

Цистатин С и коллаген IV типа в диагностике хронической болезни почек у больных сахарным диабетом 2 типа

Климонтон В.В.¹, Еременко Н.В.², Мякина Н.Е.¹, Фазулина О.Н.¹

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск (директор — академик РАН В.И. Коненков)

²Лаборатория «ИНВИТРО-СИБИРЬ», Новосибирск (заведующий — к.м.н. В.В. Романов)

Цель. Сопоставить маркеры поражения почек — показатели скорости клубочковой фильтрации (СКФ), рассчитанные по креатинину и цистатину С, мочевою экскрецию цистатина С, коллагена IV типа и альбумина у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) с нормальной и умеренно сниженной функцией почек.

Материалы и методы. Обследовано 56 больных СД2, от 43 до 70 лет, и 16 лиц без СД и хронической болезни почек (ХБП), в возрасте 40–72 года. СКФ определяли по формулам на основе уровня креатинина (СКД- EPI_{creat}), цистатина С (СКД- EPI_{cys}) или обоих маркеров (СКД- $EPI_{creat-cys}$). Концентрацию цистатина С в сыворотке крови и моче определяли иммунотурбидиметрическим методом, экскрецию альбумина с мочой (ЭАМ) и экскрецию коллагена IV типа — методом иммуноферментного анализа. У 24 больных исследован композитный состав тела с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии.

Результаты. У больных СД уровень цистатина С в сыворотке крови положительно коррелировал с возрастом ($r=0,37$), СКФ по СКД- EPI_{creat} ($r=-0,43$) и процентом жировой ткани ($r=0,55$). Наблюдалась положительная корреляция между СКФ, рассчитанной по СКД- EPI_{cys} и СКД- EPI_{creat} ($r=0,48$). В многофакторном регрессионном анализе процент жировой ткани оказывал влияние на СКФ, рассчитанную по СКД- EPI_{cys} и СКД- $EPI_{creat-cys}$. Мочевою экскреция цистатина С не была связана с уровнем цистатина С в сыворотке, СКФ и ЭАМ. Экскреция коллагена IV типа была повышена у больных со сниженной СКФ в сравнении с пациентами без снижения ($p=0,002$). Содержание коллагена IV типа в моче коррелировало с СКФ и ЭАМ ($r=-0,28$ и $r=0,47$).

Заключение. Измерение уровня цистатина С в сыворотке крови с расчетом СКФ по СКД- EPI_{cys} и СКД- $EPI_{creat-cys}$ в дополнение к СКД- EPI_{creat} повышает точность диагностики ХБП у больных СД2. Ожирение и, в особенности, масса жировой ткани влияют на оценку СКФ, основанную на цистатине С. Повышение мочевою экскреции коллагена IV типа, но не цистатина С, связано со снижением СКФ и повышением ЭАМ у данных пациентов.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа; хроническая болезнь почек; скорость клубочковой фильтрации; цистатин С; коллаген IV типа

Cystatin C and collagen type IV in diagnostics of chronic kidney disease in type 2 diabetic patients

Klimontov V.V.¹, Eremenko N.V.², Myakina N.E.¹, Fazullina O.N.¹

¹Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

²Laboratory "INVITRO-SIBERIA", Novosibirsk, Russian Federation

Aim. To compare kidney disease markers: glomerular filtration rate (GFR), calculated upon creatinine and cystatin C, urinary cystatin C, collagen type IV and albumin in type 2 diabetic patients with normal and moderately reduced renal function.

Materials and methods. 56 patients, aged 43–70 years, and 16 healthy controls, aged 40–72 years, were included in the study. GFR was calculated by equations based on creatinine (CKD- EPI_{creat}), cystatin C (CKD- EPI_{cys}) or both markers (CKD- $EPI_{creat-cys}$). Serum and urinary cystatin C was measured by immunoturbidimetric method, urinary albumin, albumin excretion rate (AER) and collagen type IV excretion was determined by ELISA. The body composition was investigated in 24 patients by dual-energy X-ray absorptiometry.

Results. In diabetic patients serum cystatin C level correlated positively with age ($r=0.37$), GFR calculated by CKD- EPI_{creat} ($r=-0.43$) and fat mass percentage ($r=0.55$). There was a positive correlation between GFR calculated by the CKD- EPI_{cys} and GFR by CKD- EPI_{creat} ($r=0.48$). In multiple regression analysis the percentage of body fat influenced the GFR calculated by CKD- EPI_{cys} or CKD- $EPI_{creat-cys}$. No correlation between urinary cystatin C and serum cystatin C level, GFR and AER was found. Collagen type IV excretion was increased in patients with decreased GFR, compared to those with normal GFR ($p=0.002$). Urinary collagen type IV correlated with both GFR and AER ($r=-0.28$ and $r=0.47$).

Conclusion. The measurement of serum cystatin C with calculation of GFR by CKD- EPI_{cys} and CKD- $EPI_{creat-cys}$ in addition to the CKD- EPI_{creat} increases the accuracy of CKD diagnostics in type 2 diabetic patients. However, obesity and particularly body fat mass

affect the results of estimation of GFR based on cystatin C. The increase in urinary collagen type IV, but not in cystatin C excretion, is related to GFR decline and AER elevation in these patients.

Key words: type 2 diabetes; chronic kidney disease; glomerular filtration rate; cystatin C; type IV collagen

DOI: 10.14341/DM2015187-93

Ранняя диагностика хронической болезни почек (ХБП) является одной из важнейших задач при ведении пациентов с сахарным диабетом (СД). Национальные и зарубежные экспертные группы рекомендуют определение экскреции альбумина с мочой (ЭАМ) и скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в качестве обязательных тестов для диагностики ХБП при СД [1, 2]. Информативность этих тестов имеет известные ограничения. Диагностическое значение альбуминурии ограничивает ее вариабельность, зависимость от режима питания и физических нагрузок, наличия инфекции мочевыводящих путей, лихорадки, кетоацидоза. Источниками ошибок при определении СКФ по уровню креатинина могут являться нестандартные размеры тела, особенности питания (высокобелковая диета, креатин-содержащие пищевые добавки), изменения мышечной ткани, прием лекарств (триметоприм, циметидин, фенофибрат), аналитические погрешности, вызванные эффектами кетонов, билирубина и других молекул [3]. В связи с этим, продолжается поиск новых маркеров, способных повысить точность диагностики ХБП у больных СД.

В качестве эндогенного маркера для определения СКФ предложен цистатин С – низкомолекулярный белок с молекулярной массой 13,4 кДа. Цистатин С свободно проходит через гломерулярный фильтр и полностью реабсорбируется и катализируется эпителиоцитами канальцев. Повышение уровня цистатина С в сыворотке крови наблюдается при снижении фильтрационной функции почек, в то время как увеличение его мочевой экскреции свидетельствует о дисфункции клеток проксимальных канальцев [4, 5]. В 2012 г. эксперты KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) рекомендовали использовать цистатин С как дополнительный к креатинину способ определения фильтрационной функции почек для повышения точности оценки СКФ [3]. Предпочтительность оценки СКФ по уровню креатинина и/или цистатина С у разных категорий пациентов продолжает обсуждаться. Показано, что на уровень цистатина С в крови оказывает влияние не только функция почек, но и наличие ожирения [6]. Изучаются возможности применения расчетов СКФ по уровню цистатина С у больных ожирением и СД 2 типа (СД2) [7–9].

Определение мочевой экскреции коллагена IV типа предложено в качестве теста для оценки фиброгенеза в почках [10, 11]. Коллаген IV типа является основным компонентом базальных мембран клубочков и канальцев, а также мезангиального матрикса почечных клубочков. Аккумуляция коллагена IV типа в базальных мембранах и мезангиуме – один из наиболее ранних морфологических признаков диабетической нефропатии, возникающий у части пациентов до повышения ЭАМ [12].

Цель

Целью исследования стало сопоставление различных маркеров поражения почек: показателей СКФ, рассчитанных по креатинину и цистатину С, мочевой экскреции цистатина С, коллагена IV типа и альбумина, у больных СД2 с нормальной и умеренно сниженной фильтрационной функцией почек.

Материалы и методы

Обследовано 56 больных СД2, 13 мужчин и 43 женщины, от 43 до 70 лет (медиана 62 года), с длительностью заболевания с момента постановки диагноза от 6 до 36 лет (медиана 13 лет). Индекс массы тела (ИМТ) варьировал от 21,8 до 39,8 кг/м² (медиана – 32 кг/м²); избыточная масса тела зафиксирована у 12 человек, ожирение – у 37. Все больные, включенные в исследование, получали инсулинотерапию: базальный инсулин – 14 человек, комбинированные инсулины – 8, базис-болюсную инсулинотерапию – 34. В дополнение к инсулину 31 больной принимал метформин, 2 – препараты сульфонилмочевины, 8 – комбинацию метформина и препаратов сульфонилмочевины. Уровень гликированного гемоглобина A_{1c} (HbA_{1c}) находился в пределах 5,9–11,4% (медиана 8%). Все пациенты имели артериальную гипертензию и получали ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента или антагонисты рецепторов ангиотензина II в качестве монотерапии или в комбинации с другими антигипертензивными средствами. В исследование не включались больные с первичной патологией почек недиабетического генеза, инфекцией мочевыводящих путей, нефротическим синдромом, ХБП 4–5 стадии, аутоиммунными и хроническими воспалительными заболеваниями.

В соответствии с рекомендациями экспертов KDIGO по диагностике и лечению ХБП [3], СКФ определяли по формулам СКD-EPI на основании уровня в сыворотке крови креатинина (СКD-EPI_{creat}, 2009 г.), цистатина С (СКD-EPI_{cys}, 2012 г.), креатинина и цистатина С (СКD-EPI_{creat-cys}, 2012 г.). Определение концентрации цистатина С в сыворотке крови проводили иммунотурбидиметрическим методом на анализаторе Abbott Architect с8000 с помощью наборов MULTIGENT Cystatin С фирмы Abbott. Показатели СКФ рассчитывали с помощью калькулятора Национального Почечного Фонда США [http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/gfr_calculator.cfm].

Исследование концентрации альбумина и коллагена IV типа в утренней порции мочи осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием план-

шеточного ридера BioRad 680 (BioRad, США) и программного обеспечения Zemfira. Результат определения приводили к величине экскретируемого креатинина. Концентрацию альбумина определяли с помощью тест-систем Albumin ELISA фирмы Immundiagnostik (Германия). На основании соотношения альбумин/креатинин, 43 обследованных имели нормальную ЭАМ, 13 – повышенную ЭАМ. Определение концентрации коллагена IV типа проводили с помощью наборов Urinary Collagen IV EIA фирмы DAIICHI FINE CHEMICAL CO.LTD (Япония). Концентрацию цистатина С в моче определяли иммунотурбидиметрическим методом на анализаторе Abbott Architect с8000 с помощью наборов реагентов Cystatin C-AT фирмы Alfresa Pharma Corporation (Япония). Учитывая, что введение поправки на креатинин, зависимый от канальцевой реабсорбции и секреции, может ухудшать диагностическую ценность исследования экскреции цистатина С [13], концентрацию цистатина С в моче оценивали без пересчета на креатинин.

Контрольную группу для лабораторных исследований составили 16 человек, 9 мужчин и 7 женщин, в возрасте от 40 до 72 лет (медиана – 66 лет), без СД, с нормоальбуминурией и нормальным уровнем креатинина в крови.

У 24 больных, в том числе у 17 с ожирением и у 7 без ожирения, выполнено исследование композитного состава тела с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии на аппарате Lunar Prodigy (США), с использованием программы Total Body Composition.

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. Все пациенты давали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка проведена с использованием программы STATISTICA 10 (StatSoft, Inc, 2011, США). Учитывая, что распределение большинства изученных признаков было отличным от нормального, применяли методы непараметрической статистики. Межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Манна-Уитни и ANOVA Краскела-Уоллиса. Взаимосвязь признаков изучали с помощью рангового корреляционного анализа Спирмена, многофакторного пошагового регрессионного анализа. Переменные с распределением, отличным от нормального, перед включением в многофакторные модели подвергали логарифмированию. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Данные представлены как медианы, 25-е, 75-е процентиля.

Результаты

Концентрация цистатина С в сыворотке крови у обследованных больных СД варьировала от 0,48 до 1,98 мг/л, составляя в среднем 0,96 (0,82; 1,11) мг/л, в контрольной группе – от 0,74 до 1,11 мг/л, в среднем 0,96 (0,9; 1,08) мг/л. Уровень цистатина С у больных СД положительно коррелировал с уровнем креатинина в крови ($r=0,47$, $p=0,0003$) и отрицательно – с СКФ, рассчитанной по СКД-ЕРІ_{creat} ($r=-0,43$, $p=0,0009$). С ЭАМ уровень цистатина С не коррелировал ($r=-0,03$, $p=0,83$).

Больные СД2 с ожирением имели более высокий уровень цистатина С в крови по сравнению с остальными пациентами: 0,98 (0,9; 1,13) и 0,84 (0,76; 0,99) мг/л соответственно, $p=0,04$. Прослеживалась положительная взаимосвязь между содержанием цистатина С и возрастом больных ($r=0,37$, $p=0,005$). Содержание цистатина С не было связано с уровнем HbA_{1c} ($r=-0,05$, $p=0,71$), но демонстрировало положительную связь с длительностью СД с момента постановки диагноза ($r=0,32$, $p=0,02$).

Значения СКФ, рассчитанные на основе уровня цистатина С, у больных СД оказались в среднем на 9 мл/мин/1,73 м² выше по сравнению с значениями СКФ, рассчитанными по креатинину. В контрольной группе, напротив, более высокие показатели СКФ выявлены при расчете по креатинину (табл. 1). Показатели, полученные с учетом обоих параметров (формула СКД-ЕРІ_{creat-cys}), ожидаемо заняли промежуточное положение.

У больных СД между показателями СКФ, рассчитанными по формулам СКД-ЕРІ_{creat} и СКД-ЕРІ_{cys}, прослеживалась корреляция средней силы ($r=0,48$, $p=0,0002$). Более тесные корреляции наблюдались между СКФ по СКД-ЕРІ_{creat} и СКД-ЕРІ_{creat-cys} ($r=0,81$, $p<0,0001$), а также между СКФ по СКД-ЕРІ_{cys} и СКФ по СКД-ЕРІ_{creat-cys} ($r=0,88$, $p<0,0001$).

Различия показателей СКФ, определенных по формулам СКД-ЕРІ_{creat} и СКД-ЕРІ_{cys}, в диапазоне 11–19 мл/мин/1,73 м² зафиксированы у 14 больных, >20 мл/мин/1,73 м² – у 12, у остальных разница показателей не превышала 10 мл/мин/1,73 м². В контроле различия показателей СКФ по СКД-ЕРІ_{creat} и СКД-ЕРІ_{cys} от 11 до 19 мл/мин/1,73 м² выявлены у 5 человек, еще в 5 случаях разница превысила 20 мл/мин/1,73 м². У 10 пациентов показатели СКФ, рассчитанные по формулам СКД-ЕРІ_{creat} и СКД-ЕРІ_{cys}, давали основание по-разному диагностировать ХБП: у шести (в том числе у пяти с нормальной ЭАМ) из 16 пациентов с СКФ по СКД-ЕРІ_{creat} в пределах 30–59 мл/мин/1,73 м² показатель СКФ, рассчитанный по СКД-ЕРІ_{cys}, оказался >60 мл/мин/1,73 м²; в двух случаях СКФ <60 мл/мин/1,73 м² определена только по формуле СКД-ЕРІ_{cys}.

Как видно из табл. 2, больные с нормальной или избыточной массой тела (ИМТ < 30 кг/м²) в сравнении с пациентами с ожирением имели достоверно более вы-

Таблица 1

Показатели СКФ у больных СД2 и у лиц контрольной группы, рассчитанные по креатинину и цистатину С			
Формула	СКФ, мл/мин/1,73 м ²		
	Медиана	Q25; Q75	Min–max
Больные СД			
СКД-ЕРІ _{creat} 2009 г.	72	58; 82	34–106
СКД-ЕРІ _{cys} 2012 г.	81	63; 96	29–132
СКД-ЕРІ _{creat-cys} 2012 г.	77	62; 87	35–112
Контрольная группа			
СКД-ЕРІ _{creat} 2009 г.	97	91,5; 102	80–104
СКД-ЕРІ _{cys} 2012 г.	85,5	69,5; 93,5	62–107
СКД-ЕРІ _{creat-cys} 2012 г.	88,5	83; 92	71–107

Сахарный диабет. 2015;(1):87-93

сокие показатели СКФ, рассчитанные по цистатину С, но не по креатинину. Показатель СКФ по СКD-EPI_{cys} обратно коррелировал с ИМТ ($r=-0,3$, $p=0,02$).

Взаимосвязи уровня креатинина и цистатина С, а также показателей СКФ, рассчитанных на основе их концентраций, с параметрами композитного состава тела представлены в табл. 3. При корреляционном анализе выявлены положительные взаимосвязи между концентрацией цистатина С, массой жировой ткани и ее долей в организме, а также обратные корреляции между СКФ, рассчитанной по СКD-EPI_{cys}, и указанными параметрами композитного состава.

В многофакторном регрессионном анализе процент жировой ткани в организме оказался независимым предиктором СКФ, рассчитанной по СКD-EPI_{cys} ($\beta=-0,62$, $R^2=0,43$, $p=0,006$). Доля жировой ткани сохраняла влияние на показатель СКФ при использовании формулы СКD-EPI_{creat-cys} ($\beta=-0,54$, $R^2=0,32$, $p=0,03$). На показатель СКФ по СКD-EPI_{creat} содержание жира не оказывало значимого влияния.

Мочевая экскреция цистатина С у большинства обследованных пациентов ($n=40$) находилась на уровне 0,1 нг/мл, что соответствовало нижнему порогу чувствительности метода. Концентрация цистатина С $>0,1$ нг/мл выявлена у 19 больных. В контрольной группе концентрация цистатина С превышала $>0,1$ нг/мл в двух случаях, в остальных пробах выявлялись низкие значения показателя (0,1 нг/мл). Достоверных различий по экскреции цистатина С между обследованными больными с СД2 и контрольной группой не выявлено ($p=0,33$).

Пациенты с СКФ по СКD-EPI_{creat-cys} в диапазоне 30–59 мл/мин/1,73 м² не отличались от больных с СКФ >60 мл/мин/1,73 м² по экскреции цистатина с мочой ($p=0,5$). Не выявлено различий в концентрации цистатина С в моче у больных с нормальной и повышенной ЭАМ ($p=0,47$).

В ранговом корреляционном анализе не обнаружено взаимосвязи между уровнем цистатина С в крови и в моче. Слабые обратные корреляции концентрации цистатина в моче с массой жировой и мышечной («нежировой») ткани, а также прямая корреляция с возрастом не достигли степени статистической значимости (табл. 4).

Средние показатели мочевой экскреции коллагена IV типа у больных СД не отличались от таковых в контрольной группе (табл. 5). Вместе с тем, у 12 пациентов с СД фиксировались высокие значения экскреции ($>0,51$ мкг/ммоль креатинина), не наблюдавшиеся в контроле.

Высокая экскреция коллагена IV типа была свойственна больным с СКФ по СКD-EPI_{creat-cys} в диапазоне 30–59 мл/мин/1,73 м² (рис. 1). Экскреция коллагена IV типа у пациентов со снижением СКФ превышала показатель в контроле ($p=0,03$) и у больных с СКФ >60 мл/мин/1,73 м² ($p=0,003$). Обследованные с повышенной ЭАМ также имели достоверно более высокие значения экскреции коллагена IV типа по сравнению с пациентами с нормальной ЭАМ: 0,34 (0,24; 0,52)

Таблица 2

Показатели СКФ по креатинину и цистатину С у больных СД2 с наличием и отсутствием ожирения			
Формула	ИМТ<30 кг/м ²	ИМТ>30 кг/м ²	p
СКD-EPI _{creat} 2009 г.	76 (70; 85)	69 (52; 80)	0,16
СКD-EPI _{cys} 2012 г.	96 (71; 108)	76 (62; 85)	0,02
СКD-EPI _{creat-cys} 2012 г.	83 (71; 102)	72 (60; 85)	0,05

Примечание: данные представлены как медианы, 25-е и 75-е проценти.

Таблица 3

Корреляции между показателями фильтрационной функции почек и параметрами композитного состава тела у больных СД2

Показатель	Масса жировой ткани	Доля (%) жировой ткани	«Тощая» («безжировая») масса
Креатинин крови	0,27	0,28	0,14
Цистатин С	0,4*	0,55*	0,02
СКФ по СКD-EPI _{creat}	-0,28	-0,32	-0,11
СКФ по СКD-EPI _{cys}	-0,44*	-0,61*	0,01

Примечание: приведены коэффициенты ранговой корреляции Спирмена. Звездочками обозначены статистически значимые ($p<0,05$) коэффициенты корреляции.

Таблица 4

Корреляции мочевой экскреции цистатина С и коллагена IV типа с клиническими и лабораторными параметрами у больных СД2

Показатель	Цистатин С	Коллаген IV типа
Возраст	0,23	0,2
ИМТ	-0,14	0,12
Масса жировой ткани	-0,21	0,24
Масса мышечной («нежировой») ткани	-0,22	0,24
Длительность СД (годы)	0,18	-0,1
HbA _{1c}	-0,15	0,24
Цистатин С в сыворотке крови	0,02	0,3*
СКФ по СКD-EPI _{creat}	-0,18	-0,28*
СКФ по СКD-EPI _{cys}	-0,05	-0,29*
СКФ по СКD-EPI _{creat-cys}	-0,12	-0,28*
ЭАМ	0,06	0,47*

Примечание: приведены коэффициенты ранговой корреляции Спирмена. Звездочками обозначены статистически значимые ($p<0,05$) коэффициенты корреляции.

Таблица 5

Экскреция с мочой коллагена IV типа у здоровых лиц и у больных СД 2 типа

	Коллаген IV типа, мкг/ммоль креатинина		
	Медиана	Q25; Q75	Min-max
Контроль	0,21	0,11; 0,37	0,06–0,51
Больные СД	0,2	0,12; 0,35	0,02–5,89

и 0,16 (0,07; 0,26) мкг/ммоль креатинина соответственно, $p=0,002$. Вместе с тем, повышенные индивидуальные значения экскреции коллагена IV типа зафиксированы у четырех больных с СКФ >60 мл/мин/1,73 м² и у семи пациентов с нормоальбуминурией.

Мочевая экскреция коллагена IV типа положительно коррелировала с альбуминурией, уровнем цистатина С в крови и отрицательно – с СКФ, рассчитанной по креа-

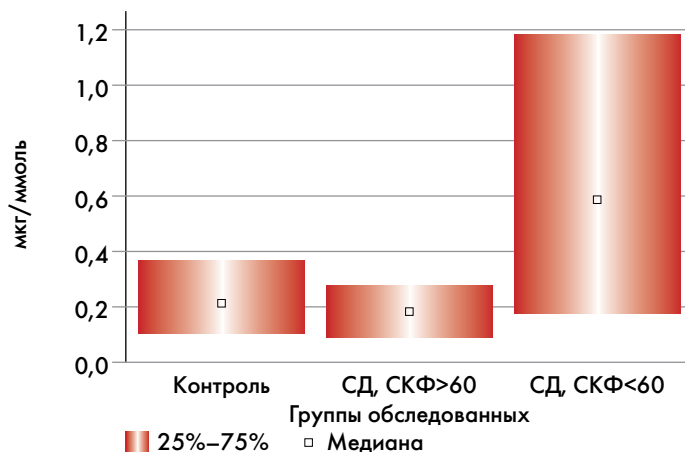


Рис. 1. Мочевая экскреция коллагена IV типа (мкг/ммоль креатинина) у больных СД2 с различной СКФ.

Примечание: СКФ определена по формуле СКД-ЕРІ_{creat-cys} выражена в мл/мин/1,73 м².

тину и/или цистатину С (табл. 4). Не отмечено значимых взаимосвязей между содержанием коллагена IV типа в моче и возрастом, ИМТ, показателями композитного состава тела, длительностью СД и уровнем НbA_{1c}. В многофакторном пошаговом регрессионном анализе увеличению экскреции коллагена IV типа способствовали рост ЭАМ и снижение СКФ по СКД-ЕРІ_{creat-cys} ($\beta=0,317$ и $\beta=-0,38$ соответственно, $R^2=0,27$, $p<0,0001$).

Обсуждение

Снижение СКФ у больных СД2 нередко наблюдается в отсутствие повышенной альбуминурии и, следовательно, является решающим методом диагностики ХБП. Учитывая ограниченную доступность «прямых» методов определения СКФ, а также методологические ограничения, возникающие при определении СКФ по креатинину, предпринимаются попытки найти альтернативные способы оценки фильтрационной функции почек. Показано, что формулы оценки СКФ, основанные на цистатине С, дают менее смещенные по отношению к референсному изотопному методу (51Cr-EDTA) значения СКФ в сравнении с формулой MDRD [7]. В нашем исследовании проведено сопоставление показателей СКФ, рассчитанных по рекомендованным экспертами KDIGO формулам СКД-ЕРІ_{creat} (2009 г.) и СКД-ЕРІ_{cys} (2012 г.), у больных СД2 с нормальной и умеренно сниженной функцией почек. Между значениями СКФ, рассчитанными по данным формулам, установлена корреляция средней силы ($r=0,48$). При этом у 10 из 56 обследованных больных показатели СКФ, рассчитанные по формулам СКД-ЕРІ_{creat} и СКД-ЕРІ_{cys}, давали основание по-разному диагностировать наличие или выраженность ХБП. Эксперты KDIGO рекомендуют исследовать уровень цистатина С в крови с расчетом СКФ по СКД-ЕРІ_{cys}, СКД-ЕРІ_{creat-cys}, у пациентов с показателем СКФ по креатинину 45–59 мл/мин/1,73 м², не имеющих других признаков почечного повреждения [3]. Полученные нами данные также свидетельствуют о целесообразности расчета СКФ на основе определения креатинина и цистатина С (фор-

мула СКД-ЕРІ_{creat-cys}) у больных СД2 для верификации 3-й стадии ХБП.

Уровень цистатина С, как и креатинина крови, характеризуется низкой интраиндивидуальной вариабельностью [14]. Недостатком определения СКФ по цистатину С в сравнении с креатинином является меньшая доступность и большая стоимость анализа [3]. При интерпретации показателей СКФ, рассчитанных по цистатину С, следует принимать во внимание их зависимость от возраста и массы тела. Возрастное увеличение концентрации цистатина С у взрослых по мере увеличения возраста и степени ожирения продемонстрировано в крупном популяционном исследовании NHANES III (Third National Health and Nutrition Examination Survey) [6]. Избыток жировой ткани при ожирении может являться источником дополнительного количества цистатина С в кровотоке. Показано, что уровень экспрессии цистатина С в адипоцитах подкожной клетчатки и сальника человека в среднем в 2 раза превышает таковой в других тканях. Наличие ожирения ассоциировано с двух–трехкратным повышением секреции цистатина С адипоцитами [15]. У лиц с абдоминальным ожирением и инсулинорезистентностью повышение цистатина С ассоциировано с риском развития СД2 [16]. Проведенное нами исследование композитного состава тела показало, что масса жировой ткани оказывает прямое влияние на уровень цистатина С и обратное влияние на СКФ, исчисленной по СКД-ЕРІ_{cys}. В то же время на показатель СКФ по СКД-ЕРІ_{creat} содержание жира не оказывало значимого влияния. Информативность использования расчетных методов оценки СКФ, основанных на цистатине С, у лиц с морбидным ожирением заслуживает специальных исследований.

Нами не зафиксирована какая-либо взаимосвязь между уровнем цистатина С в крови и в моче у больных СД2. Поскольку в норме цистатин С полностью реабсорбируется в проксимальных канальцах, а его канальцевая секреция не установлена, обнаружение значимых количеств цистатина С в моче рассматривают как маркер нарушенной реабсорбции и тубулярной протеинурии [17]. Высокие значения концентрации цистатина С в моче, выявленные нами у части пациентов, могут свидетельствовать о наличии дисфункции (повреждения) эпителиоцитов проксимальных канальцев.

Проведенное исследование показало повышение мочевой экскреции коллагена IV типа у больных СД со сниженной фильтрационной функцией почек. Величина экскреции коллагена обратно коррелировала с СКФ и прямо – с альбуминурией. Ранее взаимосвязи между экскрецией коллагена IV типа, СКФ и протеинурией выявлены у пациентов с ХБП недиабетического генеза [18].

Повышение экскреции коллагена IV типа рассматривается как признак фиброза почек. У мышей линии db/db (модель СД2) описана взаимосвязь между повышением мочевой экскреции коллагена IV типа и увеличением объема гломерулярного мезангия [19]. У больных СД2 экскреция коллагена IV типа коррелировала с его экспрессией в почках, отражая при этом степень расширения

мезангия клубочков и выраженность тубулоинтерстициальных изменений [10].

Повышенная экскреция коллагена IV типа выявлена нами у 7 из 43 больных с нормальной ЭАМ и у четырех из 40 больных с СКФ >60 мл/мин/1,73 м². Возможно, исследование экскреции коллагена IV типа с мочой является более чувствительным тестом в диагностике ХБП при СД2 по сравнению с исследованием альбуминурии. Результаты проведенного в Японии 8-летнего исследования показали, что повышенная экскреция коллагена IV типа у больных СД2а, имеющих нормо- или микроальбуминурию, ассоциирована с более быстрыми темпами снижения СКФ [20].

Выполненное нами исследование имеет очевидные ограничения. Мы не проводили «прямое» измерение СКФ с помощью экзогенных маркеров фильтрации. Вероятно, дополнительную информацию для суждения об информативности исследования цистатина С и коллагена IV типа могли дать прижизненные морфологические исследования почек. Вместе с тем, в данной работе впервые проведено сопоставление показателей СКФ, рассчитанных по уровню креатинина и цистатина С, с мочевиной экскрецией цистатина, коллагена IV типа и альбумина у больных СД2 с начальными и умеренно выраженными признаками ХБП, проанализирована связь данных маркеров с композитным составом тела.

Полученные данные свидетельствуют, что определение цистатина С в крови с расчетом СКФ по цистатину С, исследование мочевиной экскреции цистатина С и коллагена IV типа, позволяют детализировать выраженность поражения почек у больных СД2 с учетом состояния клубочковой фильтрации, канальцевой реабсорбции и интенсивности фиброгенеза.

Заключение

Определение уровня цистатина С в сыворотке крови с расчетом СКФ по формулам СКД-ЕРІ_{cys} (2012 г.) и СКД-ЕРІ_{creat-cys} (2012 г.), в дополнение к расчету СКФ по креатинину (СКД-ЕРІ_{creat}, 2009 г.), повышает надежность диагностики ХБП у больных СД2. Исследование

цистатина С целесообразно в ситуациях, когда обнаруживается СКФ <60 мл/мин/1,73 м² по СКД-ЕРІ_{creat} в отсутствие других признаков поражения почек. Цистатин С может оказаться более точным, чем креатинин, маркером фильтрационной функции у больных СД с заболеваниями скелетной мускулатуры, у бодибилдеров, принимающих креатин-содержащие пищевые добавки, вегетарианцев, беременных. Установление информативности цистатина С в данных группах больных СД – задача будущих исследований.

При интерпретации показателей цистатина С в крови и СКФ, рассчитанной по уровню цистатина С, следует принимать во внимание эффект ожирения на данные показатели: увеличение массы жировой ткани коррелирует с повышением уровня цистатина С в крови и снижением СКФ по СКД-ЕРІ_{cys}.

Вне зависимости от уровня цистатина С в крови, у части больных СД2 цистатин С обнаруживается в моче в значимых количествах (>0,1 нг/мл), что, по-видимому, свидетельствует о наличии дисфункции проксимальных канальцев.

Развитие поражения почек у больных СД2 характеризуется увеличением мочевиной экскреции коллагена IV типа. Содержание коллагена IV типа в моче обратно взаимосвязано с СКФ и прямо коррелирует с альбуминурией.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов, связанных с рукописью.

Исследование экскреции альбумина и коллагена IV типа выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00082).

Благодарности

Авторы выражают признательность ООО «Аква-тест» (Санкт-Петербург) за предоставление тест-систем для определения цистатина С фирмы Alfresa Pharma Corporation (Япония).

Список литературы

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Александров А.А., и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой (6-й выпуск). // Сахарный диабет. – 2013. – №1S – С. 1-121. [Dedov II, Shestakova MV, Aleksandrov AA, et al. Standards of specialized diabetes care. Edited by Dedov II, Shestakova MV (6th edition). Diabetes mellitus. 2013;(1S):1-120.] doi: 10.14341/DM20131S1-121
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes - 2014. Diabetes Care 2014;37 Suppl 1:14-80. doi: 10.2337/dc14-S014
3. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Kidney Int Suppl 2013;3(1):1-150. Available from: http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/CKD/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf
4. Вельков В.В. Цистатин С: индикатор скорости клубочковой фильтрации и маркер тяжести сердечно-сосудистых событий. // Лабораторная медицина. – 2011. – №11 – С. 55-59. [Vell'kov VV. Tsistatin S: indikator skorosti klubochkovoy fil'tratsii i marker tyazhesti serdechno-sosudistykh sobytiy. Laboratornaya meditsina 2011;11:55-59.]
5. Conti M, Moutereau S, Zater M, et al. Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. Clinical Chemical Laboratory Medicine 2006;44(3):288-291. doi: 10.1515/CCLM.2006.050
6. Köttgen A, Selvin E, Stevens LA, et al. Serum Cystatin C in the United States: The Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). American Journal of Kidney Diseases 2008;51(3):385-394. doi: 10.1053/j.ajkd.2007.11.019
7. Chudleigh RA, Ollerton RL, Dunseath G, et al. Use of cystatin C-based estimations of glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. Diabetologia 2009;52(7):1274-1278. doi: 10.1007/s00125-009-1379-7
8. Bevc S, Hojs R, Ekart R, et al. Simple Cystatin C Formula for Estimation of Glomerular Filtration Rate in Overweight Patients with Diabetes Mellitus Type 2 and Chronic Kidney Disease. Experimental Diabetes Research 2012;2012:179849. doi: 10.1155/2012/179849
9. Fan L, Inker LA, Rossert J, et al. Glomerular filtration rate estimation using cystatin C alone or combined with creatinine as a confirmatory test. Nephrology Dialysis Transplantation 2014;29(6):1195-1203. doi: 10.1093/ndt/gft509

10. Okonogi H, Nishimura M, Utsunomiya Y, et al. Urinary type IV collagen excretion reflects renal morphological alterations and type IV collagen expression in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Nephrol* 2001;55(5):357-364. PubMed PMID: 11393380
11. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Парфентьева Е.М. и др. Мочевая экскреция коллагена IV типа - ранний маркер фиброзирования почек при сахарном диабете. // Сахарный диабет. – 2011. – №4 – С. 29-31. [Bondar' IA, Klimontov VV, Parfent'eva EM, et al. Urinary excretion of type IV collagen as an early marker of renal fibrosis in patients with diabetes mellitus. *Diabetes mellitus*. 2011;(4):29-31.] doi: 10.14341/2072-0351-5813
12. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Ранние маркеры диабетической нефропатии. // Клиническая нефрология. – 2010. – №2 – С. 60-65. [Bondar' IA, Klimontov VV. Early markers of diabetic nephropathy. *Clinical Nephrology* 2010;(2):60-65.]
13. Conti M, Moutereau S, Esmilaire L, et al. Should kidney tubular markers be adjusted for urine creatinine? The example of urinary cystatin C. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2009;47(12):1553-1556. doi: 10.1515/CCLM.2009.341
14. Selvin E, Juraschek SP, Eckfeldt J, et al. Within-Person Variability in Kidney Measures. *American Journal of Kidney Diseases* 2013;61(5):716-722. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.11.048
15. Naour N, Fellahi S, Renucci J, et al. Potential contribution of adipose tissue to elevated serum cystatin C in human obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17(12):2121-2126. doi: 10.1038/oby.2009.96
16. Reutens AT, Bonnet F, Lantieri O, et al. The association between cystatin C and incident type 2 diabetes is related to central adiposity. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2013;28(7):1820-1829. doi: 10.1093/ndt/gfs561
17. Herget-Rosenthal S, van Wijk JAE, Bröcker-Preuss M, Bökenkamp A. Increased urinary cystatin C reflects structural and functional renal tubular impairment independent of glomerular filtration rate. *Clinical Biochemistry* 2007;40(13-14):946-951. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.04.013
18. Furumatsu Y, Nagasawa Y, Shoji T, et al. Urinary type IV collagen in nondiabetic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2010;117(2):160-166. doi: 10.1159/000319794
19. Cohen MP, Lautenslager GT, Shearman CW. Increased urinary type IV collagen marks the development of glomerular pathology in diabetic d/db mice. *Metabolism* 2001;50(12):1435-1440. doi: 10.1053/meta.2001.28074
20. Araki S, Haneda M, Koya D, et al. Association Between Urinary Type IV Collagen Level and Deterioration of Renal Function in Type 2 Diabetic Patients Without Overt Proteinuria. *Diabetes Care* 2010;33(8):1805-1810. doi: 10.2337/dc10-0199

Климонтов Вадим Валерьевич

д.м.н., зам. директора по научной работе, зав. лабораторией эндокринологии, ФГБНУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск, Российская Федерация

E-mail: klimontov@mail.ru

Еременко Надежда Валентиновна

врач клинической лабораторной диагностики «ИНВИТРО-СИБИРЬ», Новосибирск, Российская Федерация

Мякина Наталья Евгеньевна

мл.н.с. лаборатории эндокринологии ФГБНУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск, Российская Федерация

Фазулина Ольга Николаевна

мл.н.с. лаборатории эндокринологии ФГБНУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск, Российская Федерация