

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Milena Treiber

**Cistatin-C kao endogeni marker
bubrežne funkcije u novorođenčadi**

DISERTACIJA



Zagreb, 2013.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Milena Treiber

**Cistatin-C kao endogeni marker
bubrežne funkcije u novorođenčadi**

DISERTACIJA

Zagreb, 2013.

Disertacija je izrađena u Jedinici za neonatologiju, Klinike za ginekologiju i perinatologiju, Sveučilišnog kliničkog centra Maribor. U istom centru, u Službi za laboratorijsku dijagnostiku, učinjene su i laboratorijske pretrage.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Breda Pečovnik Balon

Zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Bredi Pečovnik Balon, dr.med, savjetnici, prodekanici Medicinskog fakulteta u Mariboru i do nedavno predstojnici Odjela za nefrologiju Klinike za internu medicinu SKC Maribor na stručnoj pomoći i moralnoj podršci. Svojom me je energijom i odlučnim pristupom vodila i usmjeravala tijekom nastajanja ovog rada. Zahvaljujem joj na njenom strpljenju i dragocjenom vremenu.

Zahvaljujem svim suradnicama iz Odjela za perinatologiju, posebno iz Jedinice za neonatologiju Kliničkog odjela za ginekologiju i perinatologiju SKC Maribor, kolegama liječnicima, diplomiranim medicinskim sestrama i medicinskim sestrama za pomoć u operativnoj provedbi ovog istraživanja.

Toplo zahvaljujem i Luki Treiberu i Tomažu Kocijančiču za pomoć u obradi podataka, uređivanju i tehničkoj obradi ovog rada.

Posebno zahvaljujem mojim roditeljima i obitelji, prije svega suprugu Arpadu, sinu Luki i kćeri Urški na neizmjernej emocionalnoj podršci, strpljenju i razumijevanju u razdoblju nastajanja ovog rada.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. MORFOGENEZA BUBREGA	1
1.2. OSOBITOSTI FUNKCIJE BUBREGA NOVOROĐENČETA I ADAPTACIJA NA POSTNATALNI ŽIVOT.....	2
1.3. AKUTNO OTKAZIVANJE BUBREGA	4
1.4. PERINATALNA ASFIKSIJA/HIPOKSIJA I ISHEMIČNO-HIPOKSIČNO OŠTEĆENJE BUBREGA.....	7
1.5. POSLJEDICE INTRAUTERINOG ZAOSTAJANJA U RASTU NA RAZVOJ I DJELOVANJE BUBREGA KOD NEDOSTAŠĆADI.....	9
1.6. ODREĐIVANJE BUBREŽNE FUNKCIJE KOD NOVOROĐENČETA.....	10
1.6.1. Cistatin-C: njegovo stvaranje i karakteristike.....	12
1.6.2. Serumski cistatin-C kao endogeni marker bubrežne funkcije.....	14
1.6.3. Formule za izračunavanje glomerulne filtracije (GFR).....	17
2. HIPOTEZA.....	19
3. CILJEVI RADA.....	20
4. ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA.....	22
4.1. PROTOKOL.....	22
4.2. ISPITANICI.....	22
4.3. METODE ISTRAŽIVANJA.....	24
4.3.1. Antropometrijska mjerenja, klinička ocjena i mjerenje diureze.....	24
4.3.2. Laboratorijska mjerenja.....	25
4.3.3. Mjerenja krvnog tlaka	26
4.3.4. Ultrazvuk bubrega.....	27
4.3.5. Računanje GFR po formuli.....	28

4.4. STATISTIČKE METODE I ANALIZA.....	29
5. REZULTATI.....	31
5.1. KARAKTERISTIKE ISPITANIKA.....	31
5.2. RAZLIKE IZMEĐU ISPITIVANIH SKUPINA I KONTROLNE SKUPINE U ODNOSU NA PROUČAVANE PARAMETRE BUBREŽNE FUNKCIJE.....	39
5.3. RAZLIKE IZMEĐU ISPITIVANE SKUPINE NEDOSTAŠĆADI I KONTROLNE SKUPINE U ODNOSU NA DIMENZIJE BUBREGA I BUBREŽNE VOLUMENE	57
6. RASPRAVA.....	62
6.1. REFERENTNE VRIJEDNOSTI CISTATINA-C I KREATININA U DONOŠENE NOVOROĐENČADI I NJIHOVA USPOREDBA.....	64
6.2. USPOREDBA VRIJEDNOSTI CISTATINA-C I KREATININA KOD HIPOKSIČNO-ASFIKTIČNE NOVOROĐENČADI.....	71
6.3. VRIJEDNOSTI CISTATINA-C I KREATININA KOD NEDOSTAŠĆADI U ODNOSU NA EUTROFIČKU NOVOROĐENČAD I NJIHOVA USPOREDBA SA ZAPREMINOM BUBREGA.....	80
6.4. FORMULE ZA IZRAČUN GFR KOD NOVOROĐENČETA.....	85
7. ZAKLJUČCI.....	91
8. SAŽETAK.....	94
9. ABSTRACT.....	98
10. LITERATURA.....	99
11. ŽIVOTOPIS.....	115

POPIS TABELA I GRAFOVA

Tabela 1. Maternalne karakteristike novorođenčadi uključene u istraživanje po skupinama AS, SFD i KS.....	33
Tabela 2. Demografske, somatometričke, kliničke i laboratorijske karakteristike novorođenčadi uključene u istraživanje po skupinama AS, SFD i KS.....	36
Tabela 3. Vrijednosti različitih mjerenja krvnog tlaka (KT) i udio novorođenih s mjerenjima $KT > 95.$ percentila u odnosu na normative po skupinama.....	38
Tabela 4. Međusobne korelacije vrijednosti cistatina-C i kreatinina po Pearson-u.....	43
Tabela 5. Korelacije između cistatina-C i kreatinina te različitih numeričkih varijabli	45
Tabela 6. Utjecaj pojedinih čimbenika na cistatin-C-umb; skupina AS i KS.....	47
Tabela 7. Utjecaj pojedinih čimbenika na cistatin-C-3; skupina AS i KS.....	49
Tabela 8. Utjecaj pojedinih čimbenika na kreatinin-umb; skupina AS i KS.....	51
Tabela 9. Utjecaj pojedinih čimbenika na kreatinin-3; skupina AS i KS.....	53
Tabela 10. Izračuni prognoza (PPV, NPV, senzitivnosti i specifičnosti) za cistatin-C-umb, cistatin-C-3, kreatinin-umb i kreatinin-3; skupina AS i KS.....	55
Tabela 11. Dimenzije bubrega i bubrežni volumeni kod novorođenčadi; skupina SFD i KS	58
Tabela 12. Korelacije različitih volumena bubrega s cistatinom-C-umb, cistatinom-C-3, kreatininom-umb i kreatininom-3; skupina SFD i KS.....	60

Tabela 13. Izračunane vrijednosti GFR na temelju cistatina-C (GFC) i na temelju kreatinina po Schwartzovoj formuli (GFK) u pupkovnoj krvi i 3 dana nakon rođenja te % porasta GFC i GFK u prva 3 dana, po skupinama AS, SFD i KS.....	61
Graf 1A. Usporedba vrijednosti cistatina-C iz pupkovne krvi i 3 dana nakon rođenja po skupinama AS, SFD i KS.....	41
Graf 1B. Usporedba vrijednosti kreatinina iz pupkovne krvi i 3 dana nakon rođenja po skupinama AS, SFD i KS.....	42
Graf 2. ROC krivulja diagnostičke učinkovitosti za cistatin-C-umb, cistatin-C-3, kreatinin-umb i kreatinin-3, da odvoji skupinu AS od KS.....	56

POPIS ČEŠĆE KORIŠTENIH OZNAKA

AOB	- akutno oštećenje bubrega
AHT	- antihipertenzivna terapija
BE	- deficit baza
Bil	- bilirubin
CK	- kreatin kinaza
EPH	- arterijska hipertenzija sa znacima gestoze
Hb	- hemoglobin
HIE	- hipoksično-ishemična encefalopatija
CistC-umb	- cistatin-C određen u pupkovnoj krvi
CistC-3	- cistatin-C određen 3 dana nakon rođenja
GFC	- GFR izračunana pomoću cistatina-C
GFK	- GFR izračunana pomoću kreatinina po Schwartzovoj formuli
GFR	- brzina glomerulne filtracije
GS	- gestacijska dob/starost
Kreat-umb	- kreatinin određen u pupkovnoj krvi
Kreat-3	- kreatinin određen 3 dana nakon rođenja
SDDO	- smetnje u djelovanju drugih organa
PT	- porođajna težina
PD	- porođajna dužina
PI	- ponderalni indeks
KTs	- sistolni krvni tlak
KTd	- dijastolni krvni tlak
KTm	- srednji krvni tlak
KCN	- kardiocirkulatorna nestabilnost
UZ	- ultrazvuk
Vol-f-T	- cjelokupni volumen bubrega izračunan po formuli
3Dvol-T	- cjelokupni volumen bubrega dobiven s UZ pretragom 3D

1. UVOD

1.1. MORFOGENEZA BUBREGA

Bubreg je kod čovjeka izgrađen od visoko specijaliziranih staničnih struktura što usklađeno funkcioniraju i omogućavaju održavanje homeostaze tjelesnih tekućina, elektrolita i produkata razgradnje. Fetalni se bubreg razvije od tri niza mezodermalnih struktura: pronefros, mesonefros i metanefros. Diferencijacija metanefrosa i nefrogeneza započne oko 5. tjedna gestacije i nastavlja se sve do 35. tjedna. Proces razvoja čovječjeg bubrega genetski je precizno reguliran, što se detaljnije proučavalo na genetskim modelima morfogeneze kod sisavaca (1,2).

Nakon završene nefrogeneze do rođenja se više ne povećava broj nefrona, nego samo njihova veličina. Prilikom rođenja jukstamedularni nefroni zreliji su od površinskih. Cjelokupni broj nefrona varira između 600.000 i 1.2 milijuna u svakom bubregu. Intrauterino zaostajanje u rastu utječe i na nefrogenezu s posljedičnim manjim brojem nefrona. Tako postoji pozitivna korelacija između težine prilikom rođenja i konačnog broja nefrona (3).

Glomerulna bazalna membrana kod novorođenčeta je 3x tanja nego kod odraslog, a propusnost je samim tim veća. S rastom glomerula nakon rođenja raste i filtracijska površina.

U drugoj polovici trudnoće veličina bubrega raste u omjeru s gestacijskom dobi, tjelesnom težinom i površinom tijela. Bubrege i mjehur s ultrazvukom možemo vidjeti od 15. tjedna dalje, a detaljniju građu sa 20 tjedana. Veličina bubrega, mjerena sonografski, raste razmjerno s gestacijskom dobi: Y (veličina bubrega u mm) = $16.19 + 0.61$ tjedana gestacije (4). Dužina bubrega prilikom rođenja kod donošenog novorođenčeta iznosi 4.5 cm, volumen približno 10 ml i težina 12.5 g.

1.2. OSOBITOSTI FUNKCIJE BUBREGA NOVOROĐENČETA I ADAPTACIJA NA POSTNATALNI ŽIVOT

Glomerulna filtracija (GFR) zavisi od brzine protoka plazme kroz glomerulne kapilare, ravnoteže Starlingovih sila, koje djeluju na glomerulnu kapilarnu stijenku, od propusnosti bazalne membrane glomerulnih kapilara za vodu i elektrolite te od njihove cjelokupne površine (1).

Zdravo novorođenče, posebno nedonošče prilikom rođenja još ima nezrelu funkciju bubrega, što se iskazuje vrlo niskom glomerulnom filtracijom. U vrijeme trudnoće nefrogeneza se odvija do 35. tjedna gestacije i u skladu s njom se povećava glomerulna filtracija. Nakon rođenja, GFR vrlo brzo raste zbog porasta arterijskoga tlaka a s time i glomerularnog hidrostatskog tlaka, kao i naglog pada žilnog otpora s redistribucijom krvnog protoka u bubregu iz jukstamedularnih u površinske nefrone bubrežne kore. Povećava se i onkotski tlak plazme, ali na nižoj razini nego hidrostatički, zbog čega se ukupni ultrafiltracijski tlak povećava. Povećava se također veličina glomerula a u skladu s njom i filtracijska površina (5). GFR kod novorođenčeta reguliraju osjetljivi mehanizmi pod utjecajem vazoaktivnih supstanci u bubregu, no ta se ravnoteža može vrlo brzo narušiti. Ravnoteža vazokonstriktorskih (renin-angiotenzinski sustav, simpatikus) i vazodilatatornih čimbenika (prostaglandini, kalikrein-kininski sustav, NO) održava maksimalno moguć filtracijski tlak unatoč minimalne opskrbe krvlju, koja je posljedica niskog srednjeg arterijskog tlaka i visokog vaskularnog otpora. Takva niska GFR dovoljna je za rast i razvoj u normalnim okolnostima, a ograničava mogućnost postnatalne funkcijske adaptacije u uvjetima endogenog ili egzogenog stresa (5).

Kod donošenog novorođenčeta GFR prilično varira i u prosjeku iznosi 20 ml/min/1.72 m², a se u prva 2 tjedna nakon rođenja već udvostruči (1,6). U prvoj godini života GFR brzo raste na vrijednost od oko 120 ml/min/1.72 m², slično kao kod odraslih (7).

Ravnoteža tekućine zavisi od tubularne funkcije, koja je isto tako nezrela kod novorođenčeta i podliježe postnatalnoj maturaciji. Adaptacija na ekstrauterini život karakterizirana je brzim promjenama raspodjele vode između izvanstaničnog i unutarstaničnog prostora. Donošeno novorođenče gubi 10 – 15 % izvanstanične vode uglavnom putem bubrega. Toj je diurezi pridružen i gubitak soli. Gubitku natrija pridonose cirkulirajući natriuretski faktori (prostaglandini), premala reapsorptivna površina proksimalnog tubula, snižena aktivnost tubularne Na-K-ATP-aze, relativna neosetljivost tubula na aldosteron. Sva su novorođenčad po porodu u negativnoj ravnoteži natrija, frakcionirano izlučivanje natrija (FENa) neposredno nakon poroda iznosi i do 5 % u usporedbi s < 1 % u odraslih. Nesposobna su brzo izlučiti i suvišak natrija što može voditi u stvaranje edema. Imaju smanjenu sposobnost koncentriranja mokraće, što se pripisuje sniženoj osjetljivosti tubula na antidiuretski hormon (ADH) i strukturnoj nezrelosti nefrona s kraćim Henleovim petljama te razmjerno većem protoku krvi kroz jukstamedularno područje i manjoj mogućnosti stvaranja odgovarajućeg medularnog osmotskog gradijenta. Zbog relativno veće sposobnosti koncentriranja natrija od sposobnosti konzerviranja vode novorođenče je sklono dehidraciji. Dilucijska sposobnost bubrega novorođenčeta također je ograničena, zbog snižene GFR je novorođenčetu potrebno više vremena da izluči vodu kojom se opteretilo (8,9).

1.3. AKUTNO OTKAZIVANJE BUBREGA

Novorođenče naginje razvoju vazomotorne nefropatije (VMNP) ili akutnom otkazivanju bubrega (AOB). Definirano je kao nenadano, teško otkazivanje glomerulne filtracije i tubularne funkcije. Dijagnoza se postavi, kada serumski kreatinin naraste preko 1.5 mg/dl (132.5 μ mol/l), bez obzira na količinu diureze, što odgovara snižavanju GFR na < 50 % normale za novorođenče (10). Na AOB treba pomisliti i kada serumski kreatinin kod novorođenčeta ne padne ispod majčine vrijednosti tijekom prvih 5-7 dana nakon rođenja ili čak raste po 0.3 mg/dl/dan ili više ($\geq 26.4 \mu$ mol/l/dan) (11). Godine 2007 međunarodno udruženje stručnjaka za područja intenzivne terapije i nefrologije AKIN (Acute Kidney Injury Network) predlagalo je termin AKI (Acute Kidney Injury) (110). Askenazi je usporedio AKIN i RIFLE (Risk; Injury; Failure; Loss of function; End stage renal disease) kriterije na temelju kreatinina kod veće djece. Niti jedan od tih klasifikacijskih sistema za definiranje AOB za novorođenčad nije bio prihvaćen, prije svega jer nema prikladnih studija za neonatalnu populaciju (16). Slično mišljenje dijele i neki drugi autori, no još uvijek ne postoji prihvaćeni konsenzus u odnosu na kriterije za AOB kod novorođenčeta (12,13,55,137).

Vezano uz nejedinstvene kriterije za postavljanje dijagnoze AOB kod novorođenčeta razlikuju se i podaci o incidenciji. Prema podacima iz literature incidencija AOB se kod novorođenčadi kreće između 3 % i 8 %, pa sve do 20 % svih prijema u JINT (Jedinica Intenzivne Neonatalne Terapije), od čega 1 % treba liječenje dijalizom. To odgovara približno incidenciji od 0.1 % svih novorođenih. Neki smatraju da je taj broj podcijenjen zbog veće učestalosti neoliguričnog oblika AOB kod novorođenčadi (14,15,16).

AOB kod novorođenčeta jednako se tako kao kod ostalih dobnih skupina dijeli na prerenalno, renalno i postrenalno u odnosu na primarno mjesto smetnje.

Glavni uzroci AOB u toj dobi jesu **prerenalni (85%)** i uključuju hipotenziju, hipovolemiju, perinatalno hipoksemiju/asfiksiju i neonatalnu sepsu.

Nizak sistemski krvni tlak i time nizak glomerulni kapilarni hidrostatski tlak glavni su čimbenici snižene GFR. Može doći do selektivne hipoperfuzije u bubrezima kao odgovora na hipoksiju i bez sistemske hipotenzije. Prekomjerna aktivnost adenzina igra ključnu ulogu u patogenezi VMNP uzrokovanoj hipoksijom, što zajedno s povišenim angiotenzinom II uzrokuje vazokonstrukciju aferentnih arteriola. U takvim uvjetima zataji autoregulacija protoka u bubrezima, koja je potrebna za održavanje GFR u fiziološkim granicama.

U prerenalnom AOB na početku se unatoč sniženoj perfuziji održava GFR. Dolazi do povećane tubularne reapsorpcije vode i elektrolita na račun povećane filtracijske frakcije i povišenog peritubularnog onkotskog pritiska. Tome doprinose i povećano izlučivanje ADH, sekrecija endotelina i aktivacija sistema renin-angiotenzin-aldosteron te simpatička stimulacija. Rezultat tih hemodinamičkih i hormonskih promjena je oligurija i umanjeno izlučivanje natrija. U nekim slučajevima ne dođe do oligurije zbog manjeg odaziva hipofize ili tubula na ADH. Zato količina diureze ima ograničenu dijagnostičku vrijednost kod novorođenčeta, no ima prognostičku vrijednost.

Od lijekova prerenalnu AOB uzrokuju ACE inhibitori, tolazolin, indometacin i ibuprofen, poništavajući vazodilatatorni učinak prostaglandina na aferentne arteriole, čime mogu uzrokovati hipoperfuziju i posljedično hipoksično-ishemička oštećenja epitela bubrega.

AOB je u početnoj fazi reverzibilan i očuva se normalna bubrežna funkcija, ako otklonimo razloge. Kada je stanje hipoperfuzije u bubrezima teško i traje predugo, dolazi do parenhimskih oštećenja. U tom slučaju **prerenalni AOB prelazi u renalni**. Za razliku od prerrenalnog AOB, kod renalnog promjene funkcije bubrega nisu brzo reverzibilne. Po težini renalna AOB varira od blage tubularne disfunkcije do akutne tubularne nekroze, sa ili bez oligurije, sve do infarkta bubrega i kortikomedularne nekroze s ireverzibilnim oštećenjem bubrega.

Antibiotici su primarni uzrok intrinzične bolesti bubrega uzrokovanim lijekovima u svim dobnim skupinama. Za neke antibiotike nefrotoksičnost je vrlo učestala, ali uglavnom reverzibilna nakon prekidanja liječenja. Aminoglikozidi u kombinaciji s penicilinskim antibioticima još uvijek predstavljaju lijekove prvog izbora kod empirijskog liječenja rane neonatalne bakterijske infekcije. Aminoglikozidi se gotovo u cijelosti izlučuju glomerulnom filtracijom, dok njihova prisutnost u proksimalnom tubulu ometa normalnu reapsorbciju proteina. Od drugih nefrotoksičnih lijekova u neonatalnom razdoblju koriste se i amfotericin B, meticilin i radiokontrastna sredstva.

Neki lijekovi prepisani trudnicama jednako tako uzrokuju kombinirano ishemičko i nefrotoksično oštećenje bubrega kod ploda i posljedično znakove AOB kod novorođenčeta. To su prije svega neselektivni inhibitori prostaglandina (nesteroidni antireumatici kao što su indometacin i ketoprofen), nekada korišteni kao tokolitici i selektivni COX-2 inhibitori.

Opstruktivni oblik AOB (**postrenalni**) u suštini predstavlja akutnu fazu kroničnog otkazivanja bubrega, čim se prekine placentarna cirkulacija prilikom rođenja. Što prije treba obaviti ultrazvuk urinarnog trakta, kako bi se isključila opstruktivna ili refluksna nefropatija (posteriorna valvula uretre, obostrana opstrukcija ureteropelvičkog spoja) (14,15,17,18).

1.4. PERINATALNA ASFIKSIJA/HIPOKSIJA I ISHEMIČNO-HIPOKSIČNO OŠTEĆENJE BUBREGA

Ishemično-hipoksično oštećenje bubrega kod novorođenčeta posljedica je redistribucije protoka krvi u patološkim uvjetima u životno značajnije organe i također zbog nesrazmjerno prokrvljenijeg središnjeg dijela bubrega u usporedbi s korom. Stupanj bubrežnog oštećenja i tijek zavise od trajanja ishemije. Blaga ishemija uzrokuje prolazno smanjenu koncentracijsku sposobnost bubrega, najranjiviji za hipoksiju je ascendentni krak Henlijeve omče. Ishemija koja traje duže vrijeme vodi u smanjenje GFR i težu tubularnu disfunkciju s izrazito smanjenom reapsorpcijom vode i natrija. Klinički se može pokazati kao neoligurički oblik AOB, koji je često povezan s teškom perinatalnom asfiksijom kod donošene novorođenčadi. Ishemija koja traje duže vrijeme ili se ponavlja može voditi u ireverzibilno oštećenje bubrega s oligurijom i anurijom, te posljedično kronično oštećenje bubrega.

Osnovni patološki mehanizam ishemično-hipoksičnog AOB je oštećenje bubrežnega tubularnog epitela, što uzrokuje vraćanje glomerulnog filtrata natrag iz tubula (back-leak) i opstrukciju lumena nekrotičkim staničnim materijalom. Posljedično dođe do podizanja perikapilarnog hidrostatičkog tlaka u Bowmanovoj kapsuli i daljnjeg smanjenja GFR. Kompenzatorski povećana količina vode i natrija u neopstruiranim distalnim tubulima još dodatno umanjuje GFR. Ultrastrukturalne promjene glomerula uzrokuju smanjenje cjelokupne filtracijske površine. Sve te promjene u najtežim slučajevima AOB dovode do potpunog prestanka GFR.

Perinatalna hipoksija/asfiksija pogodi 1-3 % novorođenčadi, prema novijim podacima iz literature incidencija teže perinatalne asfiksije iznosi između 1 i 10 na 1000 živorođenih, ovisno o lokalnoj razini perinatalnog zbrinjavanja (19). Osim znakova VMNP s oligurijom, hipotenzijom, bradikardijom, pokazuje znakove hipoksično-ishemične encefalopatije te

kliničke i laboratorijske znakove pogođenosti drugih organa. Multiorganska disfunkcija kod asfiksije posljedica je redistribucije otkucajnog volumena srca i održavanje perfuzije u području mozga, srca i nadbubrežne žljezde, dok se perfuzija u bubrezima, probavnom traktu i koži smanji. Brojni čimbenici mogu doprinjeti perinatalnoj asfiksiji, a mogu se pojaviti prenatalno, za vrijeme poroda ili nakon rođenja, kao što su na primjer: kompresija pupkovine, abrupcija placente, feto-maternalna transfuzija, mekonijska aspiracija, kongenitalne anomalije, porođajna trauma, opstrukcija u dišnom sustavu, depresija disanja zbog majčinog uzimanja opijata itd. Budući da je AOB nakon perinatalne asfiksije često neoligurično, s količinom diureze $> 1\text{ml/kg/h}$, utoliko je teže ocijeniti ometano djelovanje bubrežne funkcije. Na žalost kriteriji AOB kod novorođenčeta nisu potpuno jasni kako je to definirano kod odraslih i veće djece (20), što je teško postići bez dobrog biokemijskog markera bubrežnog oštećenja. Proučavaju se potencijalni biomarkeri bubrežnog oštećenja kod novorođenčeta unutar 48 sati nakon rođenja: pored serumskog cistatina-C i interleukina-18 i urinski biomarkeri, npr. B2M (beta-2 mikroglobulin), NAG (N-acetilglukozaminidaza), NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalcin), KIM-1 (Kidney Injury Molecule 1) i drugi. Urinski biomarkeri koriste se kao pokazatelji oštećenja tubularne funkcije (21,22).

Teži oblik perinatalne asfiksije, definirane niskom Apgar ocjenom i kliničkim znacima hipoksično-ishemične encefalopatije, češće vodi u AOB kao lakši oblik perinatalne asfiksije (23).

Za konačnu prognozu bubrega i ozdravljenje AOB je izuzetno važno traženje rizične novorođenčadi za VMNP, brzo postavljena dijagnoza i promptno liječenje (17,18).

1.5. POSLJEDICE INTRAUTERINOG ZAOSTAJANJA U RASTU NA RAZVOJ I DJELOVANJE BUBREGA KOD NEDOSTAŠĆADI

Kronična hipoksija u trudnoći vodi u **intauterino zaostajanje rasta ploda** (IUGR) i time značajno utječe na smanjeni broj i rast nefrona. Najčešći razlog zastoja u rastu je u zemljama u razvoju još uvijek pothranjenost, dok je u razvijenom svijetu najčešće posljedica uteroplacentarne insuficijencije (24,25).

Druga hipoteza povezuje pojavu zaostajanja u rastu s prekomjernom izloženošću glukokortikoidima u fetalnom razdoblju i inhibiciju placentarnog encima 11-beta hidrosisteroid dehidrogenaze. Taj encim inaktivira aktivne metabolite steroida i time štiti fetus od prekomjerne izloženosti endogenim steroidima. Njegova inhibicija ili izloženost eksogenim steroidima vodi u zaostajanje u rastu ploda (26).

Kod novorođenčadi sa smanjenom tjelesnom težinom obzirom na gestacijsku dob ili nedostašćadi (SFD) postoji direktna veza između porođajne težine i broja nefrona: na svaki kg porasta porođajne težine poraste broj glomerula za 250.000. Ultrazvočno utvrđene mjere bubrega pokazale su se kao dobar pokazatelj broja nefrona kod primata (27) i također kod djece rođene s manjom porođajnom težinom (28).

Težina novorođenčeta u odnosu na gestacijsku dob bolje korelira s veličinom bubrega nego sama porođajna težina ili sama gestacijska dob, a taj se utjecaj pokazuje i u postneonatalnom razdoblju (29,30).

Rani „catch -up“ u rastu bubrega kod SFD ukazuje ili na brže dozrijevanje bubrežne funkcije ili na hipertrofiju bubrega. Kompenzatorska hiperfiltracija preostalih nefrona vodi u glomerularnu i sistemsku hipertenziju te glomerulnu sklerozu, što u nastavku oštećuje funkciju bubrega i dodatno uzrokuje gubitak nefrona. Pri tome značajnu ulogu ima više faktora, uključivo sa sistemom renin-angiotenzin (RAS), faktor rasta sličan inzulinu (IGF-1) i dušikov oksid (NO). Drugi bubrežni mehanizam, koji povezuje IUGR i hipertenziju,

temelji se na povećanoj tubularnoj reapsorpciji natrija (31). Vežu između broja nefrona i hipertenzije prvi je opisao Hayman sa suradnicima još 1939. godine (32); iza njega Barker, Brenner i brojni drugi (33,34,35).

Rana ocjena bubrežne funkcije važna je za otkrivanje povećanog rizika od oštećenja bubrega kod novorođenčadi s manjom porođajnom težinom za gestacijsku dob, što je dokazano povezano s razvojem hipertenzije i kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu.

1.6. ODREĐIVANJE BUBREŽNE FUNKCIJE KOD NOVOROĐENČETA

Novorođenče u trećini slučajeva mokri za vrijeme poroda, 92 % unutar 24 sata, a 98 % unutar 48 sati. Ako novorođenče ne mokri u prvih 24 sata, potrebno je tražiti uzrok! Oligorijom se smatra diureza manja od 1ml/kg/h. U diagnostičkom postupku je izuzetno važno najprije razlikovati između prerrenalne i renalne AOB s povećanim unosom tekućina, osim u slučaju opstruktivnog oblika AOB ili kongestivnog popuštanja srca. Određivanje FENa (Frakcionirana Ekskrecija Natrija) jednako tako pomaže kod razlikovanja prerrenalnog i renalnog oblika oštećenja bubrega. Kod donošenog novorođenčeta u dobi više od 48 sati, vrijednost FENa > 3% ukazuje na renalno oštećenje bubrega (9).

Veliki je izazov odrediti bubrežnu funkciju novorođenčeta. Glomerulna filtracija je najbolji pokazatelj bubrežne funkcije u zdravih i bolesnih, kod svih dobnih skupina. Idealni marker glomerulne filtracije bila bi endogena molekula, čija je tvorba stalna i ravnomjerna, a izlučuje se jedino kroz bubreg pomoću glomerulne filtracije, koja se niti secernira niti resorbira u bubrežnim tubulima (36,37).

U svakodnevnoj kliničkoj praksi, kao test za određivanje glomerulne filtracije najčešće se koristi serumska koncentracija kreatinina, koja ne ispunjava kriterije za idealan marker

glomerulne filtracije. Kreatinin se, među ostalim, secernira u bubrežnim tubulima, dijelom se odstranjuje i izvan bubrega, a često se događa da nemamo ravnomjerno i stalno stvaranje kreatinina. Stvaranje kreatinina raste razmjerno s mišićnom masom, i značajno je povezano s linearnim rastom, stoga vrijednosti kreatinina u djece treba korigirati u odnosu na tjelesnu visinu i tjelesnu građu (38,39).

Kod novorođenčadi osim brzo mijenjajuće mišićne mase, na vrijednost kreatinina utječe još i analitička interferencija s bilirubinom i hemoglobinom (40,41).

Kreatinin u prva 3 tjedna života nije potpuno pouzdan parametar. Prve dane nakon rođenja razmjerno je visok, jer prije svega odražava majčine vrijednosti. Filtrirani kreatinin u propusnim se nezrelim tubulusima vjerojatno i reapsorbira (pasivna povratna difuzija). Razdoblje poluraspada kreatinina je 2.1 dana kod donošene novorođenčadi, a kod nedonošćadi još duže (42).

Vrijednosti kreatinina nakon rođenja se smanjuju do 4. mjeseca starosti a zatim postepeno rastu do vrijednosti odraslih u dobi od 15-17 godina (44).

Svi ti fenomeni smanjuju vrijednosti kreatinina kao markera glomerulne filtracije u djece, posebno u novorođenčadi. Često to također nije dovoljno osjetljiva metoda za otkrivanje bolesnika s blago do umjereno smanjenom funkcijom bubrega (41,42).

Stoga je bolje serijski odrediti serumski kreatinin i izračunati GFR pomoću Schwartzove formule, pri čemu se serumski kreatinin stavlja u odnos s dužinom novorođenčeta ($GFR = \text{dužina} \times k / \text{kreatinin}$). Konstanta k odražava razlike u tjelesnom sastavu, u odnosu na spol i određene dobne skupine. Konstanta k iznosi 0.45 za donošeno eutrofično novorođenče, a 0.33 za hipotrofično i 0.31 za hipertrofično (43).

Točnu brzinu glomerulne filtracije možemo izmjeriti izotopnim tehnikama mjerenja klirensa. Te metode nisu primjerne za novorođenčad prije svega zbog zračenja, dugotrajnije su, invazivnije i skuplje (43).

1.6.1. Cistatin-C: njegovo stvaranje i karakteristike

U zadnjoj dekadi se kao noviji endogeni marker bubrežne funkcije opisuje cistatin-C (44,45). Redosljed aminokiselina u lancu polipeptida humanog cistatina-C utvrđen je još 1981. godine. Dio je šire obitelji humanih cistatina, što uključuje 12 različitih proteina. Cistatin-C čovjeka je niskomolekularni inhibitor proteinaza, koji u tijelu tvore sve stanice s jezgrom neovisno od upale, prehrane ili bolesti jetre. Njegova sinteza je konstantna, regulirana s humanim genom za cistatin-C, lociranim na kromosomu 20p11.2, koji je „housekeeping“ tipa. Poznate su fiziološke koncentracije cistatina-C u različitim tjelesnim tekućinama kod odraslog čovjeka (46). Osim u krvnoj plazmi nalazimo ga u urinu, likvoru, slini, sjemenoj tekućini, amnionskoj tekućini, suzama i majčinom mlijeku.

Također je poznato da visoke doze glukokortikoida povećavaju produkciju cistatina-C (47). Ometano djelovanje štitnjače također utječe na produkciju cistatina-C, pa se utvrđuju niže serumske vrijednosti za cistatin-C kod hipotireoze i više vrijednosti kod hipertireoze (48).

Fizikalno-kemijska svojstva humanog cistatina-C) (49)

Lanci polipeptida: 1, sa 120 aminokiselinskih ostataka

Glikozilacija: nema je

Molekularna masa: 13.343 Da (nehidroksiliran oblik); 13.359 (hidroksilirani prolin na mjestu 3)

Izoelektrična točka: 9.3

Elektroforezna mobilnost: γ 3 (elektroforeza na agaroznom gelu kod pH 8.6)

Ekstinkcijski koeficijent: 1.22×10^4 ($\text{mol}^{-1} \text{L cm}^{-1}$) = 9.1 (280 nm, 1%, 1 cm)

Redosljed aminokiselina: SSPGK PRLV GGPMD ASVEE EGVRR ALDFA VGEYN
KASND MYHSR ALQVV RARKQ IVAGV NYFLD VELGR TTCTK TQPNL DNCPF
HDQPH LKRKA FCSFQ TYAVP WQGTM TLSKS TCQDA

Disulfidne veze: između AK ostataka 73 i 83 te između AK ostataka 97 i 117

Genski lokus: kromosom 20 p11.2

DNA redosljed: podaci o nukleotidnom redosljedu na raspolaganju su na „EMBL, GenBank“ i „DDBJ Nucleotide Sequence Database“

Razdoblje poluraspada: približno 20 minuta, određeno eksperimentalno za humani cistatin-C u plazmi štakora. U odnosu na sličnost veličine volumena distribucije i bubrežnog klirensa između humanog cistatina-C i Cr-EDTA klirensa kao zlatim standardom GFR kod čovjeka, pokazalo se da se obje supstancije izlučuju i kod čovjeka jednakom brzinom, s razdobljem poluraspada od približno 2 sata kod pojedinaca s normalnom bubrežnom funkcijom.

1.6.2. Serumski cistatin-C kao endogeni marker bubrežne funkcije

Cistatin-C se pokazao kao dobar marker bubrežne funkcije, jer studije serumskih vrijednosti cistatina-C kod odraslih nisu pokazale nikakvu korelaciju s patofiziološkim stanjima u tijelu, osim utjecaja na GFR (44-46).

Molekularna masa cistatina-C iznosi 13.359 Da. Kao malen bazni protein s lakoćom prelazi glomerularnu bazalnu membranu, reapsorbira i razgradi se u stanicama tubula bubrega, bez signifikantne tubulne sekrecije, pa je stoga dobar pokazatelj glomerulne filtracije (50). Studije humanog cistatina-C na životinjskom modelu pokazale su da je klirens plazme cistatina-C kod štakora 94 %, jednako kao Cr-EDTA klirens, koji se obično koristi kao pokazatelj GFR. U kontroliranih uvjetima snižene GFR zbog smanjenog protoka kroz bubrežne arterije stupanj korelacije između klirensa plazme cistatina-C i Cr-EDTA klirensa iznosi čak 99 %, što jasno ukazuje na nesignifikantnu reapsorpciju u tubulima (50).

Imunohistokemijske i Northern blot studije humanih bubrega također jasno pokazuju da se humani cistatin-C normalno razgradi u stanicama proksimalnih tubula nakon filtracije kroz glomerulnu membranu (51).

Sve te karakteristike, zajedno s konstantnom stvaranjem cistatina-C, svrstavaju ga među idealne pokazatelje GFR.

Njegova koncentracija ne ovisi o mišićnoj masi, spolu i starosti, jer su njegove vrijednosti konstantne u djece starije od jedne godine. Više studija je pokazalo da cistatin-C kod odraslih korelira s glomerulnom filtracijom jednako ili bolje od kreatinina (52,53,54). Još više obećavaju studije kod djece (41,42,55,56,57).

Dhamidharka je sa suradnicima (33) obavio metaanalizu podataka iz 46 studija, odraslih i djece. Usporedio je korelacijske koeficijente između GFR i recipročnih vrijednosti serumskog cistatina-C i kreatinina kod 3703 pojedinaca. Utvrdio je bolju korelaciju za cistatin-C ($r = 0.816$ [95% interval pouzdanosti: 0.804 – 0.826] u usporedbi s kreatininom ($r = 0.742$ [95% interval pouzdanosti: 0.726 – 0.758]). Jednako tako ROC krivulja na istom uzorku pokazuje veću površinu za cistatin-C (0.926 [95% interval pouzdanosti: 0.892 – 0.960] u usporedbi s kreatininom ($r = 0.837$ [95% interval pouzdanosti: 0.796 – 0.878]). Sve to ukazuje na prednost serumskog cistatina-C u usporedbi s kreatininom kod otkrivanja smanjene bubrežne funkcije.

Rano otkrivanje AOB, prije pojave kliničkih znakova doprinosi bržem liječenju, sprječava napredovanje AOB i poboljšava ishod. Herget-Rosenthal na taj je način dokazao prednost serumskog cistatina-C kod otkrivanja AOB, jer isti registrira umanjenu funkciju bubrega već 2 dana prije kreatinina (58).

Relativno veća varijabilnost vrijednosti cistatina-C kod pojedinog pacijenta (intra-individualna varijabilnost) predstavlja nedostatak u usporedbi s kreatininom kao markerom GFR (59).

Referentne vrijednosti cistatina-C u pedijatrijskoj populaciji kreću se između 0.95 i 1.27 mg/l za imunonefelometričnu Dade Behring-ovu metodu (PENIA) (63), i oko 1.38 mg/l kod imunturbidimetrične Dako-eve metode (PETIA) (60). Galteau je sa suradnicima revidirao referentne vrijednosti: u brižljivo odabranoj populaciji djece u dobnoj skupini 4-19 godina referentne vrijednosti cistatina-C iznose 0.75 ± 0.089 , za muške u dobi od 20 do 59 godina 0.74 ± 0.100 mg/l i za žene iste dobne skupine 0.65 ± 0.085 mg/l te 0.83 ± 0.103 mg/l za starije od 60 godina (61).

Podaci o vrijednosti cistatina-C kod novorođenčadi još uvijek su malobrojni. Svakako su vrijednosti serumskog cistatina-C prilikom rođenja znatno više, sežu sve do 2.8 mg/l (44,56,62,63). Finney sa suradnicima je među prvima odredio referentne vrijednosti cistatina-C kod nedonoščadi i novorođenčadi i uspoređivao ih s vrijednostima kreatinina. Kod nedonoščadi su obje vrijednosti značajno više nego li kod donošene djece. Nakon rođenja se vrijednosti cistatina-C smanjuju u skladu s porastom glomerulne filtracije cijelu prvu godinu starosti, kad postignu vrijednosti odraslih i ostanu konstantne. Za razliku od cistatina-C, vrijednosti kreatinina se smanjuju nakon rođenja do 4. mjeseca starosti a zatim rastu u skladu s rastom mišićne mase, do vrijednosti odraslih u pubertetu (44). U sličnoj japanskoj studiji utvrđen je pad vrijednosti serumskog cistatina-C u prvoj godini starosti od 1.5 mg/l do 0.8 mg/l i konstantna vrijednost oko 0.7 mg/l od navršene 2. godine dalje (64). U usporedbi s cistatinom-C vrijednost kreatinina kao pokazatelja GFR umanjuje i sekrecija kreatinina u tubulima i izvanbubrežno izlučivanje kreatinina, što je važno kod djece zbog fiziološki nižih vrijednosti kreatinina i manje mišićne mase, osobito kod novorođenčadi (56).

Za razliku od kreatinina, cistatin-C ne prodire kroz placentu i zato vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi ne koreliraju s vrijednostima u majčinoj krvi. Bökenkamp sa suradnicima je dokazao da je već fetalni serumski cistatin-C koristan pokazatelj bubrežne funkcije nakon rođenja (65).

Neki autori za razliku od Finneyja dokazuju da vrijednosti cistatina-C kod fetusa, pa i kasnije nakon rođenja, ne ovise o gestacijskoj dobi, što povećava njegovu upotrebljivost i kod nedonoščadi (63,66).

Smanjena porođajna težina obično je povezana s izrazitom redukcijom broja nefrona i hiperfiltracijom u povećanim glomerulima i može se pokazati sa smanjenom funkcijom

izlučivanja bubrega ubrzo nakon rođenja. Malamitsi-Puchner u svojoj longitudinalnoj studiji utvrđuje signifikantno niže vrijednosti cistatina-C kod hipotrofičnih fetusa i također kod novorođenčadi smanjene porođajne težine 1. i 4. dan nakon rođenja u usporedbi s eutrofičnom skupinom. Za tu tvrdnju navodi 2 moguća razloga: već spomenutu hiperfiltraciju i s time veći GFR, a s druge strane smanjenu produkciju cistatina-C u uvjetima kronične hipoksije i smanjene sinteze proteina (67).

Kasnije u djetinjstvu i u odraslom razdoblju manja porođajna težina obzirom na gestacijsku dob već je povezana s višim vrijednostima cistatina-C u usporedbi s kontrolnom skupinom djece s normalnom porođajnom težinom, što dokazuje Franco sa suradnicima u skupini djece od 8-13 godina. Vrijednosti kreatinina, uzete istovremeno, ne pokazuju razlike između obiju skupina (68).

Zanimljivi su rezultati Zhanga i suradnika iz proučavanja utjecaja učestalijih oblika genetskog polimorfizma u odnosu na smanjenu veličinu bubrega kod novorođenčeta i s time povezanu funkciju bubrega. Utvrdio je da svako smanjenje volumena bubrega za 10% podigne vrijednost cistatina-C u pupkovnoj krvi za 9% (69).

1.6.3. Formule za izračunavanje glomerulne filtracije (GFR)

U zadnjih nekoliko godina za odrasle je razvijeno više formula za izračunavanje GFR pomoću cistatina-C kao alternativa formulama baziranim na kreatininu (70,71,72).

Kod odraslih pacijenata s kroničnom bubrežnom insuficijencijom u svakodnevnoj se kliničkoj praksi GFR izračunan pomoću cistatina-C pokazala kao bolji pokazatelj GFR od formule pomoću kreatinina. Hojs je sa suradnicima usporedio 3 različite formule pomoću kreatinina i 2 pomoću cistatina-C (73). Njihovi rezultati pokazuju da jednostavna cistatin-C formula sa samo jednom varijablom ($100/\text{cistatin-C}$) može zamijeniti sofisticiranije formule s kreatininom i jednakovrijedna je s drugim formulama što se temelje na

izračunavanju GFR pomoću cistatina-C. Njena se prednost pokazuje osobito kod praćenja pacijenata s početnim stupnjem oštećenja bubrega. U svim studijama su za usporedbu uzete radioizotopne metode kao zlatni standard za ocjenu GFR.

Grubb i suradnici u nedavnoj studiji navode da je izračunani GFR pomoću cistatina-C i prepubertalnog faktora bolji pokazatelj bubrežne funkcije u djece od izračunanog GFR pomoću Schwartzove formule iz kreatinina (74). Slično kod djece u svojoj studiji utvrđuje i Filler sa suradnicima, ali je njegova formula izračunane GFR pomoću cistatina-C zamršenija, jer koristi logaritemski transformirane podatke (75). Bacchetta u nedavni studiji navodi koje se formule na bazi kreatinina i cistatina-C mogu koristiti u djece (132).

U literaturi nisam naišla na studiju, koja bi kod novorođenčadi ocjenjivala vrijednosti kreatinina i cistatina-C u usporedbi s radioizotopnim metodama kao zlatnim standardom ocjene glomerulne filtracije. Također nema studija s izračunanom GFR pomoću cistatina-C kod novorođenčadi, osim nekih preliminarnih podataka.

2. HIPOTEZA

Polazimo od hipoteze da je cistatin-C bolji endogeni marker glomerulne filtracije, a time i bubrežne funkcije u novorođenčeta od kreatinina.

Naše hipoteze su bile:

1. Očekivane su referentne vrijednosti cistatina-C unutar okvira malobrojnih objavljenih podataka za novorođenčad.
2. Vrijednosti cistatina-C su neovisne od spola, porođajne težine (PT), hemoglobina, bilirubina kao i stanja hidratacije u dobi od tri dana (obzirom na % pada PT).
3. Cistatin-C je osjetljiviji marker GFR od kreatinina u odnosu na moguće prenatalne i perinatalne rizične čimbenike koji mogu utjecati na smanjenu bubrežnu funkciju kod novorođenčeta s akutnom perinatalnom hipoksijom/asfiksijom.
4. Kod novorođenčeta je cistatin-C bolji pokazatelj glomerulne filtracije a time i bubrežne funkcije od kreatinina procijenjeno prema hipoksiji/asfiksiji kao kategorijskoj varijabli.
5. Brzina padanja vrijednosti cistatina-C i kreatinina prva 3 dana nakon rođenja u ispitivanoj je skupini manja od brzine padanja u kontrolnoj skupini novorođenčadi.
6. Vrijednosti cistatina-C i kreatinina kod donošene nedostaščadi više su od vrijednosti u novorođenčadi normalne za gestacijsku dob.
7. Očekujemo i bolju povezanost između volumena bubrega i vrijednosti cistatina-C kao proučavanim pokazateljem bubrežne funkcije u usporedbi s kreatininom.
8. Izračunane vrijednosti GFR pomoću formula na bazi cistatina-C bolje odražavaju do sada poznate normative GFR za novorođenčad u usporedbi sa Schwartzovim izračunanim klirensom.

3. CILJEVI RADA

Svojim sam radom željela istražiti je li serumska koncentracija cistatina-C dobar pokazatelj glomerulne filtracije kod novorođenčadi, ili je možda cistatin-C čak bolji pokazatelj glomerulne filtracije od kreatinina. Posebnu sam brigu posvetila statistički reprezentativnoj skupini ispitanika, kod kojih se vjerojatno radi o smanjenoj glomerulnoj filtraciji u usporedbi sa skupinom zdrave novorođenčadi bez bolesti, koja bi mogla pogoditi funkciju bubrega.

Ciljevi ove studije jesu:

1. Utvrditi normalne referentne vrijednosti cistatina-C u novorođenčadi iz pupkovne krvi prilikom rođenja i u dobi od 3 dana i usporediti ih s kreatininom.
2. Ustanoviti mogući utjecaj spola, porođajne težine (PT), hemoglobina, bilirubina kao i stanja hidratacije u dobi od tri dana (obzirom na % pada PT).
3. Utvrditi koji su mogući prenatalni i perinatalni rizični čimbenici za smanjenu bubrežnu funkciju kod novorođenčeta podvrgnutog akutnoj perinatalnoj hipoksiji/asfiksiji.
4. Ustanoviti je li visina vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi također pokazatelj perinatalne hipoksije/asfiksije.
5. Ustanoviti kakva je brzina padanja vrijednosti cistatina-C i kreatinina prva 3 dana nakon rođenja kod ispitivane i kontrolne skupine novorođenčadi.
6. Ustanoviti razlikuju li se vrijednosti kreatinina i cistatina-C kod donošene novorođenčadi normalne za gestacijsku dob i nedostaščadi koja je tijekom trudnoće bila pod utjecajem kronične intrauterine hipoksije.

7. Usporediti vrijednosti cistatina-C i kreatinina sa izračunanim klirensom pomoću poznatih formula.
8. Izraditi novu formulu za izračun GFR na bazi cistatina-C, ukupnog volumena obaju bubrega i tjelesne površine.

4. ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA

4.1. PROTOKOL

Istraživanje smo proveli u SKC Maribor, na Kliničkom odjelu za ginekologiju i perinatologiju, između siječnja 2008 i prosinca 2011.

Protokol je bio u skladu s etičkim smjernicama naše zdravstvene ustanove. Roditelje novorođenčadi uključene u istraživanje upoznali smo s dinamikom i ciljevima istraživanja; za svako novorođenče uključeno u istraživanje jedan od roditelja dao je pristanak u pisanom obliku. Suglasnost za istraživanje pod naslovom „Cistatin C kao endogeni marker bubrežne funkcije kod novorođenčeta“ (*Cistatin C kot endogeni marker ledvične funkcije pri novorojenčku*) izdala je Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko dana 14.1.2003, broj odluke: 94/01/03.

4.2. ISPITANICI

Studija je dizajnirana kao case-control studija (studija parova), kojom sam željela utvrditi da li je cistatin-C bolji pokazatelj glomerulne filtracije od kreatinina tijekom prvih 3 dana nakon rođenja. Usporedila sam donošenu novorođenčad po perinatalnoj hipoksiji/asfiksiji (skupina AS) i nedostašćad iste gestacijske dobi bez znakova akutne perinatalne hipoksije (skupina SFD) s kontrolnom skupinom zdrave donešene novorođenčadi (skupina KS).

U prvu istraživanu skupinu AS uključili smo 50-ero donošene novorođenčadi s kliničkim i laboratorijskim znacima perinatalne hipoksije/asfiksije. Kriteriji za uključivanje su bili: (Apgar ≤ 3 u 1. minuti i/ili pH u pupkovnoj krvi < 7.2 , BE > 10). U tu smo skupinu svrstavali novorođenčad rođenu nakon patološkog događanja neposredno prije ili za

vrijeme poroda u odnosu na sljedeće indikatore perinatalne hipoksije/asfiksije: a) nenadan hipoksični događaj neposredno prije ili za vrijeme poroda (npr. prerano odvajanje posteljice ili krvarenje zbog predležee posteljice; b) znakove fetalnog distresa u kardiokotografskom (CTG) zapisu (bradikardija ploda, kasne deceleracije, odsutnost varijabilnosti otkucaja srca); c) potrebu za reanimacijom novorođenčeta u rađaoni; d) Apgar ocena ≤ 3 u 1. minuti ali Apgar ocena < 7 u 5. minuti; e) metabolna acidoza ($BE > 10$ u pupkovnoj krvi).

Drugu ispitivanu skupinu SFD čini 50-ero donošene nedostaščadi, podvrgnute kroničnoj intrauterinoj hipoksiji, ali bez znakova akutne perinatalne hipoksije. Nedostaščad su novorođenčad čija je porođajna težina ispod 10. centile standardne krivulje prema gestacijskoj dobi, spolu, paritetu, odnosno novorođenčad male težine za gestacijsku dob (76). Novorođenče ispod 10. centile porođajne težine za svoju gestacijsku dob ne mora isključivo značiti i mršavo, hipotrofično novorođenče. Za ocjenu uhranjenosti koristi se osim standardnih krivulja raspodjele porođajnih težina prema gestacijskoj dobi i ponderalni indeks (PI), koji se izračunava po formuli: $100 \times PT \text{ (g)}/PD^3 \text{ (cm}^3\text{)}$ (77).

Kontrolnu skupinu KS čini 50-ero zdrave donošene eutrofične novorođene djece bez znakova perinatalne hipoksije/asfiksije, hipovolemije ili hipotenzije, kao i bez UZ utvrđenih anomalija urinarnog trakta. Ispitanike ove skupine izjednačila sam s ispitanicima istraživane skupine AS u odnosu na spol, gestacijsku dob i tjelesnu težinu, a s ispitanicima istraživane skupine SFD samo u odnosu na spol i gestacijsku dob. Kontrolnu skupinu zdrave novorođenčadi odredili smo tako da smo uz svako novorođenče ispitivane skupine odabrali prvo slijedeće donošeno novorođenče, rođeno nakon normalne trudnoće i poroda, koje odgovara po spolu, težini i gestacijskoj dobi.

Iz kontrolne sam skupine isključila one ispitanike, čija bi moguća bolest ili terapija mogla utjecati na smanjenje glomerulne filtracije, a time i na rezultate studije.

Važno je naglasiti da nitko nije dobivao terapiju antibiotika s ampicilinom i aminoglikozidima, niti u kontrolnoj niti u istraživanoj skupini.

4.3. METODE ISTRAŽIVANJA

Svu novorođenčad ispitivali smo po istom redu. Najprije smo o svoj donošenoj novorođenčadi uključenoj u istraživanje ispunili, osim obrasca s osobnim podacima djeteta, i upitnik o tijeku trudnoće, patološkim stanjima u trudnoći i uzimanju lijekova.

4.3.1. Antropometrijska mjerenja, klinička ocjena i mjerenje diureze

Svako novorođenče je klinički pregledano odmah nakon rođenja, određen je Apgar, izmjerena težina i dužina te ocjena gestacijske dobi po Ballardu (78).

Kod sve djece prva tri dana procijenjena je diureza mjerenjem volumena urina i vaganjem pelena; diureza $<1\text{ml/kg/h}$ znači oliguriju. Zabilježili smo i dob svakog novorođenčeta u vrijeme 1. diureze.

Težinu asfiksije dodatno smo ocijenili klinički i prema potrebi laboratorijski. Sva je novorođenčad ocijenjena neurološki po Sarnatu 24 sata nakon rođenja (stupanj hipoksično-ishemične encefalopatije ili HIE) (79). Bilježeni su znakovi kardiocirkulatorne nestabilnosti (KCN), smetnji djelovanja probavnih organa, jetre i drugih organa (SDDO) prva tri dana nakon rođenja.

4.3.2. Laboratorijska mjerenja

Laboratorijska su mjerenja napravljena na Odjelu za laboratorijsku dijagnostiku SKC Maribor.

Svoj novorođenčadi iz obje istraživane skupine i kontrolne skupine uzeta je krv iz vene u pupkovini i ponovno istoj novorođenčadi u dobi od 3 dana iz periferne vene zbog određivanja kreatinina i cistatina-C.

Standardnim postupkom svima smo odredili pH u pupkovnoj krvi, BE, hemoglobin i CK.

Serumski kreatinin odredili smo kinetičkom metodom po Jaffeu bez deproteinizacije (Roche Diagnostics).

Serumsku koncentraciju cistatina-C odredili smo **nefelometričkom metodom pomoću tvrdih nosača** (Dade Behring) (80), što je potpuno automatizirana i brza metoda. Ta se metoda (PENIA = *particle-enhanced nephelometric immunoassay*) temelji na in vitro imunnoj reakciji između specifičnih humanih anti-cistatin-C protutijela i cistatina-C prisutnih u uzorku. Za prevenciju nespecifičnih interakcija, kao što je npr. reumatoidni faktor, koristi se suplement A, a suplement B kao detergent za poboljšanje stabilnosti. Izvor svjetlosti je visokokvalitetna svjetlost emitirajuća dioda (840 nm), a signal se mjeri u vremenskom okviru između 10 sek i 6 min. U seriji je moguće testirati do 75 uzoraka. Maksimalne vrijednosti raspona testa nalaze se u intervalu između 0.23 – 7.25 mg/l, što predstavlja 7 puta više od gornje granice za normalu. Koeficijent varijabilnosti (KV) unutar testa iznosi < 3.3 %, KV a između testova < 4.5 %. Hemoglobin, bilirubin, trigliceridi i reumatoidni faktor ne utječu na rezultat istraživanja.

Tri dana nakon rođenja svoj novorođenčadi uzima se krv za probirne testove (fenilalanin, TSH) a tome smo pridružili još i kontrolu vrijednosti kreatinina i cistatina-C u serumu. Ikteričnoj novorođenčadi u istom je uzorku određivan i bilirubin standardnim postupkom. Već nekoliko godina, krv za probirne testove uzimamo iz vene, ne više iz pete. Brojne studije su dokazale da je uzimanje krvi iz vene djelotvornije i manje bolno. Pri tome uzimamo u obzir i sve druge postupke i mjere koje smanjuju bol kod uzimanja krvi novorođenčeta (81).

4.3.3. Mjerenja krvnog tlaka

Kod sve novorođenčadi istraživanih skupina praćene su vitalne funkcije prva 24 sata nakon rođenja kontinuirano, a slijedeća dva dana 4 puta dnevno, ili prema potrebi i češće. Vitalne funkcije u KS pratili smo prvih 24 sata 4 puta dnevno, a kasnije 2 puta dnevno.

Mjerenja smo obavljali s monitorima Philips za neonatalnu populaciju, s odgovarajućom veličinom mandete u odnosu na tjelesnu težinu i opseg nadlaktice, u horizontalnom položaju tijela, u pravilu na desnoj ruci. U analizi smo koristili prosjek sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg tlaka i usporedili ih s normativima za donošenu novorođenčad za prva 3 dana starosti (82).

Hipertenzijom se smatraju vrijednosti iznad 95. percentila u odnosu na nomogram, a hipotenzijom ispod 5. percentila u odnosu na nomogram. U kliničkoj se praksi najviše koristi kao granična vrijednost za hipotenziju vrijednost srednjeg arterijskega tlaka izražena u tjednima gestacije prilikom poroda. Kod ocjenjivanja cirkulatorne nestabilnosti uzela sam u obzir i druge kliničke znake, što se konvencionalno koriste osim mjerenja krvnog tlaka: povećana ili smanjena srčana frekvencija na monitoru, prduženo vrijeme

punjenja kapilara > 3 sekunde, povećana razlika u temperaturi između kore i sredine, oligurija te metabolička acidoza.

4.3.4. Ultrazvuk bubrega

U okviru ultrazvučnog probira (screeninga) novorođenčadi pregledani su mokraćni putevi i isključeni oni s prirođenom anomalijom.

Svoj novorođenčadi u dobi od 48 do 72 sata nakon rođenja napravljena je **standardna 2-dimenzionalna ultrazvučna pretraga bubrega** (2DUZ) aparatom Voluson 530/730 (Kretz-Technik/GE, Osterreich/USA) i pripadajućom sektorskom sondom (2-12 MHz). 2DUZ volumen bubrega izračunala sam po formuli za elipsoidne organe ($V = \text{dužina} \times \text{širina} \times \text{dubina} \times 0.523$)(83).

Kod skupine nedostašćadi i kontrolne skupine zbog usporedbe napravljena je i **3-dimenzionalna ultrazvučna pretraga bubrega** (3DUZ) na istom aparatu, ali s polukrožnom 3D sondom (3-10 MHz) te s integriranim programom za automatski izračun bubrežnog volumena prema prethodnom ručnom obrisu konture svakog bubrega u 10 ravnina. Sve sam ultrazvučne pretrage obavila sama u skladu sa smjernicama (84), bez da sam u vrijeme pregleda znala rezultate pretraga pupkovine za kreatinin i cistatin-C.

Relativni volumen svakog bubrega obično se računa po formuli ($rV = V : (VDL + VLL) \times 100$). Druga često korištena formula za relativni volumen je volumen prilagođen u odnosu na tjelesnu težinu ($RV1 = V/TT$) (85). Izračunala sam još sljedeće relativne volumene: u odnosu na porođajnu dužinu ($RV2 = V/PD$), u odnosu na ponderalni indeks ($RV3 = V/PI$) i u odnosu na tjelesnu površinu ($RV4 = V/BSA$). Za sve izračune relativnih volumena koristila sam ukupni volumen desnog i lijevog bubrega ($Vol-T = VDL + VLL$).

BSA sam izračunala po Mosteller-ovoj formuli $\sqrt{(PT \text{ u kg} \times PD \text{ u cm})/3600}$ (86).

U istraživanoj skupini AS u vremenskom intervalu od 48 do 72 sati nakon rođenja obavljena je samo orijentacijska 2DUZ pretraga zbog isključivanja novorođenčadi s urođenim anomalijama. 3DUZ pretraga i mjerenja volumena u toj skupini nisu napravljeni, jer se najviše novorođenčadi nakon perinatalne hipoksije/asfiksije rodilo u dežurstvu ili tijekom vikenda, kada nisam bila na poslu, a ostali malobrojni neonatolozi do sada rutinski dodatna UZ mjerenja volumena ne rade zbog dugotrajnosti ili neiskustva.

4.3.5. Računanje GFR po formuli

Za ocjenu GFR iz kreatinina (GFK) koristila sam Schwartzovu formulu: $k \times \text{porođajna dužina (PD u cm)}/\text{kreatinin (u } \mu\text{mol/l)}$. Konstanta k za donošenu eutrofičnu novorođenčad (AFD) iznosi 0.45; za donošenu hipotrofičnu (SFD) iznosi 0.33; a za donošenu hipertrofičnu (LFD) 0.31 (43).

Do sada opisana formula za izračun GFR na bazi cistatina-C (GFC) kod novorođenčadi: $GFC\text{-varijanta 2} = 74.835/\text{cistatin-C}^{1/0.75}$ (87). Usporedila sam je s izračunanim GFR po jednostavnoj formuli za odrasle: $GFC\text{-varijanta 1} = 100/\text{cistatin-C}$ (88).

Spomenutim sam formulama zbog usporedbe pridružila i vlastitu formulu za izračun GFR na bazi cistatina-C, ukupnog volumena oba bubrega i tjelesne površine novorođenčeta: $GFC\text{-varijanta 3} = ((Vol-T/BSA)/\text{cistatin-C})/1.73$.

4.4. STATISTIČKE METODE I ANALIZA

Deskriptivna statistika razmatranih promjenjivih vrijednosti obuhvaćala je izračune frekvencija i pripadajućih postotaka promjenjive vrijednosti po kategorijama, a u slučaju brojčanih promjenjivih vrijednosti izračunane su prosječna vrijednost i standardna devijacija (SD).

Bivarijatne usporedbe između AS i KS te SDF i KS napravljene su na bazi t-testa za nezavisne uzorke odn. hi-kvadrat testa. Kod utvrđivanja promjene za cistatin-C i kreatinin prilikom rođenja i treći dan nakon rođenja korišten je t-test za zavisne uzorke. Veze između cistatina-C i kreatinina izračunane su s Pearsonovim korelacijskim koeficijentom. Pearsonov korekcijski koeficijent jednako je tako korišten za izračun veza između raznih izračunanih volumena bubrega i cistatina-C odnosno kreatinina. Usporedba cistatina-C i kreatinina u odnosu na bolesti i terapiju trudnica, karakteristike poroda i neke demografske podatke napravljena je s t-testom za nezavisne uzorke ili jedno-faktorsku analizu varijance. Korišteni su parametrijski statistički testovi, jer Kolmogorov–Smirnov test po skupinama nije pokazao odstupanja od normalne raspodjele numeričkih varijabli. Izuzetak su bili bilirubin i % izgubljene tjelesne težine, gdje smo morali koristiti Spearmanov korelacijski test. Dodatni izuzetak bio je prisutan još kod izračuna razlika GFR za isto novorođenče, gdje se koristio Mann-Whitney U test. Diagnostička učinkovitost testiranih pokazatelja bubrežne funkcije u vezi s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom ocijenjena je s konstruiranjem ROC krivulje i analizom AUC površine. Izračunana je i senzitivnost i specifičnost pojedinog testa. Sa ROC krivuljom predstavili smo sposobnost cistatina-C i kreatinina, da razlikuje AS od KS.

Povezanost između vrijednosti cistatina-C odnosno kreatinina i drugih varijabli od interesa provjerena je linearnom regresijom. Linearnom regresijom izračunana je vrijednost koeficijenta beta, t-vrijednost i pripadajuća p-vrijednost. Zbog boljeg predočavanja kako pojedini sklopovi varijabli utječu na cistatin-C odnosno kreatinin korištena je blok metoda izgradnje linearnog regresijskog modela.

U skupini SFD i KS obavljena su i UZ mjerenja volumena bubrega: 2DUZ mjerenje i izračun volumena po formuli za elipsu (Vol-f-T) te 3DUZ volumetrija (3Dvol-T). Povezanost dobivenih ukupnih volumena bubrega s oba ispitivana pokazatelja GFR provjeravana je s Pearsonovim korelacijskim testom. Do sada poznate normative GFR za novorođenčad uspoređivala sam sa Schwartzovim izračunanim klirensom (GFK) i 3 formule na bazi cistatina-C (GFC): varijantu 1 ($100/cistatin-C$); varijantu 2 ($74.835/cistatin-C^{1/0.75}$) i novu konstruiranu varijantu 3, koja uzima u obzir ukupni volumen bubrega i tjelesnu površinu ($(Vol-T/BSA)/cistatin-C/1.73$).

Statistička obrada podataka obavljena je računalnim statističkim programom SPSS verzija 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). $P < 0.05$ smatra se statistički značajnom.

5. REZULTATI

5.1. KARAKTERISTIKE ISPITANIKA

Prilikom pregleda karakteristika majki novorođenčadi uključene u istraživanje utvrdila sam da nema statistički značajne razlike među skupinama u odnosu na dob trudnica u vrijeme poroda, niti u odnosu na njihovu obrazovnu strukturu.

Među bolestima trudnica bilježila sam infekcije, gestacijski diabetes mellitus (GDM), arterijsku hipertenziju sa znacima gestoze (EPH) i druge bolesti. Više bolesti u trudnoći u usporedbi s KS ima u obje istraživane skupine, ali između skupina AS i KS razlika nije statistički značajna ($\chi^2 = 7.778$; $p = 0.169$), a između skupine SFD i KS razlika jest statistički značajna ($\chi^2 = 16.876$; $p = 0.007$).

U obje istraživane skupine trudnice su dobivale više lijekova, od kojih sam posebno bilježila antibiotike, antihipertenzive, inzulin, kortikosteroide i druge. U usporedbi s KS njihova se primjena u skupini AS statistički ne razlikuje ($\chi^2 = 7.833$; $p = 0.166$), a u ispitivanoj skupini SFD razlika je statistički značajna ($\chi^2 = 17.547$; $p = 0.004$).

U odnosu na paritet majki je najviše primipar (prvorotkinja) u ispitivanoj skupini AS (74%). Prvorotkinje imaju veći rizik od perinatalne hipoksije u usporedbi s višerotkinjama; OR = 2.6 (95%CI 1.1-6.1), razlika s KS je statistički značajna ($\chi^2 = 6.921$; $p = 0.031$). U ispitivanoj skupini SFD je primipar 48%, a u KS pa 52%, razlika nije statistički značajna ($\chi^2 = 0.160$; $p = 0.689$).

Kod patologije poroda bilježila sam patološki CTG (kardiotokogram) i/ali acidozu ploda. U ispitivanoj skupini AS je bio već u odnosu na ta 2 parametra 96% poroda patoloških, u SFD 34%, a u KS 20%. Razlika između skupina AS i KS je statistički značajna ($\chi^2 = 59.278$; $p < 0.001$), a između skupina SFD i KS nije ($\chi^2 = 2.486$; $p = 0.115$).

U odnosu na način poroda među skupinama postoje prilične razlike. Porodi s vakumskom ekstrakcijom (VE) prisutni su prije svega u ispitivanoj skupini AS. U skupini SFD i KS češći su porodi carskim rezom umjesto poroda s VE, a u broju spontanijih poroda nema razlike. Usporedba između skupina AS i KS u odnosu na način poroda pokazuje statistički značajne razlike ($\chi^2 = 18.991$; $p < 0.001$), a između skupine SFD i KS nema razlike ($\chi^2 = 2.067$; $p = 0.356$).

Maternalne karakteristike novorođenčadi uključene u istraživanje prikazuje tabela 1.

Tabela 1. Maternalne karakteristike novorođenčadi uključene u istraživanje po skupinama AS (hipoksija/asfiksija), SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina)

Varijabla	AS	SFD	KS
<i>Dob</i> (godine ± SD)	28.10 ± 5.71	30.44 ± 5.10	30.12 ± 4.74
<i>Obrazovanje</i> (n ; %)			
OŠ i PŠ	18 (36)	17 (34)	8 (16)
SŠ	23 (46)	18 (36)	27 (54)
VŠ i UNI	9 (18)	15 (30)	15 (30)
<i>Bolesti trudnice</i> (n ; %)			
Nikakve	28 (56)	27 (54)	35 (70)
EPH	6 (12)	8 (16)	3 (6)
Dijabetes mellitus	1 (2)	3 (6)	5 (10)
Infekcija	3 (6)	11 (22)	1 (2)
Drugo	12 (24)	1 (2)	6 (12)
<i>Lijekovi u trudnoći</i> (n ; %)			
Nikakvi	18(36)	20(40)*	13(26)
Antihipertenzivi	32 (64)	30 (60)	37 (74)
Kortikosteroidi	4 (8)	7 (14)	2 (4)
Kortikosteroidi	1 (2)	6 (12)	0 (0)
Antibiotici	2 (4)	6 (12)	5 (10)
Drugo	11 (22)	1 (2)	6 (12)
<i>Prvorotkinja</i> (n ; %)	37 (74)*	24 (48)	26 (52)
<i>Patologija poroda</i> (n ; %)	48 (96)**	17 (34)	10 (20)
<i>Vrsta poroda</i>			
Spontani	21 (42)	19 (38)	19 (38)
Carski rez	12 (24)	31 (62)	29 (58)
VE	17 (34)*	0 (0)	2 (4)

* p < 0.05 u usporedbi s kontrolnom skupinom; ** p < 0.001 u usporedbi s kontrolnom skupinom; OŠ (*osnovna škola*), PŠ (*stručna škola*), SŠ (*srednja škola*), VŠ (*visoka škola*), UNI (*sveučilište*); EPH (*hipertenzija sa znacima gestoze*); VE (*porod s vakumskom ekstrakcijom*).

Sva novorođenčad je klinički pregledana odmah nakon rođenja. Ocijenjeni su Apgar znaci vitalnosti, izmjerena je tjelesna težina, tjelesna dužina i gestacijska dob po Ballardu.

Apgar ocjene u 1. i 5. minuti u ispitivanoj su skupini AS najniže i statistički se značajno razlikuju od KS ($p < 0.001$). I u skupini SFD Apgar ocjene su niže nego u KS, ali je razlika manja ($p = 0.022$ u 1. minuti i $p=0.045$ u 5. minuti).

Težinu asfiksije dodatno smo ocjenjivali s monitoriranjem vitalnih funkcija i kliničkim promatranjem.

U ispitivanoj skupini AS je imalo znake kardiocirkulatorne nestabilnosti (KCN) 7/50 novorođenih (14%), u skupini SFD 1/50 (2%), za KS je bio kriterij za isključivanje. Skupina AS pokazuje statistički značajnu razliku u usporedbi s KS ($\chi^2 = 7.527$; $p = 0.006$), a skupina SFD ne pokazuje razliku s KS ($\chi^2 = 1.010$; $p = 0.315$).

Kod svih novorođenih iz obiju ispitivanih skupina i kontrolne – prva smo 3 dana bilježili i satnu diurezu, pri čemu diureza $< 1\text{ml/kg/h}$ znači oliguriju. Prva diureza nakon rođenja se u ispitivanoj skupini AS pojavila u prosječnoj dobi od 16.58 ± 9.84 sati, a u skupini SFD 6.44 ± 7.08 sati i u KS 6.32 ± 7.23 sati nakon rođenja. Razlika među skupinama AS i KS u odnosu na dob novorođenčeta u vrijeme prve diureze statistički je značajna ($p < 0.001$); a između SFD i KS nije ($p = 0.933$).

Oligurija je utvrđena kod 14/50 ispitanika (28%) u skupini AS, u skupini SFD kod jednog novorođenčeta (2%), za KS je to bio kriterij za isključivanje. Razlika u udjelu oligurične novorođenčadi među skupinama AS i KS je statistički značajna ($\chi^2 = 16.279$; $p < 0.001$), a među skupinama SFD i KS nema razlike ($\chi^2 = 1.010$; $p = 0.315$).

Znakove hipoksično-ishemijske encefalopatije (HIE) ocjenjivali smo klinički po Sarnatu 24 sata nakon rođenja. Opisani su samo u ispitivanoj skupini AS kod 14/50 novorođenčadi (22%), u skupinama SFD i KS nije bilo niti jednoga, jer je to bio kriterij za isključivanje. Razlika između skupina AS i KS je statistički značajna ($\chi^2 = 12.360$; $p < 0.001$).

Ometano djelovanje jetre, probavnog sustava i drugih organa (SDDO), što uključuje blaži respiratorni distres, slabiju toleranciju enteralnog hranjenja, hipoglikemiju i prelazno povišen direktni bilirubin, registrirali smo u svim skupinama: najviše u skupini AS kod 14/50 novorođenčadi (22%), u skupini SFD kod 7/50 (14%) i u KS u 3 slučaja (6%). Razlika u usporedbi s KS statistički je značajna samo za skupinu AS ($\chi^2 = 5.316$; $p = 0.021$), a za SFD nije ($\chi^2 = 1.778$; $p = 0.182$).

U tabeli 2 prikazane su osnovne demografske, somatometričke, kliničke i laboratorijske karakteristike novorođenčadi uključene u istraživanje u odnosu na porođajnu težinu (PT), porođajnu dužinu (PD), gestacijsku dob (GS), ponderalni indeks (PI), izračunatu površinu tijela (BSA), Agpar ocjenu u 1. i 5. minuti, kardiocirkulatornu nestabilnost (KCN), starost u vrijeme 1. diureze, oliguriju, kliničke znake hipoksično-ishemijske encefalopatije (HIE), ometano djelovanje drugih organa (SDDO), vrijednosti kreatin kinaze (CK), hemoglobina (Hb), bilirubina (Bil) i % gubitka tjelesne težine 3 dana nakon rođenja (% gubitka TT nakon 3 dana).

Tabela 2. Demografske, somatometričke, kliničke i laboratorijske karakteristike novorođenčadi uključene u istraživanje po skupinama: AS (hipoksija/asfiksija), SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina); izražene kao prosjek ± SD

Varijabla	AS	SFD	KS
Spol (M/Ž)	34/16	22/28	30/20
PT (g ± SD)	3465 ± 478	2403 ± 285**	3420 ± 492
PD (cm ± SD)	50.34 ± 2.23	46.20 ± 1.93**	49.88 ± 1.93
GS (tjedni ± SD)	39.56 ± 1.18	39.20 ± 1.23	38.86 ± 1.13
PI (kg/cm ³)	2.71 ± 0.21	2,44 ± 0.25**	2.74 ± 0.22
BSA (m ²)	0.22 ± 0.02	0.18 ± 0.01**	0.22 ± 0.02
Apgar 1	6.22 ± 2.10**	8.12 ± 1.17*	8.58 ± 0.76
Apgar 5	7.94 ± 0.77**	8.72 ± 0.45*	8.92 ± 0.53
KCN (n ; %)	7 (14)*	1 (2)	0 (0)
1. diureza (h)	16.58 ± 9.84**	6.44 ± 7.08	6.32 ± 7.23
Oligurija (n ; %)	14 (28)**	1 (2)	0 (0)
HIE (n ; %)	11 (22)**	0 (0)	0 (0)
SDDO (n ; %)	11 (22)*	7 (14)	3 (6)
% gubitka TT	5.63 ± 2.90	5.12 ± 2.19	5.82 ± 2.35
CK (μkat/l ± SD)	5.17 ± 2.32*	3.90 ± 1.52	4.14 ± 1.70
Hemoglobin (g/l ± SD)	155.98 ± 20.00	167.08 ± 16.09*	157.08 ± 17.09
Bilirubin (μmol/l ± SD)	181.94 ± 45.43	150.82 ± 33.56*	176.81 ± 31.12

* p < 0.05 u usporedbi s kontrolnom skupinom; ** p < 0.001 u usporedbi s kontrolnom skupinom; PT (*porođajna težina*); PD (*porođajna dužina*); GS (*gestacijska dob*); PI (*ponderalni indeks*); BSA (*tjelesna površina*); KCN (*kardiocirkulatorna nestabilnost*); HIE (*hipoksično-ishemična encefalopatija*); SDDO (*smetnje djelovanje drugih organa*); CK (*kreatin kinaza*); % gubitka TT (*% gubitka tjelesne težine 3 dana nakon rođenja*).

U tabeli 3 prikazane su prosječne vrijednosti različitih mjerenja krvnog tlaka po skupinama: sistoličkog (KTs), dijastoličkog (KTd), srednjeg (KTm) te udio novorođenčadi s prosječnim vrijednostima izmjerenog krvnog tlaka > 95. percentila u odnosu na normative za neonatalno razdoblje. Izmjerene prosječne vrijednosti krvnih tlakova ne razlikuju se statistički značajno za niti jednu varijablu između oboje ispitivane skupine u usporedbi s KS.

Odskače samo udio novorođenčadi u skupini nedostašćadi s prosječnim vrijednostima KTd u hipertenzivnom području > 95. percentila, takvih je 8 (16%) novorođenih u skupini SFD, razlika je statistički značajna u usporedbi s jednim (2%) novorođenčetom u KS ($\chi^2 = 5.983$; $p = 0.014$); a između skupina AS i KS nema razlike ($\chi^2 = 0.344$; $p = 0.558$). U udjelu KTs > 95. percentila i KTm > 95. percentila nema statistički značajne razlike između ispitivanih skupina i KS.

Tabela 3. Vrijednosti različitih mjerenja krvnog tlaka (KT) i udio novorođenih s mjerenjima KT > 95. percentila u odnosu na normative po skupinama AS (hipoksija/asfiksija), SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina); izražene kao prosjek ± SD

Varijabla (mm Hg)	AS	SFD	KS
Sistolički krvni tlak	73.22 ± 6.78	70.88 ± 5.60	72.02 ± 7.09
Dijastolički krvni tlak	45.84 ± 5.26	43.74 ± 5.19	44.44 ± 5.12
Srednji krvni tlak	55.80 ± 6.22	52.96 ± 5.09	54.02 ± 5.63
SD razlika	46.02 ± 7.32	44.04 ± 8.45	44.06 ± 8.68
KTs > 95.P (n ; %)	3 (6)	7 (14)	2 (4)
KTd > 95.P (n ; %)	2 (2)	8 (16)*	1 (2)
KTm > 95.P (n ; %)	6 (12)	9 (18)	5 (10)

* p < 0.05 u usporedbi s kontrolnom skupinom

KTs (*sistolički krvni tlak*); KTd (*dijastolički krvni tlak*); KTm (*srednji krvni tlak*); SD (*sistolo-dijastolna*) razlika

5.2. RAZLIKE IZMEĐU ISPITIVANIH SKUPINA I KONTROLNE SKUPINE U ODNOSU NA PROUČAVANE PARAMETRE BUBREŽNE FUNKCIJE

Svoj novorođenčadi iz obiju ispitivanih skupina AS i SFD te KS uzeta je krv iz vene u pupkovini i ponovno istoj novorođenčadi u dobi od 3 dana zbog određivanja kreatinina i cistatina-C.

Prosječna vrijednost cistatina-C u pupkovnoj krvi u KS iznosi 1.39 ± 0.19 mg/l; u ispitivanoj skupini AS 2.12 ± 0.53 mg/l; a u skupini SFD 1.48 ± 0.30 mg/l. Razlika između skupina AS i KS je statistički značajna ($p < 0.001$), a između SFD i KS ne ($p = 0.087$).

Prosječna vrijednost cistatina-C u uzorku krvi 3 dana nakon rođenja u svim je skupinama niža: u KS 1.34 ± 0.21 mg/l; u skupini AS 1.56 ± 0.32 g/l; a u skupini SFD 1.38 ± 0.18 mg/l. Razlika između skupina AS i KS još je uvijek statistički značajna ($p < 0.001$), a između SFD i KS nije ($p = 0.246$).

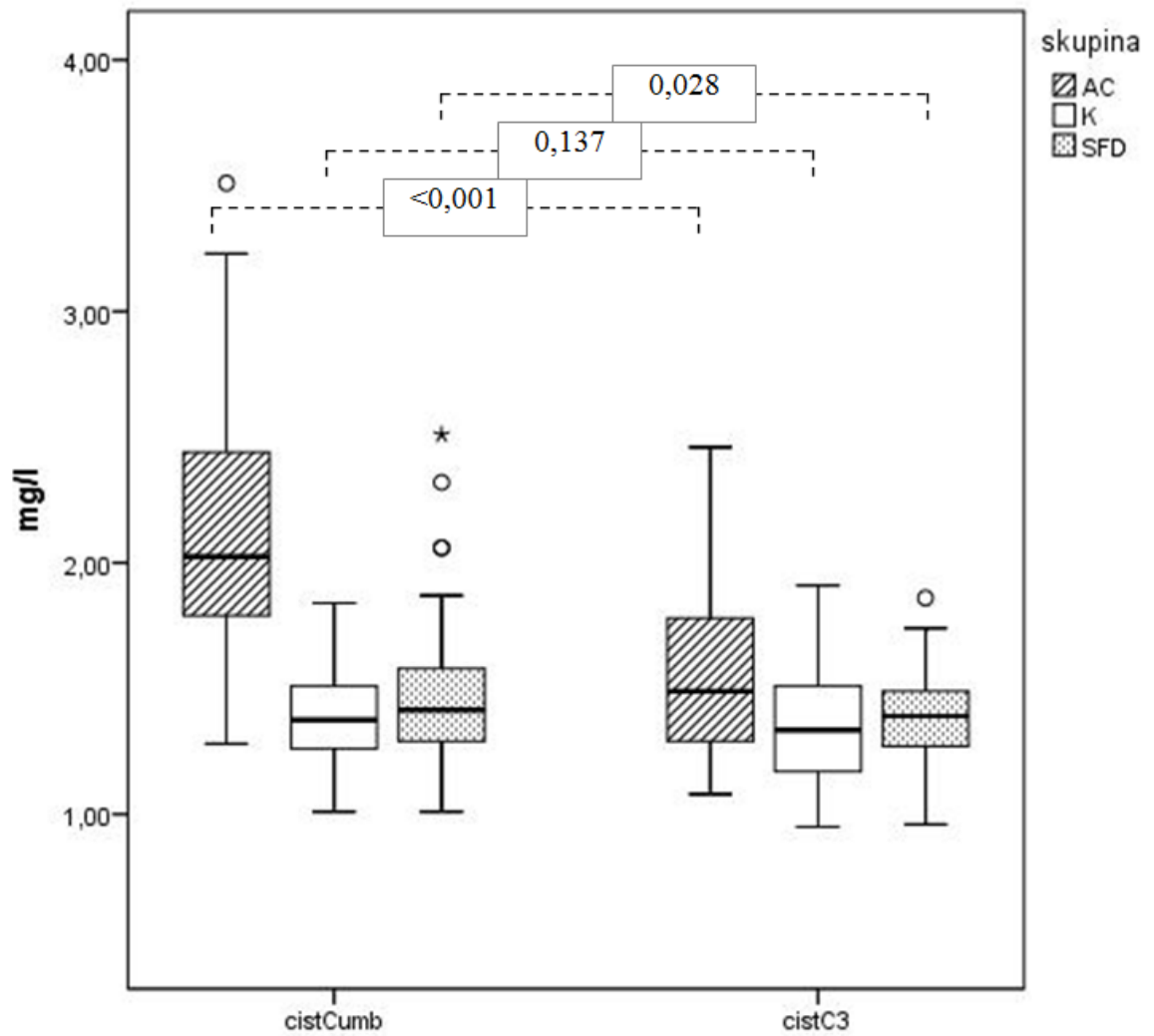
I pad vrijednosti cistatina-C u prva 3 dana nakon rođenja najveći je u istraživanoj skupini AS (-38%), a u SFD skupini i KS sniženje je minimalno (-8% i -6%). Razlika je statistički značajna samo između skupina AS i KS ($p < 0.001$), a između SFD i KS nema razlike u brzini snižavanja vrijednosti cistatina-C u prva 3 dana nakon rođenja ($p = 0.657$). Kod cistatina-C vrijednost se tako u prva 3 dana nakon rođenja statistički značajno snizila u skupini AS ($p < 0.001$) i SFD ($p = 0.028$), a u KS nije ($p = 0.137$). Rezultati su prikazani na grafu 1A.

Prosječna vrijednost kreatinina u pupkovnoj krvi u KS iznosi $62.74 \pm 12.84 \mu\text{mol/l}$; u ispitivanoj skupini AS $72.60 \pm 15.55 \mu\text{mol/l}$; a u skupini SFD $67.08 \pm 17.62 \mu\text{mol/l}$. Razlika između skupina AS i KS je statistički značajna ($p = 0.001$), a između SFD i KS nije ($p = 0.163$).

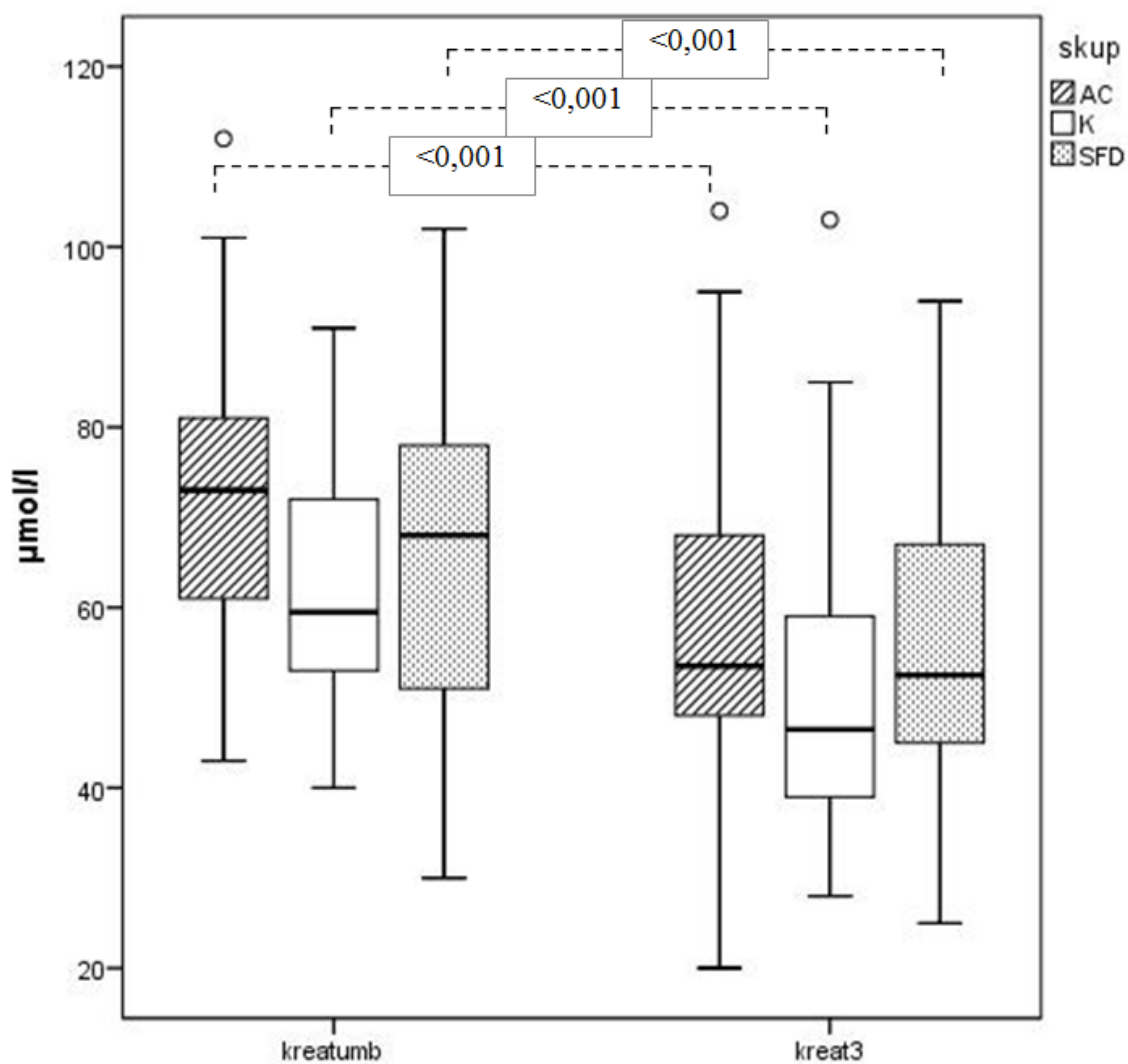
Prosječna vrijednost kreatinina u uzorku krvi 3 dana nakon rođenja u svim je skupinama bila niža: u KS $50.22 \pm 15.23 \mu\text{mol/l}$; u skupini AS $58.54 \pm 16.49 \mu\text{mol/l}$; a u skupini SFD $55.62 \pm 14.91 \mu\text{mol/l}$. Razlika između skupina AS i KS još je uvijek statistički značajna ($p = 0.010$), ali je razlika u prosječnoj vrijednosti nešto manja nego kod kreatinina iz pupkovne krvi ($p = 0.01$), a između SFD i KS nema razlike ($p = 0.076$).

Pad vrijednosti kreatinina u prva 3 dana nakon rođenja ne razlikuje se statistički značajno između ispitivanih skupina i KS (-33% u skupini AS, -27% u SFD i -34% u KS). A unutar svake skupine se vrijednosti kreatinina u pupkovni krvi i 3 dana nakon rođenja statistički značajno snižavaju ($p < 0.001$) (graf 1B).

Graf 1A. Box plot vrijednosti cistatina-C iz pupkovne krvi i 3 dana nakon rođenja po skupinama AS (hipoksija/asfiksija), SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina); izražene kao prosjek ± SD; izpisane vrijednosti p



Graf 1B. **Box plot vrijednosti kreatinina iz pupkovne krvi i 3 dana nakon rođenja po skupinama AS (hipoksija/asfiksija), SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina); izražene kao prosjek ± SD; izpisane vrijednosti p**



Koeficijent varijabilnosti rezultata mjerenja ($KV = SD/\text{prosječna vrijednost} \times 100$) bitno je niži kod određivanja cistatina-C u usporedbi s kreatininom, što također govori u prilog korištenja cistatina-C kao pokazatelja bubrežne funkcije. KV za ispitivane skupine AS i

SFD te KS kako slijedi (u %): za cistC-umb (25.0 i 20.2 te 13.6); za kreat-umb (21.4 i 26.2 te 20.4); za cistC-3 (20.5 i 13.0 te 15.6); za kreat-3 (28.1 i 26.8 te 30.3).

Korelacije između vrijednosti cistatina-C i kreatinina kod svih ispitanika, određenih u pupkovnoj krvi i 3 dana nakon rođenja prikazuje tabela 4.

Pokazuje se slaba statistički značajna veza između cistatina-C i kreatinina u pupkovnoj krvi ($r = 0.198$; $p = 0.015$), što postaje snažnija 3 dana nakon rođenja ($r = 0.470$; $p < 0.001$). I povezanost između cistatina-C u pupkovnoj krvi i u dobi od 3 dana statistički je značajna sa srednjom snagom povezanosti ($r = 0.386$; $p < 0.001$), dok je korelacija s kreatininom u pupkovnoj krvi i u dobi od 3 dana tek mala ($r = 0.255$; $p = 0.002$).

Tabela 4. **Međusobne korelacije vrijednosti cistatina-C i kreatinina po Pearson-u**

Varijabla	r	p
cistC-umb / kreat-umb	0.198	0.015
cistC-3 / kreat-3	0.470	< 0.001
cistC-umb / cistC-3	0.386	< 0.001
kreat-umb / kreat-3	0.255	0.002

S usporedbom prosjeka i s t-testom za nezavisne uzorke ili jedno-faktorskom analizom varijance (ANOVA) utvrđivala sam razlike između cistatina-C i kreatinina određenih u pupkovnoj krvi u odnosu na obrazovanje trudnica, bolesti u trudnoći, lijekove u trudnoći, paritet trudnice, patologiju poroda i način poroda. Utvrdila sam da novorođenčad majki s nižim obrazovanjem ima više vrijednosti cistatina-C, ali razlika nije statistički značajna ($p = 0.156$). Vrijednost cistatina-C kod novorođenčadi povećava i arterijska hipertenzija sa

znacima gestoze u trudnoći (EPH) ($p = 0.048$), a još više utječe patologija poroda ($p < 0.001$) i porod s VE ($p < 0.001$), dok u odnosu na način poroda s carskim rezom i spontanom porodom nema razlike u vrijednosti cistatina-C. U odnosu na lijekove u trudnoći i paritet, vrijednosti također ne pokazuju statistički značajne razlike.

Za kreatinin vrijedi da utjecaj EPH gestoze u trudnoći povećava njegove vrijednosti ($p = 0.017$), a isto tako prvorodstvo ($p = 0.001$) i patologija poroda ($p = 0.002$), dok u odnosu na obrazovanje majke, lijekove u trudnoći i način poroda nema razlike.

Usporedba prosječnih vrijednosti obaju pokazatelja bubrežne funkcije u odnosu na parametre, koji određuju težinu hipoksije/asfiksije, pokazala je da više vrijednosti cistatin-C-umb ima ona novorođenčad, koja pokazuje znake KCN ($p < 0.001$), koja je oligurična ($p < 0.001$), sa znacima HIE ($p = 0.017$) i s SDDO ($p = 0.044$), dok nema statistički značajne razlike u odnosu na različita mjerenja krvnog tlaka, niti razlike po spolu.

U odnosu na iste promatrane parametre više vrijednosti kreatinina-umb ima samo novorođenčad koja je oligurična ($p = 0.001$) i s SDDO ($p < 0.001$), a nema nikakve razlike u odnosu na znakove KCN, znakove HIE, različita mjerenja krvnog tlaka, a isto tako nema razlike po spolu.

Tabela 5 prikazuje korelacije između cistatina-C i kreatinina određenih u pupkovnoj krvi (cistC-umb i kreat-umb) i različitim numeričkim varijablama: dob majke, porođajna težina (PT), porođajna dužina (PD), gestacijska starost (GS), ponderalni indeks (PI), Apgar ocjena u 1. i 5. minuti (Apgar 1 i Apgar 5), pH i BE pupkovne krvi, kreatin kinaza (CK), hemoglobin (Hb), bilirubin (Bil), dob u vrijeme prve diureze nakon rođenja (1.diureza) te % gubitka tjelesne težine u prva 3 dana nakon rođenja (% gubitka TT).

Za računanje korelacija koristila sam Pearsonov korelacijski koeficijent, osim za korelaciju s bilirubinom i % gubitka tjelesne težine, pri čemu je korišten Spearmanov test korelacije.

Tabela 5. **Korelacije između cistatina-C i kreatinina te različitih numeričkih varijabli; r (korelacijski koeficijent); p (signifikantnost); SN/(statistički neznačajno); n=150**

Varijabla	cistatin-C		kreatinin	
	r	p	r	p
Dob mame	-0.104	SN	-0.066	SN
Porodajna težina	0.178*	0.029	0.036	SN
Porodajna dužina	0.168*	0.040	0.018	SN
Gestacijska dob	0.217*	0.008	0.060	SN
Ponderalni indeks	0.055	SN	0.031	SN
Apgar 1	-0.518**	<0.001	-0.397**	<0.001
Apgar 5	-0.383**	<0.001	-0.384**	<0.001
pH pupkovne krvi	-0.641**	<0.001	-0.252*	0.002
BE pupkovne krvi	-0.565**	<0.001	0.128	SN
CK (kreatin kinaza)	0.109	SN	0.041	SN
Hemoglobin	0.419**	<0.001	0.098	SN
Bilirubin	0.032	SN	0.112	SN
1.diureza	0.434**	<0.001	0.218*	0.007
% gubitka TT	0.063	SN	0.094	SN

* mala korelacija; ** srednje snažna korelacija

Utvrdila sam statistički značajnu pozitivnu korelaciju između cistC-umb i sljedećih varijabli: porođajna težina, porođajna dužina, gestacijska dob, 1.diureza i vrijednost hemoglobina; a negativnu korelaciju s Apgar 1 i također Apgar 5 te vrijednošću pH i BE u pupkovnoj krvi.

Kreat-umb korelira statistički značajno negativno s objema Apgar ocjenama i pH vrijednošću pupkovne krvi, a pozitivno s 1.diurezu, ali su sve korelacije manje nego s cistatinom-C.

U dobi od 3 dana određivali smo i bilirubin u serumu kod 73 novorođenčadi s izraženom žuticom, a njegove vrijednosti ne koreliraju niti s cistatinom-C niti s kreatininom. Jednako tako nema korelacije između vrijednosti cistatina-C i kreatinina te stupnja hidratacije, izražene kao % gubitka tjelesne težine kroz 3 dana nakon rođenja.

Povezanost između vrijednosti cistatina-C odnosno kreatinina i drugih varijabli od interesa, koje su značajno korelirale u univariatni analizi provjerena je linearnom regresijom. Linearnom regresijom izračunana je vrijednost koeficijenta beta, t-vrijednost i pripadajuća p-vrijednost. Zbog boljeg predočavanja kako pojedini sklopovi varijabli utječu na cistatin-C odnosno kreatinin korištena je blok metoda izgradnje linearnog regresijskog modela.

U ispitivanoj sam skupini AS i KS prvim blokom linearnog regresijskog modela utvrđivala uzročnu povezanost između oba pokazatelja bubrežne funkcije i čimbenika, koji određuju težinu hipoksije/asfiksije: niska Apgar ocena, niži pH i viši BE u pupkovnoj krvi, KCN, kašnjenje 1.diureze, oligurija i znaci HIE te SDDO. Veći broj utvrđenih čimbenika znači težu hipoksiju/asfiksiju.

Tabela 6. Utjecaj pojedinih čimbenika na cistatin-C u pupkovnoj krvi (cistC-umb); skupina AS (hipoksija/asfiksija) i kontrolna skupina (KS)

	Beta	t	p	Beta	t	p	Beta	t	p
APGAR 5	0,05	0,56	0,578	0,07	0,76	0,451	0,05	0,52	0,602
BE-umb	-0,50	-4,95	<0,001	-0,50	-5,17	<0,001	-0,45	-4,40	<0,001
CK-umb	-0,12	-1,45	0,151	-0,07	-0,86	0,392	-0,08	-0,97	0,336
KCN ⁺	0,19	2,07	0,041	0,24	2,74	0,007	0,23	2,67	0,009
1. diureza	0,20	2,22	0,029	0,19	2,09	0,040	0,17	1,86	0,067
Oligurija	0,01	0,16	0,876	0,03	0,36	0,719	0,02	0,19	0,852
HIE ⁺	-0,03	-0,28	0,781	-0,05	-0,61	0,545	-0,05	-0,54	0,588
SDDO ⁺	0,10	1,12	0,264	0,15	1,74	0,086	0,13	1,52	0,133
KT-SDdif	0,08	1,03	0,305	0,06	0,80	0,428	0,05	0,61	0,543
GDM ⁺				0,07	0,97	0,333	0,04	0,55	0,582
Prenatalni steroidi				-0,08	-1,06	0,293	-0,08	-1,05	0,299
Nisko obrazovanje				0,03	0,44	0,658	0,05	0,64	0,525
Paritet				0,15	1,88	0,064	0,12	1,61	0,112
EPH ⁺				0,24	3,18	0,002	0,23	2,94	0,004
PT ⁺							-0,06	-0,74	0,463
Hb-umb							0,12	1,38	0,173
GS ⁺							-0,02	-0,19	0,847
Ženski spol djeteta							-0,17	-2,30	0,024
	R2=0,489			R2=0,582			R2=0,620		

⁺ BE (bazni deficit); CK (kreatin kinaza); KCN (kardiocirkulatorna nestabilnost); HIE (hipoksično-ishemička encefalopatija); SDDO (smetnje djelovanja drugih organa); KT (krvni tlak); GDM (gestacijski diabetes mellitus); EPH (pre-eklampsija s hipertenzijom); PT (porođajna težina); GS (gestacijska dob).

Prvi blok čimbenika najsnažnije najavljuje cistC-umb, objašnjava 48.9 % varijance, drugi blok doprinosi još 9.3 % i poveća varijancu na 58.2 %, a treći blok doprinese još dodatnih 3.8%, na konačnih 62.0 %. Među pojedinim čimbenicima s višim cistC-umb pozitivno je povezana KCN (beta = 0.23; p = 0.009), EPH (beta = 0.23; p = 0.004), a negativno s BE-umb (beta = -0.41; p < 0.001) i spolom (beta = -0.17; p = 0.024).

Tabela 7. Utjecaj pojedinih čimbenika na cistatin-C 3 dana nakon rođenja (cistC-3); skupina AS (hipoksija/asfiksija) i kontrolna skupina (KS)

	Beta	t	p	Beta	t	p	Beta	t	p
APGAR 5	-0,09	-0,81	0,419	-0,07	-0,57	0,569	-0,01	-0,11	0,915
BE-umb ⁺	0,00	-0,02	0,981	-0,01	-0,06	0,949	-0,07	-0,57	0,569
CK-umb ⁺	-0,12	-1,23	0,221	-0,09	-0,95	0,347	-0,23	-2,25	0,027
KCN ⁺	0,25	2,38	0,019	0,28	2,56	0,012	0,25	2,46	0,016
1.diureza	0,00	0,00	0,998	0,03	0,26	0,794	0,04	0,40	0,691
Oligurija	0,32	3,10	0,003	0,33	3,12	0,002	0,27	2,74	0,008
HIE ⁺	-0,04	-0,35	0,727	-0,04	-0,40	0,689	-0,07	-0,72	0,474
SDDO ⁺	0,17	1,63	0,106	0,14	1,34	0,185	0,17	1,67	0,098
RR-SDdif	0,11	1,22	0,227	0,11	1,20	0,234	0,09	1,01	0,315
GDM ⁺				0,11	1,11	0,269	0,07	0,76	0,447
Prenatalni steroidi				0,07	0,78	0,440	0,04	0,44	0,661
Nisko obrazovanje				0,07	0,75	0,457	-0,03	-0,27	0,788
Paritet				0,08	0,85	0,400	0,10	1,09	0,278
EPH ⁺				0,08	0,86	0,394	0,06	0,66	0,514
PT ⁺							0,29	3,01	0,004
Hb-umb							0,12	1,22	0,224
GS ⁺							0,19	1,93	0,058
Ženski spol djeteta							-0,13	-1,45	0,152
	R2=0,308			R2=0,335			R2=0,461		

⁺ BE (bazni deficit); CK (kreatin kinaza); KCN (kardiocirkulatorna nestabilnost); HIE (hipoksično-ishemička encefalopatija); SDDO (smetnje djelovanja drugih organa); KT (krvni tlak); GDM (gestacijski diabetes mellitus); EPH (pre-eklampsija s hipertenzijom); PT (porođajna težina); GS (gestacijska dob).

Prvi blok čimbenika najsnažnije najavljuje cistC-3, objašnjava 30.8 % varijance, drugi blok doprinosi samo 2.7 % i povećava varijancu na 33.5 %, a treći blok doprinese još dodatnih 12.6 %, na konačnih 46.1 %. Među pojedinim čimbenicima s višjim cistC-3 pozitivno je povezana oligurija (beta = 0.27; p = 0.008), KCN (beta = 0.25; p = 0.016) in PT (beta = 0.29; p = 0.004), a negativno CK-umb (beta = -0.23; p = 0.027).

Tabela 8. Utjecaj pojedinih čimbenika na kreatinin u pupkovnoj krvi (kreat-umb); skupina AS (hipoksija/asfiksija) i kontrolna skupina (KS)

	Beta	t	p	Beta	t	p	Beta	t	p
APGAR 5	-0,26	-2,22	0,029	-0,16	-1,41	0,162	-0,14	-1,18	0,240
BE-umb ⁺	0,06	0,45	0,655	0,09	0,78	0,438	0,06	0,46	0,650
CK-umb ⁺	0,09	0,85	0,399	0,08	0,83	0,407	0,04	0,38	0,702
KCN ⁺	-0,04	-0,40	0,690	-0,03	-0,24	0,807	-0,04	-0,37	0,716
1.diureza	0,10	0,87	0,387	0,04	0,37	0,710	0,07	0,58	0,565
Oligurija	0,09	0,85	0,398	0,15	1,46	0,148	0,13	1,26	0,213
HIE ⁺	0,03	0,25	0,803	0,04	0,37	0,714	0,04	0,33	0,744
SDDO ⁺	0,26	2,46	0,016	0,20	1,90	0,061	0,20	1,81	0,074
RR-SDdif	-0,07	-0,75	0,458	-0,07	-0,74	0,459	-0,08	-0,86	0,393
GDM ⁺				0,09	1,01	0,316	0,09	0,90	0,369
Prenatalni steroidi				0,15	1,60	0,113	0,14	1,42	0,159
Nisko obrazovanje				0,11	1,17	0,246	0,12	1,14	0,256
Paritet				-0,27	-2,77	0,007	-0,26	-2,66	0,009
EPH ⁺				0,25	2,67	0,009	0,26	2,62	0,011
PT ⁺							0,04	0,40	0,691
Hb-umb							-0,03	-0,26	0,795
GS ⁺							0,02	0,17	0,866
Ženski spol djeteta							-0,10	-1,05	0,298
	R2=0,222			R2=0,353			R2=0,365		

⁺ BE (*bazni deficit*); CK (*kreatin kinaza*); KCN (*kardiocirkulatorna nestabilnost*); HIE (*hipoksično-ishemička encefalopatija*); SDDO (*smetnje djelovanja drugih organa*); KT (*krvni tlak*); GDM (*gestacijski diabetes mellitus*); EPH (*pre-eklampsija s hipertenzijom*); PT (*porođajna težina*); GS (*gestacijska dob*).

Prvi blok čimbenika najsnažnije najavljuje kreat-umb, objašnjava 22.2 % varijance, drugi blok doprinese još 13.1 % i poveća varijancu na 35.3 %, a treći blok ne mijenja gotovo ništa više, dok se varijanca povećava još samo za 1.2 % na konačnih 36.5 %. Među pojedinim čimbenicima kreat-umb pozitivno je povezan s EPH (beta = 0.26; p = 0.011), a negativno s paritetom (beta = -0.26; p = 0.009).

Tabela 9. Utjecaj pojedinih čimbenika na kreatinin 3 dana nakon rođenja (kreat-3); skupina AS (hipoksija/asfiksija) i kontrolna skupina (KS)

	Beta	t	p	Beta	t	p	Beta	t	p
APGAR 5	-0,22	-1,95	0,054	-0,21	-1,77	0,080	-0,15	-1,25	0,217
BE-umb ⁺	0,28	2,26	0,027	0,26	2,03	0,046	0,15	1,07	0,288
CK-umb ⁺	0,05	0,46	0,647	0,02	0,16	0,873	-0,04	-0,35	0,728
KCN ⁺	0,15	1,34	0,185	0,14	1,23	0,223	0,11	0,95	0,345
1.diureza	0,09	0,83	0,409	0,11	0,92	0,360	0,19	1,52	0,133
Oligurija	0,31	2,88	0,005	0,31	2,80	0,006	0,29	2,64	0,010
HIE ⁺	0,00	-0,04	0,971	0,02	0,16	0,871	0,02	0,16	0,871
SDDO ⁺	0,12	1,18	0,243	0,08	0,70	0,487	0,05	0,47	0,637
RR-SDdif	0,13	1,34	0,183	0,15	1,54	0,127	0,13	1,29	0,200
GDM ⁺				0,07	0,68	0,501	0,06	0,56	0,577
Prenatalni steroidi				0,10	1,05	0,295	0,11	1,09	0,281
Nisko obrazovanje				-0,02	-0,24	0,809	0,00	0,04	0,972
Paritet				-0,03	-0,33	0,740	-0,03	-0,27	0,787
EPH ⁺				-0,06	-0,63	0,527	-0,06	-0,56	0,578
PT ⁺							0,13	1,28	0,204
Hb-umb							-0,08	-0,71	0,479
GS ⁺							-0,08	-0,73	0,466
Ženski spol djeteta							-0,19	-1,88	0,063
	R2=0,262			R2=0,282			R2=0,341		

⁺ BE (bazni deficit); CK (kreatin kinaza); KCN (kardiocirkulatorna nestabilnost); HIE (hipoksično-ishemička encefalopatija); SDDO (smetnje djelovanja drugih organa); KT (krvni tlak); GDM (gestacijski diabetes mellitus); EPH (pre-eklampsija s hipertenzijom); PT (porođajna težina); GS (gestacijska dob).

Prvi blok čimbenika najsnažnije najavljuje kreat-3, objašnjava 26.2 % varijance, a drugi blok doprinosi samo 2.0 % i povećava varijancu na 28.2 %, dok treći blok doprinese još dodatnih 5.9 %, do konačnih 34.1 %. Među pojedinim čimbenicima s kreat-3 pozitivno je povezana smo oligurija ($\beta = 0.29$; $p = 0.010$).

Metodom logičke regresije napravila sam i druge usporedbe, gdje sam utvrđivala utjecaj obaju pokazatelja bubrežne funkcije kao nezavisne varijable na čimbenike povezane s hipoksijom/asfiksijom i dobila slične rezultate. Ponovno se u svim izračunima cistC-umb pokazao kao signifikantno negativno povezan s pH ($\beta = -0.75$; $p < 0.001$) i BE ($\beta = -0.71$; $p < 0.001$) te pozitivno s vremenom 1. diureze ($\beta = 0.48$; $p < 0.001$), KCN (OR = 10.50; 95% CI: 1.44 – 76.42; $p = 0.020$), HIE (OR = 4.17; 95% CI: 0.45 – 7.18; $p = 0.053$), također s oligurijom (OR = 2.25; 95% CI: 0.57 – 8.94; $p = 0.248$), no ipak je tamo povezivanje snažnije s cistC-3 (OR = 5.35; 95% CI: 0.26 – 109.22; $p = 0.027$). S Apgarima u 1. i u 5. minuti negativno se povezuju oba: cistC-umb ($\beta = -0.27$; $p = 0.012$) i $\beta = -0.24$; $p = 0.042$) i kreat-umb ($\beta = -0.24$; $p = 0.008$) i $\beta = -0.27$; $p = 0.007$).

Utjecaj obrazovanja, bolesti, terapije u trudnoći i broj poroda provjerila sam i s testom linearne regresije (drugi blok bločne analize). Tom se prilikom pokazao utjecaj EPH gestoze na vrijednosti cistC-umb ($\beta = 0.29$; $p = 0.004$) i kreat-umb ($\beta = 0.26$; $p = 0.011$); dok infekcije, terapija antibioticima, gestacijski dijabetes mellitus, terapija s kortikosteroidima u trudnoći te obrazovanje majke ne pokazuju nikakav utjecaj na mjerene pokazatelje bubrežne funkcije. U trećem bloku bločne analize pokazao se i utjecaj PT na cistC-3 ($\beta = 0.29$; $p = 0.004$) kao i spola na cistC-umb ($\beta = -0.17$; $p = 0.024$), dok nema utjecaja s obzirom na gestacijsku dob i vrijednosti hemoglobina. Prvorodstvo pokazuje utjecaj samo na vrijednosti kreat-umb ($\beta = -0.26$; $p = 0.009$).

Kada radimo izračun s većim brojem uključenih (n = 150), zajedno sa SFD skupinom, gubi se utjecaj PT na cistC-3 (beta = 0.15; p = 0.058) i spola na vrijednosti cistC-umb (beta = -0.10; p = 0.155), a pokazuje se utjecaj hemoglobina na cistC-umb (beta = 0.18; p = 0.012). Na vrijednost kreatinina još uvijek utječe pariteta (beta = -0.18; p = 0.028) i također spol djeteta (beta = -0.19; p = 0.027).

Izračun prognoza prikazuje tabela 10: PPV (pozitivna prognostička vrijednost), NPV (negativna prognostička vrijednost) i senzitivnost za oba pokazatelja bubrežne funkcije kod iste specifičnosti 96% u odnosu na graničnu vrijednost (cut-off) > 2SD iznad prosječne vrijednosti u KS za svaku varijablu (za cistC-umb 1.77 mg/l; za cistC-3 1.76 mg/l; za kreat-umb 88.42 μ mol/l; za kreat-3 pa 80.68 μ mol/l); usporedba između ispitivane skupine AS (hipoksija/asfiksija) i KS.

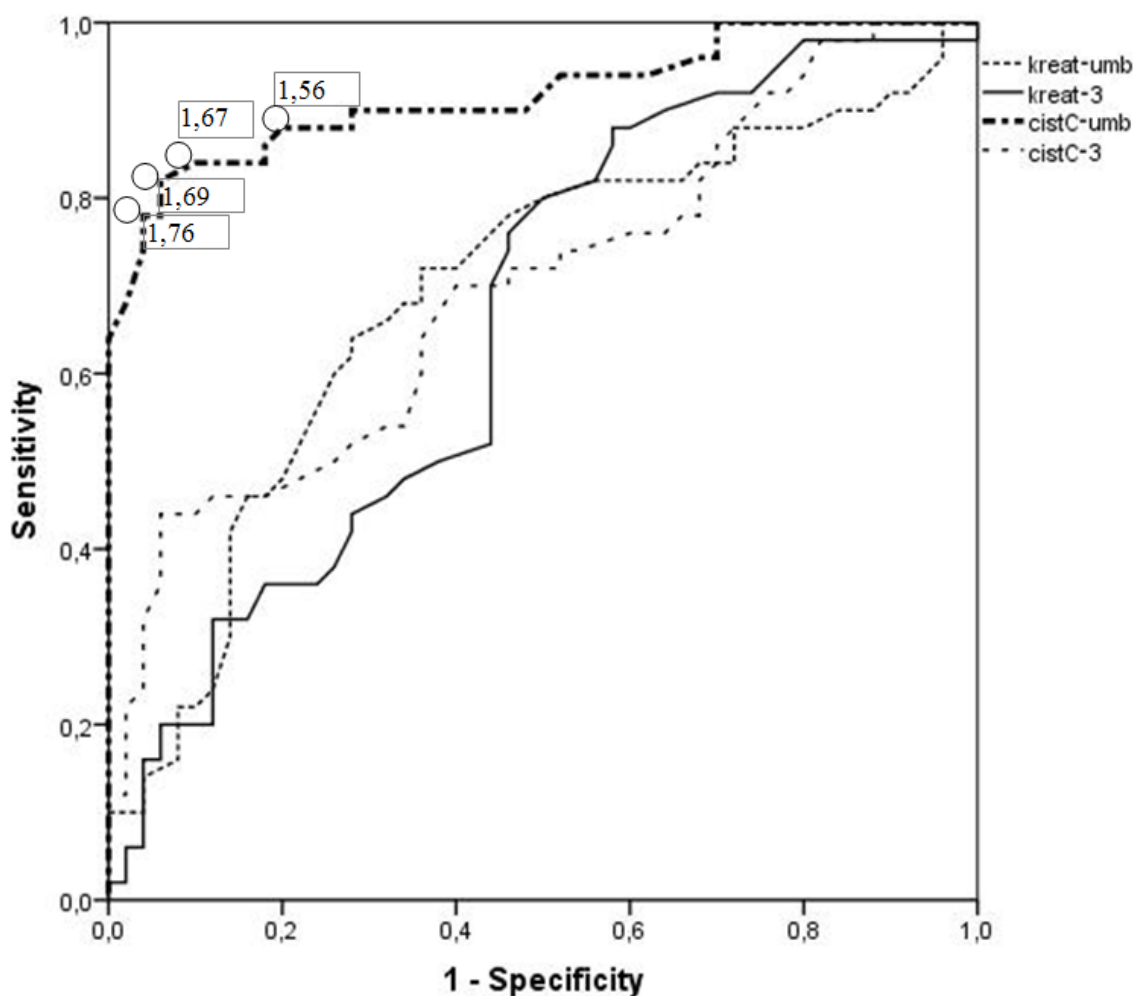
Tabela 10. Prikaz pozitivne prognostičke vrijednosti (PPV), negativne prognostičke vrijednosti (NPV), senzitivnosti i specifičnosti pojedinog testa između ispitivane skupine AS (hipoksija/asfiksija) i kontrolne skupine (KS) u odnosu na graničnu vrijednost (prosjek + 2SD za KS) za slijedeće varijable: cistatin-C-umb, cistatin-C-3, kreatinin-umb i kreatinin-3

Varijabla	PNV (%)	NNV (%)	Senzitivnost (%)	Specifičnost (%)
cistC-umb	0,95	0,80	0,76	0,96
cistC-3	0,88	0,57	0,30	0,96
kreat-umb	0,71	0,51	0,10	0,96
kreat-3	0,77	0,52	0,14	0,96

ROC krivulja na grafu 2 prikazuje da je i AUC površina najveća za cistC-umb; slijede cistC-3, kreat-umb i kreat-3 (0.918; 0.698; 0.692; 0.660).

Najuravnoteženiji cut-off za cistC-umb utvrđen je kod 1.67 mg/l (senzitivnost 84.0 %, specifičnost 90.0 %) odn. Kod 1.69 mg/l (senzitivnost 82.0 %, specifičnost 94.0 %).

Graf 2. ROC (Receiver Operating Characteristic) krivulja diagnostičke učinkovitosti za cistatin-C-umb, cistatin-C-3, kreatinin-umb i kreatinin-3, da odvoji skupinu AS (hipoksija/asfiksija) od kontrolne skupine (KS)



5.3. RAZLIKE IZMEĐU ISPITIVANE SKUPINE NEDOSTAŠĆADI I KONTROLNE SKUPINE U ODNOSU NA DIMENZIJE BUBREGA I BUBREŽNE VOLUMENE

U okviru ultrazvučnog pregleda novorođenčadi sama sam pregledala bubrege kod sve nedostašćadi ispitivane skupine SFD i također kod sve novorođenčadi iz kontrolne skupine, pri čemu oni s utvrđenim anomalijama nisu bili uključeni u istraživanje. Kod svih sam izmjerila potrebne dimenzije obaju bubrega (dužinu, širinu i dubinu), izračunala volumen svakog bubrega po formuli (Vol-f-DL, Vol-f-LL) i posebno 3D-volumen svakog bubrega (3Dvol-DL, 3Dvol-LL) i ukupne volumene obaju bubrega (Vol-f-T i 3Dvol-T). Za daljnje izračune relativnih volumena koristila sam samo ukupni volumen obaju bubrega 3Dvol-T, koji je jedini pokazao korelaciju s cistatinom-C u pupkovnoj krvi te ga izjednačila u odnosu na porođajnu težinu ($RV1 = 3Dvol-T/PT$), porođajnu dužinu ($RV2 = 3Dvol-T/PD$), ponderalni indeks ($RV3 = 3Dvol-T/PI$) i izračunanu tjelesnu površinu ($RV4 = 3Dvol-T/BSA$). Niti jedan od volumena bubrega ne korelira s vrijednošću kreatinina u pupkovnoj krvi, ali korelira u dobi od 3 dana.

Ispitanici iz SFD skupine imaju sve bubrežne mjere i volumene statistički značajno manje nego u KS. U slučaju izjednačavanja zajedničkog volumena bubrega u odnosu na porođajnu težinu (RV1) i u odnosu na tjelesnu površinu (RV4) razlika RV1 i RV4 između skupina više nije statistički značajna. Razlika između skupina ostaje značajna i posle izjednačenja u odnosu na porođajnu dužinu i PI (RV2 i RV3) (tabela 11).

Tabela 11. Dimenzije bubrega i bubrežni volumeni kod novorođenčadi u ispitivanoj skupini SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina); prosjek \pm SD

Varijabla	SFD	KS	p
<i>Desni bubreg (DB)</i>			
dužina (mm)	35.92 \pm 3.09	38.76 \pm 4.00	< 0.001
širina (mm)	19.32 \pm 1.89	22.0 \pm 2.42	< 0.001
debljina (mm)	19.65 \pm 1.93	22.2 \pm 2.11	< 0.001
Vol-f-DL (cm ³)	7.15 \pm 1.84	9.90 \pm 2.96	< 0.001
3Dvol-DL (cm ³)	8.30 \pm 1.76	11.04 \pm 2.64	< 0.001
<i>Lijevi bubreg (LB)</i>			
dužina (mm)	34.60 \pm 2.67	37.98 \pm 3.25	< 0.001
širina (mm)	18.60 \pm 1.58	20.84 \pm 2.48	< 0.001
debljina (mm)	19.40 \pm 1.96	21.40 \pm 2.13	< 0.001
Vol-f-DL (cm ³)	6.62 \pm 1.51	9.02 \pm 2.41	< 0.001
3Dvol-DL (cm ³)	8.00 \pm 1.53	10.64 \pm 2.48	< 0.001
<i>Ukupni volumen bubrega</i>			
Vol-f-T (cm ³)	13.77 \pm 3.08	18.93 \pm 4.92	< 0.001
3Dvol-T (cm ³)	16.30 \pm 3.08	21.68 \pm 4.90	< 0.001
<i>Relativni volumeni (RV)</i>			
RV1=3Dvol-T/PT (ml/kg)	6.80 \pm 1.10	6.38 \pm 1.36	0.095
RV2=3Dvol-T/PD (ml/cm)	0.35 \pm 0.06	0.43 \pm 0.09	< 0.001
RV3=3Dvol-T/PI	6.74 \pm 1.41	7.96 \pm 1.96	0.001
RV4=3Dvol-T/BSA	92.76 \pm 15.01	99.64 \pm 20.21	0.056

Vol-f-T (ukupni volumen oba bubrega izračunan po formuli za elipsu na temelju 2DUZ slike); 3Dvol-T (ukupni volumen oba bubrega dobiven s 3DUZ pretragom); PT (porodajna težina); PD (porodajna dužina); PI (ponderalni indeks); BSA (tjelesna površina).

Korelacije između cistatina-C i kreatinina u pupkovnoj krvi (cistC-umb i kreat-umb) i 3 dana nakon rođenja (cistC-3 i kreat-3) i različitih volumena bubrega prikazuje tabela 12. Odmah nakon rođenja samo 3DUZ cjelokupni volumen oba bubrega (3Dvol-T) statistički značajno korelira s cistC-umb, a s 2DUZ cjelokupnim volumenom izračunanim po formuli (Vol-f-T) ne korelira niti cistC-umb, niti kreat-umb. 3 dana nakon rođenja s oba volumena bolje korelira kreat-3, a cistC-3 pokazuje bolju korelaciju s relativnim volumenom 3D u odnosu na PI i BSA (RV3 i RV4). Sve poveznice spadaju u kategoriju slabih veza $r < 0.3$.

Ako se 3Dvol-T/BSA snizi za 10%, poveća se vrijednost cistC-umb za 9.3%.

Tabela 12. Univarijatna analiza različitih volumena s cistatinom-C-umb, cistatinom-C-3, kreatininom-umb i kreatininom-3 u ispitivanoj skupini SFD (nedostašćad) i KS (kontrolna skupina); n = 100

Volumeni		cistC-umb	cistC-3	kreat-umb	kreat-3
3Dvol-T	r	-0.199*	-0.181	-0.152	-0.263*
	p	0.047	0.071	0.131	0.008
Vol-f-T	r	-0.168	-0.100	-0.125	-0.280*
	p	0.095	0.321	0.216	0.005
3Dvol-T/PI	r	-0.191	-0.235*	-0.129	-0.231*
	p	0.057	0.019	0.202	0.021
3Dvol-T/BSA	r	-0.159	-0.255*	-0.070	-0.222*
	p	0.114	0.011	0.488	0.026
Vol-f-T/BSA	r	-0.108	-0.136	-0.037	-0.252*
	p	0.286	0.177	0.711	0.011
Vol-f-T/PI	r	-0.163	-0.161	-0.103	-0.266*
	p	0.105	0.110	0.306	0,007

* sva povezivanja spadaju u kategoriju slabih veza $r < 0.3$;

Vol-f-T (ukupni volumen oba bubrega izračunan po formuli za elipsu); 3Dvol-T (ukupni volumen oba bubrega dobiven s 3DUZ pretragom); PT (porođajna težina); PD (porođajna dužina); PI (ponderalni indeks); BSA (tjelesna površina).

Izračunane vrijednosti GFR po različitim formulama na temelju cistatina-C i na bazi kreatinina po Schwartzovoj formuli prikazuje tabela 13.

Tabela 13. Izračunane vrijednosti GFR na temelju cistatin-C (GFC) po različitim formulama i na temelju kreatinina po Schwartzovoj formuli (GFK) u pupkovnoj krvi i 3 dana nakon rođenja te % porasta GFC i GFK u prva 3 dana, po skupinama AS, SFD i KS; jedinica (ml/min/1.73m²)

Varijabla	AS	SFD	KS
GFC1-V1	50.19 ± 12.43**	69.85 ± 11.83	73.09 ± 9.93
GFC1-V2	30.25 ± 10.00**	46.68 ± 10.33	49.47 ± 8.97
GFC1-V3	/	37.46 ± 8.96	42.48 ± 12.36
GFC3-V1	66.84 ± 13.22**	73.50 ± 9.88	76.45 ± 11.74
GFC3-V2	44.11 ± 11.55**	49.83 ± 9.02	52.59 ± 10.77
GFC3-V3	/	39.61 ± 9.29*	44.35 ± 12.55
ΔGFC-V1#	16.65 ± 13.04 (33.1%)**	3.65 ± 13.21 (5.2%)	3.37 ± 13.32 (4.6%)
ΔGFC-V2#	13.86 ± 11.21 (45.2%)**	3.15 ± 11.78 (6.7%)	3.12 ± 12.04 (6.3%)
ΔGFC-V3#	/	2.15 ± 7.35 (5.7%)	1.87 ± 7.56 (4.2%)
GFK1	28.33 ± 7.53*	21.67 ± 6.48**	31.53 ± 7.64
GFK3	36.19 ± 12.24	26.14 ± 7.95**	41.18 ± 13.17
ΔGFK#	7.86 ± 12.82 (27.7%)	4.47 ± 8.58 (20.6%)	9.66 ± 12.44 (30.6%)

* p < 0.05 razlika u usporedbi s KS; ** p < 0.001 razlika u usporedbi s KS; # Mann-Whitney U neparametrijski test;

GFC (izračunana vrijednost GFR na bazi cistatina-C); GFC-v1 (100/cistatin-C); GFC-v2 (74.835/cistatin-C^{1/0.75}); GFC-v3 ((Vol-T/BSA)/cistatin-C)/1.73); GFK (izračunana GFR s Schwartzovom formulom); ΔGFC = GFC3 - GFC1 (razlika između GFC-3 dana nakon rođenja i GFC1-u pupkovnoj krvi); ΔGFK = GFK3-GFK1 (razlika između GFK-3 dana nakon rođenja i GFK1-u pupkovnoj krvi).

6. RASPRAVA

Serumski cistatin-C je obećavajući endogeni marker bubrežne funkcije, koji se pokazao dobrim pokazateljom glomerulne filtracije u odraslih bolesnika s blagom do umjereno smanjenom bubrežnom funkcijom, kao i u djece (45,89).

Iako je serumski kreatinin najčešće korišteni marker bubrežne funkcije, nije osjetljiv na manje promjene bubrežne funkcije i raste razmjerno s mišićnom masom i tjelesnom težinom, koja se povećava s rastom. Te fiziološke varijable ne utječu na koncentraciju cistatina-C, zato on može točnije odraziti glomerulnu filtraciju od kreatinina (43,62).

Još uvijek u literaturi ima malo podataka o uspoređivanju kreatinina i cistatina-C u novorođenčadi. Feldman i Guignard (90) u svojoj su studiji ustanovili velik raspon vrijednosti kreatinina prilikom rođenja i u prvom tjednu života novorođenčadi, rođene među 30. do 40. tjedna gestacije, što je potvrdio i Finney sa suradnicima u drugoj studiji (43). Te visoke vrijednosti kreatinina prilikom rođenja, koji je vjerojatno po izvoru majčin, dramatično se smanje tijekom prvog mjeseca života, što znatno umanjuje vrijednost kreatinina kao pokazatelja glomerulne filtracije kod novorođenčadi (91). Finney sa suradnicima navodi da je cistatin-C bolji marker glomerulne filtracije od kreatinina i kod novorođenčadi. Njegovi podaci, kao i podaci Fell-a pokazuju da neonatalni bubreg ne retinira niskomolekularne proteine kao što je cistatin-C. Iako je prelazak cistatina-C kod odraslog preko glomerularne membrane manje slobodan od prelaska kreatinina, kod novorođenčeta to ne vidimo, vjerojatno zbog veće općenite propusnosti neonatalne glomerularne membrane. Cistatin-C ne prelazi placentu i odražava samo glomerulnu filtraciju novorođenčeta (43,65,92). Kod nedonoščadi svih gestacijskih dobi, vrijednosti cistatina-C su statistički više nego u donošene novorođenčadi, što je odraz manje zrele bubrežne funkcije (66). Nakon rođenja se njegove vrijednosti smanjuju cijelu prvu godinu

života u skladu s dozrijevanjem bubrežne funkcije, kad već postignu vrijednosti odraslog čovjeka, za razliku od vrijednosti kreatinina, koja raste sve do puberteta (43). Bökenkamp navodi da visoke vrijednosti cistatina-C prilikom rođenja i u prvim danima nakon rođenja brzo opadaju i u dobi od 4 mjeseca već su u području od 0.7 do 1.38 mg/l (40).

Do sada još uvijek nema dovoljno podataka da bi se cistatin-C preporučilo za rutinsko određivanje GFR u novorođenčadi (70,80), zbog čega je potrebno više studija na većem broju ispitanika u raznim kliničkim situacijama.

Svojim istraživanjem potvrdila sam hipotezu da je kod novorođenčeta cistatin-C bolji pokazatelj glomerulne filtracije od kreatinina.

Prvo sam odredila koje su normalne vrijednosti kreatinina i cistatina-C u pupkovnoj krvi i treći dan nakon rođenja kot donošene eutrofične novorođenčadi.

Dokazala sam da su vrijednosti cistatina-C u ispitivanoj skupini novorođenčadi sa hipoksijom/asfiksijom statistički znakovito više nego u kontrolnoj skupini, a brzina smanjivanja vrijednosti cistatina-C u prva tri dana niža nego u kontrolnoj skupini.

Utvdila sam da vrijednost cistatina-C iz pupkovne krvi kod asfiktčne novorođenčadi puno bolje korelira s težinom asfiksije i isto tako smanjenjem glomerularne filtracije od kreatinina.

Ustanovila sam kakav je utjecaj hemograma, bilirubina te stanja hidracije na vrijednosti kreatinina i cistatina-C 3 dana nakon rođenja.

Isto tako sam ustanovila kakve su vrijednosti kreatinina i cistatina-C kot nedostaščadi u odnosu na eutrofičku novorođenčad, s obzirom na različite mjere i volumene bubrega.

Vrijednosti kreatinina i cistatina-C usporedila sam s izračunanim klirensom pomoću poznatih formula (42,74,75,87,88) i vlastite formule na bazi cistatina-C, cjelokupnog volumena bubrega i BSA, koji od svih najbolje odražava GFR kod novorođenčeta prva 3 dana nakon rođenja.

6.1. REFERENTNE VRIJEDNOSTI CISTATINA-C I KREATININA U DONOŠENE NOVOROĐENČADI I NJIHOVA USPOREDBA

U mojoj sam studiji najprije željela ustanoviti koje su normalne vrijednosti cistatina-C i kreatinina u pupkovnoj krvi prilikom rođenja i treći dan nakon rođenja kod 50 zdravo donošene eutrofične novorođenčadi, od kojih se sastoji kontrolna skupina (KS).

Referentni interval [RI] obuhvaća vrijednosti ± 2 SD od prosječne vrijednosti.

Prosječna vrijednost cistatina-C u pupkovnoj krvi iznosi u KS 1.39 ± 0.19 mg/l [RI 1.01 do 1.77 mg/l]; a u uzorku krvi 3 dana nakon rođenja prosječna vrijednost cistatina-C u KS bila je 1.34 ± 0.21 mg/l [RI 0.92 do 1.76 mg/l]. Razlika između vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi i nakon 3 dana nije statistički značajna, što podupire hipotezu da stvaranje i metabolizam cistatina-C kod trudnice i fetusa nisu povezani. Djelomičnu ulogu kod toga ima i duže vrijeme poluraspada cistatina-C u usporedbi s kreatininom. Vrijednosti vrlo slične našima utvrđuje i Finney sa suradnicima (43), koji je među prvima objavio referentne vrijednosti cistatina-C kod donošene novorođenčadi, ali je u izračunu obuhvatio dobno razdoblje od cijela 3 mjeseca nakon rođenja; medijan njihovog uzorka iznosi 1.37 (0.81 do 2.32) mg/l. Bökenkamp (60) navodi više vrijednosti cistatina-C za prva 3 dana života zajedno (1.64 do 2.59 mg/l), a jednako tako navodi više vrijednosti cistatina-C Harmoinen (62) za prvih 7 dana nakon rođenja zajedno (1.36 do 2.23 mg/l). Najbližnje rezultate našima navodi Bahar sa suradnicima (63)

u svojoj studiji s 98 donošene novorođenčadi, iz pupkovne krvi i jednako tako 3 dana nakon rođenja (1.36 ± 0.35 mg/l i 1.35 ± 0.33 mg/l). Studija Novo sa suradnicima (93) uključila je samo 21 donošene novorođenčadi, a vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi i jednako tako 3 dana nakon rođenja su više od naših (1.70 ± 0.26 mg/l i 1.51 ± 0.20 mg/l). Parvex sa suradnicima (94) kod 100 donošene novorođenčadi s PENIA metodom jednako tako utvrdila je više vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi (medijan 2.02 mg/l; rang 1.54 do 2.64), što je vrlo blizu našim preliminarno objavljenim rezultatima (95). Nešto niže vrijednosti od naših navodi Dorum (87), koji je određivao cistatin-C samo u pupkovnoj krvi kod 33 donošene novorođenčadi, uzetj tik iznad izlaska pupkovine iz posteljice, gdje je mogućnost miješanja s krvlju majke veća (1.21 ± 0.31 mg/l).

Razlike među spomenutim studijama tako su uvjetovane različitom veličinom uzorka, različitom dobi novorođenčadi, kao i različito strogim kriterijima za uključivanje, koji osiguravaju normalnu bubrežnu funkciju. I naši prethodno objavljeni rezultati iz 2006 na manjem uzorku i s manje strogim kriterijima te većim rasponom gestacijske dobi govore tome u prilog (95). Moguć je i utjecaj promjene nekog reagensa kod PENIA metode i zato niže vrijednosti cistatina-C u zadnjem promatranom razdoblju od 2008 do 2011, iako tvrtka Dade-Behring to ne potvrđuje.

Kako u našem istraživanju, tako i drugi prije spomenuti autori ne navode signifikantno niže vrijednosti cistatina-C 3 dana nakon rođenja u usporedbi s pupkovnom krvi. Izuzetak je Cataldi (96) koji u svojoj studiji navodi statistički karakterističan pad cistatina-C kod donošene novorođenčadi, od raspona vrijednosti 1.17 do 3.06 mg/l u pupkovnoj krvi na 0.75 do 2.70 mg/l u dobi od 3 dana nakon rođenja. Vidljiv je velik raspon vrijednosti, što je posljedica prelabavih kriterija; osim toga koristio je drugu metodu za određivanje cistatina-C, to je PETIA umjesto PENIA, što je korištena u našoj studiji i ostalim prije spomenutim.

Prosječna vrijednost kreatinina u pupkovnoj krvi u KS iznosi $62.74 \pm 12.84 \mu\text{mol/l}$ [RI 37.06 do 88.42 $\mu\text{mol/l}$]; a u dobi od 3 dana $50.22 \pm 15.23 \mu\text{mol/l}$ [RI 19.76 do 80.68 $\mu\text{mol/l}$].

Vrijednosti su u normalnim granicama za zdravo donošeno novorođenče (42,43). Razlika između vrijednosti kreatinina u pupkovnoj krvi i 3 dana nakon rođenja je statistički značajna, što potvrđuje već poznata činjenica da majčin kreatinin prolazi kroz posteljicu i utječe na novorođenčeve vrijednosti u pupkovnoj krvi, a nakon 3 dana vrijednost kreatinina već bolje odražava bubrežnu funkciju novorođenčeta zbog kratkog razdoblja poluraspada kreatinina. Veliki raspon vrijednosti kreatinina kod novorođenčeta u prvim danima nakon rođenja utvrđuju i drugi autori (43,60,62,97). Među njima je često citiran Schwartz, koji je također izradio formulu za izračun GFR za sva dobna razdoblja kod djece (42). Po mišljenju Feldmana i Guinarda velik je raspon vrijednosti kreatinina posljedica ne samo transplacentarnog prijenosa kreatinina, nego djelomično i nezrelosti tubularne membrane i resorpcije kreatinina u proksimalnim tubulima izraženije kod nedonoščadi, kao i tubularne sekrecije, osobito u uvjetima snižene GFR, također kod asfiktične novorođenčadi (90,91).

Za razliku od kreatinina, Cistatin-C ne prolazi kroz posteljicu i njegove vrijednosti odražavaju samo novorođenčev GFR, jer su mamine vrijednosti niže od novorođenčevih i međusobno ne koreliraju (65,93,96,98). Fell utvrđuje slično, naime da neonatalni bubrezi ne retiniraju niskomolekularne proteine kao što je cistatin-C, što je posljedica veće permeabilnosti novorođenčeve bazalne membrane bubrežnih glomerula (92).

Vrijednosti cistatina-C odražavaju dozrijevanje bubrežne funkcije već kod ploda i također kod novorođenčeta. Utjecaj spola, gestacijske dobi i tjelesne težine na vrijednost cistatina C i kreatinina u našoj studiji zavisi od veličine uzorka. Pokazalo se da vrijednosti cistatina-

C ne ovise od gestacijske dobi, a naznačen je utjecaj spola i porođajne težine. Kada radimo izračun s većim brojem ispitanika ($n = 150$) gubi se utjecaj porođajne težine na cistatin-C-3 i spola na vrijednosti cistatina-C-umb. Na vrijednost kreatinina promjenjivo utječu obzirom na veličinu uzorka tjelesna težina i spol djeteta, a ne gestacijska dob. Kod izjednačavanja u odnosu na spol, gestacijsku dob i porođajnu težinu se vrijednosti Cistatina-C ne razlikuju značajno, što je u skladu s prethodno objavljenim rezultatima (40,43,60,63,87).

Hiperbilirubinemija često je prisutna u ranom neonatalnom razdoblju, no u našoj se studiji ne vidi značajan utjecaj bilirubina na vrijednost cistatina-C. Slično utvrđuju i drugi autori (63,87,99), dok Bökenkamp prije njih navodi blagi porast cistatina-C kod novorođenčadi sa žuticom (60). Iako je poznato da vrijednosti kreatinina određene po Jaffe metodi češće interferiraju sa stanjima kao što su hiperbilirubinemija, hipertrigliceridemija, hemoliza i prisutnost ketonskih tjelešaca u krvi, to zaključci naše studije ne pokazuju. Novije enzimске metode određivanja serumskog kreatinina imaju manje interferencija s tim stanjima (100).

Suprotno tome pokazao se utjecaj vrijednosti hemoglobina, koji u našoj studiji u univariatnoj analizi izrazito pozitivno korelira s vrijednošću cistatina-C, a manje s kreatininom, što je vjerojatno posljedica analitičke interferencije i hemolize za vrijeme procesa prikupljanja i obrade vrlo malih uzoraka krvi kod novorođenčadi. Slično zaključuju i neki drugi autori (42,43). Za razliku od toga Armangil (66) u svojoj studiji kod 108 nedonošćadi ne utvrđuje utjecaj hemoglobina na vrijednosti cistatina-C, iako je opisan isti postupak i metoda određivanja. Utjecaj hemoglobina se gubi i u našoj studiji po

upotrebi metode linearne regresije, a rezultati su opet promjenljivi obzirom na različiti broj uključenih.

Takuwa sa suradnicima navodi da prerenalni čimbenici ne utječu na vrijednosti cistatina-C, nego samo na vrijednosti kreatinina, koje porastu u slučaju dehidracije (101). Naši podaci pokazuju da u KS nema statistički značajne razlike između vrijednosti cistatina-C ili kreatinina u pupkovnoj krvi i 3 dana nakon rođenja u odnosu na % gubitka tjelesne težine i s time stupanj dehidracije u prva 3 dana nakon rođenja. Gubitak tjelesne težine do 10 % nakon rođenja kod donošene je novorođenčadi fiziološki, kod nas je KS u svim slučajevima bila u fiziološkim granicama i nije pokazivala nikakvu korelaciju s vrijednošću cistatina-C niti kreatinina 3 dana nakon rođenja. Slično u svojoj studiji kod nedonošćadi utvrđuje i Armangil sa suradnicima (66).

Nedavna studija Bökenkampa sa suradnicima kod djece je pokazala dugoročni utjecaj kortikosteroidne terapije u trudnoći na povišene vrijednosti cistatina-C kasnije u djetinjstvu, u usporedbi s kontrolnom skupinom (102). Zang je s proučavanjem životinjskog modela utvrdio da je izloženost kortikosteroidima u vrijeme brzog rasta bubrega povezana s porastom krvnog tlaka, koji nije samo posljedica redukcije broja nefrona (103).

Demarini je kod nedonošćadi već u prvih 24 sata izmjerio signifikantno više vrijednosti krvnog tlaka kod onih, koji su prenatalno primili steroide (104). To je najvjerojatnije posljedica aktivacije sistema renin-angiotensin (RAS), što uzrokuje podizanje krvnog tlaka i pojačava osjetljivost baroreceptora. Druge su studije pokazale povezivanje između hipertenzije kod dojenčadi i kasnije hipertenzije kod adolescenata (105).

Slične nepravilnosti metabolizma, kao podloga patofiziološkog događanja, uočene su i kod donošene nedostaščadi, bez obzira na korištenje steroida u trudnoći (106).

Naši rezultati nisu pokazali nikakvu razliku u vrijednosti cistatina-C, niti kreatinina nakon rođenja u odnosu na prethodnu terapiju s kortikosteroidima u trudnoći, vjerojatno zbog premalog udjela te novorođenčadi u svim skupinama (6/150 ili 4 % svih). Kod 9/150 novorođenčadi (6 % svih), od tih 8 iz SFD skupine, registrirali smo prosječna mjerenja dijastolnog krvnog tlaka u hipertenzivnom području u odnosu na normative za prvih 24 sata nakon rođenja, bez povezivanja s prethodnom kortikosteroidnom terapijom.

Registrirali smo i utjecaj EPH gestoze i arterijske hipertenzije u trudnoći (17/150 ili 11.3 % svih) na povećanje vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi. Metil-dopa je jedina dozvoljena AHT u trudnoći, jer najmanje prolazi kroz posteljicu, ali se već pokazuje utjecaj na bubrežnu funkciju kod novorođenčeta, preko suptilnih mehanizama reguliranja perfuzijskog tlaka u bubrežima. Nije se pokazao utjecaj EPH i arterijske hipertenzije na vrijednosti kreatinina, ako uzmemo u obzir zajedno sve 3 skupine novorođenčadi.

Infekcije u trudnoći i terapija antibioticima (16/150 ili 10.6 % svih; većinom uroinfekata ili lakših sistemskih zaraza), GDM (7/150 ili 4.6 % svih) i druge bolesti te terapija ne pokazuju nikakav utjecaj na vrijednosti obaju markera bubrežne funkcije nakon rođenja.

Zanimljiva je nedavna studija švedskih autora, koja je proučavala intergeneracijski utjecaj na vrijednosti cistatina-C unutar iste obitelji kod 425 parova u srodstvu. Utvrdili su da je niže obrazovanje majki povezano s višim vrijednostima cistatina-C kod njihove djece; utjecaj očevih čimbenika je manji i beznačajan (107). Rezultati našeg istraživanja također ukazuju na to da novorođenčad majki s nižim obrazovanjem ima više vrijednosti cistatina-C, ali razlika nije statistički značajna. Pri tome glavnu ulogu igra utjecaj rizičnih životnih navika, koje već intrauterino štetno djeluju na razvoj ploda, a s godinama nakon rođenja

njihov se štetni učinak zbraja (npr. pušenje u trudnoći ili kasnije). Podatak o pušenju u našem se istraživanju pokazao kao nevjerodostojan, jer su ga trudnice u velikoj mjeri prikrivale, pa ga nisam obrađivala.

U odnosu na paritete odskače veći broj prvotkinja u skupini novorođenčadi s hipoksijom/asfiksijom. Prvotkinje obično duže vrijeme rađaju u usporedbi s onima koje su već rodile i zato imaju češće komplikacije kao što su zastoj u rađanju, dovršenje poroda vakumskom ekstrakcijom ili urgentnim carskim rezom i posljedično i češću perinatalnu hipoksiju/asfiksiju. U našem istraživanju utvrđen je veći rizik od hipoksije kod prvotkinja (OR = 2.6; 95%CI: 1.1-6.1; p = 0.031) u usporedbi s višerotkinjama. Novorođenčad prvotkinja ima statistički značajno više vrijednosti kreatinina u pupkovnoj krvi, što odražava povišene vrijednosti majke, najvjerojatnije povezano s dugotrajnošću poroda i lošijom hidracijom roditelje. Na vrijednosti cistatina-C paritet nema nikakav utjecaj.

U odnosu načina poroda postoje razlike, jer su porodi s vakumskom ekstrakcijom posljedica patologije za vrijeme poroda i potrebe za brzim završetkom zbog registrirane hipoksije kod ploda (patološki CTG, acidoza ploda), zato su prisutni samo u skupini novorođenčadi s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom. Vrijednosti obaju markera bubrežne funkcije u ovoj su skupini signifikantno više u usporedbi s kontrolnom skupinom. Način poroda carskim rezom u usporedbi sa spontanom porodom u odnosu na vrijednosti obaju pokazatelja bubrežne funkcije kod novorođenčeta u našem istraživanju ne pokazuje razliku.

6.2. USPOREDBA VRIJEDNOSTI CISTATINA-C I KREATININA KOD HIPOKSIČNO-ASFIKTIČNE NOVOROĐENČADI

Akutno oštećenje bubrega (AOB) česta je posljedica perinatalne asfiksije, jer pogađa čak do 56% asfiktične novorođenčadi, ovisno o težini asfiksije. Velika poteškoća još je uvijek nesuglasje u odnosu na definicije AOB kod novorođenčadi, što je posljedica nedostatka specifičnog biokemijskog markera bubrežne funkcije prikladnog za tu populaciju. Nisam našla studiju, koja bi cjelovitije prikazala problem, zbog nejedinstvenih kriterija za asfiksiju i AOB, a u manjim studijama usporedba s našim rezultatima nije moguća. Našla sam 3 manje prospektivne studije parova, u kojima se utvrđivala incidencija AOB kod asfiktične novorođenčadi s Apgarom ≤ 6 u 5. minuti. Kod svih je definirana AOB u odnosu na vrijednost kreatinina >1.5 mg/dl ($132 \mu\text{mol/l}$).

Karlowicz i Adelman su kod 33 donošene novorođenčadi u teško asfiktičnoj skupini utvrđivali incidenciju AOB u 61 %, a isto tako kod 33 u umjereno asfiktičnoj skupini 0 % (108). Aggarwal sa suradnicima je kod 25 asfiktično novorođenih s ≥ 34 tjedana gestacije utvrdio 56 % incidenciju AOB, a u kontrolnoj skupini 4 % (23). U studiji Gupte sa suradnicima incidencija AOB bila je kod 75 asfiktičnih novorođenčadi 47 %, a u kontrolnoj 0 % (109).

Kaur sa suradnicima (110) u nedavnoj je prospektivnoj studiji utvrđivao incidenciju asfiksija kod 20/1000 novorođenčadi, pri čemu je kao glavni kriterij uzeo u obzir jedino Apgar ocjenu nakon 1. minute (< 7 za umjerenu i < 3 za tešku asfiksiju). Između ukupno 36 asfiktične novorođenčadi AOB je razvilo 41% svih (9.1 % u skupini s umjerenom asfiksijom i 56 % u skupini s teškim oblikom asfiksije), pri čemu je uzeo u obzir AKIN kriterije (Acute Kidney Injury Network). AKIN kriterije, koji se također baziraju na svakodnevnoj dinamici vrijednosti serumskog kreatinina (porast > 0.3 mg/dl za I. stupanj i

> 0.5 mg/dl za II. i III. stupanj) te mjerenju diureze, predlagalo je međunarodno udruženje stručnjaka s područja intenzivne terapije i nefrologije (111).

U odnosu na to, da je kod nas incidencija težjih asfiksija najviše 1/1000, željela sam proučiti bubrežnu funkciju kod onih s blagom do umjerenom hipoksijom/asfiksijom. Otpusnu dijagnozu lakša do umjerena asfiksija kod nas dobije 5/1000 novorođenčadi godišnje, zato su u ispitivanu skupinu hipoksija/asfiksija uključena i novorođenčad s otpusnom dijagnozom perinatalne hipoksije. Niti jedno novorođenče u ispitivanoj skupini s hipoksijom/asfiksijom nakon 3 dana nije postiglo vrijednosti kreatinin > 1.5 mg/dl (132 μ mol/l), što su autori u prije spomenutim studijama navodili kao kriterij za AOB. Jednako tako nismo registrirali u sklopu toga porast vrijednosti obaju pokazatelja bubrežne funkcije (1. ili 2. dan), jer su uzimanja u međuvremenu obavljena samo izuzetno u slučaju težeg kliničkog tijeka i nije moguća usporedba s KS, zato te rezultate nisam uključila u obradu podataka.

Kreatinin nije prikladan pokazatelj bubrežne funkcije prvih dana nakon rođenja iz više razloga: prije svega jer reflektira matine vrijednosti sve do 72 sata nakon rođenja i nije osjetljiv na promjene gubitka bubrežne funkcije sve do sniženja GFR za 25 – 50 %. Velika varijabilnost omjera GFR/kreatinin nakon rođenja više je posljedica adaptacije bubrežne funkcije na ekstrauterini život te je i u normalnim uvjetima povezana s prolaznim porastom vrijednosti prvih dana nakon rođenja zbog već spomenute tubularne resorpcije (14,16).

Samo pH i BE u pupkovnoj krvi i Agpar ocjena nije mjerilo za težinu hipoksije/asfiksije, stoga sam njenu težinu ocjenjivala bilježenjem kardiocirkulatorne nestabilnosti (KCN), mjerenjem diureze, neurološkom ocjenom HIE i smetnjama djelovanja drugih organa (SDDO) tijekom prva 3 dana nakon rođenja.

Željela sam utvrditi korelira li vrijednost cistatina-C iz pupkovne krvi kod asfiktične novorođenčadi s težinom asfiksije i dali je visina vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi također pokazatelj perinatalne hipoksije/asfiksije.

Usporedba srednjih vrijednosti oba pokazatelja bubrežne funkcije u odnosu na parametre, koji određuju težinu hipoksije/asfiksije pokazala je da više vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi ima ona novorođenčad, koja pokazuje znake KCN, koja je oligurična, sa znacima HIE i znacima SDDO, dok nema statistički značajne razlike u odnosu na različita mjerenja krvnog tlaka, niti razlike po spolu.

U odnosu na iste promatrane parametre više vrijednosti kreatinina u pupkovnoj krvi ima samo novorođenčad koja je oligurična i sa SDDO, a nema nikakve razlike u odnosu na znakove KCN, znakove HIE i različita mjerenja krvnog tlaka, a također nema razlike po spolu.

Korelacija po Pearsonu pokazuje da u pupkovnoj krvi samo cistatin-C statistički značajno korelira s pH i BE, a kreatinin ne. Korelacija s Apgar ocjenom nakon 1. minute također je bolja za cistatin-C, a u 5. minuti nema razlike između cistatina-C i kreatinina. Vrijeme prve diureze također signifikantno korelira s cistatinom-C, a korelacija s kreatininom je mala.

Iz opisanog je vidljivo da se vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi bitno bolje povezuju s čimbenicima koji određuju težinu hipoksije/asfiksije nego vrijednosti kreatinina.

S metodom multiple linearne regresije u ispitivanoj sam skupini s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom utvrđivala uzročnu povezanost između oba pokazatelja bubrežne funkcije i čimbenika koji određuju težinu hipoksije/ asfiksije, pri čemu veći broj utvrđenih čimbenika znači težu hipoksiju/asfiksiju.

Utvrдила sam statistički značajnu negativnu povezanost između cistatina-C u pupkovnoj krvi i BE, a pozitivnu sa dobi u vrijeme 1. diureze i KCN .

S cistatinom-C 3 dana nakon rođenja statistički su značajno pozitivno povezani KCN, oligurija i SDDO .

Statistički značajan negativan utjecaj na kreatinin u pupkovnoj krvi ima samo Apgar ocjena nakon 5 minuta, a pozitivni SDDO. Na kreatinin 3 dana nakon rođenja statistički značajno negativno utječe BE, a pozitivno oligurija. S ostalim varijablama nisem utvrдила statistički značajnu povezanost.

Ova metoda pokazuje nešto manju povezanost obaju pokazatelja bubrežne funkcije s čimbenicima koji određuju hipoksiju/asfiksiju kao korelaciju po Pearsonu, no ipak se cistatin-C povezuje s više čimbenika nego kreatinin.

Kardiocirkulatorna nestabilnost podloga je patofiziološkog događanja u razvoju postasfiktčne AOB. U našem slučaju KCN je povezana s porastom vrijednosti cistatina-C za 49 %, a kreatinina samo za 5 %.

Oligurija je u našem istraživanju pozitivno povezana s oba pokazatelja bubrežne funkcije, no ipak je poznato da je AOB kod asfiktčnog novorođenčeta često ne-oliguričan (diureza > 1ml/kg/h) unatoč težem oštećenju bubrega. Karlowicz utvrđuje da je stupanj smrtnosti veći kod oliguričnih oblika postasfiktčne AOB (11). Isto smatra i Agras, jer je oligurija kasna posljedica oštećenja bubrega (112).

U našem istraživanju kod oligurične novorođenčadi vrijednosti cistatina-C više su za 31 % već u pupkovnoj krvi, a kreatinina za 13 %.

Kod teže asfiktične novorođenčadi sa znacima HIE češće je i oštećenje bubrega u usporedbi s blažim oblikom asfiksije. Aggarwal smatra da Apgar u 5. minuti ≤ 6 i znaci HIE bolje najavljuju stupanj oštećenja bubrega nego sam kreatinin ili urinski $\beta 2$ mikroglobulin (23).

U našem istraživanju u skupini s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom 11 novorođenčadi imalo je znake HIE, od toga većina 1. stupnja po Sarnat-u, a samo u 2 slučaja bile su prisutne i patološke EEG promjene, ali bez klinički izražene konvulzivne simptomatike. Niti jedno od novorođenčadi uključene u istraživanu skupinu nakon perinatalne hipoksije/asfiksije nije ispunjavalo kriterije za liječenje HIE s hipotermijom, što također ukazuje na to da se radilo o blagom obliku HIE i prema predviđanjima o blagom obliku bubrežne disfunkcije.

Unatoč tome kod novorođenčadi sa znacima HIE vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi više su čak za 37 %; a vrijednost kreatinina ne pokazuje nikakvu razliku, što je u skladu sa zaključcima Aggarwal-a za kreatinin, no on nije radio usporedbe za cistatin-C (23).

Kod SDDO pokazalo se obrnuto, tamo su u pupkovnoj krvi bile više vrijednosti kreatinina za 23 %, a cistatina-C za 19 % u usporedbi s onima, koji nisu razvili znakove SDDO. Ta kategorija varijable je najheterogenija, i zato postoji veća mogućnost utjecaja različitih čimbenika na pojavu kliničkih simptoma.

Prisutnost multiorganskog otkazivanja najavljuje loš ishod kod novorođenčadi s AOB i iz drugih razloga, a ne samo zbog asfiksije (11,22). Takvu novorođenčad u našem istraživanju

nismo obuhvatili; većinom smo utvrđivali klinički blaže i prolazne smetnje djelovanja drugih organa, što ih obično opisujemo kao smetnje prilagodbe.

Cistatin-C se pokazao kao dobar dijagnostični marker oštećenja bubrega u prva 3 dana nakon rođenja, za razliku od kreatinina, koji je u tom razdoblju neprikladan. To dokazuje i izračun prognoza za oba pokazatelja bubrežne funkcije uz istu specifičnost 96 % u odnosu na graničnu vrijednost (cut-off) > 2SD iznad prosječne vrijednosti u KS za svaku varijablu (za cistatin-C-umb 1.77 mg/l; za cistatin-C-3 1.76 mg/l; za kreatinin-umb 88.42 μ mol/l; a za kreatinin-3 80.68 μ mol/l).

PPV, NPV i senzitivnost su za cistatin-C-umb (95 %, 80 % i 76 %), za cistatin-C-3 (88 %, 57 % i 30 %), za kreatinin-umb (71 %, 51 % i 10 %) i za kreatinin-3 (77 %, 52 % i 14 %).

AUC površina dijagnostičke učinkovitosti proučavanih biomarkera kao prediktora AOB u povezivanju s težinom hipoksije/asfiksije je kako slijedi: 0.918 za cistatin-C-umb; 0.698 za cistatin-C-3; 0.692 za kreatinin-umb te 0.660 za kreatinin-3.

Svi izračuni prognoza govore u korist cistatina-C u pupkovnoj krvi kao najboljeg pokazatelja, što potvrđuje moju hipotezu da vrijednost cistatina-C iz pupkovne krvi kod asfiktične novorođenčadi korelira s težinom asfiksije i da je visina vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi također pokazatelj perinatalne hipoksije/asfiksije, kao i umanjane glomerulne filtracije.

Željela sam dokazati da su vrijednosti cistatina-C u ispitivanoj skupini statistički znakovito više nego u kontrolnoj skupini, a brzina smanjivanja vrijednosti cistatina-C u prva tri dana niža nego u kontrolnoj skupini.

U odnosu na to da se vrijednosti cistatina-C kod novorođenčadi s blagim stupnjem hipoksije/asfiksije nakon 3 dana već statistički značajno snižavaju, ne mogu se očekivati kronične posljedice bubrežne disfunkcije, što je u skladu s rezultatima Karłowicz-a, koji ne utvrđuje niti jedan slučaj AOB u skupini umjereno asfiktične novorođenčadi (11). Našla sam samo nekolicinu starijih podataka o kroničnom oštećenju bubrega kod 40 % pacijenata, koji su imali AOB u razdoblju novorođenčeta (12,13).

Druge studije pokazuju povoljnije rezultate, ali samo u odnosu na vrijednosti kreatinina i utvrđuju normalne vrijednosti kreatinina u dobi od 6 tjedana, a kod nekih već 1 tjedan nakon rođenja (113,114). Kaur je utvrdio da se većini novorođenčadi s AOB nakon perinatalne hipoksije/asfiksije vrijednosti kreatinina brzo normaliziraju i postižu normalne vrijednosti kreatininskog klirensa (KK) već 72 do 96 sati nakon rođenja. Redukcija broja funkcionalnih nefrona kod AOB uzrokovane perinatalnom hipoksijom/asfiksijom vodi u hipertrofiju preostalih nefrona i posljedično poboljšanje GFR (109).

Rezultati naše studije pokazali su istu brzinu padanja kreatinina u ispitivanoj skupini novorođenčadi nakon perinatalne hipoksije/asfiksije u usporedbi s KS u prva 3 dana nakon rođenja u odnosu na vrijednosti u pupkovnoj krvi (33 % versus 34 %), no ipak su prosječne vrijednosti kreatinina signifikantno više u ispitivanoj skupini novorođenčadi nakon perinatalne hipoksije/asfiksije u odnosu na KS, kako u pupkovnoj krvi tako i 3 dana nakon rođenja.

Brojni podaci kod veće djece i odraslih pokazuju da akutno bubrežno oštećenje često vodi u kronično, pa se preporučuje dugoročno praćenje bubrežne funkcije kod sve novorođenčadi koja je preživjela AOB (16).

Bilo bi potrebno duže praćenje bubrežne funkcije kod sve one novorođenčadi sa znacima hipoksije/asfiksije prilikom rođenja, gdje je 3 dana nakon rođenja došlo do porasta cistatina-C ili kreatinina u odnosu na vrijednosti u pupkovnoj krvi. U našoj ispitivanoj skupini novorođenčadi nakon hipoksije/asfiksije samo kod 5/50 novorođenčadi (10%) registrirali smo porast cistatina-C-3 u odnosu na cistatin-C-umb: 2 su imala nizak Apgar \leq 6 u 5. minuti; kod 2 su bili prisutni znaci KCN; kod 3 oligurija; kod 2 znaci HIE; a kod 3 znaci SDDO ; svi su imali 2 ili više dodatnih znakova za asfiksiju. Kod nikoga od njih nije porasao kreatinin-3 u odnosu na kreatinin-umb, zato nije bio ispunjen niti drugi kriterij AKIN za AOB (porast serumskog kreatinina u odnosu na prvu vrijednost > 0.3 mg/dl ili > 26 μ mol/l).

U KS je vrijednost cistatina-3 češće, ali ipak minimalno viša od cistatina-C-umb (21/50 slučajeva) u usporedbi s ispitivanom skupinom, no ipak je riječ o uobičajenim oscilacijama vrijednosti u kratkom vremenskom intervalu od 3 dana. Prosječne vrijednosti cistatina-C nakon 3 dana unutar KS nesignifikantno su niže za 6 % u usporedbi s 38 % u ispitivanoj skupini nakon perinatalne hipoksije/asfiksije, no ipak nitko u KS nije imao pridružene kliničke ili laboratorijske znakove za asfiksiju.

Naši rezultati su u skladu s rezultatima Sarafidisa, koji također nijer registrirao porast vrijednosti cistatina-C kod asfiktične novorođenčadi 3 dana nakon rođenja u odnosu na 1. dan nakon rođenja, niti u slučaju pogoršanja bubrežne funkcije (115).

Sarafidis je u odnosu na zaključke nedavne studije preporučio urinske biomarkere za praćenje oštećenja bubrega kod one asfiktične novorođenčadi, koja je imala povišene vrijednosti serumskog cistatina-C 1. dan nakon rođenja. AUC površine dijagnostičke učinkovitosti biomarkera kao ranih prediktora AOB u njegovoj studiji su: 0.73 za serumski

cistatin-C; 0.94 za serumski NGAL; 0.92 za urinski cistatin-C; 0.89 za urinski NGAL i 0.60 za urinski KIM-1. U njegovom istraživanju bilo je obuhvaćeno samo 13 asfiktične donošene novorođenčadi, od kojih je 8 ispunjavalo kriterije AOB u odnosu na vrijednosti kreatinina i 22 zdrave novorođenčadi u kontrolnoj skupini. Kod vrednovanja njegovih rezultata mali uzorak predstavlja glavni nedostatak.

U usporedbi s njegovim rezultatima u našem istraživanju serumski cistatin-C-umb ima još veću dijagnostičku učinkovitost u odnosu na AUC površinu (0.73 versus 0.91), ali je Sarafidis radio izračun u odnosu na mjerenja cistatina-C u dobi 1 dan nakon rođenja i ne u pupkovnoj krvi. Izgleda da se prognostička vrijednost serumskog cistatina-C kao ranog prediktora oštećenja bubrega smanjuje sa svakim danom od hipoksično/asfiktičnog oštećenja.

Urinski biomarkeri više ukazuju na stupanj oštećenja tubula nakon asfiksije, što nije uvijek povezano sa stupnjem AOB, a to objašnjava manju senzitivnost serumskog cistatina-C. Početna glomerulna disfunkcija popravljiva se brže nego tubularno oštećenje, što vodi do pada vrijednosti serumskog cistatina-C i porasta urinskog cistatina-C. Cistatin-C u urinu u našoj studiji nismo određivali, što se pokazalo kao nedostatak.

Također su rezultati istraživanja na životinjskom modelu potvrdili da se GFR nakon asfiksije normalizira već nakon 3 dana i da su tubuli primarno mjesto oštećenja (116,117). Najranjiviji za oštećenja te vrste je S₃ segment proksimalnih tubula u vanjskom dijelu medule (118).

Serumski kreatinin pokazao se kao neprikladan pokazatelj bubrežne funkcije prva 3 dana nakon rođenja nakon hipoksičnog oštećenja bubrega, jer ne otkriva one sa smanjenjem GFR ispod 25 – 50%. Cistatin-C, za razliku od kreatinina, registrira već blagi oblik glomerulne disfunkcije, pa su zato posebno u neonatalnom razdoblju u svakodnevnoj kliničkoj praksi potrebne nove definicije AOB na bazi cistatina-C.

6.3. VRIJEDNOSTI CISTATINA-C I KREATININA KOD NEDOSTAŠĆADI U ODNOSU NA EUTROFIČKU NOVOROĐENČAD I NJIHOVA USPOREDBA SA ZAPREMINOM BUBREGA

Koliko je meni poznato, to je prva studija što uspoređuje funkciju bubrega kod novorođenčadi u odnosu na vrijednosti kreatinina i cistatina-C s njihovom 3DUZ zapreminom bubrega.

Povezivanje niske porođajne težine i bubrežne disfunkcije i klinički značaj broja nefrona za funkciju bubrega kod čovjeka među posljednjima su u preglednom članku opisali Luyckx i Brenner (119). Anatomska mjerenja novorođenčeta, djeteta i odraslog čovjeka pokazuju korelaciju između niske porođajne težine i broja nefrona. Masa bubrega i s time broj nefrona može se mjeriti samo „*ex vivo*“. Utvrđeno je da je izmjerjeni volumen bubrega prikladan kao „*in vivo*“ nadomjestak za broj nefrona, jer je u omjeru s masom bubrega i time i sa brojem nefrona (120). Schmidt sa suradnicima ultrazvučno je mjerio veličinu bubrega prilikom rođenja i njihov rast nakon rođenja u dobi od 3 i 18 mjeseci kod nedonošćadi i nedostašćadi i usporedio ih s eutrofičnom novorođenčadi. Utvrdio je da porođajna težina u odnosu na gestacijsku dob korelira u sva 3 stupnja starosti s volumenom bubrega (29).

Blagi „catch up“ u rastu bubrega zamijetili su samo u skupini nedostašćadi, a ne u skupini nedonošćadi. U usporedbi s asimetričnom nedostašćadi kod simetrične nedostašćadi „catch up“ je izrazitiji već u dobi od 3 do 24 mjeseci (35). Ultrazvučno manje bubrege kod djece rođene s niskom porođajnom težinom izmjerio je i Spencer u istraživanju kod australskih Aborigina (28). Slično navodi Rakow sa suradnicima kod djece u dobi od 9 do 12 godina, koja su rođena kao nedonošćad ili kao nedostašćad, da je volumen bubrega manji kod onih, koji su bili istovremeno nedonošćad i nedostašćad u usporedbi s

kontrolnom skupinom. Razlika postaje statistički beznačajna ako se volumen bubrega usporedi s porođajnom težinom prilagođenom u odnosu na tjelesnu površinu (121).

Ispitanici iz skupine nedostašćadi u našem istraživanju imaju sve bubrežne mjere i volumene statistički značajno manje nego u KS. U slučaju izjednačenja ukupnog volumena bubrega u odnosu na porođajnu težinu i u odnosu na tjelesnu površinu, razlika između skupina više nije statistički značajna. Nakon izjednačavanja volumena u odnosu na porođajnu dužinu i ponderalni indeks, koji u svom izračunu također uključuje porođajnu dužinu, razlika ostaje statistički značajna. Iz toga možemo zaključiti da porođajna dužina ima veći utjecaj na volumen bubrega nego porođajna težina.

U literaturi nisam naišla na studije, koje govore o mjerenju 3D volumena bubrega kod novorođenčeta. U svim prije spomenutim istraživanjima volumen bubrega kod djece izračunan je prema poznatoj formuli za elipsu. Riccabona u svojoj usporedbenoj studiji kod djece navodi prednosti 3D u odnosu na 2D UZ pretragu bubrega, jer omogućava preciznija mjerenja volumena, bolji prikaz patoloških promjena, kao i kraće trajanje pretrage i bolje uvjete za standardizaciju ponavljanja pretrage (122). Jednako tako Oswald sa suradnicima utvrđuje da je 3D volumetrija kod djece primjerena za praćenje rasta bubrega i s time bubrežne funkcije. Glavni prediktori bubrežnog volumena kod djece su dob i tjelesna težina (123). Budući da sam sama obavila sva UZ mjerenja bubrega, ne slažem se s mišljenjem moga učitelja ultrazvuka Riccabone u odnosu na vrijeme potrebno za pretragu, jer je za 3D pretragu potrebno 3 puta više vremena nego za 2D, ako pribrojimo i vrijeme za obradu slike.

U našem istraživanju samo 3D volumen statistički značajno korelira s cistatinom-C u pupkovnoj krvi, a ne s kreatininom u pupkovnoj krvi, dok 2D volumen bubrega ne

pokazuje korelaciju s niti jednom od spomenute dvije pretrage. Tri dana nakon rođenja situacija je obrnuta: s oba izmjerena volumena bubrega bolje korelira kreatinin, bez bitne razlike između 3DUZ i 2DUZ metoda. Nešto bolja je korelacija između cistatina-C-3 i relativnih 3D volumena u odnosu na PI i BSA, no ipak u univarijatnoj analizi sve poveznice spadaju u kategoriju slabih veza s $r < 0,3$. Iz toga se ne može zaključiti koja je UZ metoda u našoj studiji preciznija.

Studija, koje bi povezivale volumen bubrega kod novorođenčeta i funkciju bubrega je malo. Puchner u svojoj longitudinalnoj studiji utvrđuje signifikantno niže vrijednosti cistatina-C kod hipotrofičnih fetusa i također kod nedostašćadi 1. i 4. dana nakon rođenja u usporedbi s eutrofičnom skupinom, ali nije mjerio volumene bubrega. Za tu tvrdnju navodi 2 moguća razloga: već spomenutu hiperfiltraciju i s tim veću GFR, a s druge strane smanjenu produkciju cistatina-C u uvjetima kronične hipoksije i smanjene sinteze proteina (67).

U suprotnosti s njim su rezultati našeg istraživanja, koji pokazuju nešto više vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi i 3 dana nakon rođenja kod nedostašćadi u usporedbi s eutrofičnim KS, ali razlika nije statistički značajna. Slično vrijedi za utvrđene vrijednosti kreatinina. Ako uzmemo u obzir $PI < 2.41$, koji ukazuje na asimetrični zastoje u rastu i posljedično manji volumen bubrega, dobijemo 2 podskupine s 25 novorođenčadi u svakoj. Između podskupina ne zamjećujemo značajne razlike za niti jednu promatranu varijablu bubrežne funkcije. Razlog je vjerojatno u premalom uzorku u svakoj podskupini u odnosu na veličinu razlika u volumenu bubrega.

Problem je u tome da s ultrazvučnim praćenjem rasta bubrega nije moguće razlikovati između normalnog rasta u odnosu na dob i hipertrofiju glomerula.

Zang je proučavao polimorfizam gena PAX2 i RET, od kojih su oba umiješana u nefrogenezu i povezana s blagom hipoplazijom bubrega. Utvrdio je da smanjenje bubrežnog volumena za 10% vodi u povećanje vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi za 9%. Zanimljivo je da sam i u našem istraživanju dobila gotovo identične rezultate. Izračun pokazuje da redukcija volumena bubrega za 10% jednako tako vodi u porast cistatina-C u pupkovnoj krvi za 9.3 %. Sama nisam određivala genski polimorfizam. Iz toga možemo zaključiti da je za smanjenu funkciju bubrega ključan smanjeni broj nefrona, bez obzira na genetsku pretragu.

Broj nefrona je niži kod osoba s hipertenzijom u usporedbi s normotenzivnim. Utvrđena je signifikantna povezanost između porođajne težine, broja glomerula i krvnim pritiskom u kasnijoj dobi. Manji broj i veći volumen glomerula koreliraju s višim sistolnim krvnim tlakom kod Aborigina u svim dobnih razdobljima, od 4. godine dalje (124).

Brojne studije potvrđuju povezanost između niske porođajne težine i kasnijim razvojem hipertenzije (119,125,126,127).

Krvni tlak je viši kod onih, koji su rođeni s niskom porođajnom težinom i brže dobivaju na težini u ranom postneontalnom razdoblju. Razlike u krvnom tlaku između obiju skupina sa starošću se povećavaju (128,129,130).

Hipoteza manjeg broja nefrona i hipertenzije temelji se na smanenoj sposobnosti u izlučivanju natrija. Na životinjskim modelima potvrđena je preosjetljivost na sol, koja zavisi ne samo od filtracijske površine glomerula nego i izmijenjene ekspresije prenositelja natrija ili modulacije sistema renin-angiotenzin-aldosteron (126).

Zanimalo me je da li se vrijednosti krvnog tlaka razlikuju već prvog dana nakon rođenja. U našem istraživanju se izmjerene prosječne vrijednosti krvnog tlaka ne razlikuju statistički značajno niti za jednu varijablu (KTs, KTd, KTm) u odnosu na usporedbu nedostaščadi i

KS eutrofične novorođenčadi. Odskače jedino veći udio novorođenčadi u skupini nedostašćadi (8/50) s prosječnim vrijednostima dijastolnog KT u hipertenzivnom području > 95. percentila u odnosu na neonatalne normative, dok u udjelu KTs > 95. percentila i KTm > 95. percentila nema statistički značajne razlike između nedostašćadi i eutrofične novorođenčadi.

Za razvoj hipertenzije potrebno je duže vrijeme nego što je utvrđeno u prije spomenutim studijama (119,125-127). Krvni tlak počne rasti već vrlo rano, iako još neko vrijeme ostaje unutar granica normalnih vrijednosti. Bila bi potrebna prospektivna studija na većem uzorku s mjerenjima krvnog tlaka već u novorođenačkom razdoblju, kako bismo mogli utvrditi koliko je vremena potrebno za razvoj hipertenzije kod nedostašćadi, kao posljedica kronične hipoksije u intrauterinom razdoblju. Postoje li osim spriječavanja prebrzog rasta tjelesne težine u ranom postneonatalnom razdoblju i druge preventivne mjere za smanjivanje štetnih dugoročnih posljedica kod nedostašćadi? Slične studije vezane uz novorođenčad nisam pronašla.

6.4. FORMULE ZA IZRAČUN GFR KOD NOVOROĐENČETA

Korelacija između kreatinina i cistatina-C u pupkovnoj krvi nije statistički značajna, no postane značajna 3 dana nakon rođenja, kada zbog kraćeg razdoblja poluraspada kreatinina opada utjecaj transplacentarno prenešenog maminog kreatinina i njegove tubularne resorpcije. Samo s usporedbom vrijednosti kreatinina i cistatina-C u serumu kod inače zdrave novorođenčadi nije moguće ocijeniti koji je bolji pokazatelj bubrežne funkcije kod novorođenčeta.

Brojne studije kod odraslih i djece uspoređuju vrijednosti cistatina-C i kreatinina s radioizotopnim klirens metodama ili klirensom kreatinina (KK), što kod novorođenčeta u kliničkoj praksi nije moguće izvesti iz više razloga. Neki su autori dokazivali prednosti Schwartzove formule i sličnih za izračun GFR pred cistatinom-C i cistatina-C pred kreatininom za otkrivanje blagog do umjerenog stupnja oštećenja bubrega. Većinom je korišten klirens inulina (IK) kao zlatni standard za određivanje GFR (45,62,63,65,74,75).

Grubb sa suradnicima smatra da jednostavna formula za izračun GFR na bazi cistatina-C u mg/l i prepubertetnog faktora može zamijeniti Schwartzovu i Counahan–Barratovu formulu kod djece (74).

Andersenova u preglednom članku iz 20 studija iz proteklih godina kod djece sažima da je serumski cistatin-C bolji pokazatelj GFR od kreatinina i bar ravnopravan s formulama na bazi kreatinina. Formule na bazi cistatina-C su bar ravnopravne s formulama na bazi kreatinina, ali ne mogu zamijeniti klirens metode (131). Bacchetta isto tako u nedavni studiji navodi koje se formule na bazi kreatinina i cistatina-C mogu koristiti u djece (132).

U Lundu u Švedskoj, gdje se određuje cistatin-C u kliničkoj praksi još od 1994.godine, razvijen je sistem kombiniranog izračuna GFR pomoću formula iz cistatina-C i posebno iz kreatinina. U slučaju poklapanja oba rezultata koristi se prosjek vrijednosti izračunane GFR. U suprotnom slučaju ponovno se prouče klinički podaci i mogući razlozi nepoklapanja (npr. nenormalna mišićna masa ili korištenje visokih doza kortikosteroida) te se odabere prikladniji od spomenuta dva. Ako nije moguće naći razlog za neslaganje, koriste se invazivne metode određivanja GFR. Za praćenje bubrežne funkcije kod istog pacijenta u slučaju preklapanja oba izračunana GFR koristi se samo kreatinin ili samo cistatin-C. Spomenuti se algoritam primjenjuje samo kod odraslih i veće djece (133).

U literaturi nisam naišla na niti jednu studiju koja bi kod donošenog novorođenčeta uspoređivala izračunane vrijednosti GFR po formulama na temelju kreatinina ili cistatina-C s klirens metodama kao zlatim standardom. Guignard navodi vrijednosti GFR kod donošenog novorođenčeta dobivene s klirensom inulina (IK) u visini $20 \text{ ml/min} \times 1.73 \text{ m}^2$, što se u prva 2 do 3 tjedna nakon rođenja već udvostruče te ih uspoređuje s kreatininom (1). Njegove vrijednosti izmjerene GFR nešto su niže od već poznatih na temelju KK kod novorođenčadi ($40 - 65 \text{ ml/min/1.73 m}^2$) (42).

Schreuder je u svojoj studiji određivao GFR pomoću klirensa amikacina i utvrdio signifikantnu korelaciju s porođajnom težinu i gestacijskom dobi kod novorođenčadi 1 dan nakon rođenja (134).

Montini je određivao GFR kod 20 liječene nedonošćadi pomoću inulina i usporedio vrijednosti cistatina-C i vrijednosti izračunane GFR pomoću kreatinina s dobivenim klirensom inulina. Utvrdio je da oni s smanjenom $\text{GFR} < 0.5 \text{ ml/min/kg}$ imaju vrijednosti cistatina-C $> 2 \text{ mg/l}$ i obrnuto, oni s normalnom $\text{GFR} > 0.5 \text{ ml/min/kg}$ imaju vrijednosti cistatina-C $< 2 \text{ mg/l}$ (135).

Schwartzova formula najviše je korištena za izračun GFR i kod novorođenčadi, no ona ne uzima u obzir utjecaj tjelesne težine i podcjenjuje ga. Kod veće djece se pokazalo da kreatinin i GRF pomoću Schwartzove formule lošije koreliraju s GFR na bazi klirensa kod sve pothranjene djece u usporedbi s normalno prehranjenom. To vrijedi i za novorođenčad s niskom mišićnom masom, zato cistatin-C ima prednost pred Schwartzovom formulom, jer nije potreban podatak u odnosu na dužinu i tjelesnu građu. Na bazi usporedbi više studija pokazalo se da kod djece vrijednosti GFR pomoću Schwartzove formule precjenjuju referentnu GFR za 6.9 % (overestimated), a kod novorođenčadi je zbog niske GFR podcjenjuju (132).

Do sada opisane formule na bazi cistatina-C još nisu bile testirane (validirane) kod novorođenčadi. Kod djece dosižu samo 30 – 40 % poklapanja s referentnom GFR, među njima se po mišljenju Andersenove najboljom pokazala Zappitelli-jeva formula (136,137). Prednost formule pred samo serumskom vrijednošću cistatina-C je i u tome da je dobivena vrijednost GFR izražena u ml/min/1.73 m².

U našem istraživanju usporedila sam 3 formule za izračun GFR na bazi cistatina-C (GFC) i do sada korištenu Schwartzovu formulu na bazi kreatinina (GFK). GFC-varijanta 1 je najjednostavnija (100/cistatin-C) i kod odraslih je ravnopravna s drugim formulama, koje se temelje na izračunavanju GFR pomoću cistatina-C (73). GFC-varijantu 2 (74.835/cistatin-C^{1/0.75}) koristila sam za usporedbu s jedinom studijom koju sam našla, a prikazuje izračunane vrijednosti GFR na bazi cistatina-C kod 33 donošene novorođenčadi (87). Formulu GFC-varijanta 3 izradila sam sama pomoću cjelokupnog izmjerene volumena bubrega u odnosu na izmjerenu tjelesnu površinu ((Vol-T/BSA)/cistatin-

C)/1.73), što bolje korelira s funkcijom bubrega nego GFC varijanta 1 i 2, jer odražava broj glomerula kod svakog pojedinog novorođenčeta. To su pokazali i naši rezultati.

Vrijednosti izračunane GFC-varijanta 3, koja uzima u obzir cjelokupni volumen bubrega, najbolje se poklapaju s referentnom GFR na bazi inulinskog klirensa (IK) i također je u okviru normalnih vrijednosti kreatininskog klirensa (KK) za donošenu novorođenčad (1), kako u pupkovnoj krvi, tako i 3 dana nakon rođenja. GFC-varijanta 2 pokazuje više vrijednosti GFR, ali još u normalnom području u odnosu na referentni GFR na bazi KK, dok izračunana GFC-varijanta 1 premašuje normalne okvire oba referentna GFR i u odnosu na to nije primjerena za novorođenčad. Izračunani GFR pomoću Schwartzove formule (GFK) pokazuje niže vrijednosti u pupkovnoj krvi u odnosu na oba referentna GFR, što se slaže s podacima iz literature (132). U dobi od 3 dana i GFK je već unutar donje granice normale u usporedbi s GFR na bazi obaju, IK i KK kod novorođenčadi, jer i kreatinin nakon 3 dana već bolje odražava djetetove vrijednosti.

U usporedbi s našim rezultatima izračunane GFC-varijante 2 za donošenu eutrofičnu novorođenčad (49.47 ± 8.97 ml/min/1.73 m²) Dorum je kod 33 donošene novorođenčadi dobio više izračunane vrijednosti GFR na bazi cistatina-C (65.55 ± 29.63 ml/min/1.73 m²), koje već premašuju referentne okvire GFR za novorođenčad prve dana nakon rođenja. Iako je koristio istu formulu, već su polazišne vrijednosti cistatina-C određene u pupkovnoj krvi niže, a izračunana GFR viša nego što su pokazali naši rezultati. Razlika je mogla nastati zbog manjeg uzorka i/ili zbog uzimanja krvi iz pupkovine na strani posteljice, gdje je vjerojatnost prisutnosti majčine krvi veća.

U odnosu na zaključak Guinarda da se GFR u prva dva do tri tjedna udvostruči od 20 na 40 ml/min x 1.73 (približno 1 ml/min x 1.73 m² /dan ili 5 %/dan)) zanimalo me je, koliko se

povećavaju vrijednosti izračunane GFC i GFK u prva 3 dana. Izračunane vrijednosti GFR u kontrolnoj skupini su u odnosu na % porasta u prva 3 dana kako slijedi: GFC-varijanta 1 (4.6%); GFC-varijanta 2 (6.3%); GFC-varijanta 3 (4.2%) i najviše GFK (30.6%). Iz toga se ne može reći, koja GFC-varijanta je najprimjerenija metoda, dok je Schwartzova formula prva 3 dana potpuno neprimjerena za izračunavanje GFR zbog već spomenutih nerealnih vrijednosti kreatinina i najviše odskače od očekivanog porasta u istom razdoblju.

U skupini nedostašćadi porasti izračunane GFR prva 3 dana nakon rođenja su u jednakom redosljedu (GFC-varijanta 1,2,3 i GFK): 5.2%; 6.7%; 5.7% i 20.6%. U svim GFC izračunima brzina porasta GFR malo je veća nego u KS, ali je 3 dana nakon rođenja prekratko vrijeme da bismo tu razliku već mogli pripisati hipertrofiji glomerula i posljedičnoj hiperfiltraciji kod nedostašćadi. Ne znamo kakve promjene se događaju u tom smjeru još prije rođenja obzirom na nepoznato trajanje i težinu kronične hipoksije. Schwartzova formula (GFK) već izvorno koristi različite koeficijente za izračun GFR kod hipotrofične (0,33) i eutrofične novorođenčadi (0,45), zato i manji koeficijent u izračunu doprinosi manjem % porasta GFK u skupini SFD u usporedbi s KS.

U skupini novorođenčadi nakon perinatalne hipoksije/asfiksije nisu bili mjereni bubrežni volumeni, zato sam izračunala samo GFC-varijantu 1 i GFC-varijantu 2 te GFK sa sljedećim porastima izračunane GFR prva 3 dana nakon rođenja: 33.1%; 45.2% i 27.7%. U odnosu na to da se izračunane vrijednosti GFC između obiju skupina novorođenčadi signifikantno razlikuju u pupkovnoj krvi i također 3 dana nakon rođenja, veći porast GFC u skupini nakon perinatalne hipoksije/asfiksije u odnosu na kontrolnu skupinu ukazuje na vrlo veliku sposobnost poboljšanja glomerulne filtracije kod novorođenčeta već u tako kratko vrijeme od 3 dana. Za koliko se vremena bubrežna funkcija u slučajevima lakšeg do

umjerenog oštećenja zbog akutne hipoksije prilikom rođenja restituira i do koje mjere, bilo bi potrebno pratiti duže vrijeme. Jednako tako bi bilo potrebno dodatno ocijeniti stupanj tubularnog oštećenja, kako je već spomenuto u prethodnom poglavlju. GFK po Schwartzovoj formuli se niti u ovom slučaju nije pokazao kao upotrebljivo mjerilo za praćenje glomerulne filtracije prva 3 dana nakon rođenja; porast GFK je naime bitno niži nego u KS, jer je dobiven iz nerealnih vrijednosti kreatinina, osobito u pupkovnoj krvi.

Glavni nedostaci našeg istraživanja su:

1. Samo 3 dana je premalo vremena za bolji prikaz dinamike mijenjanja vrijednosti obaju pokazatelja glomerulne filtracije kod novorođenčeta, zato bi za bolju ocjenu bilo potrebno duže praćenje.
2. Bez usporedbe sa zlatnim standardom ocjena stupnja smanjene bubrežne funkcije na bazi kriterija, koji određuju težinu perinatalne hipoksije/asfiksije, samo je posredna.
3. Za cjelovitiju ocjenu oštećenja bubrega nakon perinatalne asfiksije bi bilo potrebno određivati i pokazatelje tubularnog oštećenja.

7. ZAKLJUČCI

U svakodnevnoj kliničkoj praksi kod novorođenčadi se još uvijek koristi kreatinin kao pokazatelj bubrežne funkcije, iako se već pokazao kao neprimjeren u neonatalnom razdoblju, posebno u prvim danima nakon rođenja iz više razloga. Serumski cistatin-C ispunjava sve kriterije idealnog endogenog markera glomerulne filtracije, što se potvrdilo u brojnim studijama kod odraslih i veće djece. Za neonatalnu populaciju još je uvijek premalo upotrebljivih podataka, zato sam u svom istraživanju utvrđivala da li je serumski cistatin-C bolji pokazatelj glomerulne filtracije od kreatinina u 2 najučestalije kliničke situacije povezane sa smanjenom funkcijom bubrega kod novorođenčeta, a to je u uvjetima akutne i kronične hipoksije. Pritom sam bila svjesna glavnog ograničenja, naime da nije bila moguća usporedba sa zlatnim standardom za ocjenu GFR, stoga sam brižljivo odabrala ispitivanu skupinu novorođenčadi nakon akutne perinatalne hipoksije, s blago do umjereno smanjenom funkcijom bubrega.

1. Prosječne vrijednosti cistatina-C u novorođenčadi iz pupkovne krvi prilikom rođenja i u dobi od 3 dana kreću se unutar poznatog referentnog raspona, pribavljenog na malobrojnim podacima za neonatalnu populaciju.
2. Utjecaj spola, gestacijske dobi i tjelesne težine na vrijednost cistatina-C i kreatinina zavisi od broja uključenih. Pokazalo se da vrijednosti cistatina-C ne ovise od gestacijske dobi, vrijednosti bilirubina te stanja hidracije, a naznačen je utjecaj spola i porođajne težine (skupina AS i KS). Kada radimo izračun s većim brojem novorođenčadi, zajedno sa skupinom SFD (n = 150) gubi se utjecaj porođajne težine na cistatin-C-3 i spola na vrijednosti cistatina-C-umb. Pokazuje se i utjecaj hemoglobina, no ne i bilirubina i stanja hidracije na vrijednosti cistatina-C. Na

vrijednosti kreatinina promjenjivo utječu obzirom na broj uključenih tjelesna težina i spol djeteta; a nemaju utjecaj gestacijska dob, hemoglobin, bilirubin i stanje hidracije.

3. Od prenatalnih rizičnih čimbenika na povišene vrijednosti cistatina-C utječu arterijska hipertenzija sa znacima gestoze, a nije vidljiv utjecaj terapije s kortikosteroidima, vjerojatno zbog premalog broja primjera. Isti čimbenici ne pokazuju nikakav utjecaj na vrijednosti kreatinina, u skupini svih 150 novorođenčadi. Infekcije u trudnoći i terapija antibioticima te gestacijski dijabetes mellitus ne pokazuju nikakav utjecaj na vrijednosti obaju markera bubrežne funkcije nakon rođenja. Prvorodstvo utječe samo na vrijednosti kreatinina u pupkovnoj krvi.
4. Vrijednosti cistatina-C u ispitivanoj skupini novorođenčadi s hipoksijom/asfiksijom statistički su znakovito više nego u kontrolnoj skupini određene iz pupkovne krvi, a isto tako 3 dana nakon rođenja. Suprotno očekivanju brzina smanjivanja vrijednosti cistatina-C u prva tri dana veća je u ispitivanoj nego u kontrolnoj skupini (-38 % prema -6 %), tako u dobi od 3 dana razlike prosječnih vrijednosti cistatina-C između ispitivane skupine AS i KS su malo manje, a još uvijek značajne.
5. Cistatin-C se pokazao kao dobar dijagnostički marker oštećenja bubrega u prva 3 dana nakon rođenja, za razliku od kreatinina, koji je u tom razdoblju neprikladan. AUC površina dijagnostičke učinkovitosti proučavanih biomarkera kao prediktora akutnog oštećenja bubrega u povezivanju s težinom hipoksije/asfiksije je sljedeća: 0.918 za cistatin-C-umb; 0.698 za cistatin-C-3; 0.692 za kreatinin-umb ter 0.660 za kreatinin-3. Svi izračuni prognoza kreću se u korist cistatina-C u pupkovnoj krvi

kao najboljeg pokazatelja, što potvrđuje moju hipotezu da vrijednost cistatina-C iz pupkovne krvi kod asfiktične novorođenčadi korelira s težinom asfiksije i da je visina vrijednosti cistatina-C u pupkovnoj krvi također pokazatelj perinatalne hipoksije/asfiksije kao i smanjene glomerulne filtracije.

6. Vrijednosti cistatina-C i kreatinina kod nedostaščadi u odnosu na eutrofičnu novorođenčad su malo više, no ne razlikuju se statistički značajno. S obzirom na različita mjerenja i volumene bubrega pokazalo se da samo 3DUZ volumen statistički značajno korelira s cistatinom-C u pupkovnoj krvi, a ne s kreatininom, dok 2DUZ volumen bubrega ne pokazuje korelaciju s niti jednim od spomenuta dva. Redukcija volumena bubrega za 10 % vodi do porasta cistatina-C u pupkovnoj krvi za 9.3 %.
7. Usporedila sam vrijednosti cistatina-C i kreatinina s izračunanim klirensom pomoću poznatih formula i vlastite formule na bazi cistatina-C, cjelokupnog volumena bubrega i tjelesne površine (GFC-v3), što od svih najbolje odražava brzinu glomerulne filtracije kod novorođenčeta prva 3 dana nakon rođenja. Vrijednosti izračunane GFC-v3 najbolje se slažu s referentnom GFR na bazi inulinskog klirensa i također su u okviru normalnih vrijednosti kreatininskog klirensa za donošenu novorođenčad.

Zaključci našeg istraživanja potvrđuju moju hipotezu da je cistatin-C bolji pokazatelj bubrežne funkcije kod novorođenčeta prva 3 dana nakon rođenja u usporedbi s kreatininom.

8. SAŽETAK

Polazište. Akutno oštećenje bubrega (AOB) kod novorođenčeta često je povezano s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom. Još uvijek nema jedinstvenog stajališta u odnosu na kriterije AOB, što je teško postići bez dobrog biokemijskog markera oštećenja bubrega. Serumski cistatin-C (cistatin-C) pokazao se kao obećavajući marker glomerulne filtracije (GFR) kod odraslih i veće djece, no ipak još nije validiran kod novorođenčadi. Rana ocjena bubrežne funkcije važna je i za otkrivanje povećanog rizika bubrežnog oštećenja kod nedostaščadi (SFD), što je dokazano povezano sa smanjenim brojem nefrona. Ultrazvučno utvrđene mjere bubrega pokazale su se kao dobar pokazatelj broja nefrona.

Ciljevi. Svrha našeg istraživanja bila je utvrditi normalne referentne vrijednosti cistatina-C kod novorođenčadi prilikom rođenja i u dobi od 3 dana te ih usporediti s kreatininom, Schwartzovim izračunanim klirensom i različitim formulama za izračun GFR na bazi cistatina-C kod donošene eutrofične i hipotrofične novorođenčadi kao i kakva je vrijednost cistatina-C u pupkovnoj krvi kao pokazatelja AOB nakon perinatalne hipoksije/asfiksije u usporedbi s kreatininom.

Ispitanici i metode. U istraživanje je uključeno ukupno 150 donošene novorođenčadi: 50 u skupini nakon perinatalne hipoksije/asfiksije (AS), 50 u skupini nedostaščadi (SFD) i 50 u kontrolnoj skupini eutrofične novorođenčadi (KS). Kod svih smo obavili antropometrijska mjerenja, mjerili smo krvni tlak i bilježili diurezu prva 3 dana nakon rođenja. Određivali smo vrijednosti cistatina-C i kreatinina u pupkovnoj krvi (cistC-umb i kreat-umb) i 3 dana nakon rođenja (cistC-3 i kreat-3) te u odnosu na normalnost distribucije rezultata koristili odgovarajuće parametrijske i neparametrijske metode za

usporedbu između skupina. S multivarijatnom analizom utvrđivali smo mogući utjecaj spola, porođajne težine (PT), porođajne dužine (PD), gestacijske dobi (GS), bilirubina (Bil), hemoglobina (Hb) i stanja hidracije na vrijednosti cistatina-C i kreatinina. Analizirali smo i moguće prenatalne i perinatalne rizične čimbenike za perinatalnu hipoksiju/asfiksiju i s metodom linearne regresije utvrđivali njihov utjecaj na vrijednosti cistatina-C i kreatinina kod novorođenčeta. Perinatalna hipoksija/asfiksija definirana je laboratorijski i klinički (Apgar ocena, pH i BE pupkovne krvi, klinički znaci ometanog djelovanja raznih organa). Povezanost između vrijednosti cistatina-C odn. kreatinina i čimbenici koji određuju težinu hipoksije/asfiksije provjerena je s Pearsonovim korelacijskim testom i linearnom regresijom. Dijagnostička učinkovitost testiranih pokazatelja bubrežne funkcije u povezanosti s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom ocijenjena je s konstruiranjem ROC krivulje i analizom AUC površine te računanjem senzitivnosti i specifičnosti pojedinog testa. Kod sve novorođenčadi je u dobi od 48 do 72 sati napravljena ultrazvučna (UZ) pretraga zbog isključivanja anomalija. U skupini SFD i KS obavljena su i UZ mjerenja volumena bubrega: 2DUZ mjerenje i izračun volumena po formuli za elipsu (Vol-f-T) te 3DUZ volumetrija (3Dvol-T). Povezanost dobivenih ukupnih volumena bubrega s oba ispitivana pokazatelja GFR provjeravana je s Pearsonovim korelacijskim testom. Do sada poznate normative GFR za novorođenčad uspoređivala sam sa Schwartzovim izračunanim klirensom (GFK) i 3 formule na bazi cistatina-C (GFC): varijantu 1 ($100/\text{cistatin-C}$); varijantu 2 ($74.835/\text{cistatin-C}^{1.0.75}$) i novu konstruiranu varijantu 3, koja uzima u obzir ukupni volumen bubrega i tjelesnu površinu ($(\text{Vol-T}/\text{BSA})/\text{cistatin-C}/1.73$).

Rezultati. Prosječna vrijednost cistC-umb u KS iznosi 1.39 ± 0.19 mg/l; u skupini AS 2.12 ± 0.53 mg/l; a u skupini SFD 1.48 ± 0.30 mg/l. Razlika između skupina AS i KS je statistički značajna ($p < 0.001$), a između SFD i KS nema razlike. Tri dana nakon rođenja

prosječne se vrijednosti cistC-3 snize statistički značajno samo u skupini AS (-38 %), u SFD i KS je sniženje minimalno (-8 % i -6 %). Razlika između AS i KS ostaja statistički značajna i nakon 3 dana ($p < 0.001$). Prosječna vrijednost kreat-umb u KS iznosi $62.74 \pm 12.84 \mu\text{mol/l}$; u skupini AS $72.60 \pm 15.55 \mu\text{mol/l}$; a u skupini SFD $67.08 \pm 17.62 \mu\text{mol/l}$. Razlika između skupina AS i KS je statistički značajna ($p = 0.001$), a između SFD i KS nema razlike. Pad vrijednosti kreatinina u prva 3 dana nakon rođenja ne razlikuje se statistički značajno između skupina AS, SFD i KS (-33 %, -27 % i -34 %). Povezanost između vrijednosti cistatina-C odnosno kreatinina i drugih varijabli od interesa provjerena je linearnom regresijom, konstruiranjem bločnog regresijskog modela. Pokazalo se da vrijednosti cistatina-C ne ovise od GS, vrijednosti hemoglobina i bilirubina te stanja hidracije, a naznačen je utjecaj spola i PT (skupina AS i KS). Utjecaj spomenutih varijabli na vrijednosti cistatina-C i kreatinina zavisi od broja uključenih. Kada radimo izračun zajedno sa skupinom SFD ($n = 150$) gubi se utjecaj PT na cistC-3 i spola na vrijednosti cistC-umb, a pokazuje se utjecaj hemoglobina na cistC-umb. Ostaje vidljiv utjecaj arterijske hipertenzije sa znacima gestoze na vrijednost cistatina-C, a promjenljivo kreatinina u odnosu na maternalne čimbenike. Na vrijednost kreatinina utječe također paritet, promjenljivo spol i PT. S čimbenicima koji određuju težinu hipoksije/asfiksije najviše se povezuje cistC-umb, što objašnjava najveći udio varijance (48.9 %), slijede cistC-3 (30.8 %), kreat-3 (26.2 %) i kreat-umb (22.2 %). I ROC krivulja prikazuje (AS u usporedbi s KS), da je AUC površina najveća za cistC-umb; slijede cistC-3, kreat-umb i kreat-3 (0.918; 0.698; 0.692; 0.660). Najuravnoteženiji cut-off za cistC-umb utvrđen je kod 1.67 mg/l (senzitivnost 84.0 %, specifičnost 90.0 %) odn. kod 1.69 mg/l (senzitivnost 82.0 %, specifičnost 94.0 %). Odmah nakon rođenja samo 3Dvol-T korelira statistički značajno s cistC-umb, a Vol-f-T ne korelira niti s cistC umb, niti s kreat-umb. 3 dana nakon rođenja bolje korelira s oba volumena kreat-3, a cistC-3 pokazuje bolju korelaciju s relativnim

volumenom 3Dvol-T u odnosu na ponderalni indeks (PI) i tjelesnu površinu (BSA). Redukcija 3Dvol-T/BSA za 10 % vodi u povišenje vrijednosti cistC-umb za 9.3 %. Izračunane vrijednosti GFR u KS iz pupkovne krvi i 3 dana nakon rođenja su sljedeće (ml/min/1.73m²): GFK1 (31.53 ± 7.64); GFK3 (41.18 ± 13.17); GFC1-v1 (73.09 ± 9.93); GFC1-v2 (49.47 ± 8.97); GFC1-v3 (42.48 ± 12.36); GFC3-v1 (76.45 ± 11.74); GFC3-v2 (52.59 ± 10.77); GFC3-v3 (44.35 ± 12.55). Vrijednosti izračunane GFC-v3 najbliže su referentnoj GFR na bazi inulinskog klirensa (IK) i također su u okviru normalnih vrijednosti kreatininskog klirensa (KK) za donošenu novorođenčad.

Zaključak. U skladu s rezultatima našeg istraživanja u prva 3 dana nakon rođenja cistatin-C je bolji pokazatelj GFR u usporedbi s kreatininom. Cistatin-C-umb je za razliku od kreatinina-umb dosta bolji prediktor AOB povezane s perinatalnom hipoksijom/asfiksijom.

Ključne riječi: serumski cistatin-C, kreatinin, novorođenče, nedostašće, ishemično-hipoksično oštećenje bubrega, glomerulna filtracija, formule za izračun glomerulne filtracije na bazi cistatina-C, Schwartzova formula.

9. ABSTRACT

Cystatin-C as a marker of glomerular filtration rate in the newborn, Milena Treiber, 2013

Background. The aim of this study was to clarify the reference values of serum cystatin C (cysC) as a marker of glomerular filtration rate (GFR) in full-term newborns, appropriate and small for gestational age (SFD), and in neonates after perinatal hypoxia/asphyxia (AS) in comparison with creatinine (Cr), Schwartz's formula and 3 different cystatin-C based equations.

Patients and methods. 150 full-term newborns were enrolled, comprised of 3 groups (AS, SFD and control). CysC and Cr were measured in serum samples from the umbilical cord at birth (cysC-umb and Cr-umb) and from a peripheral vein 3 days later (cysC-3 and Cr-3). Kidney volume measurements by ultrasound were made.

Results. At birth, the mean level of cysC in normal term babies was found to be 1.39 ± 0.19 mg/l, in AS group 2.12 ± 0.53 mg/l and in SFD group 1.48 ± 0.30 mg/l; not significantly decreased in controls but in SFD and AS group after 3 days of life. Cr levels, determined simultaneously at birth were 62.74 ± 12.84 μ mol/l in control, 72.60 ± 15.55 μ mol/l in AS and 67.08 ± 17.62 μ mol/l in SFD group. After 3 days Cr levels significantly decreased in all three groups. The ROC curve analysis, comparing AS versus control, showed AUC for cysC-umb, cysC-3, Cr-umb and Cr-3 (0.918; 0.698; 0.692; 0.660). The highest diagnostic accuracy was achieved with a chosen cut-off for cysC-umb of 1.67 mg/l (sensitivity of 84.0%, specificity of 90.0%) or 1.69 mg/l (sensitivity of 82.0%, specificity of 94.0%). A new constructed cys-C based formula which requires kidney volume and body surface area for calculations is a reliable marker of GFR comparably with the neonatal referential clearance values.

Conclusions. Our results indicate CysC is more sensitive marker of GFR than Cr in the newborns.

10. LITERATURA

1. Guignard JP, Sulyock E. Renal Morphogenesis and Development of Renal Function. U: Gleason CA, Devaskar SU, ur. Avery's diseases of the newborn, 9th Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012, str. 1165-75.
2. Rosenblum ND. Developmental biology of human kidney. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2008;13:125-32.
3. Merlet-Benichou C, Gilbert T, Vilar J, et al. Nephron number: Variability is the rule. *Lab Invest* 1999;79:512-18.
4. Jeanty P, Dramaix WM, Elkhazen N, et al. Measurement of fetal kidney growth on ultrasound. *Radiology* 1982;144-59.
5. Heyn PT, Drukker A, Guignard JP. The stressed neonatal kidney: from pathophysiology to clinical management of neonatal vasomotor nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2000;14:227-39.
6. Sertel H, Scopes J. Rates of creatinine clearance in babies less than one week of age. *Arch Dis Child* 1973;48:717-20.
7. Vanpee M, Blennow M, Linne T, Herin P, Aperia A. Renal function in very low birth weight infants: normal maturity reached during early childhood. *J Pediatr* 1992;121:784-8.
8. Modi N. Clinical implications of postnatal alterations in body water distribution – a review. *Seminars in Neonatology* 2003;8:301-6.

9. Batinić D. Tranzicijska fiziologija bubrega novorođenđeta, klinički i laboratorijski pokazatelji bubrežne funkcije. U: Neonatologija, XIII tečaj trajne izobrazbe liječnika; 2006, str. 7-1.
10. Friedlich PS, Evans JR, Tulassay T, Seri I. Acute and Chronic Renal Failure. U: Avery GB, Fletcher MA, McDonald MG, ur. Neonatology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2008, str. 1298-306.
11. Karlowicz MG, Adelman RD. Acute renal failure in the newborn. Clin Perinatol 1992;19:139-49.
12. Chevalier RL, Campbell F, Brenbridge AN. Prognostic factors in neonatal acute renal failure. Pediatrics 1984;74:265-72.
13. Stapleton FB, Jones DP, Green RS. Acute renal failure in nonates: incidence, etiology and outcome. Pediatr Nephrol 1987;1:314-20.
14. Drukker A, Guignard JP. Renal aspects of term and preterm infant: a selective update. Current Opinion in Pediatrics 2002;14:175-182.
15. Haycock GB. Management of acute and chronic renal failure in the newborn. Seminars in Neonatology 2003;8:325-334.
16. Askenazi DJ, Ambalavanan N, Goldstein SL. Acute kidney injury in critically ill newborns: what do we know? What do we need to learn? Pediatr Nephrol 2009;24:265-74.
17. Hentschel R, Lodige B, Bulla M. Renal insufficiency in the neonatal period. Clin Nephrol 1996; 46:54-58.

18. Askenazi D, Smith LB, Furth S, Warady BA. Acute kidney injury and chronic kidney disease. In: Gleason CA, Devaskar SU. Avery's diseases of the newborn, 9th Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders 2012,1205-1221.
19. McGuire W. Perinatal asphyxia. Clin Evid (Online), 2007, pii 0320.
20. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. Kidney Int 2007;71:1028-35.
21. Zaffanello M, Antonucci R, Cuzzolin L, Cataldi L, Fanos V. Early diagnosis of acute kidney injury with urinary biomarkers in the newborn. J Maternal Fetal and Neonatal Med 2009;22:62-6.
22. Durkan AM, Todd Alexander BR. Acute kidney injury post neonatal asphyxia. J Pediatr 2011;158:29-33.
23. Aggarwal A, Kumar P, Chowdhary G, Majumdar Snarang A. Evaluation of renal function in asphyxiated newborn. J Trop Pediatr 2005;51:295-9.
24. Henriksen T, Clausen T. The fetal origins hypothesis: placental insufficiency and inheritance versus maternal malnutrition. Acta Obstet Gynecol Scand 2002;81:112-4.
25. Fanos V, Puddu M, Reali A, Aztei A, Zaffanello M. Perinatal nutrient restriction reduces nephron endowment increasing renal morbidity in adulthood: a review. Early Human development 2010;86:537-42.
26. Seckl JR, Cleasby M, Nyirenda MJ. Glucocorticoids, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and fetal programming. Kidney Int 2000;57:1412-7.

27. Gubhaju L, Black M. The baboon as a good model for studies of human kidney development. *Pediatr Res* 2005;58:505-9.
28. Spencer J, Wang Z, Hoy W. Low birth weight and reduced renal volume in Aboriginal children. *Am J Kidney Dis* 2001;37:915-20.
29. Schmidt IM, Chellakooty M, Boisen KA, et al. Impaired kidney growth in low birth weight children: distinct effects of maturity and weight for gestational age. *Kidney International* 2005;68:731-40.
30. Drougia A, Giapros V, Hotoura E, et al. The effects of gestational age and growth restriction on compensatory kidney growth. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:142-8.
31. Schreuder M, Delemare-van de Waal H, van Wijk A. Consequences of intrauterine growth restriction for the kidney. *Kidney Blood Press Res* 2006;29:108-29.
32. Hayman JM, Martin JW, Miller M. Renal function and the number of glomeruli in the human kidney. *Arch Intern Med* 1939;64:69-83.
33. Barker DJ. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995;311:171-4.
34. Brenner BM, Chertow GM. Congenital oligonephronia and the etiology of adult hypertension and progressive renal disease. *Am J Kidney Dis* 1994;23:171-5.
35. Giapros V, Drougia A, Hotoura E, Papadopoulou F, et al. Kidney growth in small-for-gestational-age infants. Evidence of early accelerated renal growth. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:3422-7.

36. Bauer R, Walter B, Bauer K, Klupsch R, Patt S, Zwiener U. Intrauterine growth restriction reduces nephron number and renal excretory function in newborn piglets. *Acta Physiol Scand* 2002;176(2):83-90.
37. Bauer R, Walter B, Brust P, Fruchtnier F, Zwiener U. Impact of asymmetric intrauterine growth restriction on organ function in newborn piglets. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;110(1):540-9.
38. Donadio C, Lucchesi A, Ardini M, Giordani R. Cystatin C, β 2-microglobulin and retinol-binding protein as indicators of glomerular filtration rate: comparison with plasma creatinine. *J Pharm Biomed Anal* 2001;24:835-42.
39. Denium J, Derkx FHM. Cystatin for estimation of glomerular filtration rate? *Lancet* 2000;356:1624-5.
40. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zink R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C- a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 1998;101:875-81.
41. Ylinen EA, Houhala MA, Harmoinen APT, Knip M. Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 1999;13:506-9.
42. Schwartz GJ, Brion LP. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987;34:571-90.
43. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JME, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates and older children. *Arch Dis Child* 2000;82:71-5.

44. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function- a review. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:389-95.
45. Rosenthal SH, Trabold S, Pietruck F, Holtmann M, Philipp T, Kribben A. Cystatin C: efficacy as screening test for reduced glomerular filtration rate. *Am J Nephrol* 2000;20:97-102.
46. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martinez C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications and future research. *Clin Biochem* 2005;38:1-8.
47. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplantant patients. *Clin Chem* 2001;47:2055-9.
48. Fricker M, Wiesli P, Brandle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003;63:1944-7.
49. Grubb AO. Cystatin C – properties and use as diagnostic marker. *Adv Clin Chem* 2000;35:63-99.
50. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland A. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in rat. *Scand J Clin Lab Invest* 1996;56:409-14.
51. Jacobsson B, Lignelid H, Bergerheim US. Transthyrein and cystatin C are catabolised in proximal tubular epithelial cells. *Hystopathology* 1995;26:559-64.
52. Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A, Vera M, Piera C, Darnell A. Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 2000;36:29-34.

53. Chantrel F, Agin A, Offner M, Koehl C, Hannedouche T. Comparison of cystatin C versus creatinine for detection of mild renal failure. *Clin Nephrol* 2000;54:374-81.
54. Hojs R, Gorenjak M, Puklavec L, Pečovnik-Balon B. Serumski cistatin-C in glomerularna filtracija. V: Križman I. ured. Zbornik predavanj. Novo mesto: Krka 2002, str. 57-59.
55. Filler GM. The challenges of assessing acute kidney injury in infants. *Kidney Int* 2011;80:567-8.
56. Rosenthal SH, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A. Serum cystatin C - a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 2005;64:41-6.
57. Helin I, Axenram M, Grubb A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 1998;49:221-5.
58. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Pietruck F, Janssen O, Philipp T. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney International* 2004;66:1115-22.
59. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C: implications for assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998;44:1535-9.
60. Bökenkamp A, Dietrich C, Schumann G. Pediatric reference values for cystatinC revisited. *Pediatr Nephrol* 1999;13:367-8.
61. Galteau MM, Guyon M, Gueguen R, Siest G. Determination of serum cystatin C : biological variation and reference values. *Clin Chem Lam Med* 2001;39:850-7.

62. Harmoinen A, Ylinen E, Houhala M, Janas M, Kaila M, Kouri T. Reference intervals for cystatin C in pre- and full-term infants and children. *Pediatr Nephrol* 2000;15:105-8.
63. Bahar A, Ylmaz Y, Unver S, Gocmen I, Karademir F. Reference values of umbilical cord and third-day cystatin C levels for determining glomerular filtration rates in newborns. *J Internatinal Medical Research* 2003;31:231-5.
64. Uemura O, Ushijima K, Nagai T, Yamad T, Hayakawa H, Nabeta Y. Reference serum cystatin C levels in Japanese children. *Clin Exp Nephrol* 2010;14:453-6.
65. Bökenkamp A, Dieterich C, Dressler F, Mühlhaus K, Gembruch U, Bald R. Fetal serum concentrations of cystatin C and β 2-microglobulin as predictors of postnatal kidney function. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:468-75.
66. Armangil D, Yurdakok M, Canpolat FE. Determination of reference values for plasma cystatin C and comparison with creatinine in premature infants. *Pediatr Nephrol* 2008;23:2081-3.
67. Malamitsi-Puchner A, Briana DD, Kontara L. Serum cystatin C in pregnancies with normal and restricted fetal growth. *Reproductive Sciences* 2007;14:37-42.
68. Franco MCP, Nishida SK, Sesso R. GFR estimated from cystatin C versus creatinine in children born small for gestation age. *Am J kidney Dis* 2008;51:925-32.
69. Zhang Z, Quinlan J, Hoy W, Hughson MD, Lemire M, Hudson T. A common RET variant is associated with reduced newborn kidney size and function. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:2027-34.

70. Rule AD, Bregstraalh EJ, Slezak JM, Bergert J, Larson TS. Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney Int* 2006;69:399-405.
71. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine. A pooled analysis of 3418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis* 2008;51:395-406.
72. Tidman M, Sjostrom P, Jones I. A comparison of GFR estimation formulae based upon s-cystatin C and s-creatinine and combination of the two. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:154-60.
73. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L. Kidney function estimating equations in patients with chronic kidney disease. *Int J Clin Pract* 2011;65:458-64.
74. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G. Simple cystatin C-based prediction equations for GFR 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;51:1420-31.
75. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 2003;18:981-5.
76. Mardešić D. Novorođenče. U: Mardešić i sur, *Pedijatrija*, Zagreb: Školska knjiga; 1984, str. 248-324.
77. Lubchenco LD, Hausman C, Boyd E. Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live births at gestational ages from 26 to 42 weeks. *Pediatrics* 1966;37:403-8.

78. Ballard JL, Khoury JC, Weding K, et al. New Ballard score. *J Pediatr* 1991;119:417-23.
79. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress: a clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol* 1976;33:695-706.
80. Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems. *Clin Chem* 1997;43:1016-22.
81. Treiber M. Obravnava bolečine pri novorojencu v porodnišnici. V: Krčevski-Škvarč N. ured. Zbornik predavanj. 4. saminar o bolečini. Maribor: Slovensko združenje za zdravljenje bolečine; 2000, str. 237-263.
82. Zubrow AB, Hulman S, Kushner H, Falkner B. Determinants of blood pressure in infants admitted to neonatal intensive care units: a prospective multicenter study. *J Perinatol* 1995;15:470-9.
83. Dinkel E, Ertl M, Dittrich M, Peters H. Kidney size in childhood: sonographical growth chart for kidney length and volume. *Pediatr Radiol* 1985;15:38-43.
84. Fritz GA, Riccabona M, Bohdal G, Quehenberger F. Accuracy of renal volume assesement in children by Three-dimensional Sonography. *Fortschr Rontgenstr* 2003;175:540-6.
85. Verbung BO, Geelhoed JJM, Steegers EAP, Hofman A, Jaddoe VW. Fetal kidney volume and its association with growth and blood flow in fetal life: The generation R study. *Kidney International* 2007;72:754-61.
86. Mosteller RD. Simplified calculation of body surface area. *Engl J Med* 1987;317-1098.

87. Dorum S, Silfeler I, Dorum BA, Silfeler DB, Canbak Y, Say A. Reference values of serum cystatin-C for full-term and preterm neonates in Istanbul. *Indian J Pediatr* 2012;79(8):1037-42.
88. Bevc S, Hojs R, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L. Simple cystatin C formula compared to sophisticated CKD-EPI formulas for estimation glomerular filtration rate in elderly. *Ther Apher Dial* 2011;15:261-8.
89. Dhamidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002;40:221-6.
90. Feldman H, Guignard JP. Plasma creatinine in the first month of life. *Arch Dis Child* 1982;57:123-6.
91. Guignard JP, Drukker A. Why do newborn infants have a high plasma creatinine? *Pediatrics* 1999;103:e49.
92. Fell JM, Thakkar H, Newman DJ, Price CP. Measurement of albumin and low molecular weight proteins in urin of newborn infants using a cotton wool ball collection metod. *Acta Pediatr* 1997;86:518-22.
93. Novo ACCF, Sadeck LSR, Okay TS, Leone CR. Longitudinal study of cytatin C in healthy term newborns. *Clinics* 2011;66:217-20.
94. Parvex P, Combescure C, Rodriguez M, Girardin E. Is cystatin C a promising marker of renal function, at birth, in neonates prenatally diagnosed with congenital kidney anomaly? *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:3477-82.
95. Treiber M, Pečovnik Balon B, Gorenjak M. Cystatin C versus creatinine as a marker of glomerular filtration rate in the newborn. *Wien Klin Wochenschr* 2006;118:66-70.

96. Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, Ruzzante N, Fanos V, Plebani M. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinatol* 1999;16:287-95.
97. Zahran A, Husini EI, Shoker A. Can cystatin C replace creatinine to estimate glomerular filtration rate? A literature review. *Am J Nephrol* 2007;27:197-205.
98. Babay Z, Wakeel J, Addar M, et al. Serum cystatin C in pregnant women: reference values, reliable and superior diagnostic accuracy. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2005;32:175-9.
99. Fanos V, Mussai M, Plebani M, Cataldi L. Cystatin C in paediatric nephrology. *Minerva Pediatr* 1999;51:167-177.
100. Lolekha PH, Jaruthunyaluck S, Srisawazdi P. Deproteinisation of serum: another best approach to eliminate all forms of bilirubin interference on serum creatinine by the kinetic Jaffe reaction. *J Clin Lab Anal* 2001;15:116-121.
101. Takuwa S, Ito Y, Ushijima K, Uchida K. Serum cystatin C values in children by age and their function during dehydration. *Ped Intern* 2002;44:28-31.
102. Bökenkamp A, Laarman C, Braam K, van Wijk JA, Kors WA, Kool M. Effect of corticosteroid therapy on low molecular weight protein markers of kidney function. *Clin Chem* 2007;53:2219-21.
103. Zhang J, Massmann GA, Rose JC, Figueroa JP. Differential effects of clinical doses of antenatal betamethasone on nephron endowment and glomerular filtration rate in adult sheep. *Reprod Sci* 2010;17:186-95.

104. Demarini S, Dollberg S, Hoath SB, et al. Effects of antenatal corticosteroids on blood pressure in very low birth weight infants during the first 24 hour of life. *J Perinatol* 1999;19:419-25.
105. Bonamy AK, Bendito A, Martin H, et al. Preterm birth contributes to increased vascular resistance and higher blood pressure in adolescent girls. *Pediatr Res* 2005;58:845-9.
106. Hofman PL, Regan F, Jefferies CA, Cutfield WS. Prematurity and programming are the later metabolic sequelae. *Metab Syndr Relat Disord* 2006;4:101-12.
107. Nitsch D, Sandling JK, Byberg L, et al. Fetal, developmental and parental influences on cystatin C in childhood: the Uppsala family study. *Am J Kidney Dis* 2011;57:863-72.
108. Karlowicz MG, Adelman RD. Nonoliguric and oliguric acute renal failure in asphyxiated term neonates. *Pediatr Nephrol* 1995;9:718-22.
109. Gupta BD, Sharma P, Bagla J, Parakh M, Soni JP. Renal failure in asphyxiated neonates. *Indian Pediatr* 2005;42:928-34.
110. Kaur S, Jain S, Saha A, Chawla D, Parmar VR. Evaluation of glomerular and tubular renal function in neonates with birth asphyxia. *Ann Tropic Paediatr* 2011;31:129-34.
111. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG. Acute Kidney Injury Network (AKIN): report of an initiative to improve outcome in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11:R31.
112. Agras PI, Tarcan A, Baskin E, et al. Acute renal failure in the neonatal period. *Ren Fail* 2004;26:305-9.

113. Willis F, Summers J, Minutillo C, Hewitt I. Indices of renal tubular function in perinatal asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997;77:57-60.
114. Bhat MA, Shah ZA, Makhdoomi MS, Mufti MH. Theophylline for renal function in term neonates with perinatal asphyxia: a randomized placebo-controlled trial. *J Pediatr* 2006;149:180-4.
115. Sarafidis K, Tsepkentzi E, Agakidou E, Diamanti E, Taparkou A, Soubasi V. Serum and urine acute kidney injury biomarkers in asphixiated neonates. *Pediatr Nephrol* 2012;27:1575-82.
116. O'Connell AE, Boyce AC, Lumbers ER, Gibson KJ. The effects of asphyxia on renal function in fetal sheep at midgestation. *J Physiol* 2003;552:933-43.
117. Ikeda T, Murata Y, Quilligan EJ, et al. Histologic and biochemical study of the brain, heart, kidney and liver in asphyxia caused by occlusion of the umbilical cord in near term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:449-57.
118. Sheridan AM, Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000;9:427-34.
119. Luyckx VA, Brenner BM. The clinical importance of nephron mass. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:898-910.
120. Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight and body surface in normal man. *Anat Rec* 1992;232:194-201.
121. Rakow A, Johansson S, Lengnevall L, et al. Renal volume and function in school age children born preterm or small for gestational age. *Pediatr Nephrol* 2008;23:1309-15.

122. Riccabona M, Fritz G, Ring E. Potential applications of three-dimensional ultrasound in the pediatric urinary tract. Pictorial demonstration based on preliminary results. *Eur Radiol* 2003;13:2680-7.
123. Oswald J, Schwentnwr C, Lunacek A, Deibl M, Bartsch G, Radmayr C. Age and lean body weight related growth curves of kidneys using real time 3-dimensional utrasound in pediatric urology. *J of Urology* 2004;172:1991-4.
124. Gurmeet R, Singh MD, Hoy WE. Kidney volume, blood pressure and albuminuria: finding in an Australian Aboriginal community. *Am J Kidney Dis* 2004;43:254-9.
125. Gamborg M, Byberg L, Rasmussen F, et al. Birth weight and systolic blood pressure in adolescence and adulthood: Meta-regression analysis of sex- and age-specific results from 20 Nordic studies. *Am J Epidemiol* 2007;166:634-45.
126. Nuyt AM, Alexander BT. Developmental programming and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009;18:144-52.
127. Sayers S, Singh G, Matt S, Hay W. Relationship between birthweight and biomarkers of chronic disease i childhood. *Pediatr Perinat Epidemiol* 2009;23:548-56.
128. Hemachandra AH, Howards PP, Furth SL, Kiebanoff MA. Birth weight, postnatal growth and risk for high blood pressure at 7-years of age. *Pediatrics* 2007;119:1264-70.
129. Ben-Shiomo Y, McCarthy A, Hughes R, et al. Immediate postnatal growth is associated with blood pressure in young adulthood. *J Hypertension* 2008;52:638-44.
130. Kwinta P, Klimeck M, Drozd D, Grudzien A, Jagla M, Zasada M. Assessment of

long-term renal complications in extremely low birth weight children. *Pediatr Nephrol* 2011;26:1095-103.

131. Andersen TB, Eskild-Jensen A, Frokier J, Brochner-Mortensen J. Measurement glomerular filtration rate in children; can replace cystatin C established method? A review. *Pediatr Nephrol* 2009;24:929-41.

132. Bacchetta J, Cochat P, Rognant N, Ranchin B, Hadj-Aissa A, Dubourg L. Which creatinine and cystatin C equations can be reliably used in children? *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:552-60.

133. Grubb A. Non-invasive estimation of glomerular filtration rate (GFR). The Lund model: simultaneous use of cystatin C- and creatinine-based GFR-prediction equations, clinical data and internal quality check. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70:65-70.

134. Schreuder MF, Wilhelm AJ, Bökenkamp A, Timmermans SM. Impact of gestational age and birth weight on amikacin clearance on day 1 of life. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1774-8.

135. Montini G, Cosmo L, Amici G, Mussap M, Zacchello G. Plasma cystatin C values and inulin clearances in premature neonates. *Pediatr Nephrol* 2001;16:463-5.

136. Zappitelli M, Parvex P, Joseph I, et al. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. *Am J Kidney Dis* 2006;48:221-30.

137. Zappitelli M, Krawczeski CD, Devarajan P, et al. Early postoperative serum cystatin C predicts severe acute kidney injury following pediatric cardiac surgery. *Kidney Int* 2011;80:655-62.

11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1. prosinca 1959. u Mariboru, Republika Slovenija, ocu Janezu i mami Jožefi Zimič. Osnovnu školu i gimnaziju završila sam u Mariboru. 1978. godine upisala sam studij medicine na Medicinskom fakultetu u Ljubljani te ga 1984. godine završila s prosječnom ocjenom 8,13.

Do 1991. godine radila sam kao liječnica u Dispanzeru za školsku djecu i mladež u Zdravstvenom domu Maribor. Iste godine završila sam postdiplomski studij iz zdravstvene zaštite žena, djece i mladeži na Medicinskom fakultetu u Ljubljani i kasnije obranila diplomski rad pod naslovom »Rast, razvoj i podložnost bolestima skupine školske djece rođene 1972/73«.

1991. godine zaposlila sam se u Općoj bolnici Maribor, u Jedinici za neonatologiju na Odjelu za ginekologiju i perinatologiju kao specijalizantica pedijatrije. Specijalistički ispit iz pedijatrije položila sam 9.10.1996. U okviru permanentnog stručnog obrazovanja iz neonatologije završila sam više tečajeva iz neonatalnog ultrazvuka. 2000. godine upisala sam postdiplomski studij iz Perinatologije na Medicinskom fakultetu u Zagrebu te ga 2002-2004 produžila u doktorski studij Biomedicina i zdravstvo.

Od 2009. godine sam asistentica na Medicinskom fakultetu u Mariboru za predmet pedijatrija i surađujem u vježbama iz pedijatrije za studente 4. i 5. godine opće medicine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Mariboru. Također sam mentorica specijalizantima pedijatrije u okviru obavljanja specijalizacije iz pedijatrije.

Od 2009. godine sam voditeljica Jedinice za neonatologiju Kliničkog odjela za ginekologiju i perinatologiju u UKC Maribor.

Sve vrijeme sam se stručno usavršavala na raznim stručnim medicinskim susretima, kongresima, seminarima i radionicama posebno iz područja neonatologije, kako u domovini tako i u inozemstvu. Na spomenutim susretima više sam puta bila i aktivni sudionik. Osim toga sam zajedno sa suradnicima suautorica različitih stručnih članaka u stručnim i znanstvenim medicinskim časopisima u Sloveniji i inozemstvu.

Od 1979. godine sam u braku i majka odraslog sina i kćeri.