A₂ М-типа (PLA₂R-AT) у пациентов с первичной мембранозной нефропатией (ПМН). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование были включены 54 пациента с ПМН (М:Ж [33:21]) в возрасте 55 (40–63) лет и 10 условно здоровых лиц соответствующего пола и возраста. У всех пациентов определяли протеинурию и рассчитывали скорость клубочковой фильтрации (рСКФ). Уровни PLA₂R-AT определяли методами НИФ и твердофазного ИФА с использованием тест-систем EURUIMMUN AG (Lubeck, Germany). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Уровни PLA₂R-AT, определенные двумя исследуемыми методами, изменялись сонаправленно ($r = 0,82$, $p < 0,005$). Метод ИФА позволял выявлять большее количество анти-PLA₂R-позитивных случаев как в группе пациентов до лечения (ИФА – до 80 %, НИФ – до 67 %), так и среди пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию (ИФА – до 63 %, НИФ – до 50 %). Концентрация аутоантител, определенная методом ИФА (как количественным, так и полуколичественным), коррелировала с протеинурией ($r = 0,69$, $p = 0,001$) и рСКФ ($r = -0,38$, $p = 0,035$). Динамика аутоантител в ответ на терапию более отчетливо прослеживалась при выполнении исследования методом количественного ИФА. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Результаты, полученные методом ИФА, хорошо коррелируют с традиционными лабораторными тестами оценки дисфункции почек, данный метод позволяет более точно оценивать концентрацию PLA₂R-AT в динамике на фоне иммуносупрессии, что может способствовать своевременной коррекции и улучшению результатов лечения.

Ключевые слова: мембранозная нефропатия, аутоантитела, рецептор фосфолипазы A₂

*O.V. Galkina¹, E.O. Bogdanova¹, I.M. Zubina¹, E.N. Levykina¹, S.V. Lapin²,
O.Yu. Tkachenko², A.V. Mazing², V.A. Dobronravov^{1*}, A.V. Smirnov¹*

COMPARATIVE ANALYSIS OF IMMUNOASSAY METHODS FOR THE DETERMINATION OF CIRCULATING ANTIBODIES TO THE PHOSPHOLIPASE A₂ RECEPTOR

¹Research Institute of Nephrology, ²Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine of the Ministry of Health Care of the Russian Federation, Pavlov University, Saint Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

THE AIM. Comparison of indirect immunofluorescence (IIFT) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) methods for the determination of circulating antibodies to the podocytic transmembrane receptor of M-type secreted phospholipase A₂ (PLA₂R-AB) in patients with primary membranous nephropathy (PMN). **PATIENTS AND METHODS.** The study included 54 patients with PMN (M: F [33:21]) aged 55 (40–63) years and 10 apparently healthy individuals of the corresponding gender and age. Proteinuria and glomerular filtration rate (eGFR) was determined in all patients. The anti-PLA₂R-AB levels were measured by indirect immunofluorescence (IIFT) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using EURUIMMUN AG test systems (Lubeck, Germany). **RESULTS.** The levels of anti-PLA₂R-AB determined by the two investigated methods were changed in the same direction ($r = 0,82$, $p < 0,005$). The ELISA method made it possible to detect a larger number of anti-PLA₂R-positive cases, both in the group of patients before treatment (ELISA – up to 80 %, IIFT – up to 67 %) and among patients receiving immunosuppressive therapy (ELISA – up to 63 %, IIFT – up to 50 %). The concentration of autoantibodies determined by ELISA

Контактная информация:

*Добронравов В.А. 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, научно-исследовательский институт нефрологии. Тел.: +7(812)338-69-01; e-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

Corresponding author:

*V.A. Dobronravov. 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology. Phone: +7(812)338-69-01; e-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

(both quantitative and semi- quantitative) correlated with proteinuria ($r = 0.69$, $p = 0.001$) and eGFR ($r = -0.38$, $p = 0.035$). The response to therapy was more clearly traced when the study was performed by quantitative ELISA. **CONCLUSION.** The ELISA method is more effective in identifying PLA₂R-positive patients with PMN, allows obtaining quantitative results and assessing the dynamics of the concentration of autoantibodies, which contributes to the early correction of the therapy and decision-making on immunosuppressive treatment.

Keywords: membranous nephropathy, treatment, autoantibodies, phospholipase A2 receptor

Для цитирования: Галкина О.В., Богданова Е.О., Зубина И.М., Левыкина Е.Н., Лапин С.В., Ткаченко О.Ю., Мазинг А.В., Добронравов В.А., Смирнов А.В. Сравнительный анализ иммунологических методов определения циркулирующих антител к рецептору фосфолипазы A2. *Нефрология* 2020;24(6):71-77. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-6-71-77

For citation: Galkina O.V., Bogdanova E.O., Zubina I.M., Levykina E.N., Lapin S.V., Tkachenko O.Yu., Mazing A.V., Dobronravov V.A., Smirnov A.V. Comparative analysis of immunoassay methods for the determination of circulating antibodies to the phospholipase A2 receptor. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2020;24(6):71-77 (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-6-71-77

ВВЕДЕНИЕ

Рецептор фосфолипазы A₂ (PLA₂R) M-типа – трансмембранный белок подоцитов человека [1]. PLA₂R был идентифицирован как основной аутоантиген при первичной мембранозной нефропатии (ПМН) – иммуноопосредованной гломерулопатии, без явных воспалительных реакций в клубочках, приводящей к нарушению функции почек [1, 2]. Циркулирующие антитела к подоцитарному трансмембранному рецептору секретируемой фосфолипазы A₂ (PLA₂R-AT) являются информативным биомаркером для диагностики, мониторинга терапии и прогностической оценки ПМН [2]. PLA₂R-AT класса G высокоспецифичны и выявлены методом иммуноблота более чем у 70% пациентов с ПМН [1]. Однако вестерн-блот трудоемок и не подходит для оценки большого количества образцов. Согласно литературным данным, методами непрямой иммунофлуоресценции (НИФ) и иммуноферментного анализа (ИФА) выявляется от 52 до 82% PLA₂R-AT-позитивных случаев в различных географических регионах [3]. Различия в методологии могут быть одной из причин расхождения в процентном соотношении анти-PLA₂R-положительных результатов в опубликованных исследованиях [3]. На сегодняшний день в клинических лабораториях для обнаружения PLA₂R-AT используют НИФ и ИФА. Целью настоящего исследования явилось сравнение коммерчески доступных тест-систем НИФ и ИФА для определения циркулирующих PLA₂R-AT у пациентов с ПМН.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 54 пациента (М:Ж [33:21]) в возрасте 55 (40–63) лет с ПМН, подтвержденной в результате детального клинического обследования и проведения прижизненной биопсии почки в отделениях нефрологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, и 10 условно

здоровых лиц соответствующего пола и возраста без нефрологической патологии и нормальными значениями расчетной скорости клубочковой фильтрации (pСКФ). Поскольку у части пациентов исследования были выполнены в динамике, общее количество проанализированных образцов составило 79. Однократное измерение аутоантител выполнено у 54 пациентов, двукратное – у девяти пациентов, более двух – у восьми пациентов из обследованной группы. Критериями исключения являлись: вторичные формы мембранозной нефропатии, инфекционные заболевания, сердечная/легочная недостаточность, онкологические заболевания. Все обследуемые подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Накануне проведения биопсии почки пациентам назначали взятие образца венозной крови и суточной мочи. Образцы венозной крови получали в утренние часы натощак перед проведением нефробиопсии и у части пациентов – в динамике, в зависимости от клинической картины заболевания. Кровь и мочу центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин, сыворотку переносили в эппендорфы, после чего выполняли лабораторные исследования либо аликвоты биообразцов хранили при температуре –80 °C (не более 6 мес). Размораживание проводили непосредственно перед проведением исследования. Концентрацию белка в моче выполняли методом с пирогаллоловым красным на автоматическом биохимическом анализаторе Synchron CX9 (Beckman Coulter, США). Концентрацию креатинина определяли модифицированным методом Яффе путем регистрации кинетики реакции. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формуле CKD EPI [4].

Уровни PLA₂R-AT определяли методами непрямой иммунофлуоресценции и твердофазного иммуноферментного анализа. Исследование выполняли с использованием коммерческих тест-систем «Anti-Phospholipase A₂-receptor (PLA₂R)

IIFT» и «Anti-Phospholipase A₂-receptor (PLA₂R) ELISA» фирмы EURIMMUN AG (Lubeck, Germany).

Метод НИФ основан на детекции иммунофлуоресцентного свечения и позволяет определять уровень анализа качественным или полуколичественным методами. В качестве субстрата в данной тест-системе используют клетки рекомбинантной трансфицированной клеточной линии EU 90, в качестве контроля – нетрансфицированные клетки. Стекла с нанесенным субстратом инкубируют в присутствии исследуемой сыворотки пациента, при разведении образца в 10 (1:10) или более раз (с позитивным и негативным контролем), затем – при добавлении антител к иммуноглобулинам человека, меченных флуорохромом (флуоресцеина изоцианатом). Во время инкубации при положительной реакции к антигенам субстрата присоединяются специфические антитела классов IgA, IgG и IgM. При наличии антител к рецептору фосфолипазы A₂ регистрировали свечение цитоплазмы и клеточной мембраны трансфицированных клеток. Для оценки наличия и интенсивности свечения использовали люминесцентный микроскоп (Euroimmun, Eurostar, Германия). Интерпретация полученных результатов: 1) качественная оценка: отсутствие свечения при разведении образца в 10 раз (1:10) – отрицательный результат, антитела отсутствуют. Наличие специфического свечения при данном разведении – положительный результат, у пациента присутствуют антитела к PLA₂R; 2) полуколичественная оценка: титр определяется как коэффициент разбавления образца, для которого детектируют специфическую флуоресценцию. Этот результат следует сравнить с реакцией, полученной с использованием эквивалентно разведенной негативной по антителам к PLA₂R сыворотки.

ИФА-тест основан на реакции аутоантител с очищенным рекомбинантным рецептором трансфектных клеток линии EU 90 и позволяет определять уровень анализа полуколичественным или количественным методами. ИФА проводили с использованием 96-луночных полистироловых планшетов, где в качестве антигена применяли очищенные рецепторы к фосфолипазе A₂. При положительной реакции антитела класса G (а также A и M) из крови пациента связываются с антигеном. 1) Для полуколичественного определения антител выполняют измерение оптической плотности (ОП) калибратора №2, контрольных образцов и сыворотки пациента. Затем определяют отношение оптических плотностей по формуле: ОП

контроля или биообразца пациента/ОП калибратора №2. Результат интерпретируют следующим образом: <0,7 – негативный, ≥0,7<1 – сомнительный, ≥1 – положительный. 2) Для количественной оценки уровня аутоантител строят калибровочный график по 5 точкам (калибраторам), и по полученному калибровочному графику определяют концентрацию маркера в каждом образце пациента. Полученные результаты интерпретируют следующим образом: <14 RU/ml – негативный, ≥14<20 RU/ml – сомнительный, ≥20 RU/ml – положительный. Линейность набора: от 6 до 1500 RU/ml, предел чувствительности – 0,6 RU/ml. В данном исследовании проводили полуколичественную и количественную оценку концентрации PLA₂R-АТ в образцах сыворотки пациентов.

Статистический анализ данных выполняли с помощью пакета программ SAS Enterprise Guide 9.4. Поскольку статистическое распределение изученных параметров не соответствовало нормальному, данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Me, Q1–Q3). Для сравнения двух выборок использовали критерий Манна-Уитни, при сравнении большего числа выборок – критерий Краскела-Уоллиса. Для оценки связей между переменными применяли непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Межгрупповые различия и регрессионные коэффициенты считали статистически значимыми при величине $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровни циркулирующих антител к PLA₂R, определенные двумя исследуемыми методами, изменялись сонаправленно: в общей выборке ранговый коэффициент корреляции Спирмена r между двумя методами составил 0,82 ($p < 0,005$), в подгруппе первично поступивших пациентов – 0,77 ($p < 0,005$). Более высокие концентрации PLA₂R-АТ (ИФА) наблюдали в подгруппах с более высокими титрами аутоантител (НИФ) ($p_{K-W} < 0,0001$, рис. 1).

Метод ИФА позволил выявить большее количество анти-PLA₂R-позитивных случаев как в группе пациентов до лечения, так и среди пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию (ИСТ) (табл. 1).

При определении концентрации аутоантител методом ИФА (как количественным, так и полуколичественным) выявлена корреляция уровня PLA₂R-АТ и лабораторных показателей функции почек – протеинурии и рСКФ (табл. 2). Корреляция между результатами, полученными методом НИФ и лабораторными тестами, отсутствовала.

Таблица 1 / Table 1

Наличие PLA₂R-AT у пациентов с ПМН, получающих ИСТ и до лечения
Presence of PLA₂R-Ab in PMN patients receiving IST and without treatment

Метод определения PLA ₂ R-AT	ИФА количественный	ИФА полуколичественный	НИФ
Наличие PLA ₂ R-AT у пациентов с ПМН до лечения, N=15 n Pos./n Neg./% Pos.	12/3/80 %	11/4/73 %	10/5/67 %
Наличие PLA ₂ R-AT у пациентов с ПМН, получающих ИСТ, N=48 n Pos./n Neg./% Pos.	26/22/54 %	30/18/63 %	24/24/50 %

Примечание. n Pos. – количество PLA₂R-AT положительных результатов, n Neg. – количество PLA₂R-AT отрицательных результатов, % Pos – % PLA₂R-AT положительных результатов от общего числа исследований до и после ИСТ.

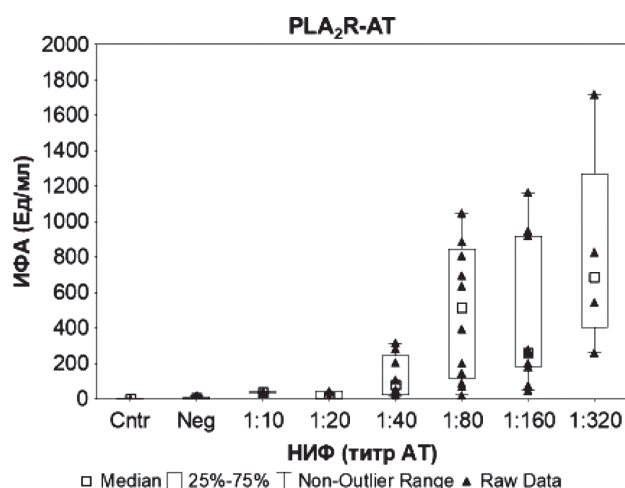


Рисунок 1. Концентрация антител к рецептору фосфолипазы А₂ (PLA₂R-AT) в сыворотке крови (ИФА) в подгруппах пациентов с различными титрами PLA₂R-AT (НИФ) и у лиц контрольной группы

НИФ – непряная иммунофлуоресценция, Cntr – контрольная группа, Neg – негативный результат.

Figure 1. Serum concentration of phospholipase A₂ receptor antibodies (PLA₂R-Ab) (ELISA) in subgroups of patients with different titers of anti-PLA₂R antibodies (IIFT) and in control group; IIFT – indirect immune fluorescence test, Cntr – control group, Neg – negative result

Корреляция между показателями функции почек и уровнями PLA₂R-AT, измеренными методами ИФА* и НИФ
Correlations between indicators of renal function and anti-PLA₂R Ab levels measured by ELISA* and IIFT

Показатель единицы измерения	анти-PLA ₂ R-AT	
	ИФА*	НИФ
Протеинурия, г/24 ч	r=0,69 p=0,001	r=0,33 p=0,061
Белок в моче, г/л	r=0,66 p=0,001	r=0,40 p=0,055
рСКФ, мл/мин/1,73 м ²	r=-0,38 p=0,035	r=-0,26 p=0,082

Примечание. PLA₂R-AT – антитела к рецептору фосфолипазы А₂; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации; * для количественного и полуколичественного ИФА получены одинаковые коэффициенты корреляции.

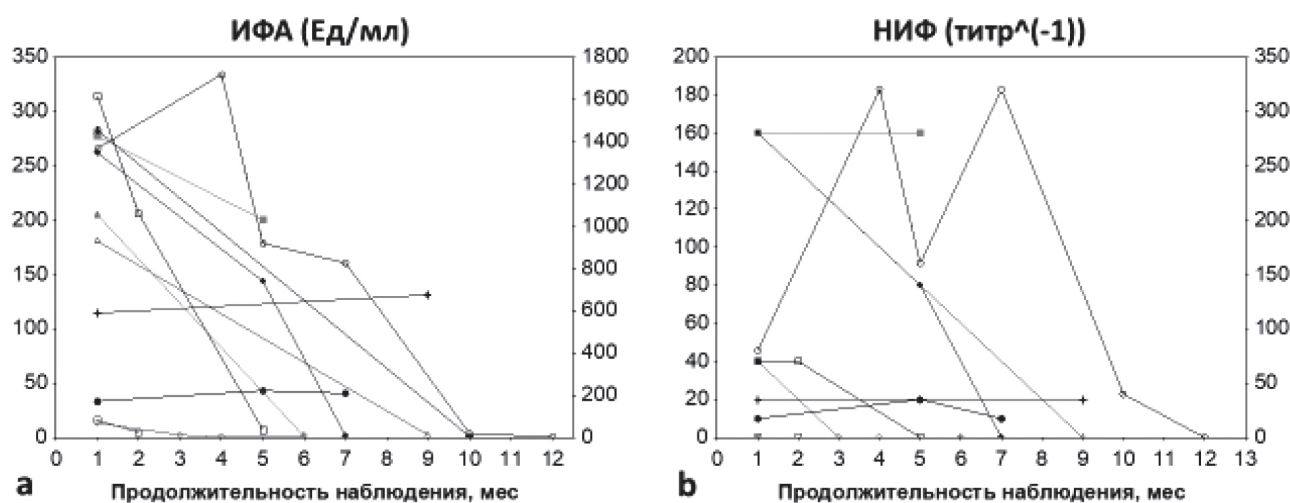


Рисунок 2. Изменение уровня антител к рецептору фосфолипазы А₂ (PLA₂R-AT) в сыворотке, измеренного методом ИФА (а) и НИФ (б), у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию; ось Y левая – для пациентов с более низкими концентрациями PLA₂R-AT, ось Y правая – для пациентов с высокими концентрациями PLA₂R-AT; НИФ – непряная иммунофлуоресценция

Для пациентов, обследованных неоднократно, была проанализирована динамика уровня аутоантител обоими методами. Полученные результаты представлены графически (рис. 2). Уровень аутоантител, полученных ИФА, более четко соответствовал ответу на проводимую терапию (см. рис. 2а), о чем свидетельствует угол наклона кривых, представленных на графиках.

ОБСУЖДЕНИЕ

В 2009 г. L.H. Jr. Beck и соавт. доказали аутоиммунный механизм мембранозной нефропатии и преобладание аутоантител к подоцитарному трансмембранному рецептору фосфолипазы A₂ М-типа (преимущественно IgG4 класса). Аутоантитела были выявлены у 70–80% пациентов с ПМН [1]. У 20–30% пациентов с ПМН аутоантитела к антигенам клубочков не были обнаружены. Клинические исследования актуальности определения PLA₂R-АТ при ПМН, выполненные на большом количестве пациентов, подтверждают наличие корреляции между уровнем аутоантител и активностью заболевания, а снижение концентрации PLA₂R-АТ является предиктором ремиссии [2]. Е. Нохха и соавт. в 2011 году разработали иммунофлуоресцентный тест для определения уровня PLA₂R-АТ в сыворотке крови пациентов с ПМН [5]. На основании разработанной ими методики фирма EUROIMMUN AG (Lubeck, Germany) наладила выпуск первых диагностических тест-систем для диагностики PLA₂R-АТ в крови человека методом НИФ, а позднее – методом ИФА. Частота выявления положительных результатов, полученных сравниваемыми методами, зависит от групп пациентов, вошедших в исследование. В научных публикациях количество пациентов с положительными результатами уровня PLA₂R-АТ варьирует от 50 до 80% [3]. Низкая частота анти-PLA₂R-позитивных пациентов с ПМН может быть связана с проводимой иммуносупрессивной терапией [5]. Так, L.H. Beck et al. исследовали изменения циркулирующих PLA₂R-АТ на фоне лечения ритуксимабом у 35 пациентов с МН. Титр антител снизился после лечения у всех больных, исходно имевших высокий уровень АТ [6]. Полученные нами данные показали, что обе исследуемые тест-системы позволяют выявлять большее количество позитивных случаев в подгруппе первичных пациентов с ПМН, не получающих ИСТ (см. табл. 1). В настоящем исследовании методом НИФ PLA₂R-АТ были выявлены в 50–67% случаев. В то время как ИФА позволил выявить до 80% случаев. При этом, даже полуколичественный

метод ИФА позволял выявлять до 73% случаев в группе пациентов без ИСТ, что сопоставимо с результатами иммуноблота.

Кроме того, уровень PLA₂R-АТ, измеренный как полуколичественным, так и количественным методами ИФА, имел сильные коэффициенты корреляции с лабораторными показателями функции почек – протеинурией и рСКФ. Полученные нами данные соответствуют результатам, описанным в научных публикациях. Так, при определении PLA₂R-АТ методом ИФА была доказана положительная корреляционная связь уровня протеинурии и концентрации PLA₂R-АТ и отрицательная с рСКФ – снижение концентрации белка в моче сочеталось с более низкой концентрацией аутоантител и более высокими значениями рСКФ [7–11]. Связь между уровнем PLA₂R-АТ и протеинурией, вероятно, обусловлена увеличением связывания аутоантител с рецептором на мембране подоцитов, следствием чего являются повреждение фильтрационного барьера и повышение протеинурии. Наличие обратной корреляции концентрации аутоантител с рСКФ свидетельствует о том, что антитела к PLA₂R являются фактором риска прогрессирования ХБП у пациентов с ПМН [12]. Между результатами, полученными методом НИФ, и протеинурией достоверной взаимосвязи выявлено не было. Отсутствие корреляции между уровнем аутоантител, определенным методом НИФ и лабораторными показателями дисфункции почек, вероятно, связано с принципиальными ограничениями неколичественных методик исследования.

Анализ результатов определения PLA₂R-АТ двумя коммерческими тест-системами одного производителя (EUROIMMUN AG, Lubeck, Germany) показал большую диагностическую значимость данных, полученных методом ИФА. Эти результаты могут быть обусловлены тем, что НИФ является субъективным полуколичественным методом, его результат зависит от качества используемой оптики, особенностей зрения и квалификации оператора. Метод ИФА более объективен, может быть полностью автоматизирован, оптические плотности образцов считываются на анализаторе – ридере планшетного типа, следовательно, метод в меньшей степени подвержен ошибкам пользователя. При количественном измерении концентрации PLA₂R-АТ методом ИФА оценку результатов проводят в динамике, что может быть полезно для оперативной коррекции терапии. Преимуществом тест-системы ИФА EUROIMMUN AG является возможность полу-

количественного измерения уровня PLA₂R-АТ без построения калибровочной кривой. Оба варианта ИФА (полуколичественный и количественный) позволяют обнаруживать высокий процент PLA₂R-АТ-позитивных пациентов с ПМН, а полученные результаты коррелируют с лабораторными показателями функции почек. Определение аутоантител методом ИФА можно выполнять в стандартных клинико-диагностических лабораториях, оснащенных базовым оборудованием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антитела к PLA₂R, выявленные в сыворотке крови методом непрямой иммунофлуоресценции или иммуноферментного анализа, – прогностический маркер для диагностики первичной МН. Полученные предварительные данные сравнительного анализа позволяют предположить, что ИФА метод детекции антител к PLA₂R может превосходить метод НИФ в чувствительности при выявлении PLA₂R-позитивных пациентов с ПМН. Результаты, полученные методом ИФА, хорошо коррелируют с традиционными лабораторными тестами оценки дисфункции почек, данный метод позволяет более точно оценивать концентрацию PLA₂R-АТ в динамике на фоне иммуносупрессии, что может способствовать своевременной коррекции терапии и улучшению результатов лечения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК REFERENCES

1. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009;361(1):11-21. doi: 10.1056/NEJMoa0810457
2. Добронравов ВА, Лапин СВ, Лазарева НМ и др. Циркулирующие антитела к рецептору фосфолипазы А2 при первичной мембранозной нефропатии. *Нефрология* 2012;16(4):39-44. doi: 10.24884/1561-6274-2012-16-4-39-44
Dobronravov VA, Lapin SV, Lazareva NM et al. Circulating phospholipase A2 receptor antibodies in primary membranous nephropathy. *Nephrology* 2012;16(4):39-44. (In Russ) doi: 10.24884/1561-6274-2012-16-4-39-44
3. Li W, Guo Y, Zhang Z et al. Comparison of 2 Anti-PLA2 R Immunoassays for the Diagnosis of Primary Membranous Nephropathy. *Lab Med* 2018;49(4):316-322. doi: 10.1093/labmed/lmy016
4. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med*. 2012 367(1):20-29
5. Hoxha E, Harendza S, Zahner G et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A₂-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(8):2526-2532. doi: 10.1093/ndt/gfr247
6. Beck L, Bombardieri AS, Choi MJ et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2013;62(3):403-441. doi: 10.1053/j.ajkd.2013.06.002
7. Kanigicherla D, Gummadova J, McKenzie EA et al. Anti-

PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int* 2013;83(5):940-948. doi: 10.1038/ki.2012.486

8. Pourcine F, Dahan K, Mihout F et al. Prognostic value of PLA2R autoimmunity detected by measurement of anti-PLA2R antibodies combined with detection of PLA2R antigen in membranous nephropathy: A single-centre study over 14 years. *PLoS One* 2017;12(3):e0173201. doi: 10.1371/journal.pone.0173201

9. Debiec H, Ronco P. Nephrotic syndrome: A new specific test for idiopathic membranous nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2011;7(9):496-498. doi: 10.1038/nrneph.2011.106

10. Pang L, Zhang AM, Li HX et al. Serum anti-PLA2R antibody and glomerular PLA2R deposition in Chinese patients with membranous nephropathy: A cross-sectional study. *Medicine (Baltimore)* 2017;96(24):e7218. doi: 10.1097/MD.00000000000007218

11. Song EJ, Jeong KH, Yang YA et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody as a prognostic marker in patients with primary membranous nephropathy. *Kidney Res Clin Pract* 2018;37(3):248-256. doi: 10.23876/j.krcp.2018.37.3.248

12. Hoxha E, Harendza S, Pinn Schmidt H et al. PLA2R antibody levels and clinical outcome in patients with membranous nephropathy and non-nephrotic range proteinuria under treatment with inhibitors of the renin-angiotensin system. *PLoS One* 2014;9(10):e110681. doi: 10.1371/journal.pone.0110681

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.**

Сведения об авторах:

Галкина Ольга Владимировна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-31; e-mail: ovgalina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

Богданова Евдокия Олеговна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-31; e-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Зубина Ирина Михайловна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-31; e-mail: zubina@list.ru. ORCID: 0000-0001-8491-7016

Левыкина Елена Николаевна, канд. биол. наук.
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-31; e-mail: levykinaelena@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8024-2904

Лапин Сергей Владимирович, канд. мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6–8. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-методический

центр Минздрава России по молекулярной медицине. Тел.: +7(812)338-71-94; e-mail: svlapin@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Ткаченко Ольга Юрьевна, канд. мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-методический центр Минздрава России по молекулярной медицине. Тел.: +7(812)338-71-94; e-mail: tkachenie@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1479-6551

Мазинг Александра Васильевна, канд. мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-Методический центр по Молекулярной медицине Минздрава РФ. Тел.: (812) 338-71-94; E-mail: alex_mazing@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1479-6551

Проф. Добронравов Владимир Александрович, д-р мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, заместитель директора по научной работе научно-исследовательского института нефрологии. Тел.: +7(812)338-69-01; e-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

Проф. Смирнов Алексей Владимирович, д-р мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, научно-исследовательский институт нефрологии, директор. Тел.: +7(921)949-59-32; e-mail: smirnov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0001-7863-9080

About the authors:

Olga V. Galkina, PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis, Head. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: ovgalkina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

Bogdanova Evdokia PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Irina M. Zubina, PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute

of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: zubina@list.ru. ORCID: 0000-0001-8491-7016

Elena N. Levykina, PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: levykinaelena@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8024-2904

Sergey V. Lapin, PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 6-8. Pavlov University, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine of the Ministry of Health Care of the Russian Federation. Phone: +7(812)338-71-94; e-mail: svlapin@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Olga Yu. Tkachenko, PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 6-8. Pavlov University, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine of the Ministry of Health Care of the Russian Federation. Phone: +7(812)338-71-94; e-mail: tkachenie@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1479-6551

Alexandra V. Mazing, PhD

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 6-8. Pavlov University, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine of the Ministry of Health Care of the Russian Federation. Phone: +7(812)338-71-94; e-mail: alex_mazing@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1479-6551

Prof. Vladimir A. Dobronravov, MD, PhD, DSc

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Deputy Director for Research; Department of Propedeutics of Internal Diseases with the Clinic, Professor. Phone: +7(812)338-69-01; e-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

Prof. Alexey V. Smirnov, MD, PhD, DMedSci

Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Director. Phone: +7(921)949-59-32; e-mail: smirnov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0001-7863-9080

Поступила в редакцию: 23.08.2020

Принята в печать: 20.10.2020

Article received: 23.08.2020

Accepted for publication: 20.10.2020