

Диагностический алгоритм раннего выявления поражения почек у новорожденных, перенесших асфиксию

А.Н.Лобода, В.Э.Маркевич

Сумский государственный университет, Сумы, Украина

Цель. Выяснить возможности современных биомаркеров в диагностике раннего поражения почек у новорожденных с асфиксией.

Пациенты и методы. Обследовано 100 доношенных новорожденных с признаками поражения почек: 50 детей, перенесших асфиксию тяжелой степени, и 50 – умеренной. Группу сравнения составили 20 детей без асфиксии. Скрининг поражения почек у новорожденных с асфиксией проводили по уровню интерлейкина-18 (ИЛ-18) в моче на 1–2-е сутки жизни. При положительном результате скрининга исследовали состояние, определяя уровень цистатина С в сыворотке крови с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации. Содержание биомаркеров оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. На 1–2-е сутки жизни содержание ИЛ-18 в моче был практически в 4,5 раза выше у пациентов с умеренной асфиксией и в 9 раз – с тяжелой ($p < 0,05$). Уровень цистатина С в сыворотке на 1–2-е сутки жизни у всех новорожденных с асфиксией был достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у здоровых детей, а скорость клубочковой фильтрации достоверно снижалась.

Заключение. Для раннего выявления поражения почек у новорожденных с асфиксией наиболее оправданным является неинвазивное определение уровня ИЛ-18 в моче с последующей оценкой почечной функции (уровень сывороточного цистатина С, скорость клубочковой фильтрации).

Ключевые слова: асфиксия, диагностика, интерлейкин-18, поражение почек, цистатин С

A diagnostic algorithm for early diagnosis of kidney lesions in newborns with a history of asphyxia

A.N.Loboda, V.E.Markevich

Sumy State University, Sumy, Ukraine

The objective. To find out the potential of modern biomarkers in diagnosing early lesions of the kidneys in newborns with asphyxia.

Patients and methods. We examined 100 mature newborns with signs of kidney lesions: 50 infants with a history of severe asphyxia, and 50 with moderate asphyxia. The control group comprised 20 infants without asphyxia без асфиксии. Screening of kidney lesions in newborns with asphyxia was performed by the level of interleukin-18 (IL-18) in urine at the 1st–2nd day of life. In case of a positive result of screening we examined the state, determining the levels of cystatin C in blood serum with subsequent calculation of glomerular filtration rate. The content of biomarkers was assessed by the method of solid-phase enzyme immunoassay.

Results. At day 1–2 of life the levels of IL-18 in urine were practically by 4.5 times higher in patients with moderate asphyxia and by 9 times in patients with severe asphyxia ($p < 0.05$). Cystatin C levels in serum at day 1–2 of life were significantly ($p < 0.05$) higher in all newborns with asphyxia than in healthy infants, and glomerular filtration rate significantly decreased.

Conclusion. The most justified method for early diagnosis of kidney lesions in newborns with asphyxia is non-invasive detection of the levels of IL-18 in urine with subsequent assessment of renal function (level of serum cystatin C, glomerular filtration rate).

Key words: asphyxia, diagnosis, interleukin-18, kidney lesion, cystatin C

Наличие полиорганной дисфункции является одним из критериев для установления диагноза асфиксии (Американская ассоциация педиатрии, Американский колледж акушерства и гинекологии) [1]. Падение напряжения

кислорода в крови ниже 40 мм рт. ст. включает так называемый «ишемический рефлекс», вызывающий централизацию кровообращения, необходимую для обеспечения функции жизненно важных органов (сердце, мозг, надпочечники) и развитие ишемии кожи, легких, почек, печени и желудочно-кишечного тракта [2].

Почки чувствительны к кислородному голоданию, их дисфункция может возникать в течение 24 часов после эпизода ишемии. Длительная ишемия может провоцировать развитие коркового некроза [3]. Частота поражения почек вследствие асфиксии составляет от 20 до 70% [2–4].

Для корреспонденции:

Лобода Андрей Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии с курсом медицинской генетики Сумского государственного университета

Адрес: 40031, Сумы, ул. Ковпака, 22
Телефон: (38-0542) 66-2156

Статья поступила 09.09.2014 г., принята к печати 23.10.2015 г.

Ранняя диагностика нарушения функции почек важна для детей, родившихся в асфиксии, поскольку позволяет своевременно корректировать водно-электролитные нарушения для обеспечения стабильности внутренней среды.

Диагностика поражений почек у новорожденных с асфиксией затруднена из-за отсутствия специфической клинической симптоматики и недостаточной информативности традиционных методов обследования [5]. Большинство диагностических критериев включает олигурию и повышение уровня сывороточного креатинина (уровень доказательности – 1B) [6]. Тем не менее, адекватный темп диуреза у новорожденных не всегда отражает нормальную функцию почек. В то же время олигурия может быть проявлением транзиторных особенностей функционирования почек после рождения даже у здоровых детей. Традиционные лабораторные показатели недостаточно специфичны и чувствительны для раннего выявления острого повреждения почек. Сывороточная концентрация креатинина при этом увеличивается медленно, отсутствует линейная корреляция между его содержанием и скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) [7]. Кроме того, на сывороточный уровень креатинина могут влиять пол, возраст, масса тела пациента, нутритивный статус. У новорожденных содержание креатинина в сыворотке крови в первые дни жизни значительно зависит от уровня этого показателя у матери [8].

Поиск новых маркеров, изучение их чувствительности и специфичности продолжается и сегодня. Наиболее перспективными биомаркерами повреждения почек являются: нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин (neutrophil gelatinase associated lipocalin – NGAL), интерлейкин-18 (ИЛ-18), повреждающая почки молекула-1 (kidney injury molecule-1 – KIM-1), цистатин С и др. [9].

Поскольку у новорожденных в критическом состоянии преимущество следует отдавать неинвазивным способам диагностики, внимание привлекает ИЛ-18, синтезируемый эпителием проксимальных почечных канальцев на фоне ишемии или воздействия нефротоксических факторов. Определение его уровня в моче позволяет на ранней стадии отследить повреждения почечной ткани [10].

Функциональное состояние почек оценивают по СКФ, современным эндогенным маркером определения которой является цистатин С, с постоянной скоростью образующийся в организме независимо от возраста, пола, массы тела [11]. В отличие от креатинина, этот маркер не секретируют проксимальные почечные канальцы, а его уровень повышается при развитии почечной дисфункции [12]. До сих пор в литературе исследования, регламентирующие последовательность и целесообразность применения различных маркеров у новорожденных с нарушением функции почек на фоне асфиксии, имеют единичный характер.

Цель исследования – предложить диагностический алгоритм выявления поражения почек у новорожденных с асфиксией с использованием современных биомаркеров.

Обследовано 100 доношенных новорожденных с признаками поражения почек: 50 перенесших тяжелую асфиксию, и 50 – умеренную. Группу сравнения составили 20 детей, не имевших асфиксии при рождении.

Диагноз умеренной и тяжелой асфиксии устанавливали в соответствии с «Протоколом по первичной реанимации и послереанимационной помощи новорожденным» (приказ МОЗ Украины от 08.06.2007 №312). Нарушение функции почек диагностировали в случае снижения диуреза менее 1 мл/кг/час, повышения уровня креатинина крови более 89 мкмоль/л, мочевины крови – более 8 ммоль/л [13].

Родители всех новорожденных, включенных в исследование, дали информированное согласие. Исследование было одобрено комиссией по биоэтике медицинского института Сумского государственного университета и соответствует принципам, изложенным в Хельсинкской декларации (1964) с последующими дополнениями.

В качестве скринингового метода у детей с асфиксией применяли определение уровня ИЛ-18 в моче на 1–2-е сут жизни. Для этого проводили сбор мочи в стерильный моче-приемник после туалета наружных половых органов. Исследовали утреннюю порцию мочи, которую собирали между 8 и 10 часами утра. Содержание ИЛ-18 оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа на аппарате Stat Fax 303 Plus (США). Использовали наборы реактивов «ИФА-интерлейкин-18» производства «Вектор Бест» (Россия).

При положительном результате скрининга проводили оценку функции почек: исследовали уровень цистатина С в сыворотке крови с последующим расчетом СКФ. Содержание цистатина С оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы BioVendor (Чехия). Расчет СКФ проводили по формуле, предложенной в 2005 г. A.Grubb и соавт. [14]:

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

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Определяли среднеарифметическое (M), погрешность среднеарифметического (m), доверительный интервал (ДИ). Для оценки наличия связи между переменными использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Поскольку данные не соответствовали нормальному закону распределения, показатель достоверности (p) определяли с помощью критерия Уилкоксона, достоверным считали значение $p < 0,05$.

Средние значения исследуемых маркеров представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, на 1–2-е сутки жизни новорожденных содержание ИЛ-18 в моче было практически в

Таблица 1. Средние значения и доверительные интервалы современных маркеров асфиксии у новорожденных на 1–2-е сутки жизни

Маркер, $M \pm m$	Группа сравнения	Новорожденные с нарушением функции почек вследствие асфиксии, в том числе:	
		умеренной	тяжелой
ИЛ-18 в моче, пг/мл	3,29 ± 0,20 (2,86–3,71)	14,56 ± 0,83 (12,89–16,23)*	30,55 ± 2,62 (25,29–35,81)*, **
Цистатин С в сыворотке крови, нг/мл	1233,17 ± 30,01 (1174,34–1291,99)	2788,2 ± 64,63 (2661,53–2951,73)*	2936,27 ± 101,37 (2737,58–3250,41)*

*различия показателей достоверны относительно группы сравнения; **различия показателей между группами пациентов с асфиксией.

4,5 раза выше при умеренной и в 9 раз выше в случае тяжелой асфиксии, чем у пациентов из группы сравнения ($p < 0,05$). Таким образом, ИЛ-18 мочи может быть ранним предиктором почечной дисфункции у новорожденных с асфиксией. Достоверная разница уровней ИЛ-18 в моче новорожденных из обеих исследуемых групп указывает на зависимость выраженности повреждения почечных канальцев от степени тяжести асфиксии. Значительное содержание ИЛ-18 в моче у детей с тяжелой асфиксией свидетельствует о существенном повреждении эпителия проксимальных почечных канальцев [10].

Асфиксия при рождении вызвала существенный рост содержания цистатина С в сыворотке. На 1–2-е сутки жизни его уровень превышал более чем в 2 раза ($p < 0,05$) соответствующее значение у здоровых детей, что свидетельствовало о нарушении процессов клубочковой фильтрации.

При этом не наблюдалось существенных различий в концентрации цистатина С при умеренной и тяжелой асфиксии. Следовательно, повышение уровня цистатина С после рождения является ранним и универсальным признаком гипоксического повреждения почек. Это указывает на то, что цистатин С относится к достаточно чувствительным показателям почечной дисфункции, поскольку его содержание в сыворотке рано повышается даже на фоне умеренной асфиксии.

Почки – орган, часто страдающий при асфиксии новорожденных, что подтверждает снижение у них СКФ [3, 4, 15].

Результаты измерения средней СКФ по цистатину С представлены в табл. 2. Как видно из таблицы, асфиксия, независимо от степени выраженности, способствует нарушению функции почек в 1–2-е сутки жизни ребенка.

Полученные результаты сравнили с традиционным методом выявления нарушения функции почек по уровню сывороточного креатинина. Установлено, что в 1–2-е сутки жизни ребенка отсутствует достоверная разница в содержании креатинина сыворотки между обследованными новорожденными с асфиксией и группой сравнения. Вероятно, это связано с влиянием материнского креатинина на его уровень у новорожденных после рождения [16]. Следовательно, определение креатинина в сыворотке крови не позволяет выявить наличие поражения почек и снижение их фильтрационной функции в первые 24–48 ч после рождения у детей, родившихся в асфиксии.

Корреляционный анализ (табл. 3) показал отсутствие достоверной взаимосвязи между уровнями сывороточного креатинина и цистатина С, ИЛ-18 мочи у новорожденных всех групп на 1–2-е сутки жизни. В то же время обнаружена выраженная, статистически достоверная корреляционная связь между ИЛ-18 мочи и сывороточным цистатином С у всех младенцев, перенесших асфиксию. Таким образом, при асфиксии новорожденных выявление высокого уровня ИЛ-18 в моче может с высокой степенью достоверности сочетаться с высоким уровнем сывороточного цистатина С и низкой СКФ вследствие нарушения функции почек. В связи с этим у детей в крайне тяжелом состоянии, вызванном асфиксией при рождении, следует ограничиться определением ИЛ-18 в моче для подтверждения поражения почек.

Применение комбинации различных биомаркеров зависит от этиологической причины, вызвавшей поражение почек [17]. Как ИЛ-18 в моче, так и сывороточный циста-

Таблица 2. Средняя скорость клубочковой фильтрации по цистатину С на 1–2-е сутки жизни

Показатель ($M \pm m$)	Новорожденные с нарушением функции почек вследствие асфиксии, в том числе:		Группа сравнения
	умеренной	тяжелой	
Средняя скорость клубочковой фильтрации по цистатину С (мл/мин)	21,15 ± 0,79*	19,87 ± 1,05*	27,64 ± 1,0

*различия показателей достоверны относительно группы сравнения.

Таблица 3. Коэффициент корреляции Спирмена для сывороточного креатинина и цистатина С, интерлейкина-18 мочи

Сравниваемые показатели	Новорожденные с нарушением функции почек вследствие асфиксии, в том числе:		Группа сравнения
	умеренной	тяжелой	
ИЛ-18 – креатинин	0,243	0,269	–0,286
Цистатин С – креатинин	–0,376	–0,109	0,511
ИЛ-18 – цистатин С	0,697*	0,806*	0,261

*различия показателей достоверны относительно группы сравнения.

тин С могут отражать ишемическое повреждение почек, в том числе и у новорожденных с асфиксией [17, 18].

Наиболее оправданным для раннего выявления поражения почек у новорожденных с асфиксией является следующий алгоритм: неинвазивное определение ИЛ-18 в моче, при высоком показателе – оценка почечной функции по сывороточному цистатину С с расчетом СКФ.

Вместе с тем применение современных биомаркеров имеет ряд ограничений. Наиболее существенное – отсутствие рекомендаций по их применению для диагностики повреждения почек у новорожденных, что затрудняет их широкое использование в практической медицине. Даже последние рекомендации предлагают использовать сывороточный креатинин и показатель диуреза в качестве критериев диагностики, несмотря на их несовершенство и определенные ограничения [5–8]. В связи с этим создание новых международных диагностических критериев поражения почек у новорожденных на основе современных биомаркеров поможет улучшить диагностику и исходы повреждения почек у новорожденных.

Возможность раннего выявления поражения почек у новорожденных, перенесших асфиксию, с использованием современных биомаркеров значительно улучшается. Комбинированное использование нескольких биомаркеров является более целесообразным для качественной диагностики почечной дисфункции. Для раннего выявления поражения почек у новорожденных с асфиксией наиболее оправданным является неинвазивное определение уровня ИЛ-18 в моче с последующей оценкой почечной функции по сывороточному цистатину С и расчетом СКФ. У новорожденных в крайне тяжелом состоянии вследствие асфиксии при рождении можно ограничиться только определением ИЛ-18 в моче на 1–2-е сутки жизни.

Литература

1. The American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy, the American College of Obstetricians and Gynecologists, the American Academy of Pediatrics. Neonatal encephalopathy and cerebral palsy: defining the pathogenesis and pathophysiology. Washington, DC: the American College of Obstetricians and Gynecologists, 2003;1-85.

2. Shah P, Riphagen S, Beyene J, Perlman M. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Mar;89(2):F152-5.
3. Gupta BD, Sharma P, Bagla J, Parakh M, Soni JP. Renal failure in asphyxiated neonates. *Indian Pediatr.* 2005 Sep;42(9):928-34.
4. Andreoli SP. Acute renal failure in the newborn. *Semin Perinatol.* 2004 Apr;28(2):112-23.
5. Чугунова ОЛ, Вербицкий ВИ. Современные методы лабораторной диагностики нефрологической патологии у новорожденных. *Детские болезни.* 2001;1:16-20.
6. Acute kidney injury. Clinical practice guideline. Ed. by Lewington A, Kanagasundaram S. UK Renal Association, 5th ed., 2011;59. Available from: www.renal.org/guidelines.
7. Salgado JV, Neves FA, Bastos MG, França AK, Brito DJ, Santos EM, et al. Monitoring renal function: measured and estimated glomerular filtration rates – a review. *Braz J Med Biol Res.* 2010 Jun;43(6):528-36. Epub 2010 May 14.
8. Simon J, Amde M, Poggio ED. Interpreting the estimated glomerular filtration rate in primary care: benefits and pitfalls. *Cleve Clin J Med.* 2011 Mar;78(3):189-95. doi: 10.3949/ccjm.78a.10057.
9. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury. *Expert Opin Med Diagn.* 2008 Apr;2(4):387-398.
10. Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Oct;16(10):3046-52. Epub 2005 Sep 7.
11. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function—measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006 Jun 8;354(23):2473-83.
12. Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood Purif.* 2010;29(4):357-65. doi: 10.1159/000309421. Epub 2010 Apr 14.
13. Куликова НЮ. Клинико-функциональная характеристика ишемической нефропатии у доношенных новорожденных, находящихся в критическом состоянии (механизмы формирования, прогнозирование, ранняя диагностика, профилактика, коррекция). Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. Иваново, 2011.
14. 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 Aug;51(8):1420-31. Epub 2005 Jun 16.
15. Novo AC, Sadeck Ldos S, Okay TS, Leone CR. Longitudinal study of Cystatin C in healthy term newborns. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66(2):217-20.
16. Miklaszewska M, Korohoda P, Kwinta P, Zachwieja K, Drozd D, Pietrzyk JA. Early markers of acute kidney injury in newborns. *Przegl Lek.* 2013;70(1):19-24.
17. Zheng C-M, Liao M-T, Lin M-Yu, Lo L, Wu C-C, Hsu Yu-Ho, et al. Biomarkers in acute kidney injury. *Open J Nephrol.* 2013;3:51-60.
18. Sweetman DU, Molloy EJ. Biomarkers of acute kidney injury in neonatal encephalopathy. *Eur J Pediatr.* 2013 Mar;172(3):305-16. doi: 10.1007/s00431-012-1890-6. Epub 2012 Nov 9.
2. Shah P, Riphagen S, Beyene J, Perlman M. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Mar;89(2):F152-5.
3. Gupta BD, Sharma P, Bagla J, Parakh M, Soni JP. Renal failure in asphyxiated neonates. *Indian Pediatr.* 2005 Sep;42(9):928-34.
4. Andreoli SP. Acute renal failure in the newborn. *Semin Perinatol.* 2004 Apr;28(2):112-23.
5. Chugunova OL, Verbitskiy VI. Sovremennyye metody laboratornoy diagnostiki nefrologicheskoy patologii u novorozhdennykh. *Detskie bolezni.* 2001;1:16-20. (In Russian).
6. Acute kidney injury. Clinical practice guideline. Ed. by Lewington A, Kanagasundaram S. UK Renal Association, 5th ed., 2011;59. Available from: www.renal.org/guidelines.
7. Salgado JV, Neves FA, Bastos MG, França AK, Brito DJ, Santos EM, et al. Monitoring renal function: measured and estimated glomerular filtration rates – a review. *Braz J Med Biol Res.* 2010 Jun;43(6):528-36. Epub 2010 May 14.
8. Simon J, Amde M, Poggio ED. Interpreting the estimated glomerular filtration rate in primary care: benefits and pitfalls. *Cleve Clin J Med.* 2011 Mar;78(3):189-95. doi: 10.3949/ccjm.78a.10057.
9. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury. *Expert Opin Med Diagn.* 2008 Apr;2(4):387-398.
10. Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Oct;16(10):3046-52. Epub 2005 Sep 7.
11. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function—measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006 Jun 8;354(23):2473-83.
12. Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood Purif.* 2010;29(4):357-65. doi: 10.1159/000309421. Epub 2010 Apr 14.
13. Kulikova NYu. Kliniko-funktsional'naya kharakteristika ishemieskoy nefropatii u donoshennykh novorozhdennykh, nakhodyashchikhsya v kriticheskom sostoyanii (mekhanizmy formirovaniya, prognozirovaniye, rannyya diagnostika, profilaktika, korrektsiya). Avtoref. diss. ... dokt. med. nauk. Ivanovo, 2011. (In Russian).
14. 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 Aug;51(8):1420-31. Epub 2005 Jun 16.
15. Novo AC, Sadeck Ldos S, Okay TS, Leone CR. Longitudinal study of Cystatin C in healthy term newborns. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66(2):217-20.
16. Miklaszewska M, Korohoda P, Kwinta P, Zachwieja K, Drozd D, Pietrzyk JA. Early markers of acute kidney injury in newborns. *Przegl Lek.* 2013;70(1):19-24. (In Polish).
17. Zheng C-M, Liao M-T, Lin M-Yu, Lo L, Wu C-C, Hsu Yu-Ho, et al. Biomarkers in acute kidney injury. *Open J Nephrol.* 2013;3:51-60.
18. Sweetman DU, Molloy EJ. Biomarkers of acute kidney injury in neonatal encephalopathy. *Eur J Pediatr.* 2013 Mar;172(3):305-16. doi: 10.1007/s00431-012-1890-6. Epub 2012 Nov 9.

References

1. The American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy, the American College of Obstetricians and Gynecologists, the American Academy of Pediatrics. Neonatal encephalopathy and cerebral palsy: defining the pathogenesis and pathophysiology. Washington, DC: the American College of Obstetricians and Gynecologists, 2003;1-85.

Информация о соавторе:

Маркевич Виталий Эдуардович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии с курсом медицинской генетики Сумского государственного университета
 Адрес: 40031, Сумы, ул. Ковпака, 22
 Телефон: (38-0542) 66-2156