

## ЦИСТАТИН С — РАННІЙ МАРКЕР ІШЕМІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

А.М. Лобода, В.Е. Маркевич

Медичний інститут Сумського державного університету

**Резюме.** Вивчено діагностичну цінність визначення цистатину С у сироватці крові в разі ішемічної нефропатії (ІН) у доношених новонароджених з асфіксією. Встановлено, що рівень цистатину С у дітей з ІН достовірно зростає вже на 1–2-гу добу життя. Наприкінці раннього неонатального періоду на тлі помірної асфіксії він сягає  $2865,6 \pm 108,26$  нг/мл, при важкій асфіксії —  $3173,33 \pm 65,35$  нг/мл. Визначення концентрації цистатину С в сироватці крові є необхідним компонентом контролю швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) у малюків з ІН.

**Ключові слова:** асфіксія, новонароджені, нирки, цистатин, клубочкова фільтрація.

### Вступ

Ішемічна нефропатія (ІН) у новонароджених з асфіксією виникає у разі ушкодження ниркових клубочків і каналців внаслідок гіперперфузії нирок на тлі загальної гіповолемії, гіповолемії великого кола кровообігу, стресової централізації кровообігу тощо. Її частота коливається у межах 47,1–72,0% [3, 12].

Ця патологія може бути діагностована за допомогою дослідження крові та сечі з визначенням рівня креатиніну в плазмі крові та сечі і вмісту сечовини в плазмі. Сироваткова концентрація креатиніну здебільшого використовується і для оцінки ШКФ у дітей (формули G.J. Schwartz (1976) та R. Counahan (1976)). ШКФ, обрхована за рівнем креатиніну, зворотно пропорційна його вмісту в сироватці — високий креатинін асоціюється з низькою ШКФ.

Клінічні дослідження встановили, що наявність високої концентрації креатиніну в сироватці крові на тлі його значної екскреції з сечею може свідчити і про збереження швидкості клубочкової фільтрації [2]. Крім того, на сироватковий рівень креатиніну у новонародженого протягом перших днів життя значно впливає його показник у матері [15].

Але здебільшого сироватковий креатинін не може виступати достовірним маркером ушкодження ниркової тканини, оскільки екстрауренальні фактори можуть впливати на його рівень. Вміст креатиніну залежить від статі, віку, маси тіла і нутритивного статусу. Його концентрація в сироватці крові зростає досить пізно — після втрати нирками близько 50% функціонуючих нефронів. Тобто даний показник лише ретроспективно вказує на суттєве ушкодження нирок [6].

Відсутність можливості достовірної оцінки функції нирок за показником креатиніну та розрахованої за його допомогою ШКФ потребує пошуку нових маркерів. Ідеальний біомаркер ураження нирок має відповідати таким вимогам:

- відзначатися високою органоспецифічністю;
- корелювати з гістологічними змінами при біопсії нирок;
- надавати можливість раннього виявлення ушкодження та його топіки;
- дослідження має бути неінвазивним;
- визначення має бути простим, швидким, дешевим, відтворюватися на широкому загалі пацієнтів [9].

Найбільш точним ендogenousним маркером ШКФ на сьогодні визнано цистатин С [7].

Цистатин С — ендogenousний інгібітор цистеїн протеїнази, що утворюється всіма ядерними клітинами організму і знаходиться в крові в постійній кількості. Вік, стать, маса тіла не впливають на його вміст у сироватці. Відносно висока концентрація у біологічних рідин, низька молекулярна маса (13,3 кД) і позитивний заряд білкової молекули сприяють його вільній клубочковій фільтрації в первинну сечу. В подальшому цистатин повністю реабсорбується та катаболізує в проксимальних ниркових каналцях. Сироваткова концентрація цистатину С зростає на

24–48-му год. раніше у разі ушкодження нирок, ніж рівень креатиніну, а співвідношення цистатин / креатинін добре ілюструє вираженість пошкодження [13]. Концентрація цистатину С в сечі є індикатором тубулярного ураження нирок, незалежним від змін ШКФ. Вміст даного біомаркера в сечі зростає за 6–8 год. до появи клінічних ознак ниркової дисфункції [8, 16].

Використання надійного метода оцінки ниркової функції вкрай важливе у новонароджених з асфіксією, оскільки ушкодження нирок може виникнути протягом 24 год. на тлі гіпоксичного впливу [12].

**Мета** роботи — визначити діагностичну цінність вмісту цистатину С у сироватці крові як показника ІН у доношених новонароджених з асфіксією.

### Матеріал і методи дослідження

Обстежено 25 доношених новонароджених з гестаційним віком 38–41 тиж. і ознаками ІН. Малюків розподілено на 2 групи: 1-ша — 15 дітей, які перенесли тяжку асфіксію, 2-га — 10 дітей з помірною асфіксією. До групи порівняння увійшло 10 малюків, що не мали асфіксії при народженні.

ІН діагностували у разі значного порушення функції нирок — рівень креатиніну в плазмі крові понад 89 мкмоль/л, рівень сечовини в плазмі крові понад 8 ммоль/л, олігурія (діурез до 1 мл/кг/год). Діагноз помірної чи важкої асфіксії встановлювали відповідно до діагностичних критеріїв, зазначених в наказі МОЗ України від 08.06.2007 р. № 312 «Про затвердження клінічного Протоколу з первинної реанімації та післяреанімаційної допомоги новонародженим».

Вміст біосполуку у сироватці досліджували на 1–2, 7–8 та 25–30-тю добу життя.

Рівень креатиніну досліджували уніфікованим біохімічним методом Поппера, що базується на реакції Яффе.

Вміст цистатину С у сироватці оцінювали методом твердофазового імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням набору реактивів фірми «BioVendor» (Чеська Республіка) на ІФА аналізаторі «Stat Fax 303 Plus» (США).

Оскільки сироватковий цистатин С вважається найбільш точним маркером для визначення ШКФ у педіатричній популяції [10, 14], розраховували ШКФ, використовуючи формулу A. Grubb [14]:

$$\text{ШКФ} = 84,69 \times \text{цистатин С}^{-1,680} \times 1,384.$$

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою програми «Excel» та «Statistica 6.1». Використовували методи варіаційної статистики, придатні для медико-біологічних досліджень [4]. Визначали середньоарифметичне (М), похибку середньоарифметичного (m), середнє квадратичне відхилення (σ), медіану та довірчий інтервал для середнього. Оскільки отримані дані відповідали нормальному закону розподілу, показник достовірності (p) визначали за допомогою критерію Стьюдента (t). Різницю вважали вірогідною при  $p < 0,05$ .



Таблиця 1

Вміст цистатину С у сироватці крові доношених новонароджених (M±m), нг/мл

Група дітей	Доба життя		
	1-2-га	7-8-ма	25-30-та
Група порівняння, n=10	1233,17±30,01	1069,8±30,89 (p <sub>2</sub> )	1094,4±31,76 (p <sub>2</sub> )
Новонароджені, що мали ІН внаслідок помірної асфіксії, n=10	2788,2±64,63 (p)	2865,6±108,26 (p)	2378,6±66,39 (p, p <sub>2</sub> , p <sub>3</sub> )
Новонароджені, що мали ІН внаслідок важкої асфіксії, n=15	2936,27±101,37 (p)	3173,33±65,35 (p, p <sub>1</sub> )	2730,29±57,62 (p, p <sub>1</sub> , p <sub>3</sub> )

Примітка: p – достовірність різниці показників відносно групи порівняння, p<sub>1</sub> – достовірність різниці показників відносно новонароджених з помірною асфіксією, p<sub>2</sub> – достовірність різниці показників відносно 1-2-ї доби життя, p<sub>3</sub> – достовірність різниці показників відносно 7-8-ї доби життя.

Таблиця 2

Основні статистичні показники цистатину С у сироватці крові новонароджених, нг/мл

Група дітей		Середньо-арифметичне (M)	Середнє квадратичне відхилення (σ)	Медіана	Довірчий інтервал для середнього
Група порівняння	1-2-га доба життя	1233,17	73,52	1208	1174,34–1291,99
	7-8-ма доба життя	1069,8	97,67	1050	1009,26–1147,95
	25-30-та доба життя	1094,4	100,45	1066	1032,14–1174,78
Новонароджені, що мали ІН внаслідок помірної асфіксії	1-2-га доба життя	2788,2	204,38	2722	2661,53–2951,73
	7-8-ма доба життя	2865,6	242,07	2876	2653,42–3059,29
	25-30-та доба життя	2378,6	209,95	2407	2248,47–2546,59
Новонароджені, що мали ІН внаслідок важкої асфіксії	1-2-га доба життя	2936,27	392,61	2746	2737,58–3250,41
	7-8-ма доба життя	3173,33	253,09	3156	3045,26–3375,84
	25-30-та доба життя	2730,29	152,44	2742	2617,36–2852,26

Результати досліджень та їх обговорення

Встановлено, що у здорових новонароджених вміст цистатину С на 1-2-гу добу життя в сироватці знаходився в діапазоні 1233,17±30,01 нг/мл та не виходив за межі фізіологічних значень 1. До кінця раннього неонатального періоду достовірно знизився даний показник більш ніж на 10%. На такому рівні у новонароджених, що не мали асфіксії в анамнезі, вміст цистатину зберігся до кінця 1-го місяця життя.

На 1-2-гу добу життя у разі помірної асфіксії концентрація цистатину С зросла більше ніж в 2,3 разу (p<0,05) порівняно з малюками без асфіксії (це є маркером порушеної клубочкової фільтрації на тлі ІН).

Наприкінці раннього неонатального періоду у дітей з помірною асфіксією зафіксовано максимальні рівні сироваткового цистатину С, що свідчило про збереження нефропатії та ниркової дисфункції. В подальшому показник достовірно знизився на 17%, що може свідчити про

деяке відновлення клубочкової фільтрації до кінця 1-го місяця життя. На кінець неонатального періоду вміст цистатину С при помірній асфіксії був статистично вищим, ніж у дітей групи порівняння.

Таким чином, навіть помірна асфіксія здатна викликати тривалі порушення клубочкової фільтрації у новонароджених. Тому вказана категорія новонароджених потребує моніторингу ниркових функцій у подальшому для запобігання формування стійких порушень і виникнення хронічної хвороби нирок. Про необхідність моніторингу функцій нирок у пацієнтів групи ризику свідчать також інші дослідження [11].

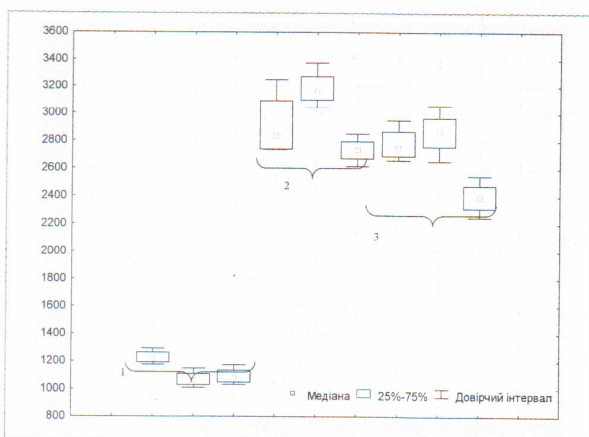
Важка асфіксія при народженні викликає суттєве зростання вмісту цистатину С в сироватці крові. На 1-2-гу добу життя його рівень перевищив у 2,4 разу (p<0,05) відповідне значення у здорових дітей. При цьому не спостерігалось суттєвої різниці в концентрації цистатину С у разі помірної та важкої асфіксії. Отже, підвищення рівня цистатину С після народження є ранньою та універсальною ознакою гіпоксичного ушкодження нирок та розвитку ІН. Це вказує на те, що цистатин С належить до досить чутливих показників ниркової дисфункції, оскільки його вміст у сироватці швидко підвищується навіть на тлі помірної асфіксії.

На 7-8-му добу життя новонародженим, що перенесли важку асфіксію, властиві найвищі рівні цистатину С у сироватці крові. Вміст зазначеної біосполуки на 10% перевищив показник у разі помірної асфіксії та був утричі вищим за значення у малюків без асфіксії.

Отже, починаючи з кінця раннього неонатального періоду, сироватковий цистатин С відображає ступінь порушення клубочкової фільтрації внаслідок асфіксії.

Наприкінці першого місяця життя у дітей, які мали ІН внаслідок важкої асфіксії, достовірно знижувався вміст цистатину С щодо 7-8-ї доби. Але рівень цистатину С у сироватці залишався ще достовірно вищим не тільки від такого у малюків групи порівняння, але і від новонароджених із помірною асфіксією.

У новонароджених із важкою асфіксією наприкінці 1-го місяця життя концентрація цистатину С у сироватці перевищила в 2,7 разу (p<0,05) таку в здорових дітей, що



Примітка: 1 – малюки групи порівняння на 1-2-гу, 7-8-му та 25-30-ту добу відповідно; 2 – малюки, що перенесли важку асфіксію на 1-2-гу, 7-8-му та 25-30-ту добу відповідно; 3 – малюки, що перенесли помірну асфіксію на 1-2-гу, 7-8-му та 25-30-ту добу відповідно.

Рис. Показники коливань вмісту цистатину С у сироватці крові обстежених новонароджених.



Таблиця 3

Швидкість клубочкової фільтрації у доношених новонароджених ( $M \pm m$ ), мл/хв

Група дітей	Доба життя		
	1–2-га	7–8-ма	25–30-та
Група порівняння, n=10	27,64±1,04	35,48±1,73 (p <sub>2</sub> )	34,14±1,62 (p <sub>2</sub> )
Новонароджені, що мали ІН внаслідок помірної асфіксії, n=10	21,15±0,79 (p)	20,25±1,28 (p)	27,79±1,39 (p, p <sub>2</sub> , p <sub>3</sub> )
Новонароджені, що мали ІН внаслідок важкої асфіксії, n=15	19,87±1,05 (p)	17,07±0,59 (p, p <sub>1</sub> , p <sub>2</sub> )	21,81±0,74 (p, p <sub>1</sub> , p <sub>3</sub> )

Примітки: p – достовірність різниці показників щодо групи порівняння, p<sub>1</sub> – достовірність різниці показників відносно новонароджених з помірною асфіксією, p<sub>2</sub> – достовірність різниці показників щодо 1–2-ї доби життя, p<sub>3</sub> – достовірність різниці показників щодо 7–8-ї доби життя.

свідчило про збереження суттєвих змін клубочкової фільтрації, незважаючи на стабілізацію основних показників життєдіяльності. Тому всіх пацієнтів, що мали прояви ІН у неонатальному періоді, не залежно від важкості асфіксії, що спричинила розвиток ниркової дисфункції, слід розглядати як групу ризику з формування патології нирок у подальшому.

Найважливішим показником, необхідним для моніторингу ниркової функції, є швидкість клубочкової фільтрації. Прямо оцінити ШКФ у людини не можливо. Тому для визначення ШКФ використовуються інвазивні техніки, що базуються на вивченні кліренсу речовин, які екскретуються виключно шляхом клубочкової фільтрації і не реабсорбуються (інулін, іогексол, іоталамат тощо) [7]. Більш дешевим і безпечним методом є визначення кліренсу ендогенних речовин (креатиніну, цистатину С).

Методики оцінки ШКФ за кліренсом ендогенного креатиніну, що використовувалися в практичній медицині понад сторіччя, потребували обов'язкового збору сечі протягом певного часу. У новонароджених внаслідок низької видільної функції нирок найбільш інформативним є добовий кліренс, але збір добової сечі в неонатальному періоді – досить складна процедура. Більш простим методом є розрахунковий, що базується на застосуванні певних формул, які дають змогу визначити ШКФ на підставі одноразового виміру [2].

Одноразовий вимір концентрації цистатину С у крові дає змогу обчислити значення ШКФ [1].

Отримані в ході дослідження дані використано для розрахунку ШКФ в обстежених новонароджених за формулою A. Grubb 12. Результати наведено в таблиці 3.

Виявлено, що новонароджені без асфіксії в анамнезі мають на 1–2-гу добу життя невисоку ШКФ. Це може пов'язуватися з транзиторними особливостями функціонування сечовидільної системи після народження. До 7–8-ї доби достовірно зростає швидкість, яка в подальшому до кінця неонатального періоду залишається сталою. Слід зазначити, що абсолютні значення ШКФ у здорових новонароджених знаходяться на досить низькому рівні і протягом 1-го місяця життя не перевищують показник 35 мл/хв. На противагу дітям більш старших вікових груп, підліткам та дорослим вказана ШКФ є фізіологічною і не свідчить про порушення фільтраційної функції [11].

Нирки найбільш часто вражаються у разі асфіксії. Глюстрацією цього є зниження ШКФ [12]. Помірна та важка асфіксія може сприяти розвитку ІН, що проявляється достовірним зменшенням ШКФ вже на 1–2-гу добу життя.

Наприкінці раннього неонатального періоду у всіх малюків, що перенесли асфіксію, зафіксовано мінімальні

значення ШКФ. При цьому з'являється статистична різниця між групами новонароджених з асфіксією. Найменший рівень, який є вдвічі нижчим, ніж у групі порівняння, властивий дітям, що перенесли важку асфіксію.

Як правило, найбільш значні клінічні ознаки ниркової дисфункції також спостерігаються саме протягом раннього неонатального періоду. Це дає змогу провести клініко-лабораторний аналіз показників у новонароджених з ІН та розподілити їх залежно від рівня ШКФ і діурезу на олігуричний та неолігуричний варіанти. Саме переважанням серед новонароджених з тяжкою асфіксією олігуричних варіантів ІН пояснюються найнижчі рівні ШКФ у них.

До кінця 1-го місяця життя достовірно зростає ШКФ у дітей, що постраждали внаслідок асфіксії. Але все ж її показник залишається на досить низькому рівні ( $p < 0,05$ ) щодо здорових новонароджених. Крім цього, зберігається і різниця між групами малюків із асфіксією. У разі помірної асфіксії наприкінці неонатального періоду ШКФ є найвищою за весь період спостереження, а внаслідок важкої асфіксії в цей час швидкість лише відновлюється до рівня при народженні.

Оскільки у дітей віком від 8 тиж. до 2 років фізіологічний рівень ШКФ відповідає значенням у діапазоні 60–89 мл/хв. [11], контроль за відновленням ШКФ у дітей з ІН на тлі асфіксії при народженні має бути частиною їх диспансерного спостереження для попередження формування хронічної ниркової патології.

## Висновки

1. Сироватковий цистатин С – ранній та чутливий маркер стану клубочкової фільтрації у новонароджених із ІН на тлі асфіксії.

2. У дітей з ІН, що виникла внаслідок асфіксії, рівень цистатину С достовірно зростає вже на 1–2-гу добу життя, досягає максимуму до кінця раннього неонатального періоду та зберігається на високому рівні навіть наприкінці 1-го місяця життя.

3. Визначення концентрації цистатину С у сироватці крові є необхідним компонентом контролю ШКФ у малюків з ІН.

## Перспективи подальших досліджень

Оскільки використання декількох біомаркерів дає змогу краще встановити причину і термін ураження нирок у новонароджених, подальші дослідження спрямовані на оцінку діагностичної цінності такого біомаркера, як інтерлейкін-18. Крім того, слід порівняти діагностичну цінність виявлення ІН у новонароджених за цистатином С у сироватці та рутинним визначенням за сироватковим креатиніном.



ЛИТЕРАТУРА

1. Вельков В. В. Цистатин С — новые возможности и новые задачи для лабораторной диагностики (часть 1) / В. В. Вельков // Клинико-лабораторный консилиум. — 2010. — №5 (36). — С. 23—31.
2. Диагностическая ценность определения креатинина крови и мочи у новорожденных в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии / С.Л. Нестеров, И.Г. Шиленок, Е.М. Козлова [и др.] // Нижегородский медицинский журнал. — 2002. — №1 — С. 8—12.
3. Куликова Н.Ю. Клинико—функциональная характеристика ишемической нефропатии у доношенных новорожденных, находящихся в критическом состоянии (механизмы формирования, прогнозирования, ранняя диагностика, профилактика, коррекция) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.08 / Н. Ю. Куликова; Ивановская государственная медицинская академия — Иваново, 2011. — 40 с.
4. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel // С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К. : МОРИОН, 2001. — 408 с.
5. Askenazi D.J. Acute kidney injury in critically ill newborns: What do we know? What do we need to learn? / D.J. Askenazi, N. Ambalavanan, S.L. Goldstein // *Pediatr. Nephrol.* — 2009. — Vol. 24. — P. 265—274.
6. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: systematic review / S.G. Coca, R. Yalavarthy, J. Concato, C.R. Parikh // *Kidney Int.* — 2008. — Vol. 73. — P. 1008—1016.
7. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children — a meta-analysis. / J.F. Roos, J. Doust, S.E. Tett [et al.] // *Clin. Biochem.* — 2007. — Vol. 40, №5-6. — P. 383—391.
8. Increased urinary cystatin C reflects structural and functional renal tubular impairment independent of glomerular filtration rate / Herget-Rosenthal S., van Wijk J.A., Brocker-Preuss M., Bokenkamp A. // *Clin. Biochem.* — 2007. — Vol. 40. — P. 946—951.
9. Lisowska-Myjak B. Serum and Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury / B. Lisowska-Myjak // *Blood Purif.* — 2010. — Vol. 29. — P. 357—365.
10. Measuring glomerular filtration rate in children; can cystatin C replace established methods? A review / T.B. Andersen, A. Eskild-Jensen, J. Frokiaer [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* — 2009. — Vol. 24, №5. — P. 929—941.
11. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: Evaluation, classification, and stratification / R.J. Hogg, S. Furth, K.V. Lemley [et al.] // *Pediatrics.* — 2003. — Vol. 111, №6. — P. 1416—1421.
12. Renal Failure in Asphyxiated Neonates / B.D. Gupta, P. Sharma, J. Bagla [et al.] // *Indian Pediatrics.* — 2005. — Vol. 42. — P. 928—934.
13. Serum cystatin C — A useful endogenous marker of renal function in intensive care unit patients at risk for or with acute renal failure? / A.A. Royackers, J.D. van Suijlen, L.S. Hofstra [et al.] // *Curr. Med. Chem.* — 2007. — Vol. 14. — P. 2314—2317.
14. 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 / A. Grubb, U. Nyman, J. Bjork [et al.] // *Clin. Chem.* — 2005. — Vol. 51. — P. 1420—1431.
15. The Kelalis-King-Belman Textbook of Clinical Pediatric Urology. Study Guide / ed. by A.R. Shukla, P.F. Austin, C.D. Anthony Herndon / New York : Informa Healthcare, 2009. — P. 252.
16. Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction / M. Conti, S. Moutereau, M. Zater [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2006. — Vol. 44. — P. 288—291.

**ЦИСТАТИН С — РАННИЙ МАРКЕР ИШЕМИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ**

А. Н. Лобода, В. Э. Маркевич

**Резюме.** Статья посвящена исследованию диагностической ценности определения цистатина С в сыворотке крови при ишемической нефропатии у доношенных новорожденных с асфиксией. Установлено, что уровень цистатина С при ишемической нефропатии достоверно возрастает уже на 1–2-е сутки жизни. В конце раннего неонатального периода на фоне умеренной асфиксии он достигает  $2865,6 \pm 108,26$  нг/мл, при тяжелой асфиксии —  $3173,33 \pm 65,35$  нг/мл. Определения концентрации цистатина С в сыворотке крови является необходимым компонентом контроля СКФ у новорожденных с ишемической нефропатией.

**Ключевые слова:** асфиксия, новорожденные, почки, цистатин, клубочковая фильтрация.

**CYSTATIN C — AN EARLY MARKER OF ISCHEMIC NEPHROPATHY IN THE NEWBORN**

A.N. Loboda, V.E. Markevych

**Summary.** The article is devoted to study the diagnostic value of determination of cystatin C in serum in case of ischemic nephropathy in full-term infants with asphyxia. It is established that the level of cystatin C in case of ischemic nephropathy increased significantly already at 1–2 days of age. At the end of the early neonatal period moderate asphyxia provoke increasing it level to  $2865,6 \pm 108,26$  ng/ml, severe asphyxia —  $3173,33 \pm 65,35$  ng/ml. Determination the concentration of cystatin C in serum is a necessary component of control GFR in newborns with ischemic nephropathy.

**Key words:** asphyxia, newborn, kidney, cystatin, glomerular filtration.