

«НОВІ МЕДИЦИНСЬКІ ТЕХНОЛОГІЇ В ПЕДІАТРИЇ
І СЕМЕЙНОЇ МЕДИЦИНІ», ПОСВЯЩЕНОЇ ПАМ'ЯТІ
АКАДЕМИКА Б.Я. РЕЗНИКА

18–20 квітня 2013 г.
г. Одеса

УДК 616.61-072/.079:616-001.8]-053.31

А.М. Лобода, В.Е. Маркевич

НЕІНВАЗИВНА ДІАГНОСТИКА ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІЇ НИРОК У НОВОНАРОДЖЕНИХ З АСФІКСІЄЮ

Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна

Мета: вивчити можливості неінвазивного методу діагностики порушення функції нирок у новонароджених з асфіксією — визначення рівня інтерлейкіну-18 (ІЛ-18) у сечі.

Пацієнти і методи. Обстежено 100 доношених новонароджених із гестаційним віком 38–41 тиж. і ознаками ушкодження нирок на тлі асфіксії та 20 малюків без асфіксії. Порушення функції нирок діагностувалися за умови підвищення рівня креатиніну крові понад 89 мкмоль/л, сечовини крові понад 8 ммоль/л, показника діурезу до 1 мл/кг/год. Рівень ІЛ-18 у ранковій порції сечі (6.00—10.00) визначався на 1–2, 7–8 і 25–30-ту добу життя методом твердофазового імуноферментного аналізу на апараті «Stat Fax 303 Plus» (США). Статистична обробка даних виконувалася за допомогою програми Statistica 6.1 (StatSoft, США). Оскільки отримані дані не відповідали нормальному закону розподілу, застосовувалися непараметричні методи статистики, а саме двовибірковий критерій Уїлкоксона. Для перевірки зв'язку між перемінними використовувалися коефіцієнт рангової кореляції Спірмена. Різниця вважалася достовірною при $p < 0,05$. Для встановлення впливу на показник ІЛ-18 таких факторів, як вік дитини та маса тіла, застосовувалися дисперсійний аналіз Фрідмана.

Результати. Встановлено, що підвищений вміст ІЛ-18 сечі новонароджених на 1–2-гу добу життя може бути раннім предиктором ниркової дисфункції. Водночас, показник сироваткового креатиніну не може розглядатися як надійний ранній маркер ушкодження нирок. Значний вміст цитокіну в сечі у дітей із тяжкою асфіксією свідчить про суттєве ушкодження епітелію проксимальних ниркових каналців.

Висновки. Рівень ІЛ-18 у сечі залежить від ступеня тяжкості асфіксії, віку дитини, але не пов'язаний з масою тіла при народженні та статтю.

Ключові слова: асфіксія, нирки, інтерлейкін-18, сеча.

Вступ

Асфіксія при народженні спостерігається в 6–15% дітей. Гемореологічні та метаболічні порушення внаслідок асфіксії приводять до гіпоксично-ішемічної енцефалопатії, нефропатії, гіперперфузії серця та постгіпоксичної кардіопатії, анемії [2, 9, 11].

Асфіксія супроводжується нирковим дистресом у 50% новонароджених. Ниркова дисфункція може виникати протягом першої доби життя на тлі гіпоксичного впливу внаслідок порушення метаболізму, гемодинаміки й мікроциркуляції [11]. У періоді новонародженості найбільш часто спостерігається транзиторне порушення функції нирок, яке при несприятливих умовах може приводити до гострої ниркової недостатності [2].

Рання діагностика уражень нирок у новонароджених утруднена через відсутність специфічної клінічної симптоматики і недостатню інформативність традиційних методів обстеження [1].

У більшості випадків функція нирок оцінюється за кліренсом ендogenous креатиніну. Саме цей показник покладений в основу шкали pRIFLE (risk, injury, failure, loss, and end-stage renal disease), яка використовується для виявлення ураження нирок у новонароджених у критичному стані [5].

Відомо, що на сироватковий рівень креатиніну можуть впливати такі фактори, як стать, вік, маса тіла, нутритивний статус пацієнта. У новонароджених у першу добу життя на вміст креатиніну в сироватці крові значно впливає його показник у матері [6].

Таблиця 1

Динаміка вмісту інтерлейкіну-18 у сечі новонароджених протягом неонатального періоду ($M \pm m$ і довірчий інтервал (ДІ)), пг/мл

Доба життя	Новонароджені без асфіксії, n=20	Новонароджені з порушенням функції нирок на тлі помірної асфіксії, n=50	Новонароджені з порушенням функції нирок на тлі тяжкої асфіксії, n=50
1–2-а	3,29±0,20 ДІ 2,86–3,71	14,56±0,83 ДІ 12,89–16,23 р	30,55±2,62 ДІ 25,29–35,81 р, р ₁
7–8-а	1,68±0,28 ДІ 1,09–2,26 р ₂	9,75±0,19 ДІ 9,37–10,13 р, р ₂	21,65±2,38 ДІ 16,87–26,43 р, р ₁ , р ₂
25–30-а	2,93±0,12 ДІ 2,68–3,17 р ₃	8,1±0,27 ДІ 7,57–8,63 р, р ₂ , р ₃	8,65±0,67 ДІ 7,31–9,99 р, р ₂

Примітки: р — достовірність показників щодо групи порівняння; р₁ — достовірність показників щодо новонароджених із помірною асфіксією; р₂ — достовірність показників щодо 1–2-ї доби життя; р₃ — достовірність показників щодо 7–8-ї доби життя.

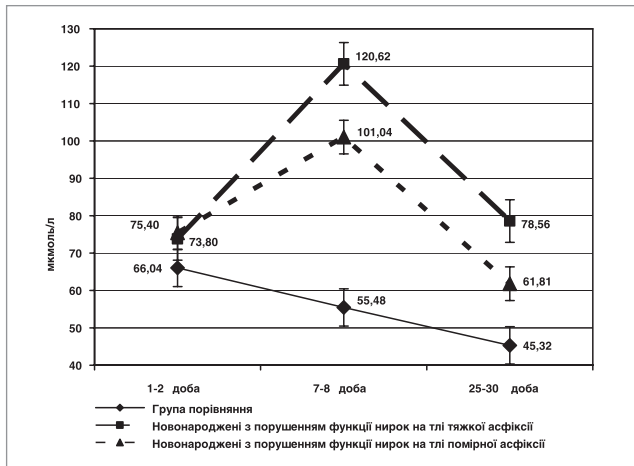


Рис. 1. Динаміка сироваткового креатиніну в новонароджених ($M \pm m$), мкмоль/л

Пошук нових маркерів, вивчення їх чутливості та специфічності в клінічних багатоцентричних дослідженнях продовжується і сьогодні. Найбільш перспективним біомаркерами ушкодження нирок є: нейтрофільний желатино-асоційований ліпокалін (NGAL), IL-18, ушкоджувальна нирки молекула-1 (kidney injury molecule-1, KIM-1) цистатин С тощо [7, 12].

Інтерлейкін 18 (IL-18) — прозапальний цитокін, який відіграє важливу роль в імунній відповіді Т-хелперів 1-го типу (Th1), завдяки здатності індукувати продукцію — інтерферону Т-клітинами і НК-клітинами [13].

Активність IL-18 тісно пов'язана з активністю IL-1. IL-18 індукує експресію гена і синтез фактора некрозу пухлини (TNF), IL-1 та низки хемокінів. Експресія IL-18 визначається в різних клітинах, включаючи макрофаги, кератиноцити та остеобласти [13].

Крім того, IL-18 синтезується епітелієм проксимальних ниркових каналців під впливом ішемії або нефротоксичних чинників. Визначення його рівня в сечі дає змогу на ранній стадії визначити ушкодження ниркової тканини та його топіки [7].

Важливою перевагою моніторингу концентрації IL-18 у сечі є неінвазивність дослідження в новонароджених у критичному стані.

Мета роботи — вивчити можливість використання неінвазивного методу — визначення IL-18 у сечі для діагностики порушення функції нирок у новонароджених з асфіксією.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 100 доношених новонароджених із гестаційним віком 38–41 тиж. і ознаками ушкодження нирок. Немовлята розподілені на 2 групи: 1-а — 50 дітей із тяж-

кою асфіксією, 2-а — 50 дітей із помірною асфіксією. Група порівняння — 20 малюків без асфіксії при народженні.

Порушення функції нирок діагностувалися за умови підвищення рівня креатиніну крові понад 89 мкмоль/л, сечовини крові понад 8 ммоль/л, показника діурезу до 1 мл/кг/год. Діагноз помірної та важкої асфіксії встановлювався згідно з Протоколом з первинної реанімації та післяреанімаційної допомоги новонародженим (наказ МОЗ України від 08.06.2007 р. № 312).

Матеріалом для дослідження була ранкова порція сечі, яку збирали о 6–10 год. ранку. Рівень IL-18 у сечі визначався на 1–2, 7–8 і 25–30-ту добу життя методом твердофазового імуноферментного аналізу на апараті «Stat Fax 303 Plus» (США). Використовувалися набори реактивів «ІФА-інтерлейкін-18» виробництва «Вектор Бест» (Росія).

Статистична обробка даних виконувалася за допомогою програми Statistica 6.1 (StatSoft, США). Оскільки отримані дані не відповідали нормальному закону розподілу, застосовувалися непараметричні методи статистики, а саме двовибірковий критерій Уїлкоксона. Для перевірки зв'язку між перемінними використовувався коефіцієнт рангової кореляції Спірмена. Різниця вважалася достовірною при $p < 0,05$. Для встановлення впливу на показник IL-18 таких факторів, як вік дитини та маса тіла, використовувався дисперсійний аналіз Фрідмана [3].

Результати дослідження та їх обговорення

У новонароджених групи порівняння рівень IL-18 у сечі був невисоким протягом 1-го місяця життя. Мінімальний вміст цитокіну в сечі відзначався наприкінці 1-го тижня життя ($p < 0,05$), у подальшому його кількість зростає до рівня при народженні.

У новонароджених із порушенням функції нирок на тлі асфіксії протягом усього неонатального періоду вміст IL-18 перевищував показники здорових дітей. На 1–2-у добу життя вміст IL-18 у сечі був майже в 4,5 рази вищим ($p < 0,05$) при помірній асфіксії та у 9 разів вищим ($p < 0,05$) при тяжкій асфіксії. Таким чином, IL-18 сечі може бути раннім предиктором ниркової дисфункції в новонароджених, які зазнали впливу асфіксії. Значний вміст IL-18 у сечі в дітей із тяжкою асфіксією свідчить про суттєве ушкодження епітелію проксимальних ниркових каналців.

Подальша динаміка IL-18 у сечі була подібною в обох групах дітей з асфіксією. Вміст цитокіну в них знизився на третину до кінця першого тижня життя ($p < 0,05$), але залишився статистично вищим порівняно з таким у групі порівняння. При цьому спостерігалася різниця між групами новонароджених із асфіксією, що вказало на залежність вираженості ушкодження ниркових каналців від ступеня тяжкості асфіксії.

Наприкінці неонатального періоду рівень цитокіну був однаковим в обстежених групах дітей із асфіксією та більшим у 3,5 рази за такий у групі порівняння. Отже, після

Таблиця 2

Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена IL-18 сечі та креатиніну сироватки крові

Група новонароджених	Доба життя		
	1–2-а	7–8-а	25–30-а
Новонароджені без асфіксії, n=20	-0,286	-0,115	0,471 $p < 0,05$
Новонароджені з порушенням функції нирок на тлі помірної асфіксії, n=50	0,243	0,443 $p < 0,05$	0,188
Новонароджені з порушенням функції нирок на тлі тяжкої асфіксії, n=50	0,269	0,648 $p < 0,05$	0,183

Результати дисперсійного аналізу Фрідмана щодо ІЛ-18 сечі та віку, маси тіла і статі новонароджених

Група новонароджених	Вік дитини		Маса тіла		Стать	
	χ^2 розрах.	χ^2 критичне	χ^2 розрах.	χ^2 критичне	χ^2 розрах.	χ^2 критичне
Новонароджені без асфіксії	44,46	31,41	1,42	14,06	21,22	32,67
Новонароджені з порушенням функції нирок на тлі помірної асфіксії	75,10	67,50	22,23	26,29	15,32	64,01
Новонароджені з порушенням функції нирок на тлі тяжкої асфіксії	90,73	67,50	16,89	26,29	10,43	66,34

перенесеної асфіксії каналцева дисфункція зберігається досить тривало, що потребує тривалішого моніторингу стану функції нирок у цієї категорії новонароджених.

Отримані результати порівнювалися з традиційним методом виявлення порушення функції нирок за показником сироваткового креатиніну.

На 1–2-у добу життя не спостерігалось достовірної різниці за креатиніном сироватки між обстеженими новонародженими з асфіксією та групою порівняння. Найбільш вірогідно це пов'язано з впливом материнського креатиніну на рівень у малюків після народження [4]. Отже, визначення креатиніну в сироватці крові не дає змоги виявити наявність ураження нирок і зниження їх фільтраційної функції в перші 24–48 год. після народження в дітей, які зазнали впливу асфіксії.

Наприкінці раннього неонатального періоду в малюків, що перенесли асфіксію та мали прояви ураження нирок, достовірно зросла сироваткова концентрація креатиніну на противагу здоровим дітям, у яких вона знизилася. При цьому в разі важкої асфіксії рівень креатиніну на 7–8-у добу життя був найвищим і достовірно більшим щодо показника в малюків із помірною асфіксією.

У подальшому в дітей із асфіксією знизився вміст креатиніну сироватки. При цьому він зменшився до рівня фізіологічних коливань, властивих зазначеній віковій групі, — 60–89 мкмоль/л 8, що вказало на стабілізацію функції нирок. Наприкінці неонатального періоду рівень сироваткового креатиніну в новонароджених із порушенням функції нирок на тлі асфіксії був достовірно вищим порівняно з таким у групі порівняння. Крім того, збереглася статистична різниця між групами дітей з асфіксією.

Оскільки діагностична значущість визначення ІЛ-18 у сечі та креатиніну в сироватці крові протягом неонатального періоду різниться, нами проводився кореляційний аналіз зазначених показників (табл. 2).

У дітей групи порівняння слабкий негативний зв'язок спостерігався протягом 1-го тижня життя, лише наприкінці неонатального періоду кореляція посилилася до

помірної, але змінила напрямок. У новонароджених з порушеннями функції нирок внаслідок асфіксії зв'язок був позитивним протягом усього першого місяця життя. Статистичне зростання його сили спостерігалось 7–8-у добу життя. Це свідчить, що в даний термін функція нирок може оцінюватися як за креатиніном сироватки, так і за ІЛ-18 сечі. Враховуючи неінвазивність останнього методу, йому слід віддавати перевагу, особливо в новонароджених у критичному стані.

За допомогою дисперсійного аналізу Фрідмана встановлено, що на концентрацію ІЛ-18 у сечі, як у дітей групи порівняння, так новонароджених з асфіксією, суттєво впливає вік дитини, але вона не залежить від маси тіла при народженні та статі.

Таким чином, показник сироваткового креатиніну не може використовуватися для ранньої діагностики ураження нирок у новонароджених з асфіксією. З цією метою слід визначати рівень ІЛ-18 у сечі. У подальшому також слід надавати йому перевагу, що дасть змогу зменшити частоту діагностичних венепункцій та ятрогенних ускладнень.

Висновки

1. Підвищений рівень ІЛ-18 у сечі в перші 24–48 год. життя може бути ранньою діагностичною ознакою ураження нирок у новонароджених, що перенесли асфіксію.
2. Після перенесеної асфіксії ниркова каналцева дисфункція зберігається досить довго. Про це свідчить підвищений вміст ІЛ-18 у сечі протягом усього неонатального періоду.
3. У новонароджених, які перенесли асфіксію, показник сироваткового креатиніну не може розглядатися як надійний ранній маркер ушкодження нирок.

Перспективи подальших досліджень

Екскреція ферментів із сечею є чутливим маркером ушкодження ниркових каналців [10]. Тому подальший науковий пошук спрямовуватиметься на дослідження топіки ураження нирок і ступеня пошкодження нефротеліо шляхом визначення рівня ензимурії в новонароджених, що перенесли асфіксію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ишемическая нефропатия у новорожденных, клиничко-лабораторная характеристика, прогнозирование и ранняя диагностика / Н.Ю. Куликова, Т.В. Чаша, А.Н. Можаяева [и др.] // Здоровье ребенка. — 2010. — № 2 (23). — С. 104–107.
2. Клименко Т.М. Прогнозування розвитку постгіпоксичної кардіоміопатії в новонароджених із перинатальними гіпоксичними ураженнями ЦНС за умов мікроелементозу / Т.М. Клименко, І.В. Тарасова, В.Е. Маркевич // Педіатрія, акушерство та гінекологія. — 2012. — № 4 (452). — С. 7–11.
3. Клиническое значение определения интерлейкина-8 и интерлейкина-18 в сыворотке крови и моче у больных с нефротическим синдромом / А.А. Лындин, В.В. Длин, В.В. Малиновская [и др.] // Клин. нефрология. — 2011. — № 4. — С. 31–36.
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. Чугунова О.Л. Современные методы лабораторной диагностики нефрологической патологии у новорожденных /

- О.Л. Чугунова, В.И. Вербицкий // Дет. болезни. — 2001. — № 1. — С. 16—20.
6. 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.
 7. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury / P. Devarajan // *Expert Opin. Med. Diagn.* — 2008. — Vol. 2, № 4. — P. 387—398.
 8. Longitudinal study of Cystatin C in healthy term newborns / A. C. Ferreira Novo, L. R. Sadeck, T. S. Okay, C. R. Leone // *Clinics.* — 2011. — Vol. 66, № 2. — P. 217—220.
 9. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischaemic encephalopathy / P. Shah, S. Riphagen, J. Beyene, M. Perlman // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal.* — 2004. — Vol. 89. — P. 152—155.
 10. 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.
 11. Renal Failure in Asphyxiated Neonates / B.D. Gupta, P. Sharma, J. Bagla [et al.] // *Indian Pediatrics.* — 2005. — Vol. 42. — P. 928—934.
 12. Simon J. Interpreting the estimated glomerular filtration rate in primary care: benefits and pitfalls / J. Simon, M. Amde, E.D. Poggio // *Clev. Clin. J. Med.* — 2011. — Vol. 78, № 3. — P. 189—195.
 13. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit / C.R. Parikh, E. Abraham, M. Ancukiewicz, C.L. Edelstein // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2005. — Vol. 16. — P. 3046—3052.
 14. Westhuyzen J. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit / J. Westhuyzen, Z.H. Endre, G. Reece [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2003. — Vol. 18. — P. 543—551.

НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У НОВОРОЖДЕННЫХ С АСФИКСИЕЙ

А.Н. Лобода, В.Э. Маркевич

Медицинский институт Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина

Цель: изучить возможности неинвазивного метода диагностики нарушения функции почек у новорожденных с асфиксией — определение уровня интерлейкина-18 (ИЛ-18) в моче.

Пациенты и методы. Обследовано 100 доношенных новорожденных с гестационным возрастом 38–41 тиж. и признаками поражения почек на фоне асфиксии, а также 20 малышей без асфиксии. Нарушения функции почек диагностировались при условии повышения уровня креатинина крови свыше 89 мкмоль/л, мочевины крови свыше 8 ммоль/л, показателя диуреза менее 1 мл/кг/час. Уровень ИЛ-18 в утренней порции мочи (6.00–10.00) определялся на 1–2, 7–8 и 25–30-е сутки жизни методом твердофазного иммуноферментного анализа на аппарате «Stat Fax 303 Plus» (США). Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.1 (StatSoft, США). Так как полученные данные не соответствовали нормальному закону распределения, использовались непараметрические методы статистики, а именно — двухвыборочный критерий Уилкоксона. Для проверки связи между переменными применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Разница считалась достоверной при $p < 0.05$. Для определения влияния на показатель ИЛ-18 таких факторов, как возраст ребенка и масса тела, использовался дисперсионный анализ Фридмана.

Результаты. Установлено, что повышенное содержание ИЛ-18 мочи у новорожденных на 1–2-е сутки жизни может быть ранним предиктором почечной дисфункции. В то же время показатель сывороточного креатинина не может рассматриваться в качестве надежного раннего маркера повреждения почек. Значительное содержание цитокина в моче у детей с тяжелой асфиксией свидетельствует о существенном повреждении эпителия проксимальных почечных канальцев.

Выводы. Уровень ИЛ-18 в моче зависит от степени тяжести асфиксии, возраста ребенка, но не связан с массой тела при рождении и полом ребенка.
Ключевые слова: асфиксия, почки, интерлейкин-18, моча.

NONINVASIVE DIAGNOSTICS OF RENAL DYSFUNCTION IN NEWBORNS WITH ASPHYXIA

A.N. Loboda, V.E. Markevich

Medical Institute of Sumy State University, Sumy, Ukraine

Objective: To examine the possibilities of noninvasive diagnosis of renal dysfunction in newborns with asphyxia — definition of the level of interleukin-18 (IL -18) in the urine.

Patients and methods. A total of 100 term newborns with gestational age 38–41 weeks with the signs of renal dysfunction in the setting of asphyxia and 20 newborns without presence of asphyxia. Renal dysfunction diagnosed in condition of increased level of blood creatinine over 89 mmol / L , blood urea over 8 mmol / L , urine output index less than 1 ml / kg / hour. The level of IL -18 in the morning urine (6.00–10.00) was determined by 1–2 , 7–8 and 25–30th day of life by enzyme linked immunosorbent assay on «Stat Fax 303 Plus» (USA). Statistical analysis was performed by the use of Statistica 6.1 program (StatSoft, USA). As the present data did not fit a normal distribution, nonparametric statistical methods were used — that is Wilcoxon two-sample test. Spearman's rank correlation coefficient was used for checking of interaction between the variables. The difference was considered significant at $p < 0.05$. Friedman analysis of variance was used for determination of the effect on the index of IL-18 of such factors as child's age and weight.

Results. It is found, that increased content of IL-18 in urine of newborn at 1–2- days of life may be an early predictor of renal dysfunction. At the same time, the prevalence of serum creatinine can not be regarded as a reliable early marker of kidney disorders. Significant content of cytokine in the urine of children with severe asphyxia is evidence of considerable damage of the proximal renal tubule epithelium.

Conclusions. The level of IL-18 in the urine depends on the severity of asphyxia and age of the child, but is not associated with birth weight and sex of the child.

Key words: asphyxia, kidney, interleukin-18, urine.

Сведения об авторах:

Лобода Андрей Николаевич — к. мед. н., доц. каф. педиатрии с курсом медицинской генетики медицинского института Сумского государственного университета. Адрес: г. Сумы, просп. М. Лушпы, 10/288; тел. (0542) 24-32-46.

Маркевич Виталий Эдуардович — д. мед. н., проф., зав. каф. педиатрии с курсом медицинской генетики медицинского института Сумского государственного университета. Адрес: г. Сумы, просп. М. Лушпы, 10/288; тел. (0542) 24-32-46.

Статья поступила в редакцию 17.04.2013 г.