

О.В. Комарова, М.В. Рожкова, А.Н. Цыгин, А.Г. Кучеренко, И.Е. Смирнов, Л.В. Леонова

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

Цистатин С как маркер нефротоксичности циклоспорина А у детей с нефротическим синдромом

Контактная информация:

Комарова Ольга Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения нефрологии Научного центра здоровья детей РАМН

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62, тел.: (499) 134-04-49

Статья поступила: 22.12.2009 г., принята к печати: 01.02.2010 г.

Большой интерес представляет использование цистатина С (ЦсС) в качестве возможного маркера нефротоксического действия циклоспорина А (ЦсА) у детей с нефротическим синдромом, длительно лечившихся этим препаратом. В настоящем исследовании у детей ($n = 29$), получающих циклоспорин А и разделенных на 3 группы в зависимости от длительности терапии (менее 1 года, 1–2 года, более 2 лет) отмечено повышение уровня ЦсС по сравнению с таковым в контрольной группе (10 детей без патологии почек). Наиболее высоким его уровень был у детей, получавших ЦсА в терапевтических дозах (от 3 до 5 мг/кг в сут) более года. Обнаружена положительная корреляция уровня ЦсС в сыворотке крови с дозой препарата.

Ключевые слова: дети, нефротический синдром, цистатин С, циклоспорин А.

В современной нефрологии вопрос о целесообразности, эффективности и безопасности иммуносупрессивной терапии при различных вариантах нефротического синдрома остается крайне актуальным. Более чем у 70% детей с нефротическим синдромом, достигших ремиссии в дебюте болезни при приеме терапевтической дозы преднизолона, заболевание приобретает рецидивирующее течение с частым развитием стероидной зависимости [1]. В этом случае неизбежно развитие

побочных эффектов стероидов, что требует назначения других иммуносупрессивных препаратов. У пациентов с резистентным к терапии стероидами нефротическим синдромом отмечается тяжелое, прогностически неблагоприятное течение болезни, поэтому выбор рациональной схемы терапии для достижения ремиссии у таких больных остается сложной задачей.

Блокатор кальцинейрина — циклоспорин А (ЦсА) занимает центральное место в лечении часто рецидивирующей

O.V. Komarova, M.V. Rozhkova, A.N. Tsygin, A.G. Kucherenko, I.Ye. Smirnov, L.V. Leonova

Scientific Center of Children's Health, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Cystatin S as a marker of cyclosporine A renal toxicity in children with nephrotic syndrome

The use of cystatin C as a probable marker of renal toxicity of cyclosporine A in children with nephrotic syndrome, treated with this medication for a long time, is the subject of an interest. The present study included 29 children treated with cyclosporine A, divided into 3 groups depending on the duration of treatment (< 1 year, 1–2 years and > 2 years). The increase of cystatin C level in these groups compared with cystatin C level in control group (10 children without diseases of kidney) was marked. The highest level of cystatin C was detected in children treated with therapeutic doses of cyclosporine A (3–5 mg/kg daily) over 1 year. Authors showed positive correlation between cystatin C level in serum and medication's dose.

Key words: children, nephrotic syndrome, cystatin C, cyclosporine A.

щего, стероидзависимого и стероидрезистентного идиопатического нефротического синдрома. С 80-х годов XX века ЦсА применяют для лечения нефротического синдрома как у взрослых больных, так и в детской практике. Высокая эффективность ЦсА подтверждена у пациентов с минимальными изменениями — при фокально-сегментарном гломерулосклерозе и мембранозной нефропатии [2–4].

В большинстве исследований продемонстрирована целесообразность длительного приема ЦсА для сохранения и поддержания ремиссии нефротического синдрома [5, 6]. По данным A. Meurier и соавт., снижение дозы ЦсА после 1 года приема приводило к развитию рецидивов нефротического синдрома у 50% больных. Пролонгирование курса лечения ЦсА в терапевтической дозе до 2 лет значительно уменьшало частоту рецидивов [7]. A.El-Husseini и соавт. продемонстрировали опыт безопасного применения ЦсА в течение более 3 лет (средняя длительность терапии — 34 мес) у детей со стероидзависимым и стероидрезистентным нефротическим синдромом под контролем базальной концентрации препарата в сыворотке крови [8].

Однако при весомых положительных аспектах длительного (более 2 лет) лечения ЦсА важным остается вопрос о его возможном нефротоксическом действии. Для его предотвращения (своевременного выявления) при назначении ЦсА должен проводиться постоянный мониторинг фильтрационной функции почек [9]. При пролонгированной терапии ЦсА целесообразно также проведение повторной нефробиопсии для выявления морфологических признаков нефротоксического действия препарата. Сроки повторной биопсии обсуждаются нефрологами и в среднем колеблются от 1,5 до 3 лет от начала терапии ЦсА. M. Seikaly и соавт. установлено, что при проведении повторной биопсии детям со стероидрезистентным или часто рецидивирующим нефротическим синдромом с морфологически выявленными минимальными изменениями через 3 года от начала терапии ЦсА признаки тубулоксичности выявлены в 75% случаев [10]. S.-W. Kengne и соавт. показали, что при проведении повторной нефробиопсии взрослым пациентам со стероидзависимым нефротическим синдромом при средней длительности терапии ЦсА 4,7 года морфологические признаки нефротоксичности выявлены у 31% пациентов [11].

Для оценки фильтрационной функции почек в нефрологии используют определение уровня сывороточного креатинина. Это обусловлено следующим:

- у пациентов со стабильными почечными функциями содержание креатинина крови обычно постоянное;
- креатинин свободно фильтруется в клубочках, не реабсорбируется, но активно секретируется (до 15%) в почечных канальцах;
- точность и доступность методики определения креатинина в сыворотке и моче в разных лабораториях достаточно высока.

Среди недостатков этого показателя следует отметить зависимость уровня креатинина крови от возраста, пола и массы тела.

В настоящее время для оценки скорости клубочковой фильтрации (СКФ) широко используются специальные расчетные формулы, позволяющие рассчитать этот показатель по уровню креатинина крови с учетом дополнительных факторов (роста, массы тела, возраста пациента) [12]. У взрослых чаще всего применяют формулу Кокрофта–Голта: $СКФ \text{ (мл/мин)} = 88 \times (140 - \text{возраст [годы]}) \times \text{масса тела [кг]} / 72 \times \text{креатинин сыворотки [мкмоль/л]}$, у женщин полученный результат умножают на 0,85.

Эта формула может использоваться и в педиатрической практике для расчета СКФ у детей в возрасте старше 12 лет и подростков [13, 14]. Кроме того, у детей достаточно широкое применение, в том числе в нашей клинике, получила формула, предложенная в 1976 г. Шварцем [15]: $СКФ = \text{рост (см)} / \text{креатинин сыворотки (мкмоль/л)} \times K$, где K — коэффициент, равный 48,4 у детей в возрасте 2–12 лет и девочек старше 12 лет и 61,6 у мальчиков в возрасте старше 12 лет.

По данным разных авторов, СКФ, рассчитанная по формуле Шварца, сопоставима с СКФ, определяемой при измерении клиренса эндогенного инулина или радиоизотопных агентов [16, 17]. Вместе с тем, точность приведенных выше методов не является абсолютной для определения СКФ, поэтому продолжается поиск вещества, надежно отражающего фильтрационную способность почки. В последние годы возрос интерес к цистатину С (ЦсС) как альтернативному маркеру оценки функционального состояния почечных функций. ЦсС — белок принадлежащий ко 2-й группе генетического семейства цистатинов с низкой молекулярной массой, ингибитор протеаз. Ген цистатина С локализуется в хромосоме 20. ЦсС продуцируется большинством ядерных клеток, он обнаруживается во всех биологических жидкостях в достаточно высоких концентрациях. Уровень ЦсС стабилен в системной циркуляции [18, 19].

Большой интерес представляют исследования, доказавшие значение этого показателя в качестве предвестника развития сердечнососудистой патологии, а также высокочувствительного маркера почечной функции. Цистатин отвечает основным требованиям для оценки фильтрации: свободно фильтруется в клубочках, не реабсорбируется и не секретируется в канальцах. Исследования показали, что уровень ЦсС в крови не зависит от массы тела и роста, а также от мышечной массы и пола.

В ряде исследований показана эквивалентность креатинина и цистатина для оценки СКФ, продемонстрирована также достоверно более высокая значимость ЦсС для оценки функции почек, особенно при начальных проявлениях почечной недостаточности [20–22]. Так, обнаружено, что последовательные измерения уровня ЦсС являются более точным методом диагностики снижения почечной функции у пациентов с сахарным диабетом типа 1, чем уровень сывороточного креатинина [23]. Этот вывод сделан при сопоставлении методов, основанных на измерении ЦсС и креатинина в крови, с результатами прямой оценки почечной функции с помощью клиренса 99m-Tc-диэтилентриаминпентауксусной кислоты (изотопной скорости клубочковой фильтрации) [23].

Исследования последних 10 лет показали, что уровень ЦсС лучше коррелирует с СКФ (вычисленной по формуле Кокрофта–Голта и при использовании радиоcontrastного агента йоталамата), чем сывороточный креатинин. Эти исследования проводились у взрослых — здоровых, пациентов с различными стадиями хронической болезни и больных после трансплантации [24–26].

Высокую информативность определения уровня ЦсС как маркера почечных функций при изучении нефротоксических лекарственных препаратов подтверждает исследование, посвященное анализу фармакокинетики ванкомицина [27]. Использование ЦсС в качестве возможного маркера нефротоксического действия ЦсА у детей с нефротическим синдромом, длительно получающих данный препарат, представляет большой интерес. Целью настоящего исследования явилось изучение уровня ЦсС при различной длительности терапии циклоsporином у детей со стероидзависимым и стероидрезистентным нефротическим синдромом.

Рис. 1. Уровень ЦсС в сыворотке крови при различной длительности терапии ЦсА у детей с нефротическим синдромом

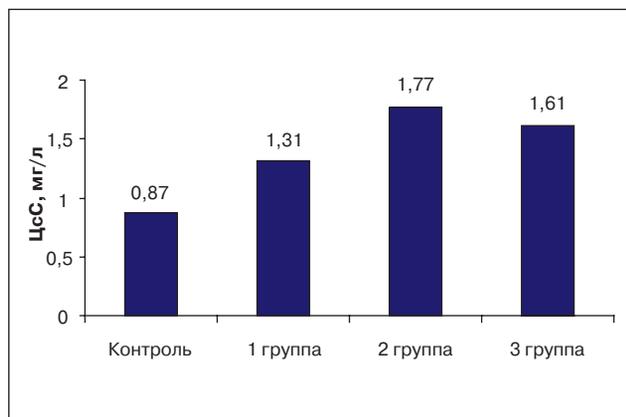
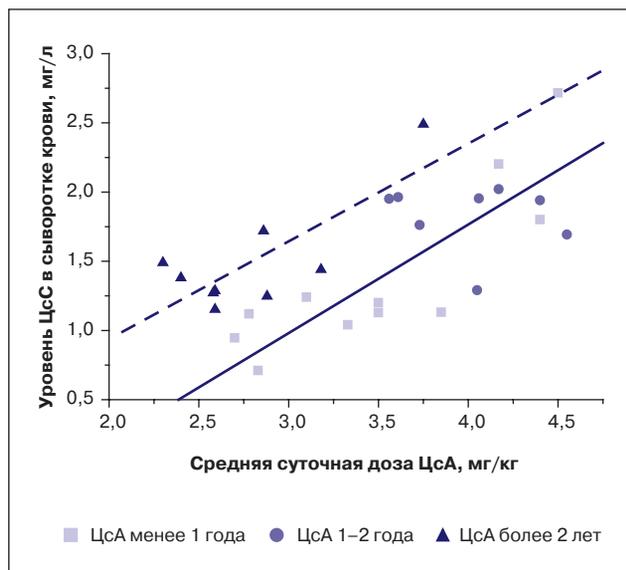


Рис. 2. Ассоциация уровня ЦсС в сыворотке крови с суточной дозой ЦсА, применяемой у детей с нефротическим синдромом



Примечание.

- регрессионная прямая для значений в группе детей с длительностью терапии ЦсА < 1 года;
- - - для группы детей с с длительностью терапии ЦсА > 2 лет.

В исследование были включены 29 детей, получавших микроэмульсионную форму ЦсА (Сандиммун Неорал Новартис Фарма АГ, Швейцария), и 10 детей без патологии почек (контрольная группа). Пациенты, получающие ЦсА, были разделены на группы в зависимости от длительности терапии. В 1-ю группу были включены 11 детей, длительность приема ЦсА у которых не превышала 1 года (от 7 до 11 мес); в среднем — $8,4 \pm 2,6$ мес. Возраст детей в этой группе составил от 2 до 17 лет (средний возраст $10,6 \pm 4,6$ года). У всех 11 детей диагностирован стероидрезистентный нефротический синдром. Морфологический диагноз по данным нефробиопсии: болезнь минимальных изменений — у 5 детей, фокально-сегментарный гломерулосклероз — у 6 больных. У 5 детей на момент обследования была достигнута

стадия клиничко-лабораторной ремиссии, один ребенок находился в стадии частичной ремиссии, у 5 детей сохранялась активная стадия болезни. ЦсА в этой группе дети получали в 2 приема в стандартной терапевтической дозе: $3-5$ мг/кг в сут (в среднем, $3,58 \pm 0,78$ мг/кг в сут); средняя концентрация ЦсА через 2 часа после приема разовой дозы составила $761,9 \pm 268,3$ нг/мл. У всех детей уровень креатинина крови сохранялся в пределах возрастной нормы; СКФ, рассчитанная по формуле Шварца была у всех детей этой группы выше 90 мл/мин (в среднем — $105,5 \pm 14,4$ мл/мин).

Во 2-ю группу были включены 9 пациентов, длительность приема ЦсА у которых составляла от 1 до 2 лет (в среднем, $15,5 \pm 4,5$ мес), в возрасте от 6 до 17,5 лет (средний возраст $12,0 \pm 3,2$ лет). У 7 детей диагностировали стероидрезистентный, у 2 — стероидзависимый нефротический синдром. Морфологический диагноз: болезнь минимальных изменений — у 4 детей, фокально-сегментарный гломерулосклероз — у 5 больных. Стадия полной ремиссии подтверждена у 6 детей, частичной ремиссии — у 2 больных, активная стадия сохранялась у одного пациента. ЦсА в этой группе дети получали в 2 приема в стандартной терапевтической дозе (в среднем — $3,36 \pm 0,90$ мг/кг в сутки); средняя концентрация ЦсА через 2 ч после приема разовой дозы составила $621,2 \pm 166,2$ нг/мл. У всех пациентов уровень креатинина крови оставался в пределах возрастной нормы; СКФ была выше 90 мл/мин у 5 детей и > 80 мл/мин — у 4 детей (в среднем составила — $95,5 \pm 16,4$ мл/мин).

В 3-ю группу были включены 9 пациентов, получавших ЦсА более 2 лет (в среднем, $33,4 \pm 9,2$ мес). Дети были в возрасте от 3 до 17 лет (средний возраст — $12,0 \pm 5,0$ лет). Эту группу составили два пациента со стероидзависимым и 7 — со стероидрезистентным нефротическим синдромом. Морфологический диагноз: болезнь минимальных изменений — у 6, фокально-сегментарный гломерулосклероз — у 3 детей. Полная ремиссия констатирована у 7, частичная — у двух пациентов. ЦсА в этой группе дети получали в 2 приема в редуцированной дозе — $2-3$ мг/кг в сут (в среднем — $2,69 \pm 0,52$ мг/кг в сут). Средняя концентрация ЦсА через 2 часа после приема разовой дозы соответственно была ниже терапевтической и составляла $568,1 \pm 284,1$ нг/мл; у всех детей уровень креатинина крови был в пределах возрастной нормы; СКФ у всех детей этой группы была выше 90 мл/мин (в среднем — $123,6 \pm 24,0$ мл/мин).

В контрольную группу включили 10 детей в возрасте от 8 до 16 лет, у которых при обследовании не было выявлено патологии почек и нарушений их фильтрационной функции. В этой группе уровень креатинина крови был в пределах возрастной нормы, а СКФ — у всех выше 90 мл/мин (в среднем, составила $115,6 \pm 14,1$ мл/мин).

Уровень ЦсС в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA). Среднее значение ЦсС в сыворотке крови в детской популяции составляет по некоторым данным $0,94 \pm 0,37$ мг/л [28], во взрослой — $1043 \pm 107,5$ нг/мл [29].

Уровень ЦсС в сыворотке крови у детей без патологии почек в среднем составил $0,87 \pm 0,22$ мг/л, в 1-й группе (прием ЦсА менее года) $1,31 \pm 0,59$ мг/л; во 2-й (прием ЦсА от 1 до 2 лет) — $1,77 \pm 0,66$ мг/л (по сравнению с показателем в контрольной группе $p < 0,05$); в 3-й (прием ЦсА более 2 лет) — $1,61 \pm 0,74$ мг/л (по сравнению с контрольной группой $p < 0,05$; рис. 1). Корреляционный анализ продемонстрировал зависимость между уровнем ЦсС и дозой ЦсА, наиболее выра-

женную у детей первой и третьей групп (соответственно, $r = 0,84$ и $0,77$; $p < 0,01$) (рис. 2).

Проведенное исследование продемонстрировало повышение уровня ЦсС у всех детей, получающих ЦсА более одного года. При этом уровень креатинина крови и скорость клубочковой фильтрации, рассчитанная по формуле Шварца, были у этих пациентов в пределах нормы. Интерес представляет результат, полученный у детей, длительность терапии ЦсА у которых превышала 2 года. Уровень ЦсС в крови у них оставался значимо выше, чем в контрольной группе, что требовало при продолжении терапии ЦсА снижения дозы препарата с целью предупреждения развития его нефротоксического действия. Взаимосвязь уровня ЦсС в сыворотке крови и дозы ЦсА подтверждена корреляционным анализом, выявившим прямую корреляционную зависимость между этими показателями в группах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цыгин А.Н., Комарова О.В., Сергеева Т.В. и др. Нефротический синдром / Клинические рекомендации по педиатрии / Под ред. Баранова А.А. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. С. 239–261.
2. Ponticelli C., Edefonti A., Ghio L. et al. Cyclosporine versus cyclophosphamide for patients with steroid-dependent and frequently relapsing nephritic syndrome: a multicenter randomized controlled trial // *Nephrol. Dial. Transplant.* 1993. V. 8. P. 1326–1332.
3. Takeda A., Takimoto H., Mizusawa Y. et al. Prediction of subsequent relapse in children with steroid-sensitive nephrotic syndrome // *Pediatr. Nephrol.* 2001. V. 16. P. 888–893.
4. Niaudet P. Long-term outcome of children with steroid-sensitive idiopathic nephrotic syndrome // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. V. 4. P. 1547–1548.
5. Cattran D.C., Alexopoulos E., Heering P. et al. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: Workshop recommendations // *Kidney Int.* 2007. V. 72. P. 1429–1447.
6. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Леонова Л.В. и др. Терапия циклоспорином А детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом // *Вопросы современной педиатрии.* — 2009. Т. 8, № 5. С. 93–97.
7. Meyrier A., Noel L.H., Auriche P. et al. Long-term renal tolerance of cyclosporine A treatment in adult idiopathic nephrotic syndrome. Collaborative Group of the Societe de Nephrologie // *Kidney Int.* 1994. V. 45, № 5. P. 1446–1456.
8. El-Husseini A., El-Basuony F., Mahmoud I. et al. Long-term effects of cyclosporine in children with idiopathic nephrotic syndrome: a single-centre experience // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2005. V. 20, № 11. P. 2433–2438.
9. Schiff J., Cole E., Cantarovich M. Therapeutic monitoring of calcineurin inhibitors for the nephrologist // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. V. 2. P. 374–384.
10. Seikaly M.G., Prashner H., Nolde-Hurlbert B., Browne R. Long-term clinical and pathological effects of cyclosporine in children with nephrosis // *Pediatr. Nephrol.* 2000. V. 14. P. 214–217.
11. Kengne S.-W., Massella L., Diomedes F.C. et al. Risk factors for cyclosporin A nephrotoxicity in children with steroid-dependant nephrotic syndrome // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. V. 4, № 9. P. 1409–1416.
12. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification and stratification // *Am. J. Kidney Dis.* 2005. Suppl. 1. P. 1–226.
13. Cockcroft D., Gault V. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine // *Nephron.* 1976. V. 16. P. 31–41.
14. Pierrat A., Gravier E., Saunders C. et al. Predicting GRF in children and adults: a comparison of the Cockcroft-Gault, Schwartz and Modification of diet in renal disease formulas // *Kidney Int.* 2003. V. 63. P. 1425–1436.
15. Schwartz G., Haycock G., Edelmann C. et al. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from

Таким образом, при значимом положительном эффекте ЦсА (Сандиммун Неорал) в лечении стероидзависимых и стероидрезистентных форм нефротического синдрома у детей, продемонстрированном в многочисленных работах отечественных и зарубежных авторов, а также в настоящем исследовании, остается крайне актуальным вопрос о сроках появления и степени выраженности нефротоксического эффекта иммуносупрессанта. Проведенный анализ показал, что значительное повышение уровня ЦсС — раннего маркера снижения фильтрационной функции почек — выявляется на 2-м году терапии циклоспорином в среднетерапевтических дозах и требует снижения дозы ЦсА до поддерживающей (менее 3 мг/кг в сут) при продолжении лечения более двух лет. При отсутствии значимого снижения уровня ЦсС в условиях терапии поддерживающей дозой циклоспорина необходима повторная нефробиопсия.

- body length and plasma creatinine // *Pediatrics.* 1976. V. 58. P. 259–263.
16. Schwartz G.J., Furth S., Cole S.R. et al. Glomerular filtration rate via plasma iohexol disappearance: pilot study for chronic kidney disease in children // *Kidney Int.* 2006. V. 69. P. 2070–2077.
17. Mattman A., Eintracht S., Moch T. et al. Estimating pediatric glomerular filtration rates in the era of chronic kidney disease staging // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006. V. 17, № 2. P. 487–496.
18. Kyhse-Anderson J., Schmidt C., Nordin G. et al. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate // *Clin. Chem.* 1994. V. 40. P. 1921–1926.
19. Wu I., Parikh C.R. Screening for kidney diseases: older measures versus novel biomarkers // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. V. 3. P. 1895–1901.
20. Bokenkamp A., Domanetzki M., Zinck R. et al. Reference values for cystatin C serum concentrations in children // *Pediatr. Nephrol.* 1998. V. 12. P. 125–129.
21. Coll E., Botey A., Alvarez L. et al. Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment // *Am. J. Kidney Dis.* 2000. V. 36. P. 29–34.
22. Резниченко Н.Е., Панфилова Е.Ю., Данкавцева Е.Н. и др. Возможности использования цистатина в кардиологии // *Медицинский алфавит. Больница.* 2009. № 3. С. 23–26.
23. Premaratne E., Maclsaac R., Finch S. et al. Serial measurements of cystatin C are more accurate than creatinine-based methods in detecting declining renal function in type 1 diabetes // *Diabetes Care.* 2008. V. 31, № 5. P. 971–973.
24. Hoek F., Kemperman F., Krediet R. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003. V. 18. P. 2024–2031.
25. Stevens L., Coresh J., Schmid C. et al. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD // *Am. J. Kidney Dis.* 2008. V. 51, № 3. P. 395–406.
26. Zahran A., Qureshi M., Shoker A. Comparison between creatinine and cystatin C-based GFR equations in renal transplantation // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007. V. 22. P. 2659–2668.
27. Tanaka A., Aiba T., Otsuka T. et al. Population pharmacokinetic analysis of vancomycin using serum cystatin-C as a marker of renal function // *Antimicrob Agents Chemother.* 2009. URL: <http://aac.asm.org/cgi/content/abstract/54/2/778>.
28. Filler G., Priem F., Vollmer I. et al. Diagnostic sensitivity of serum cystatin for impaired glomerular filtration rate // *Ped. Nephrol.* 1999. V. 13. P. 501–505.
29. Короленко Т.А., Черканова М.С., Филатова Т.Г. и др. Возрастные изменения содержания цистатина С и С-реактивного белка у здоровых лиц // *Terra medica nova.* 2007. № 1. С. 13.