

## N-терминальный пропептид проколлагена III типа в качестве возможного сывороточного маркера фиброза миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа

Драпкина О. М.<sup>1,2</sup>, Гегенава Б. Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России. Москва; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Москва, Россия

**Цель.** Оценить роль N-терминального пропептида проколлагена III типа (P3NP) в качестве возможного маркера фиброза миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа (СД-2).

**Материал и методы.** В исследовании участвовали 2 группы пациентов по 32 человека: с СД-2 и без СД-2. Все пациенты проходили клинико-лабораторное обследование, в т.ч. определение P3NP, электрокардиография (ЭКГ), эхокардиография. С целью статистической обработки данных применялись критерии Манна-Уитни, коэффициент корреляции Спирмена.

**Результаты.** Уровень P3NP достоверно выше у лиц с СД-2 ( $p < 0,00001$ ). У больных СД-2 уровень P3NP достоверно коррелирует с повышенными массой миокарда левого желудочка ( $p = 0,00026$ ) и индексом массы миокарда левого желудочка ( $p = 0,03685$ ).

**Заключение.** Эхокардиографические и ЭКГ признаки, характерные для фиброза миокарда (рост массы миокарда и падение воль-

тажа на ЭКГ), у больных СД-2 сочетаются с увеличением уровня P3NP. Достоверная корреляция P3NP и размеров миокарда позволяет предположить P3NP в качестве одного из возможных сывороточных маркеров фиброза миокарда у лиц с СД-2.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, диабетическая кардиомиопатия, фиброз миокарда, эхокардиография, электрокардиография, N-терминальный пропептид проколлагена III типа.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2018;17(3):17–21  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2018-3-17-21>

Поступила 18/06-2018

Принята к публикации 22/06-2018

### N-terminal propeptide of collagen type III as a proposed marker of myocardial fibrosis in type 2 diabetes

Drapkina O. M.<sup>1,2</sup>, Gegenava B. B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health. Moscow; <sup>2</sup>National Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Health. Moscow, Russia.

**Aim.** To evaluate the role of N-terminal procollagen type III propeptide (P3NP) as a proposed marker of myocardial fibrosis in type 2 diabetes (DM2) patients.

**Material and methods.** In the study, 2 groups of patients participated: with DM2 and non-DM2 (both  $n=32$ ). All patients underwent clinical and laboratory assessment, including P3NP, electrocardiography, echocardiography. Statistics was done with Mann-Whitney criteria and Spearman correlation.

**Results.** The level P3NP is significantly higher in DM2 patients ( $p < 0,00001$ ). In DM2 patients, the level of P3NP significantly correlates with increased myocardial mass of the left ventricle ( $p = 0,00026$ ) and myocardial mass index of the left ventricle ( $p = 0,03685$ ).

**Conclusion.** Echo- and electrocardiographic signs characteristic for myocardial fibrosis (mass increase, voltage decline) in DM2 patients are concomitant with the increase of P3NP. Significant correlation of P3NP and the size of myocardium makes it to propose P3NP as one of possible markers of myocardial fibrosis in DM2 persons.

**Key words:** type 2 diabetes, diabetic cardiomyopathy, myocardium fibrosis, echocardiography, electrocardiography, N-terminal propeptide of type III procollagen.

Cardiovascular Therapy and Prevention. 2018;17(3):17–21  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2018-3-17-21>

СД — сахарный диабет, СД-2 — сахарный диабет 2 типа, ЭКГ — электрокардиография (-фические), HbA<sub>1c</sub> — гликированный гемоглобин, P3NP — N-терминальный пропептид проколлагена III типа.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (8512) 52-41-43, +7 (908) 618-41-78

e-mail: gegenava.badri@gmail.com

[Драпкина О. М. — <sup>1</sup>д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, главный специалист-терапевт Минздрава России, директор, <sup>2</sup>профессор кафедры факультетской терапии № 1, Гегенава Б. Б. — врач-терапевт ЛДО № 4 УКБ № 2, аспирант кафедры факультетской терапии № 1 лечебного факультета].

## Введение

Глобальная распространенность сахарного диабета (СД) быстро растет по всему миру в связи со старением населения, урбанизацией и связанными с ними изменениями образа жизни. За последние три десятилетия количество людей с СД увеличилось в >2 раза [1]. По некоторым оценкам, в 2010г ~285 млн людей по всему миру страдали СД [2], из них 90% — это те, у кого был диагностирован СД 2 типа (СД-2) [3]. Как показывают предварительные прогнозы, к 2030г число людей с СД по всему миру достигнет 439 млн человек, что будет составлять ~7,7% от всего взрослого населения мира в возрасте 20-79 лет (рисунок 1).

В РФ, по данным регистра СД, смертность от сердечно-сосудистых осложнений занимает первое место среди смертности больных СД: сердечная недостаточность, инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения суммарно являются причиной смерти 50,7% больных СД-2 [4].

В популяции больных с хронической сердечной недостаточностью распространенность СД достигает 20%, в сравнении с 4-6% в контрольной популяции [5]. Необходимо отметить, что эпидемиологические исследования указывают на повышенный риск развития сердечной недостаточности у больных СД, причем плохой контроль гликемии коррелирует с увеличением риска сердечной недостаточности.

Существуют различные механизмы развития сердечной недостаточности при СД: во-первых, СД ускоряет развитие атеросклероза коронарных артерий. Во-вторых, сопутствующие состояния, такие как гипертоническая болезнь, дислипидемия, повышение индекса массы тела, также вносят свой негативный вклад в развитие сердечной недостаточности. И, наконец, еще одним фактором, влияющим на развитие сердечной недостаточности при СД, является диабетическая кардиомиопатия [6]. Основным механизмом развития диабетической кардиомиопатии — фиброз миокарда. Главной же определяющей структурной характеристикой фиброза миокарда служит увеличение массы миокарда левого желудочка.

В настоящее время существует множество инструментальных способов диагностики фиброза миокарда. Самый надежный способ — прижизненная биопсия миокарда. Однако, ввиду очевидных причин, она самая трудновыполнимая из всех процедур, проводимых с целью диагностики фиброза миокарда. Магнитно-резонансная томография миокарда с контрастированием также сопряжена с определенными сложностями в связи с введением контрастного препарата, высокой стоимостью исследования и возможными ограничениями, такими как, например, наличие электрокардиостимулятора или других противопоказаний к проведению магнитно-резонансной томографии. Новые

экспериментальные инструментальные методы, такие как эхокардиография с использованием метода обратного рассеивания требуют дальнейшего изучения, т.к. актуальны они лишь при значительном фибротическом поражении миокарда [7]. Есть работы, доказывающие, что помощь в диагностике фиброза миокарда может оказать банальный анализ стандартных эхокардиографических и электрокардиографических (ЭКГ) показателей. Известно, что при фибротическом поражении сердца одновременно с увеличением массы миокарда левого желудочка падает вольтаж ЭКГ [8, 9], в то время как при истинной мышечной гипертрофии он должен был бы увеличиваться. Однако такие нестандартные методы диагностики фиброза миокарда хоть и являются перспективными, но в то же время довольно косвенными.

Таким образом, становится очевидным необходимость поиска сывороточного маркера фиброза, который мог бы помочь, в сочетании с другими признаками, в т.ч. эхо- и ЭКГ, в ранней диагностике фиброза миокарда. Одним из таких маркеров может быть N-терминальный пропептид проколлагена III типа (P1NP), который является белком, образующимся в процессе синтеза коллагена III типа. P1NP достаточно давно известен в качестве сывороточного маркера фиброза и активно используется, в частности, в качестве маркера фиброза печени [10-12]. В то же время, есть работы, указывающие на то, что уровень P1NP крови достоверно коррелирует с объемной фракцией коллагена III типа в сердце, полученной при гистологическом исследовании [13].

Цель исследования: сравнительный анализ уровня P1NP у диабетических и недиабетических больных. Поиск корреляционных связей между P1NP и геометрическими показателями миокарда.

## Материал и методы

В исследовании приняли участие 64 пациента >40 лет, соответствующие следующим критериям включения: наличие установленного диагноза “СД-2” >5 лет, с гликированным гемоглобином (HbA<sub>1c</sub>) на момент осмотра  $\geq 6,5\%$  для пациентов из основной группы, либо отсутствие СД в анамнезе и HbA<sub>1c</sub> на момент осмотра  $\leq 5,9\%$  для пациентов из контрольной группы.

Критериями исключения являлись: аутоиммунные заболевания; врожденные и/или приобретенные пороки сердца; миокардиты и/или иные поражения миокарда в анамнезе; инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения в предшествующий год; наличие рубцовых изменений на ЭКГ; наличие полной или неполной блокады левой ножки, полной блокады правой ножки пучка Гиса по данным ЭКГ; массивные кровопотери и/или гемолиз в предшествующий год; фракция выброса левого желудочка < 50%; гемотрансфузии в предшествующий год; железодефицитная анемия; злоупотребление алкоголем; беременные женщины и кормящие матери; пограничные показатели HbA<sub>1c</sub> (6,0-6,4%).

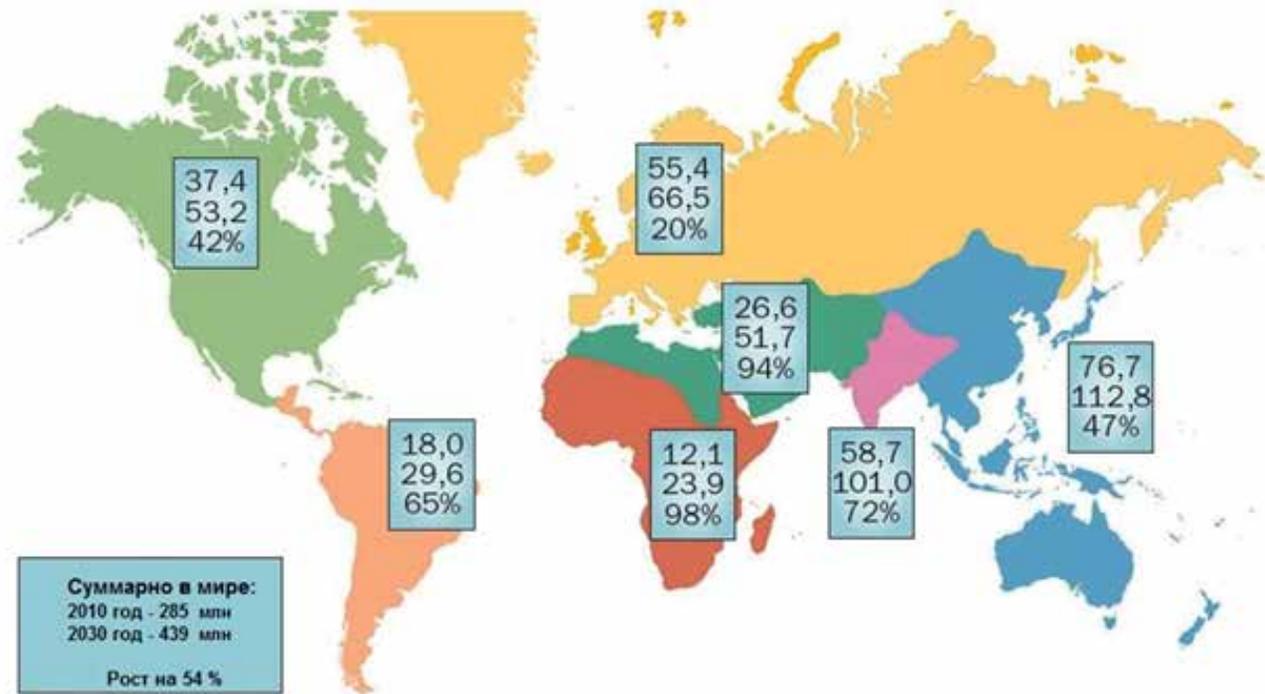


Рис. 1 Прогноз распространения СД к 2030г.

Таблица 1

## Сравнение анамнезо-физикальных данных групп А и В

Признак	Группа А, (n=32)	Группа В, (n=32)	U-критерия Манна-Уитни
Медиана (лет)	65	60,5	0,30302
Артериальная гипертензия, n (%)	32 (100%)	32 (100%)	-
Показатели артериального давления, мм рт.ст. на момент осмотра	145/90	150/95	0,4535
Анамнез артериальной гипертензии (лет)	10	10	0,13362
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	33,03	27,9	0,00012

Со всеми пациентами проводилась беседа с целью сбора анамнеза, общий осмотр. Пациенты, которые удовлетворяли критериям включения, были разбиты на 2 группы по 32 человека: группа А (пациенты с СД-2) и группа В (пациенты без СД-2).

Помимо стандартных лабораторных исследований крови, у пациентов определяли, в т.ч. РИИПН. Количественный анализ РИИПН проводился методом твердофазного иммуноферментного анализа набором фирмы Wuhan USCN Business Co., Ltd (Китайская Народная Республика). Принципом действия указанного теста является так называемый «сэндвич-метод» иммуноферментного анализа. Через 2 ч после забора полученные образцы крови центрифугировались в течение 15 мин при 2000 g. Образцы с гемолизом не допускались к анализу. Полученные образцы сыворотки помещались в холодную среду (не < -20С) до момента непосредственного выполнения анализа. В микропланшетах дно лунок покрыто антителами, специфичными к человеческому РИИПН. Полученные образцы и стандарты помещаются в лунки микропланшета вместе с антителами к РИИПН, которые конъюгированны с биотином, далее в лунки вносится конъюгат авидина с пероксидазой хрена (Horseradish peroxidase, HRP), после чего проводится инкубация в течение необходимого времени. Затем в лунки вносится суб-

стратный раствор тетраметилбензидина, предназначенный для использования в иммуноферментных анализах, где в качестве метки применяется пероксидаза хрена. В лунках, где содержится РИИПН, будет происходить изменение окраски, что обусловлено связыванием антител, конъюгированных с биотином, и авидина, конъюгированного с ферментом. Добавление серной кислоты приводит к остановке ферментной реакции, после чего интенсивность окрашивания измеряется при помощи микропланшетного спектрофотометра при длине волны 450 нм ± 10 нм. Методом сравнения полученной оптической плотности образцов с построенной калибровочной прямой рассчитывается количественная концентрация РИИПН.

Эхокардиографическое исследование проводилось на ультразвуковом аппарате «Acuson 128XP/10» (Германия). Стандартная ЭКГ в 12 отведениях регистрировалась на многоканальном электрокардиографе FCP-4101 FUKUDA DENSHI (Япония).

## Результаты

— *Клинико-anamнестические данные.* Основные клинико-anamнестические данные представлены в таблице 1.

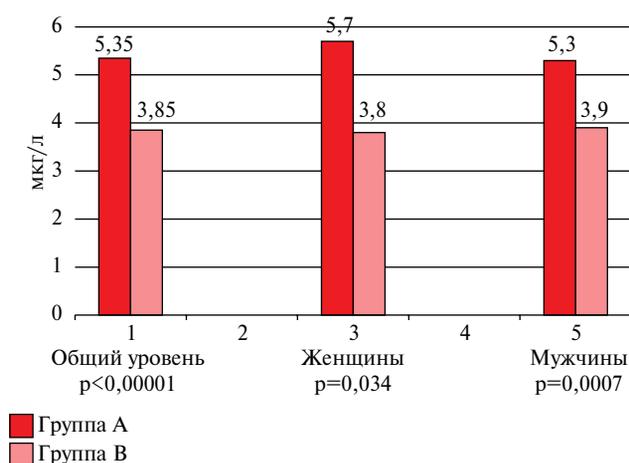


Рис. 2. Уровни PIIINP в группе А и группе В.

Помимо умеренной разницы в индексе массы тела, иных значимых различий между двумя группами пациентов обнаружено не было.

Также необходимо отметить, что никто из пациентов, участвующих в исследовании, к началу работы не получал регулярную гиполипидемическую и/или антигипертензивную терапию.

— **Стандартные лабораторные показатели.** По результатам стандартных клинико-лабораторных исследований крови статистически достоверные различия были обнаружены только в показателях углеводного обмена. Показатель глюкозы крови составил 7,6 ммоль/л в группе А vs 5,25 ммоль/л в группе В (p<0,00001). Аналогично, уровень HbA<sub>1c</sub> также был выше в группе А — 7,25% vs 5,6% (p<0,00001). Иных статистически значимых различий, в т.ч. в показателях липидного спектра, отмечено не было.

— **N-терминальный пропептид коллагена III типа.** Уровни PIIINP имеют статистически значимые различия в двух группах по данным расчета U-критерия Манна-Уитни. Этот показатель существенно меньше среди пациентов группы В. На рисунке 2 наглядно продемонстрирована разница в величине этого показателя у пациентов двух групп.

— **Эхокардиографические результаты.** У пациентов с СД-2 наблюдается увеличение массы и индекса массы миокарда левого желудочка, что отчетливо отражено на рисунках 3 и 4.

— **ЭКГ показатели.** При анализе ЭКГ обнаружено, что у пациентов с СД-2 значительно снижен

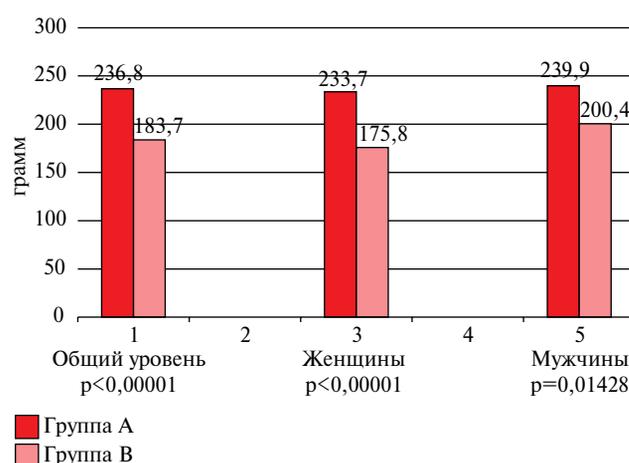


Рис. 3. Сравнение массы миокарда левого желудочка в группе А и группе В.



Рис. 4. Сравнение индекса массы миокарда левого желудочка в группе А и группе В.

вольтаж ЭКГ в сравнении с недиабетическими пациентами — 19 мм в группе А vs 25 мм в группе В (p<0,00001). Как было сказано выше, падение вольтажа ЭКГ при одновременном увеличении массы миокарда левого желудочка является одним из характерных признаков фиброза миокарда.

— **Выявленные корреляционные связи PIIINP.** После получения инструментальных и клинико-лабораторных данных был проведен анализ корреляционных связей PIIINP с геометрическими показателями миокарда левого желудочка. Результаты анализа представлены ниже в таблице 2.

Таблица 2

Корреляционные связи PIIINP с показателями миокарда левого желудочка в группе А и В

Прочие полученные данные	PIIINP Группа А (с СД-2)	Группа В (без СД-2)
Масса миокарда левого желудочка	0,60252 (0,00026)*	0,50666 (0,00308)*
Индекс массы миокарда левого желудочка	0,37049 (0,03685)*	0,38042 (0,03173)*

Примечание: \* — в скобках указано значение p.

## Обсуждение

Как известно, фиброз миокарда, является основным механизмом развития диабетической кардиомиопатии. Однако до настоящего времени диагностика фиброза миокарда сопряжена с определенными трудностями. Инструментальная диагностика фиброза миокарда либо чрезмерно инвазивная (прижизненная биопсия), либо дорогостоящая (магнитно-резонансная томография сердца). Существуют новые, экспериментальные методы, лишенные упомянутых выше недостатков, но они либо недостаточно точны, либо недостаточно распространены (эхокардиография с методом обратного рассеивания), либо косвенно позволяют заподозрить фиброз миокарда (анализ массы миокарда в сочетании с вольтжом ЭКГ). Помощь в диагностике фиброза миокарда могут оказать сывороточные маркеры фиброза, в частности PIIINP. В представленном исследовании, на первом этапе, проведен анализ рутинных исследований, таких как ЭКГ и стандартная эхокардиография. Согласно полученным данным, у пациентов из группы с СД-2 оказались значительно выше размеры миокарда левого желудочка. В то же время, эти изменения сочетаются с падением вольтжа ЭКГ у пациентов с СД-2, что, согласно некоторым исследованиям, характерно именно для фиброза миокарда, в отличие от истинной мышечной гипертрофии миокарда, когда вольтж ЭКГ, напротив, должен бы расти [8, 9]. Для подтверждения предположений о том, что вышеуказанные изменения связаны именно с фиброзом миокарда, пациентам был исследован PIIINP. Он оказался достоверно выше у пациентов с СД-2. Для подтверждения взаимосвязи между

уровнем PIIINP и возможным фибротическим поражением сердца был выполнен корреляционный анализ между массой миокарда и сывороточным маркером фиброза. По результатам такого анализа была обнаружена статистически достоверная корреляция между уровнем PIIINP и размерами миокарда левого желудочка. Это свидетельствует в пользу того, что увеличение массы и размеров миокарда при СД-2, одновременно с ЭКГ признаками, характерными для фиброза миокарда (падение вольтжа ЭКГ) с одной стороны и повышение уровня сывороточного маркера фиброза PIIINP с другой, — это больше, чем просто совпадение.

## Заключение

При СД-2 наблюдается увеличение массы миокарда левого желудочка и индекса массы миокарда левого желудочка, с одновременным падением вольтжа ЭКГ (согласно расчету индекса Соколова-Лайона). Такая картина характерна для фиброза миокарда, однако является косвенным его свидетельством. В то же время у больных СД-2 достоверно выше уровень сывороточного маркера фиброза PIIINP. Это повышение PIIINP, вероятнее всего, связано именно с фибротическим поражением миокарда, т.к. наблюдается статистически достоверная корреляция между уровнем PIIINP с одной стороны и массой миокарда левого желудочка и индексом массы миокарда левого желудочка с другой стороны.

**Конфликт интересов:** все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

## Литература

- Danaei G, Finucane MM, Lu Y, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 2010; 378: 31-40. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60679-X.
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87: 4-14. DOI:10.1016/j.diabres.2009.10.007.
- Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414, 782-7 (2001). DOI: 10.1038/414782a.
- Dedov I, Shestakova MV, Vikulova OK. State Register of Diabetes Mellitus in the Russian Federation: Status of 2014 and Prospects for Development. *Diabetes mellitus* 2015; 3: 5-22. (In Russ.) Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Государственный регистр сахарного диабета в Российской Федерации: статус 2014г и перспективы развития. *Сахарный диабет* 2015; 3: 5-22. DOI: 10.14341/DM201535-22.
- Bauters C, Lamblin N, McFadden EP, et al. Influence of diabetes mellitus on heart failure risk and outcome. *Cardiovasc Diabetol* 2003; 2: 1-16. DOI: 10.1186/1475-2840-2-1.
- Drapkina OM, Gegenava BB. Fibrosis of the myocardium in patients with diabetes mellitus. *Rational pharmacotherapy in cardiology* 2013; 9 (1), 62-5. (In Russ.) Драпкина О.М., Гегенава Б.Б. Фиброз миокарда у больных сахарным диабетом. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2013; 9 (1): 62-5. DOI: 10.20996/1819-6446-2013-9-1-62-65.
- Prior DL, Somaratne JB, Jenkins AJ, et al. Calibrated integrated backscatter and myocardial fibrosis in patients undergoing cardiac surgery. *Open Heart* 2015; 2 (1): e000278. DOI: 10.1136/openhrt-2015-000278.
- Maanja M, Wieslander B, Schlegel TT, et al. Diffuse Myocardial Fibrosis Reduces Electrocardiographic Voltage Measures of Left Ventricular Hypertrophy Independent of Left Ventricular Mass. *J Am Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease* 2017; 6 (1): e003795. DOI: 10.1161/JAHA.116.003795.
- Konno T, Nagata Y, Teramoto R, et al. Usefulness of Electrocardiographic Voltage to Determine Myocardial Fibrosis in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2016; 117 (3): 443-9. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.11.015.
- Nojgaard C, Johansen JS, Christensen E, et al. Serum levels of YKL-40 and PIIINP as prognostic markers in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2003; 39 (2): 179-86. DOI: 10.1016/S0168-8278(03)00184-3.
- Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004; 127 (6): 1704-13. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.08.052.
- Teare JP, Sherman D, Greenfield SM, et al. Comparison of serum procollagen III peptide concentrations and PGA index for assessment of hepatic fibrosis. *Lancet* 1993; 342 (8876): 895-8. DOI: 10.1016/0140-6736(93)91946-J.
- Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995; 75: 913-8. DOI: 10.1016/s0002-9149(99)80686-9.