

© В.П.Ситникова, Ю.В.Пашкова, И.Н.Попова, 2013  
УДК [616.611:612.6.05]-053.32

*В.П. Ситникова<sup>1</sup>, Ю.В. Пашкова<sup>1</sup>, И.Н. Попова<sup>2</sup>*

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВОГО МАРКЕРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ – ЦИСТАТИНА С В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

*V.P. Sitnikova, Y.V. Pashkova, I.N. Popova*

## USING OF NEW MARKER OF GLOMERULAR FILTRATION RATE EVALUATION – CYSTATIN C IN PEDIATRIC PATIENTS

<sup>1</sup>Кафедра госпитальной и поликлинической педиатрии ГБОУ ВПО «Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, <sup>2</sup>информационно-аналитический кабинет Воронежской областной детской клинической больницы №1, г. Воронеж, Россия

### РЕФЕРАТ

В данной статье рассмотрены возможности применения нового маркера для определения функционального состояния почек в педиатрической практике – цистатина С. **ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** определить скорость клубочковой фильтрации различными методами с использованием креатинина, а также нового маркера поражения почек – цистатина С у детей. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:** обследовано 83 пациента от 1 мес до 17 лет (средний возраст  $4,15 \pm 5,08$  года) с различными нефропатиями. **РЕЗУЛЬТАТЫ:** определена сывороточная концентрация цистатина С ( $1,3 \pm 0,38$  мг/л) и креатинина ( $0,62 \pm 0,72$  мг%), а также скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по формулам на основании креатинина, цистатина С. Проведена сравнительная характеристика клубочковой фильтрации при различных методах исследования. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** сывороточная концентрация цистатина С не зависит от пола, а его более высокий уровень определяется на первом году жизни. Наиболее важными для практического применения в педиатрии являются формулы с использованием цистатина С и креатинина.

**Ключевые слова:** цистатин С, креатинин, скорость клубочковой фильтрации, дети.

### ABSTRACT

This article discusses the possibility of using a new marker for the determination of renal function in pediatric patients - cystatin C. **AIM OF STUDY:** to determine the glomerular filtration rate using different methods of creatinine, as well as a new marker of kidney injury - cystatin C in children. **PATIENTS AND METHODS:** 83 patients from 1 month to 17 years (mean age  $4,15 \pm 5,08$  years) with various nephropathies were examined. **RESULTS:** were determined the serum concentration of cystatin C ( $1,3 \pm 0,38$  mg/l), creatinine ( $0,62 \pm 0,72$  mg%) and glomerular filtration rate (GFR) using formulas based on creatinine and cystatin C. We conducted a comparative analysis of glomerular filtration with different methods of study. **CONCLUSION:** The serum concentration of cystatin C is independent of sex, and its higher level is determined in the first year of life. The most important for practical use in pediatrics are formulas using cystatin C and creatinine.

**Key words:** cystatin C, creatinine, glomerular filtration rate, children.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время самым надежным показателем для оценки функционального состояния почек является скорость клубочковой фильтрации (СКФ) [1]. Определение данного параметра необходимо не только для диагностики и мониторинга нарушения ренальных функций, но и для правильной дозировки потенциально нефротоксичных лекарственных препаратов, а также для оценки потенциальной нефротоксичности рентгеноконтрастных препаратов [2].

Скорость клубочковой фильтрации можно установить с помощью измерения экзогенных и эндогенных маркеров. Применение экзогенных гломерулотропных маркеров (инулин, меченные радионуклеидами комплексоны или рентгеновские контрасты) является трудоемкой, дорогостоящей, длительной процедурой и возможно только в специализированных лабораториях. Поэтому наиболее распространенным в повседневной практике тестом для определения функционального состояния почек остается концентрация эндогенного креатинина в сыворотке крови и его клиренс [1, 3, 4]. Также недостатком этого метода является его зависимость от возраста, пола, расы,

Пашкова Ю.В. 394028, г. Воронеж, ул. Волгоградская, д. 49, кв. 24. ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко. Тел. 8-908-146-50-78, E-mail: pashkovayulia@mail.ru

конституции, пищевого рациона [3, 5]. Кроме того, нельзя исключить погрешность при лабораторном определении креатинина методом Яффе за счет «некреатининовых хромогенов». Использование ферментативного метода определения позволяет избежать подобных неспецифических ошибок, но отсутствие единой корректировки погрешностей вычисления не стандартизировано по методам и лабораториям [5].

Таким образом, возникает необходимость постоянно совершенствовать методы определения СКФ, модифицируя уже существующие и предлагая новые подходы. Продолжается поиск простого, надежного, необременительного для пациентов, даже самых маленьких, и их родителей способа оценки СКФ.

В клинической практике сывороточная концентрация цистатина С (Цис С), как альтернативного маркера почечной функции, применяется крайне редко, особенно в педиатрической нефрологии.

Цистатин С (Цис С) – негликозилированный основной пептид, состоящий из 122 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 13 кДа (13 343 – 13 399 Да). Он является важным экстрацеллюлярным ингибитором цистеиновых протеиназ. Продуцируется большинством ядерных клеток и присутствует во всех жидкостях тела. Биосинтез Цис С детерминируется CST3 – геном, который располагается в хромосоме 20 [6–8]. Структура гена Цис С и его промотора определяет высокое постоянство биосинтеза этого эндогенного ингибитора. Уровень Цис С относительно стабилен в системной циркуляции. Неизменность продукции Цис С предохраняет организм от неконтролируемой активации протеолиза. Продукция Цис С считается мало зависящей от различных факторов: воспаления, опухолевого роста, возраста, пола, массы и степени гидратации организма [6, 8].

Сывороточный уровень Цис С многие признают вполне приемлемой оценкой СКФ, имеющей определенные преимущества перед другими доступными тестами и предлагают различные расчетные уравнения [9–18].

Целью работы стало определение скорости клубочковой фильтрации различными методами с использованием креатинина, а также нового маркера поражения почек – Цис С у детей.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 83 пациента с уронефрологической патологией в возрасте от 1 мес до 17 лет (средний возраст  $4,15 \pm 5,08$  года), находившихся в нефрологическом и педиатриче-

ском отделении для детей раннего возраста БУЗ ВО «Воронежской областной детской клинической больницы №1».

Концентрацию цистатина С в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов реактивов Biovendor (Чехия) для количественного определения Цис С. Сыворотку крови получали путем центрифугирования образцов (1500 об/мин, 10–15 мин), замораживали и хранили при температуре  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Экстинцию опытных и контрольных образцов оценивали с помощью спектрофотометра MULTISCAN EX Termo Electron Corp. (Финляндия).

Концентрацию креатинина в сыворотке крови определяли кинетическим колориметрическим тестом (компенсированный метод Яффе) на анализаторе OLYMPUS (Япония) при помощи наборов реактивов BECKMAN COULTER (США).

Статистический анализ результатов обследования пациентов производился с использованием пакета прикладных программ BIOSTAT, «Statistica 6.0». Критический уровень статистической значимости ( $p$ ) был принят за 0,05.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Всем детям с патологией мочевыделительной системы проводилось исследование сывороточной концентрации Цис С и креатинина. Демографические, антропометрические и клинические параметры пациентов указаны в табл. 1.

Определена сывороточная концентрация Цис С ( $1,3 \pm 0,38$  мг/л) и креатинина ( $0,62 \pm 0,72$  мг%). Среднее значение Цис С у девочек составило  $1,31 \pm 0,41$  мг/л, у мальчиков  $1,30 \pm 0,33$  мг/л. Достоверных различий в зависимости от пола выявлено не было ( $p=0,904$ ). Концентрация Цис С в сыворотке крови у детей до года ( $1,43 \pm 0,37$  мг/л) по сравнению с детьми более старшего возраста ( $1,23 \pm 0,36$ ) была достоверно выше ( $p=0,017$ ).

Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формулам на основании креатинина [9–16], а также на основании концентрации креатинина и Цис С в сыворотке крови [13, 17, 18] (рисунок).

Средняя скорость клубочковой фильтрации по G.J. Schwartz составила  $98,83 \pm 31,42$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, по R. Counahan –  $82,18 \pm 22,21$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, по F. Léger –  $103,40 \pm 21,86$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, по A. Grubb –  $87,10 \pm 62,76$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, по M. Zappitelli –  $106,1 \pm 33,59$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, по G. Filler –  $74,12 \pm 29,54$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, по A. Bokenkamp –  $92,33 \pm 38,93$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, СКФ<sub>1</sub> по A. Larsson –  $61,42 \pm 28,43$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, СКФ<sub>2</sub> по

Таблица 1

**Основные параметры пациентов**

Показатели	Значение	
Пол (%)	56,6	
Девочки/мальчики	43,4	
Возраст, годы	M±σ	Me (min; max)
	4,15±5,08	1,75(0,02; 17)
Рост, м	0,97±0,37	0,83 (0,53; 1,87)
Масса тела, кг	20,44±19,4	12 (3,3; 90)
Площадь поверхности тела, м <sup>2</sup>	0,72±0,47	0,52 (0,22; 2,07)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	17,67±3,31	16,99 (11,75; 30,78)
Сывороточная концентрация креатинина, мг%	0,62±0,72	0,5 (0,3; 6,5)
Сывороточная концентрация цистатина С, мг/л	1,3±0,38	1,28 (0,2; 2,4)

Таблица 2

**Скорость клубочковой фильтрации у детей с нормальной и повышенной концентрацией креатинина в сыворотке крови**

Формула для расчета СКФ	Пациенты с нормальной концентрацией креатинина (n=70)		Пациенты с повышенной концентрацией креатинина (n=12)	
	M±σ	Me (min; max)	M±σ	Me (min; max)
Schwartz G.J. (1976)	107,3±23,56	106,3 (64,13; 173,2)	49,13±25,12	60,06 (5,12; 80,1)
Counahan R.	88,55±14,4	87,57 (61,28; 135,4)	44,98±23,73	51,95 (4,9; 76,54)
Léger F.	109,3±14,58	106,3 (86,31; 150,6)	69,31±26,16	76,54 (26,9; 100,2)
Grubb A.	90,11±66,76	73,99 (19,46; 382)	69,59±25,71	63,15 (26,9; 111,5)
Zappitelli M.	103,7±32,27	101,4 (33,35; 211,5)	119,9±39,15	116,8 (78,6; 211,5)
Filler G.	75,91±30,98	69,44 (34,28; 201,8)	63,68±16,4	60,6 (34,28; 88,63)
Bokenkamp A.	94,72±40,69	86,63 (36,68; 256,4)	78,38±22,88	74,41 (36,7; 112,6)
Larsson A. <sub>1</sub>	63,12±29,9	56,56 (25,58; 187,6)	51,54±14,76	48,53 (25,6; 74,41)
Larsson A. <sub>2</sub>	79,46±50,96	67,26 (24,85; 302,8)	60,6±21,25	55,51 (24,9; 94,88)
Bouvet Y.	80,78±25,56	75,75 (42,7; 208,8)	47,88±25,09	50,34 (8,96; 93,4)
Schwartz G.J. (2009)	88,24±16,38	85,23 (58,47; 122,7)	52,34±23,39	59,34 (11,0; 79,44)
Zappitelli M. (2006)	79,8±18,05	75,51 (51,96; 147,7)	51,72±21,0	59,01 (14,5; 75,69)

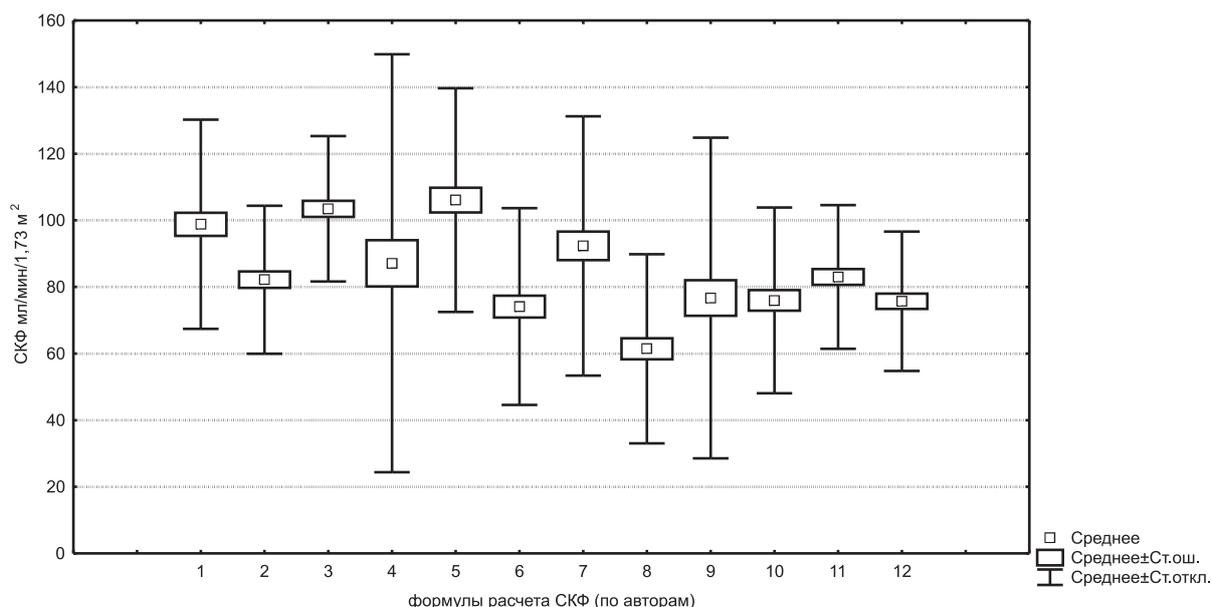


Рисунок. Скорость клубочковой фильтрации у детей. 1 – СКФ по G.J. Schwartz (1976), 2 – СКФ по R. Counahan, 3 – СКФ по F. Léger, 4 – СКФ по A. Grubb, 5 – СКФ по M. Zappitelli, 6 – СКФ по G. Filler, 7 – СКФ по A. Bokenkamp, 8 – СКФ<sub>1</sub> по A. Larsson, 9 – СКФ<sub>2</sub> по A. Larsson, 10 – СКФ по Y. Bouvet, 11 – СКФ по G.J. Schwartz (2009), 12 – СКФ по M. Zappitelli (2006).

A. Larsson –  $76,70 \pm 48,15$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>, СКФ по Y. Bouvet –  $75,96 \pm 27,91$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>, по G.J. Schwartz (2009) –  $82,99 \pm 21,58$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>, по M. Zappitelli (2006) –  $75,69 \pm 20,91$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>.

Учитывая, что почти 10% обследованных имели СКФ, рассчитанную по формулам G.J. Schwartz (1976), A. Grubb, G. Filler, A. Larsson, Y. Bouvet, G.J. Schwartz (2009), M. Zappitelli (2006), менее 60 мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>, нами выделено 2 группы пациентов – с нормальным (n=70) и повышенным уровнем креатинина (n=12). Сывороточная концентрация креатинина в первой группе составила  $0,49 \pm 0,17$  мг%, Цис С –  $1,30 \pm 0,35$  мг/л; во второй группе данные показатели были значимо выше (p=0,0001) –  $1,37 \pm 1,73$  [0,6 (0,5; 6,5)] мг% и  $1,47 \pm 0,40$  [1,45 (1,03; 2,4)] мг/л соответственно. Также нами изучалась скорость клубочковой фильтрации в данных группах (табл. 2).

Выявлено достоверное снижение СКФ в группе детей с повышенным содержанием креатинина по формулам G.J. Schwartz (1976), R. Counahan, F. Léger, Y. Bouvet, G.J. Schwartz (2009), M. Zappitelli (2006) (p=0,0001).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

В педиатрической практике поиск простого, надежного, малотравматичного, быстрого и относительно недорогого способа установления скорости клубочковой фильтрации приобретает большое значение. Целесообразно комплексное обследование каждого пациента, обобщение полученных данных и внедрение в практику конкретной комбинации биомаркеров, в том числе новых диагностических тестов для оценки скорости клубочковой фильтрации, а следовательно, тяжести и прогноза заболевания с последующей разработкой индивидуальных рекомендаций.

Литературные данные и данные собственного исследования подтверждают, что сывороточная концентрация Цис С у детей незначительно выше на первом году жизни и не зависит от пола [19].

Поскольку в нашем исследовании плазматические клиренсы экзогенных гломерулотропных маркеров не использовались, то в качестве альтернативы для оценки эффективности использования Цис С применялась СКФ по формуле Schwartz G.J. (1976). Среднее значение СКФ по Schwartz G.J. (1976) в группе с нормальной концентрацией сывороточного креатинина составило  $107,3 \pm 23,56$  мл/мин, а в группе с повышенной концентрацией достоверно меньше –  $49,13 \pm 25,12$  мл/мин (P=0,0001). При сопоставлении СКФ, рассчитанной по Schwartz G.J. (1976) и другим формулам, в пер-

вой группе отмечалась положительная линейная корреляция со скоростью клубочковой фильтрации по R. Counahan (r=0,98; p=0,0001), F. Léger (r=0,97; p=0,0001); по формулам A. Grubb, G. Filler, СКФ<sub>1</sub> по A. Larsson, СКФ<sub>2</sub> по A. Larsson отмечалась умеренная корреляция при p=0,08, что может быть связано с недостаточной большой выборкой. Сильная корреляционная связь выявлена с СКФ по формулам Y. Bouvet (r=0,64; p=0,02), G.J. Schwartz (2009) (r=0,97; p=0,0001), M. Zappitelli (2006) (r=0,93; p=0,0001). Средние значения СКФ в группе детей с нормальной концентрацией креатинина по F. Léger и M. Zappitelli не имели расхождений со средними значениями по G.J. Schwartz (1976), по остальным формулам СКФ была менее 100 мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>.

В группе с повышенной концентрацией креатинина отмечалась положительная корреляционная связь СКФ по G.J. Schwartz (1976) с СКФ по R. Counahan (r=0,88; p=0,0001), F. Léger (r=0,42; p=0,0001), Y. Bouvet (r=0,52; p=0,0001), G.J. Schwartz (2009) (r=0,68; p=0,0001). Только СКФ, рассчитанная по M. Zappitelli, оказалась выше 100 мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>.

При сопоставлении скорости клубочковой фильтрации, рассчитанной различными методами в группах с нормальной и повышенной концентрацией креатинина, выявлена положительная корреляционная связь между СКФ по G.J. Schwartz (1976) и R. Counahan, F. Léger, Y. Bouvet, G.J. Schwartz (2009).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного нами исследования выявлено, что сывороточная концентрация Цис С у детей не зависит от пола. На первом году жизни отмечается повышенный уровень Цис С по сравнению с детьми старшего возраста. Более низкая СКФ, рассчитанная по формулам G.J. Schwartz (1976), R. Counahan, F. Léger, Y. Bouvet, G.J. Schwartz (2009), M. Zappitelli (2006), отмечалась у детей с высокой концентрацией сывороточного Цис С и креатинина. Наиболее важными для практического применения в педиатрии являются формулы для расчета СКФ на основании Цис С и креатинина по Y. Bouvet и G.J. Schwartz (2009).

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Каюков ИГ, Смирнов АВ, Эмануэль ВЛ. Цистатин в современной медицине. *Нефрология* 2012;16(1):22-39
2. Grubb A. Non-invasive estimation of glomerular filtration rate (GFR). The Lund model: Simultaneous use of cystatin C- and creatinine-based GFR-prediction equations, clinical data and an internal quality check. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70(2):65-70
3. Комарова ОВ, Цыгин АН, Кучеренко АГ, Смирнов ИЕ.

Цистатин С как маркер почечных функций у детей с ХБП. *Нефрология и диализ* 2010;12(4):272-276

4. Клиническая нефрология детского возраста. Руководство для врачей, под ред. А.В. Папаяна, Н.Д. Савенковой. Левша. Санкт-Петербург, СПб, 2008; 600

5. Арутюнов ГП, Оганезова ЛГ. Часто задаваемые вопросы о скорости клубочковой фильтрации. *Клиническая нефрология* 2009;3:35-42

6. Черканова МС, Короленко ТА, Филатова ТГ, Бравве ИЮ. Эндогенный ингибитор цистеиновых протеаз цистатин С как предиктор развития атеросклероза и изменения при операции коронарного шунтирования. *Бюллетень СО РАМН* 2007;125(3):133-137

7. Комарова ОВ, Цыгин АН, Кучеренко АГ, Смирнов ИЕ. Цистатин С как маркер почечных функций у детей с ХБП. *Нефрология и диализ* 2010;12(4):272-276

8. Filler G. Cystatin C as a marker of GFR – history, indications, and future research. *Clin Biochem* 2005;38 (1):1-8

9. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann Jr, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976;58:259–263

10. Counahan R, Chantler C, Ghazali S, Kirkwood B, Rose F, Barratt TM. Estimation of glomerular filtration rate from plasma creatinine concentration in children. *R. Arch Intern Med* 1976;(51)875–878

11. Léger F, F, Y. Coulais, Tafani M, Chatelut E. Estimation of glomerular filtration rate in children. *Pediatr Nephrol* 2002;17: 903-907

12. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, Christensson A. Simple cystatin C-based prediction equations

for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 2005; 51(8):1420-1431

13. Zappitelli M, Parvex P, Joseph L, Paradis G, V. Grey G, Lau S, Bell L. Derivation and validation of cystatin C–based prediction equations for GFR in children. *Am J Kidney Dis* 2006;48:221-230

14. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 2003;18:981-985

15. Bokenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. *Clin Chem* 1999; 45(10):1866-1868

16. Larsson A, Scand J, Malm J, Grubb A, Hansson L. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Clin Lab Invest* 2004; 64:25-30

17. Bouvet YannY, Bouissou FF, Coulais YY, Séronie-Vivien SS. GFR is better estimated by considering both serum cystatin C and creatinine levels. *Pediatr Nephrol* 2006;21(9):1299-1306

18. Schwartz GJ, Munoz A, Schneider M et al. New Equations to Estimate GFR in Children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009;20: 629–637

19. Finney H, Newman D, Thakkar H. et al Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child* 2000;82(1):71-75

Поступила в редакцию 17.04.2013 г.

Принята в печать 05.06.2013 г.