

## The problem of hypoxic nephropathy diagnosis in premature infants and its solutions

T. I. Savrun

Department of Pediatrics No 1, N. I. Pirogov National Medical University of Vinnitsa, Ukraine

\*Corresponding author: savrun.t@gmail.com. Manuscript received November 08, 2013; accepted December 10, 2013

### Abstract

The study included 120 premature infants suffering from perinatal hypoxia, which have been divided into two groups by birth weight: group 1 – less than 1500 g, group 2 – more than 1500 g. Severity of renal disease was defined by creatinine and cystatin C levels in serum, interleukin-18 (IL-18) and lipocalin (NGAL) levels in urine on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life, parameters of renal blood flow. The study found a significant increase (3 times) of serum creatinine in children of the test groups ( $p < 0.05$ ) compared to the controls. The serum levels of cystatin C on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life were  $2.6 \pm 0.21$  ng/ml (group 1) and  $1.9 \pm 0.12$  ng/ml (group 2) that is significantly higher than in the controls ( $p < 0.01$ ). The content of NGAL in newborns suffering from hypoxic nephropathy was 2.5-3 times higher than in the controls ( $p < 0.01$ ). IL-18 levels were significantly higher too ( $p < 0.01$ ). Renal blood flow investigation showed a significant decrease of systolic flow velocity in the trunk of the renal arteries and of pulsatility index (PI) among newborns affected. The study established clinical and laboratory features of hypoxic nephropathy in premature infants – edema and proteinuria of various severity, early significant increase in serum cystatin C, as well as lipocalin and IL-18 in urine, a significant reduction of the maximal systolic flow velocity in the trunk of the renal arteries and PI ( $p < 0.05$ ) - that were more evident among the children with weight  $< 1500$  g.

**Key words:** premature newborns, hypoxic nephropathy, cystatin C, lipocalin, interleukin-18.

## Проблема диагностики гипоксической нефропатии у недоношенных новорожденных и пути ее решения

Необходимость углубленного изучения особенностей поражения мочевой системы у новорожденных обусловлена ростом числа хронических заболеваний почек и инвалидизацией детей [1]. В последние годы в мире и в Украине отмечается рост числа заболеваний мочевой системы у детей разных возрастных групп [2]. Эпидемиологические исследования показывают, что частота заболеваний мочевой системы у детей колеблется в пределах от 5,4 до 34,2% [3]. Среди заболеваний почек у новорожденных особого внимания заслуживает гипоксическая нефропатия, которая встречается у подавляющего большинства детей, перенесших критические состояния (95,6%), и ее самое тяжелое проявление – острая почечная недостаточность (ОПН) [4, 5]. Почки – один из наиболее чувствительных органов-мишеней при полиорганной недостаточности, обусловленной гипоксически-ишемическим повреждением центральной нервной системы (ЦНС) и асфиксией. Повышенный риск повреждения почек вследствие перенесенной перинатальной гипоксии присущ категории недоношенных детей, что обусловлено своеобразным фоном – морфологической незрелостью почечной ткани и функциональной недифференцированностью нефронов.

Применив теорию фетального программирования Д. Баркера к развитию хронического заболевания почек (ХЗП), нефролог Б. Бреннер предположил, что врожденное или приобретенное в неонатальном периоде сокращение числа нефронов может объяснить, почему некоторые люди более склонны к гипертензии и ХЗП [6]. Уменьшение количества нефронов приводит к увеличению площади клубочковой поверхности для поддержания нормальной клубочковой фильтрации. Однако со временем эта адаптивная реакция становится вредной. Увеличение площади приводит к клубочковой гиперфильтрации, задержке натрия и системной гипертензии, нарушает почечные ауторегуляторные механизмы. Эти процессы в конечном итоге могут привести к склерозированию и старению нефронов, что сопровождается дальнейшим снижением их числа и формированием порочного круга [7]. Неспецифичность клинических проявлений гипоксической нефропатии у новорожденных требует поиска новых, информативных диагностических тестов и критериев, указывающих на развитие патологического процесса в почечной ткани, что позволяло бы проводить раннюю диагностику и своевременно принимать активные меры, чтобы остановить ухудшение реальной функции, предотвратить неблагоприятные отдаленные последствия и ХЗП [8]. Поиск новых диагностических технологий у недоношенных новорожденных ограничен риском ятрогенной анемии, поэтому предпочтение отдают методикам исследования маркеров в моче.

Перспективным является изучение диагностического значения липокалина (NGAL) у недоношенных ново-

рожденных при гипоксической нефропатии и остром повреждении почек. Экскреция NGAL с мочой связана с повреждением проксимальных почечных канальцев, предотвращающим реабсорбцию NGAL, что приводит к повышению его концентрации в моче. Уровни NGAL нарастают быстро, раньше креатинина, и отражают остроту и тяжесть поражения почек [9].

Недостаточно изученным, несмотря на актуальность, является изучение роли противовоспалительных цитокинов, а именно интерлейкина-18 (IL-18), который вырабатывается проксимальным тубулярным эпителием под влиянием нефротоксических факторов. Определение IL-18 в моче позволяет выявить на ранней стадии повреждение почек у недоношенных новорожденных, вызванное ишемией или нефротоксинами [10].

Цистатин С – низкомолекулярный белок, выводится исключительно путем клубочковой фильтрации, что делает его высокочувствительным эндогенным маркером функции почек [11]. По своим диагностическим характеристикам цистатин С значительно превосходит креатинин, практически не зависит ни от мышечной массы, ни от возраста ребенка. Вместе с тем, роль этого маркера для ранней диагностики нарушения функции почек у новорожденных с гипоксической нефропатией и ОПН требует дальнейших исследований [12, 13].

Диагностика повреждения почек у недоношенных новорожденных является сложной, так как существующие критерии не являются общепризнанными. Только комплексная оценка мочевой системы с использованием клинических, ультразвуковых и современных биохимических методов исследования позволяет диагностировать гипоксическую нефропатию на ранних стадиях. До сих пор не известны особенности течения патологии почек у недоношенных в зависимости от массы тела при рождении.

Цель исследования – изучение клинико-лабораторных особенностей поражения почек у недоношенных новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию.

### Материал и методы

Под нашим наблюдением находились 120 недоношенных детей, которые были госпитализированы в отделение интенсивной терапии недоношенных и больных новорожденных детей Центра матери и ребенка г. Винница, отделение анестезиологии и интенсивной терапии новорожденных и отделение для недоношенных детей Винницкой областной детской клинической больницы с 2010 по 2012 год. Критериями включения в исследование был гестационный возраст менее 34 недель, перенесенная ante- и интранатальная гипоксия, признаки поражения почек (повышение уровня сывороточного креатинина). Критериями исключения были врожденные пороки развития мочевой системы и внутриутробные инфекции.

В основную группу вошли дети с массой тела < 1500 г (1 группа, 60 детей) и дети с массой тела > 1500 г (2 группа, 60 детей). Группу сравнения составили недоношенные новорожденные, родившиеся без признаков асфиксии и повреждения почек. Гестационный возраст детей 1 группы в среднем был  $28,14 \pm 0,29$  недель, 2 группы –  $31,5 \pm 0,19$  недель, группы сравнения –  $32,7 \pm 0,3$  недель. Масса тела детей 1 группы в среднем составляла  $1165 \pm 32,25$  г, 2 группы –  $1948 \pm 39,61$  г, группы сравнения –  $1995,6 \pm 39,43$  г. Тяжесть состояния и особенности течения заболевания диагностировали на основании данных анамнеза, оценки по шкале Апгар, клинической картины, данных нейросонографии. Тяжесть поражения почек определяли на основании уровня креатинина и цистатина С в сыворотке крови, уровня IL-18 и NGAL в моче на 3-5 сутки жизни.

Содержание интерлейкина-18 в моче определяли иммуноферментным методом с использованием набора «Human Interleukin 18 ELISA Kit» (MyBioSource, USA). Содержание липокалина в моче определяли иммуноферментным методом с использованием набора «Human Lipocalin-2 Immunoassay Kit» (Biorbyt, England). Экскрецию IL-18 и липокалина оценивали по отношению ИЛ-18/креатинин мочи и липокалин/креатинин мочи (мкг/мг и пг/мг креатинина). Содержание цистатина С в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием набора «Human Cystatin C ELISA Kit» (Biorbyt, England) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Содержание креатинина в сыворотке крови определяли кинетическим методом по стандартным наборам «Креатинин» (НПФ «Симко», Украина). Ультразвуковое исследование почек проводилось на 5-7 день жизни, а далее в динамике до выписки при помощи аппарата GE Healthcare LOGIQ Book X.P. (Германия), датчик 4-10 МГц. При проведении дуплексного сканирования изучались максимальная систолическая скорость потока в стволе правой и левой почечной артерии (Vmax), конечная диастолическая скорость потока (Vmin), индекс резистентности (IR), пульсационный индекс (PI).

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами математической статистики с использованием программы «Excel» пакета «Microsoft Office 2003». Достоверность различий ( $p < 0,05$ ) определяли с помощью t-критерия Стьюдента и критерия Фишера.

### Результаты и обсуждение

Согласно критериям включения, в исследование включали недоношенных детей, которые в результате действия многочисленных перинатальных факторов перенесли значительную гипоксию, о чем свидетельствовало их тяжелое и очень тяжелое состояние в момент рождения. Анализ оценки по шкале Апгар у детей основных групп исследования показал, что 76,7% детей 1 группы и 53,3% детей 2 группы получили менее 4 баллов на 1 минуте жизни, причем у половины детей 1 группы, несмотря на проведенные реанимационные мероприятия, такая же оценка оставалась и на 5 минуте жизни.

Тяжесть состояния недоношенных детей после рождения была обусловлена дыхательными расстройствами (70% детей 1 группы и 36,7% детей 2 группы) и неврологической симптоматикой. Внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) I-II степени были диагностированы у 20% детей 1 группы и 10% детей 2 группы, ВЖК III-IV степени – у 23,3% детей 1 группы и 6,7% детей 2 группы. Клиника поражения ЦНС проявлялась синдромом угнетения у 52 (86,7%) недоношенных детей 1 группы и у 50 (83,3%) недоношенных 2 группы. У 8 (13,3%) новорожденных из 1 группы и у 4 (6,7%) новорожденных 2 группы отмечался синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Судороги наблюдались у детей 2 группы в 3 раза чаще по сравнению с 1 группой. Во время проведения исследования 10 детей 1 группы и 8 детей 2 группы находились в коме. Развитие гипертензионно-гидроцефального синдрома в дальнейшем имело место у 16 и 8 детей 1 и 2 групп соответственно. При оценке неврологического статуса недоношенных детей из группы сравнения патологическая симптоматика не была выявлена, их неврологический статус отвечал гестационному возрасту новорожденных.

Вместе с неврологическими и респираторными расстройствами при клиническом обследовании новорожденных наблюдались выраженные отеки на 3-5 сутки жизни у каждого четвертого – 14 (23,3%) новорожденных из 1 группы и 4 (6,7%) новорожденных 2 группы. Локальные отеки и пастозность отмечались, соответственно, у 26 (43,3%) и 22 (36,7%) новорожденных. На второй неделе жизни отечный синдром сохранялся у детей из 1 группы в 1,5 раза чаще, чем во 2 группе, и отсутствовал у недоношенных из группы сравнения в течение всего периода наблюдения.

Анализ мочеиспускания показал, что у каждого третьего ребенка из 1 группы и у каждого четвертого из 2 группы диурез на 3-5 сутки составлял < 2 мл/кг/час. Олигоанурия отмечалась у 4 (6,7%) и у 2 (3,3%) новорожденных детей соответственно. На 5-7 сутки жизни наблюдалась тенденция к полиурии у 14 (23,3%) новорожденных 1 группы и у 8 (13,3%) новорожденных 2 группы и сохранялась на протяжении второй недели у 10 (16,7%) и 2 (3,3%) детей соответственно.

Артериальное давление (среднее) у новорожденных 1 группы составляло  $37,9 \pm 0,9$  мм рт. ст., у детей 2 группы –  $39,5 \pm 0,6$  мм рт. ст., что было достоверно ниже, чем у детей группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем, следует отметить, что большинство детей (96,7%) 1 группы и 66,7% 2 группы получали инотропную поддержку.

Анализ биохимических данных показал отсутствие электролитных нарушений и достоверную гипопроотеинемия у детей 1 группы.

Показатели креатинина сыворотки крови у детей основных групп существенно превышали показатели детей группы сравнения – в 3 раза. Средние показатели мочевины в сыворотке крови были в пределах нормы, вместе с тем у детей основных групп они в 1,5 раза пре-

вышали средний показатель группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Гиперурикемия наблюдалась у 22 (36,7%) детей 1 группы и у 18 (30,0%) детей 2 группы.

При анализе мочевого синдрома выявили легкую протеинурию (0,130-0,5 г/л) у 34 (56,7%) новорожденных 1 группы и у 22 (36,7%) новорожденных 2 группы. Умеренная протеинурия ( $< 2$  г/л) наблюдалась у 4 (6,7%) детей 1 группы и у 6 (10%) детей 2 группы. Значительная протеинурия ( $> 2$  г/л) диагностировалась с одинаковой частотой у 3% новорожденных 1 и 2 групп. Микрогематурия наблюдалась у каждого третьего ребенка – 33,3% детей 1 группы и у 30% детей 2 группы.

Ультразвуковое исследование почек показало наличие патологических изменений у всех детей 1 группы: на первой неделе жизни отмечались диффузные изменения с повышением эхогенности паренхимы, у трети детей они сопровождались пиелоектазией. В конце второй недели жизни обнаруженные ультразвуковые изменения наблюдались у 50% детей.

Во 2 группе новорожденных диффузные изменения с повышением эхогенности паренхимы почек на первой неделе жизни обнаружены у 50 (83,3%) детей, у 10 (16,7%) выявлена пиелоектазия. В динамике эти изменения сохранялись у каждого третьего ребенка.

При исследовании почечного кровотока установлено, что максимальная систолическая скорость потока в стволе почечной артерии ( $V_{max}$ ) у детей с массой тела  $< 1500$  г и  $> 1500$  г была меньше, чем у детей группы сравнения, и для детей  $< 1500$  г это различие было достоверным ( $p < 0,05$ ). Конечная диастолическая скорость потока ( $V_{min}$ ) в исследуемых группах существенно не отличалась от группы сравнения. Средние показатели индекса резистентности не отличались в зависимости от массы тела от группы сравнения. Пульсационный индекс у детей 1 группы был ниже, чем у детей 2 группы, на уровне тенденций, а показатель правой почки достоверно отличался от данных группы сравнения ( $p < 0,05$ ).

Исследование цистатина С в сыворотке крови показало, что его содержание было высоким у недоношенных новорожденных 1 группы и составляло  $2,6 \pm 0,21$  нг/мл, более низкие показатели получены у детей 2 группы –  $1,9 \pm 0,12$  нг/мл, но они достоверно превышали показатели детей группы сравнения  $0,7 \pm 0,10$  нг/мл ( $p < 0,01$ ).

Содержание липокалина (NGAL) в моче новорожденных 1 группы составляло  $89,9 \pm 12,44$  нг/мг креатинина (определенного в моче). Этот показатель в 3 раза превышал содержание липокалина у детей группы сравнения ( $27,7 \pm 6,53$  нг/мг креатинина,  $p < 0,01$ ). У детей 2 группы этот показатель составлял  $73,4 \pm 13,41$  нг/мг креатинина, в 2,5 раза превышая показатели детей группы сравнения ( $p < 0,01$ ).

Показатель интерлейкина-18 в моче новорожденных 1 группы составлял  $28,5 \pm 1,64$  пг/мг креатинина, достоверно превышая данные, полученные у детей группы

сравнения ( $16,5 \pm 0,81$  пг/мг креатинина,  $p < 0,01$ ). У недоношенных 2 группы этот показатель был несколько ниже –  $22,6 \pm 1,53$  пг/мг креатинина, однако он достоверно превышал содержание интерлейкина в моче детей группы сравнения ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что показатели содержания цистатина С в сыворотке крови, интерлейкина-18, липокалина, ассоциированного с желатиназой нейтрофилов (NGAL), в моче являются ранними и чувствительными маркерами повреждения почек у недоношенных новорожденных, подвергшихся воздействию перинатальной гипоксии. В отличие от сывороточного креатинина, уже на 3-5 день жизни наблюдается существенное достоверное увеличение содержания исследуемых показателей. Анализ полученных данных показывает, что недоношенные с очень низкой массой тела и большей степенью морфофункциональной незрелости переносят более тяжелое повреждение почек вследствие перенесенной перинатальной гипоксии, о чем свидетельствует зависимость исследуемых маркеров от массы тела при рождении.

### Выводы

1. Гипоксическая нефропатия у недоношенных новорожденных проявляла следующие клинические особенности: отечный синдром различной степени тяжести наблюдался у 66,6% детей с массой тела  $< 1500$  г и 53,3% детей с массой тела  $> 1500$  г. Олигоанурия отмечалась лишь у 7,6% таких детей. В конце первой недели жизни наблюдалась тенденция к полиурии у 23,3% новорожденных 1 группы и у 13,3% новорожденных 2 группы. Протеинурия различной степени имела место у 66,4% детей с массой тела  $< 1500$  г и у 49,6% с массой тела  $> 1500$  г.

2. Почечный кровоток у недоношенных новорожденных с гипоксической нефропатией был нарушен, в частности максимальная систолическая скорость потока в стволе почечной артерии и пульсационный индекс у детей с массой тела  $< 1500$  г были достоверно снижены ( $p < 0,05$ ).

3. Изучение цистатина С в сыворотке крови и липокалина в моче показало, что у недоношенных детей, которые перенесли перинатальную гипоксию, отмечалось раннее (на 3-5 день жизни) и достоверное ( $p < 0,01$ ) повышение содержания указанных биомаркеров.

4. Установлено повышение содержания в моче противовоспалительного фактора – интерлейкина-18, который был достоверно выше у детей с гипоксической нефропатией ( $p < 0,01$ ).

5. Повышение содержания цистатина С, интерлейкина-18 и липокалина было более выраженным у новорожденных с массой тела  $< 1500$  г, что свидетельствует о тяжелом повреждении почек, обусловленном перинатальной гипоксией на фоне значительной морфофункциональной незрелости.



## References

1. Ivanov DD. Khronicheskaya bolezn pochek i khronicheskaya pochechnaya nedostatochnost u detey [Chronic kidney disease and chronic renal failure in children]. *Nefrologiya [Nephrology]*. 2006;10(3):123-126.
2. Ignatova MS. Aktualnyye problemy nefrologii detskogo vozrasta v nachale XXI veka [Actual problems of pediatrics nephrology at the beginning of the XXI century]. *Pediatriya [Pediatrics]*. 2007;86(6):123-126.
3. Adrissino G, Dacco V, Testa S, et al. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from Italkid Project. *Pediatrics*. 2005;11:382-387.
4. Kulikova NY. Ishemicheskaya nefropatiya u novorozhdennykh, nakhodyashikhsya v kriticheskom sostoyanii (klinika, diagnostika, korektsiya i kontrol effektivnosti lecheniya) [Ischemic nephropathy of the newborn, in critical condition (clinical features, diagnosis, correction and monitoring the effectiveness of treatment)]. *Zdorove rebenka [Child health]*. 2012;2(37):148-153.
5. Askenazi DJ. Acute kidney injury in critically ill newborns: What do we know? What do we need to learn? *Pediatr. Nephrol.* 2009;24:265-274.
6. Luyckx VA. Low birth weight, nephron number, and kidney disease. *Kidney Int. Suppl.* 2005;97:568-577.
7. Helal I, Fick-Brosnahan GM, Reed-Gitome B, et al. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implication. *Nat. Rev. Nephrol.* 2012;8:293-300.
8. Carmody JB, Charlton JR. Short-Term Gestation, Long-Term Risk: Prematurity and Chronic Kidney Disease. *Pediatrics*. 2013;131:1168-1179.
9. Honore PM, Joannes-Boyau O, Boer W. The early biomarker of acute kidney injury: in search of the Holy Grail. *Intensive Care Med.* 2007;33:1866-1868.
10. Li Y, Fu C, Zhou X, et al. Urine interleukin-18 and cystatin-C as biomarkers of acute kidney injury in critically ill neonates. *Pediatr. Nephrol.* 2012;27(5):851-860.
11. Treiber M, Balon BP, Gorenjak M. Cystatin C versus creatinine as a marker of glomerular filtration rate in newborns. *Wien Klin Wochenschr.* 2006;118:66-70.
12. Franco MC, Nishida SK, Sesso R. GFR estimated from cystatin C versus creatinine in children born small for gestational age. *Am. J Kidney Dis.* 2008;51:925-932.
13. Herrero-Morin JD, Malaga S, Fernandez N, et al. Cystatin C and beta2-microglobulin: markers of glomerular filtration in critically ill children. *Crit Care.* 2007;11:59-64.