

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.10.008  
文章编号: 1005-8982(2020)10-0038-07

## 先天性心脏病患儿术后发生急性肾损伤的危险因素 及早期检测血清 microRNA-203 的意义

熊田辛, 查正彪, 郑智, 郭倩男, 陈亮, 潘友民

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 心脏大血管外科, 湖北 武汉 430030)

**摘要:目的** 探讨先天性心脏病(以下简称先心病)患儿体外循环术后发生急性肾损伤(AKI)的危险因素,以及血清 microRNA-203(miR-203)对AKI的早期临床价值。**方法** 选取2016年9月—2018年1月在华中科技大学同济医学院附属同济医院住院的178例先心病患儿,根据AKI诊断标准将患儿分为AKI组53例和非AKI组125例。观察AKI发生率,比较两组患儿的临床特征。采用多因素 Logistic 回归分析AKI的危险因素,qRT-PCR检测两组患儿术前,以及术后2、12、24和48h的miR-203、肾损伤分子-1(KIM-1)水平表达量。采用受试者工作特征(ROC)曲线确定术后2h血清miR-203对AKI的预测价值,计算曲线下面积(AUC)。**结果** 术后48h内,53例(29.78%)患儿发生AKI,125例(70.22%)患儿未发生AKI。AKI组患儿年龄小于非AKI组( $P < 0.05$ ),术前紫绀型先心病比例、体外循环时间、阻断升主动脉时间及采用间断性灌注4:1含血高钾停跳液(以下简称血灌)进行心肌保护的比例高于非AKI组患儿( $P < 0.05$ )。术后AKI组患儿循环血中KIM-1和miR-203水平呈升高趋势( $P < 0.05$ ),且术后12h血清miR-203水平达峰值,早于KIM-1水平达峰时间。ROC曲线分析,术后2h血清miR-203截断值为1.700,其预测AKI发生的AUC为0.851(95%CI:0.775,0.928),敏感性为85.42%(95%CI:0.825,0.874),特异性为54.17%(95%CI:0.537,0.587)。经二分类变量 Logistic 回归分析,年龄 $< 4$ 岁[OR=1.823(95%CI:1.594,3.953), $P = 0.000$ ]、紫绀型先心病[OR=1.461(95%CI:1.254,1.726), $P = 0.005$ ]、体外循环时间 $> 175.68$ min[OR=2.105(95%CI:1.587,5.265), $P = 0.000$ ]、阻断升主动脉时间 $> 101.45$ min[OR=1.217(95%CI:1.082,1.339), $P = 0.000$ ]及术后2h血清miR-203 $> 1.70$ 。[OR=1.331(95%CI:1.160,3.241), $P = 0.022$ ]是发生AKI的独立危险因素;血灌心肌保护[OR=0.729(95%CI:0.558,0.894), $P = 0.004$ ]是发生AKI的独立保护因素。**结论** 先心病纠正术后AKI的发生与患儿年龄、术前紫绀、体外循环时间、阻断升主动脉时间、血灌及术后2h血清miR-203有关,且术后miR-203水平可作为AKI发生的早期预测因子。

**关键词:** 心脏病;先天畸形;早期诊断;危险因素

**中图分类号:** R726.5

**文献标识码:** A

## Risk factors for acute kidney injury after cardiopulmonary bypass and the significance of microRNA-203 in children with congenital heart disease

Tian-xin Xiong, Zheng-biao Zha, Zhi Zheng, Qian-nan Guo, Liang Chen, You-min Pan  
(Department of Cardiovascular Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College of HUST,  
Wuhan, Hubei 430030, China)

**Abstract: Objective** To analyze the risk factors of acute kidney injury (AKI) after extracorporeal circulation (CPB) and the significance of miRNA-203 (miR-203) in early warning of AKI in children with congenital heart disease. **Methods** A total of 178 children with congenital heart disease ( $\leq 6$  years old) who underwent congenital heart surgery in our hospital from September 2016 to January 2018 were enrolled in this research. According to

收稿日期: 2019-12-16

[通信作者] 潘友民, E-mail: panyoumin@126.com

AKI diagnostic criteria, children were divided into AKI group (53 cases) and non AKI group (125 cases). The incidence of AKI was observed. Serum miR-203 expressions were determined by RT-PCR in blood samples before extracorporeal circulation, 2 h, 12 h, 24 h and 48h after extracorporeal circulation. The clinical characteristics of children with and without AKI were compared, and multivariate Logistic regression analysis were used to find out the risk factors of AKI. The receiver operating characteristic (ROC) curve of miR-203 was used to analyze the predictive value for AKI. **Results** There were 53 children (29.78%) with AKI and 125 patients (70.22%) without AKI. The children in AKI group had lower ages, higher incidence of cyanotic disease, longer extracorporeal circulation duration and occlusion of aorta time, a significantly higher proportion of children receiving crystalloid solution for myocardial protection than those of children without AKI ( $P < 0.05$ ). In the AKI group, the post-operative kidney injury molecule 1 (KIM-1) and miR-203 increased, while the peak value of KIM-1 achieved at 24 h after surgery and the peak value of miR-203 achieved at 12 h after surgery. When the cut-off was 1.700, the AUC of ROC curve of miR-203 at 2 h after extracorporeal circulation were 0.851 (95% CI: 0.775, 0.928), the sensitivity and specificity were respectively 85.42% (95% CI: 0.825, 0.874) and 54.17% (95% CI: 0.537, 0.587). The age  $< 4$  y [ $\hat{OR}=1.823$  (95% CI: 1.594, 3.953),  $P = 0.000$ ], cyanotic disease [ $\hat{OR}=1.461$  (95% CI: 1.254, 1.726),  $P = 0.005$ ], extracorporeal circulation duration  $> 175.68$  min [ $\hat{OR}=2.105$  (95% CI: 1.587, 5.265),  $P = 0.000$ ], occlusion of aorta time  $> 101.45$  min [ $\hat{OR}=1.217$  (95% CI: 1.082, 1.339),  $P = 0.000$ ] and miR-203 at 2h after extracorporeal circulation  $> 1.70$  [ $\hat{OR}=1.331$  (95% CI: 1.160, 3.241),  $P = 0.022$ ] were independent risk factors of AKI in children with congenital heart disease ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Age, preoperative cyanotic disease, extracorporeal circulation duration, occlusion of aorta time and miR-203 at 2h after extracorporeal circulation are independent factors of AKI after extracorporeal circulation. It's suggested that miR-203 may be the sensitive predictors of acute kidney injury in children with congenital heart disease.

**Keywords:** heart diseases; congenital abnormalities; early diagnosis; risk factors

先天性心脏病(以下简称先心病)在我国围产儿中的发病率较高,占 8%~10%<sup>[1]</sup>。近些年随着心外科手术的日臻成熟,先心病患儿手术成功率也随之提高,但是术后并发症仍然是影响患儿预后最主要的原因,尤其是术后急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的发生率甚至高达 20% 以上;且一旦术后发生严重的 AKI,迄今为止临床尚缺乏理想的针对性治疗<sup>[2]</sup>。因此,术后 AKI 发生前早预测、合理干预仍然是目前临床改善先心病患儿手术预后、降低病死率的关键。MicroRNA(miRNA)属于一类内源性短链 RNA,具有组织特异性、结构保守性等特点,在 AKI 发病中扮演着重要角色。

肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)是目前研究较为成熟的用于诊断 AKI 的特异性指标<sup>[3]</sup>,在受损的肾脏组织中高表达,但是无法对 AKI 的发生发挥预警作用,而且易受年龄、性别及免疫状态等多种外源性因素的影响。有学者通过细胞实验证实,KIM-1 和 miR-203 具有一定的调控作用<sup>[4]</sup>。本研究对采用改良儿童肾脏疾病风险分级(pediatric risk injury failure loss and end stage renal disease, pRIFLE)。分析接受先心病手术发生 AKI 的患儿的临床资料,以探讨 AKI 发生的危险因素,以及术后血清 miR-203 对 AKI 的临床预警价值,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 9 月—2018 年 1 月在华中科技大学同济医学院附属同济医院住院的 178 例先心病患儿。其中,男性 107 例,女性 71 例;年龄 2 个月~6 岁,平均(4.37±1.42)岁。所有患儿入院后接受先心病体外循环体外直视手术。纳入标准:①年龄≤6 岁;②术前根据心电图、超声心动图、胸片、常规检查及生物化学检查确诊为先心病,其中 57 例患儿为单纯房间隔缺损(atrial septal defect, ASD),53 例患儿为单纯室间隔缺损(ventricular septal defect, VSD),39 例患儿为 ASD 合并 VSD,29 例患儿为动脉导管未闭(patent ductus arteriosus, PDA);③术前肾功能正常。排除标准:①先天性肾功能不全;②住院后造影剂、药物等可能致肾损伤;③心脏衰竭或呼吸衰竭;④ 48 h 内死亡或资料不全;⑤急诊手术。本研究所有过程遵从赫尔辛基宣言标准,本研究通过医院伦理委员会批准,患儿家属或法定监护人签署知情同意书。

### 1.2 方法

根据 pRIFLE 推荐的 AKI 诊断标准<sup>[5]</sup>:术后 48 h 内肌酐清除率(creatinine clearance, CC)较术前降低 25%,或尿量  $< 0.5$  ml/(kg·h)  $\geq 8$  h,将患儿分为

AKI 组 53 例和非 AKI 组 125 例。

### 1.3 主要仪器及试剂

**1.3.1 主要仪器** Primus 麻醉机(美国 Drager 公司), Jostra HL20 心肺机(德国 Maquet 公司), iE33 超声仪(荷兰 Philips 公司), 肝素钠真空采血管(美国 BD 公司)。

**1.3.2 主要试剂** 硫酸阿托品注射液(天津金耀药业有限公司, 批号: 20160833), 丙泊酚(德国 Fresenius kabi 公司, 批号: 10GF3917), 咪达唑仑(瑞士 Roche 公司, 批号: B1297), 雷尼芬太尼(宜昌人福药业有限责任公司, 批号: 6150314), 维库溴铵(浙江仙居制药股份有限公司, 批号: 150116), 七氟醚(美国雅培制药公司, 批号: 7928), 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司), Taqman<sup>®</sup> MicroRNA Reverse Transcription Kit 和 Taqman<sup>®</sup> MicroRNA Assay Kit 试剂盒(日本 TaKaRa 公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 手术方法** 所有入组患儿采用心脏外科统一标准的麻醉、手术、体外循环和术后监护。术前 30 min 肌肉注射硫酸阿托品注射液 0.1 mg/kg, 静脉推注丙泊酚 1 mg/kg, 待患儿入睡后进入手术室。进入手术室后, 开放外周静脉, 咪达唑仑 0.1 mg/kg、雷尼芬太尼 1.0 ~ 1.5  $\mu$ g/kg 及肌松药维库溴铵 0.6 mg/kg 诱导后插管麻醉, 咪达唑仑、雷尼芬太尼、维库溴铵及七氟醚吸入维持麻醉, 连接 Primus 麻醉机行机械通气。正中开胸, 体外循环下修补心脏畸形, 连接 Jostra HL20 心肺机行体外循环。采用 iE33 超声仪确定心脏畸形纠正后开始复温, 有需要时超滤至血红蛋白(Hb) >10 g/dl, 使用正性肌力药物。血流动力学稳定后中和肝素, 关胸后送至儿童重症监护病房。

**1.4.2 一般临床资料收集** 检测所有患儿手术前后肾功能水平、尿量, 记录年龄、性别、体重、临床诊断、先天性心脏病手术风险评估共识(the risk adjustment for congenital heart surgery-1, RACHS-1) 评分等。记录术中体外循环时间、阻断升主动脉时间、是否多次阻断升主动脉、心肌保护方式[间断性灌注 4 : 1 含血高钾停跳液(以下简称血灌)或全晶体液(Custodial 液, 以下简称晶灌)], 是否超滤、是否深低温停循环或低流量灌注(低于目标灌注流量的一半以上), 以及围手术期血制品用量(包括体外循环预冲及术中、术后)等。

**1.4.3 血液标本采集** 患儿麻醉诱导前和拔管后 2、

12、24 及 48 h 时采集外周静脉血 3 ml 置于肝素钠真空采血管(美国 BD 公司)中, 取上清、分装, -80 $^{\circ}$ C 保存备用。

**1.4.4 检测指标** 取血液标本检测 Hb、尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)、血糖及乳酸。ELISA 检测血液 KIM-1 水平, 试剂盒由上海酶联生物科技有限公司提供, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

**1.4.5 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测血清 miR-203** 提取总 RNA, 根据 Taqman<sup>®</sup> MicroRNA Reverse Transcription Kit 和 Taqman<sup>®</sup> MicroRNA Assay Kit 试剂盒说明书操作, 进行逆转录反应。将 cDNA 置于 -20 $^{\circ}$ C 保存备用。按照三步法进行 PCR 扩增。以 cDNA 为模板, 以小分子 U6 作为内参, 冰浴中配制 20  $\mu$ l。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 0 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 共 40 个循环, 60 $^{\circ}$ C 继续循环 5 min。根据 NCBI 数据库获得的资料设计引物, 引物由上海生工生物工程有限公司合成。miR-203 正向引物: 5'-GCGCTGGTAGACTATGGAA-3'; 反向引物: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3', 长度 97 bp。PCR 结果判断: 根据使用说明调整基线, 将阈值设定在荧光值对数图的线性部分, 从软件中读取 Ct 值。 $\Delta$  Ct=Ct 样品 -Ct 内参,  $\Delta$   $\Delta$  Ct= $\Delta$  Ct-(Ct 随机阴性对照样品 -Ct 内参), 以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示目的基因 mRNA 相对表达量。

### 1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 比较用独立样本 *t* 检验或用重复测量设计的方差分析; 计数资料以(%)表示, 比较用  $\chi^2$  检验; 采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线确定目标指标的诊断价值, 采用二分类变量 Logistic 回归模型分析先心病患儿术后发生 AKI 的危险因素, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 先心病患儿术后 AKI 发生情况

根据 pRIFLE 推荐的 AKI 诊断标准, 53 例(29.78%) 患儿术后发生 AKI, 125 例(70.22%) 患儿未发生 AKI。其中, 45 例(84.91%) 患儿术后 24 h 内发生 AKI, 8 例(15.09%) 患儿术后 24 ~ 48 h 内发生 AKI。

### 2.2 两组患儿术前和术中临床资料比较

两组患儿年龄、术前紫绀型先心病比例、体外循环时间、阻断升主动脉时间、采用血灌进行心肌保护的比  
例及深低温停循环或低流量比较, 经独立样本 *t* 检验或

$\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), AKI 组年龄和采用血灌进行心肌保护的比  
例低于非 AKI 组患儿, 而术前紫绀型先心病、深低温停循环或低流量高于非 AKI 组, 体外循环时间、阻断升主动脉时间长于非 AKI 组。见表 1。

表 1 两组患儿术前和术中临床资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$ )	男 / 女 / 例	体重 / (kg, $\bar{x} \pm s$ )	紫绀型先心病例 (%)	RACHS-1 评分 ( $\bar{x} \pm s$ )	Scr / ( $\mu\text{mol/L}$ , $\bar{x} \pm s$ )
非 AKI 组	125	5.06 ± 1.02	79/46	8.45 ± 3.77	24 (19.20)	2.08 ± 0.40	52.74 ± 23.45
AKI 组	53	4.15 ± 0.91	28/25	8.12 ± 4.16	29 (54.72)	2.15 ± 0.50	46.77 ± 26.83
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		5.615	0.669	0.518	22.454	0.989	1.487
<i>P</i> 值		0.000	0.196	0.605	0.000	0.324	0.139

组别	<i>n</i>	BUN / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	血糖 / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	乳酸 / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	CC/[ml / (min · 1.73m <sup>2</sup> ), $\bar{x} \pm s$ ]	尿量/[ml / (kg · h), $\bar{x} \pm s$ ]	体外循环时间 / (min, $\bar{x} \pm s$ )
非 AKI 组	125	5.08 ± 1.24	4.63 ± 1.31	0.72 ± 0.29	99.23 ± 16.48	1.70 ± 0.35	118.08 ± 45.24
AKI 组	53	4.91 ± 1.10	4.74 ± 1.29	0.78 ± 0.36	102.52 ± 20.67	1.69 ± 0.46	194.91 ± 56.10
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		0.864	0.515	1.172	1.126	0.158	9.624
<i>P</i> 值		0.389	0.608	0.243	0.262	0.875	0.000

组别	<i>n</i>	阻断升主动脉时间 / (min, $\bar{x} \pm s$ )	多次阻断升主动脉例 (%)	血灌例 (%)	超滤例 (%)	深低温停循环或低流量例 (%)	血制品输入量 / (ml, $\bar{x} \pm s$ )	Hb / (g/dl, $\bar{x} \pm s$ )
非 AKI 组	125	71.36 ± 30.79	15 (12.0)	92 (73.6)	101 (80.8)	10 (8.0)	595.78 ± 201.29	8.10 ± 0.98
AKI 组	53	118.75 ± 42.64	11 (20.75)	25 (47.17)	38 (71.69)	12 (22.64)	634.51 ± 187.44	8.32 ± 1.05
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		8.328	2.287	11.542	1.802	7.366	1.198	1.341
<i>P</i> 值		0.000	0.131	0.001	0.180	0.007	0.233	0.182

### 2.3 两组术前和术后不同时间点的 KIM-1、miR-203 水平比较

两组术前, 以及术后 2、12、24 和 48 h 的 KIM-1、miR-203 水平比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 KIM-1、miR-203 水平有差异 ( $F = 31.864$  和  $39.168$ , 均  $P = 0.000$ ); ②两

组的 KIM-1、miR-203 水平有差异 ( $F = 49.443$  和  $118.218$ , 均  $P = 0.000$ ); ③两组的 KIM-1、miR-203 水平变化趋势有差异 ( $F = 11.153$  和  $24.857$ , 均  $P = 0.00$ )。AKI 组患儿循环血中 KIM-1 水平在术后 24 h 时达峰值, 而 miR-203 水平在 12 h 时已达峰值。见表 2、3。

表 2 两组术前和术后不同时间点的 KIM-1 水平变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	术前	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
非 AKI 组	125	264.75 ± 78.36	268.93 ± 85.17	269.77 ± 86.43	261.36 ± 90.79	254.63 ± 88.31
AKI 组	53	283.01 ± 92.85	300.13 ± 124.98	350.25 ± 81.29	626.36 ± 147.86	581.43 ± 110.71

表 3 两组术前和术后不同时间点的 miR-203 水平变化 (pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	术前	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
非 AKI 组	125	1.27 ± 0.36	1.28 ± 0.42	1.23 ± 0.48	1.20 ± 0.35	1.25 ± 0.41
AKI 组	53	1.34 ± 0.53	1.82 ± 0.38	2.34 ± 0.39	2.15 ± 0.52	1.97 ± 0.43



## 2.4 术后 2 h 血清 miR-203 对先心病患儿发生 AKI 的预测能力

ROC 曲线分析显示, 术后 2 h 血清 miR-203 截断值为 1.700, 其曲线下的面积为 0.851 (95% CI: 0.775, 0.928), 敏感性为 85.42% (95% CI: 0.825, 0.874), 特异性为 54.17% (95% CI: 0.537, 0.587)。见图 1。

## 2.5 AKI 发生的危险因素

以发生 AKI 作为因变量 (AKI 赋值为 1, 非 AKI 赋值为 0), 将上述差异有统计学意义的变量, 包括年龄、体外循环时间、阻断升主动脉时间、术后 2 h 血清 miR-203 和 KIM-1 表达水平取中位值; 以是否为紫绀型先心病、是否采取血灌方式, 分别进行赋值作为自变量, 采用二分类变量 Logistic 回归模型分析先心病患儿术后发生 AKI 的危险因素。引入水准为 0.05, 剔除水准为 0.10。结果显示, 年龄 <4 岁、紫绀

型先心病、体外循环时间 >175.68 min、阻断升主动脉时间 >101.45 min 及术后 2 h 血清 miR-203 >1.70 是发生 AKI 的独立危险因素 ( $P < 0.05$ ); 而血灌心肌保护是发生 AKI 的独立保护因素 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

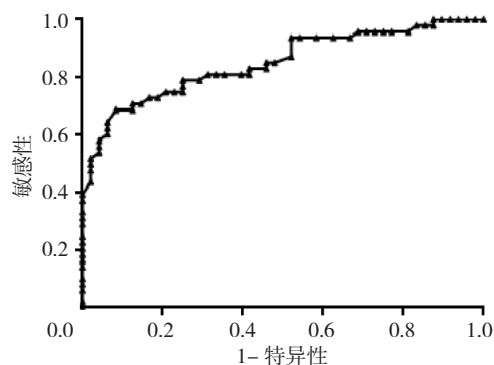


图 1 先心病患儿术后 2 h 血清 miR-203 预测 AKI 的 ROC 曲线

表 4 先心病患儿术后发生 AKI 的多因素 Logistic 回归分析参数

影响因素	<i>b</i>	<i>S<sub>e</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i> 值	$\hat{OR}$	95% CI	
						下限	上限
年龄 ( $\geq 4$ 岁 =0, <4 岁 =1)	0.384	0.214	12.015	0.000	1.823	1.594	3.953
紫绀型先心病 (无 =0, 有 =1)	0.541	0.287	6.580	0.005	1.461	1.254	1.726
体外循环时间 ( $\leq 175.68$ min=0, >175.68 min=1)	1.265	0.375	15.684	0.000	2.105	1.587	5.265
阻断升主动脉时间 ( $\leq 101.45$ min=0, >101.45 min=1)	0.528	0.188	10.904	0.000	1.217	1.082	1.339
血灌 (无 =0, 有 =1)	-0.640	0.361	6.937	0.004	0.729	0.518	0.894
术后 2 h 血清 miR-203 ( $\leq 1.70$ =0, >1.70=1)	0.372	0.112	5.245	0.022	1.331	1.160	3.241

## 3 讨论

AKI 是先心病患儿术后预后不良甚至死亡的最主要原因之一, 发生率为 12.5% ~ 71.0%<sup>[6]</sup>。本研究中共纳入 178 例先心病患儿作为受试对象, 接受体外循环术后 48 h 内有 53 例患儿出现 AKI 指征, AKI 的发生率为 29.78%, 这与国内的流行病学资料基本一致。体外循环属于非生理性循环状态, 在整个手术过程中, 机体血流动力学改变、非搏动性灌注、肾灌注压降低、心内吸引、持续灌注、易造成红细胞损伤和全身炎症反应等都可导致术后 AKI 的发生<sup>[7]</sup>。TODA 等<sup>[8]</sup>发现, 先心病患儿术后发生 AKI 的临床特点和危险因素与成人不同, 年龄越小, 先心病患儿术后发生 AKI 的风险越高, 这可能是因为患儿年龄越小, 机体免疫功能和肾功能尚未发育完全, 肾小管上皮细胞等还在继

续分化成熟。刚出生的新生儿肾小球滤过率仅为成年人群的 50%, 1 岁后才能达 90%, 说明患儿年龄越小, 基础肾功能越差。所以纳入的患儿年龄 <6 岁, 研究这一高风险年龄段患儿体外循环术后发生 AKI 的风险因素更具有临床价值。

本研究中, 年龄 <4 岁、紫绀型先心病、体外循环时间 >175.68 min、阻断升主动脉时间 >101.45 min 及术后 2 h 血清 miR-203 >1.70 是发生 AKI 的独立危险因素, 而血灌心肌保护是发生 AKI 的独立保护因素。首先年龄越小, 患儿肾功能尚不成熟, 可能会影响药物的吸收、分布、代谢和排泄过程, 提高肾脏对手术和麻醉制剂的敏感性<sup>[9]</sup>。除此以外, 由于先心病患儿长期慢性缺氧和充血性心力衰竭, 出现紫绀的患儿基础肾功能相对较差; 而在手术过程中, 体外循环和阻

断升主动脉时间越长, 先心病患儿术后出现 AKI 的风险更高。胡秀红等<sup>[3]</sup>曾提出先心病患者体外循环术前 Scr 水平升高是影响 AKI 发生的独立危险因素。但是本研究并未发现两组患儿术前 Scr 水平有差异, 相反两组患儿术前 Scr 水平基本一致, 这可能和儿童与成人的肾功能差异有关。Scr 属于内生性肌酐, 是肌肉中的磷酸肌酸通过不可逆的非酶脱水反应转化而成, 通过肾脏排出<sup>[9-10]</sup>。如果内生肌酐的量相等, Scr 越低则 CC 越高, 理论上基础肾功能越好<sup>[11]</sup>。但是内生肌酐量与肌肉含量和质量密切相关, 围产儿机体肌肉含量逐渐升高, 并不像成人一样维持在较为恒定的范围内, 因此不能单纯依靠 Scr 水平诊断婴幼儿 AKI 的发生。

在前期调研和预实验过程中, 笔者发现 miR-203 是 KIM-1 的上游靶基因。本研究也证实, 术后 2 h 血清 miR-203 水平是影响先心病患儿发生 AKI 的独立危险因素。KIM-1 是一种敏感性较高的肾功能损伤指标, 但是易受年龄、性别、基础疾病及蛋白摄入等多种因素的干扰, 最佳诊断效能的时间窗出现在术后 12 ~ 24 h<sup>[12]</sup>, 具有一定的滞后性且敏感性较低, 易造成漏诊或误诊。除 Scr 外, 尿量也属于早期诊断先心病患儿发生 AKI 的重要指标, 但是婴幼儿的尿液采集较为困难, 不适宜作为先心病患儿早期诊断 AKI 发生的指标之一<sup>[13]</sup>。

miRNAs 是真核生物基因中一类非编码的负性调控 RNA, 可以通过与靶基因 3'-非编码区结合抑制 RNA 转录<sup>[14]</sup>, 但是 miRNAs 在儿科领域的研究尚处于空白阶段。通过 XIAO 等<sup>[4]</sup>的研究发现, KIM-1 与 miR-203 的表达量具有一定的调控关系。在肾损伤小鼠模型肾组织中, miR-203 水平降低, 并且与基因高甲基化状态有关。但是本研究发现, 小儿心脏手术后短期内血清 miR-203 呈升高趋势, 且在 AKI 确诊前, 血清 miR-203 表达变化较 Scr、尿量出现得更早, 并且 miR-203 水平升高是先心病患儿发生 AKI 的独立危险因素, 提示可以在早期预测先心病患儿发生 AKI 的风险。体外循环导致患儿 AKI 的原因十分复杂, 但是均与急性期炎症反应有关, 包括补体活化、细胞因子释放及树突状细胞活化等, 例如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 具有直接细胞毒作用, 同时降低肾小球血流量和滤过率, 刺激炎症细胞浸润。白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 也是导致肾小管损伤的重要因素。而近期 LI 等<sup>[15]</sup>和 WANG 等<sup>[16]</sup>

都发现, 上调 miR-203 水平可诱导内皮细胞炎症反应, 同时促进 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达。除此以外, miR-203 能够加速肾小管上皮细胞凋亡, 加重肾小管损伤。因此在本研究中, AKI 组患儿术后血清 miR-203 水平迅速升高可能与急性期炎症反应密切相关<sup>[17]</sup>。

综上所述, 年龄 <4 岁、紫绀型先心病、体外循环时间 >175.68 min、阻断升主动脉时间 >101.45 min 及术后 2 h 血清 miR-203 >1.70 是先心病患儿体外循环术后发生 AKI 的独立危险因素, 而血灌心肌保护是发生 AKI 的独立保护因素。围手术期应重视对危险因素的干预, 以降低先心病患儿体外循环术后发生 AKI 的风险。除此以外, 血清 miR-203 有望成为先心病患儿发生 AKI 的早期预警分子, 但是仍需大样本研究进一步证实。

#### 参 考 文 献:

- [1] BENJAMIN E J, BLAHA M J, CHIUVE S E, et al. Heart disease and stroke statistics-2017 update: a report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2017, DOI: 10.1161/CIR.0000000000000491.
- [2] 段炼, 胡国潢, 蒋萌, 等. 先天性心脏病体外循环术后合并急性肾损伤患儿的临床特点及预后分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(11): 1196-1201.
- [3] 胡秀红, 杨洪娟, 王会卿, 等. 胱抑素 C、肾损伤分子-1、肌酐在先天性心脏病体外循环术所致急性肾损伤早期预警中的临床价值 [J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(5): 31-35.
- [4] XIAO X C, TANG R, ZHOU X, et al. Aldosterone induces NRK-52E cell apoptosis in acute kidney injury via rno-miR-203 hypermethylation and Kim-1 upregulation[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(2): 915-924.
- [5] AKCANA R A, ZAPPITELLI M, LOFTIS L L, et al. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2007, 71(10): 1028-1035.
- [6] 陈子衿, 徐珍娥. 新生儿急性肾损伤研究进展 [J]. *儿科药学杂志*, 2019, 25(5): 62-65.
- [7] 石秋霞, 韩丹诺, 贾明, 等. 体外循环心脏手术后急性肾损伤的危险因素分析 [J]. *中国循证心血管医学*, 2017, 9(4): 452-455.
- [8] TODA Y, SUGIMOTO K. AKI after pediatric cardiac surgery for congenital heart diseases—recent developments in diagnostic criteria and early diagnosis by biomarkers[J]. *J Intensive Care*, 2017, DOI: 10.1186/S40560-017-0242-z.
- [9] PASQUALI S K, HALL M, LI J S, et al. Corticosteroids and outcome in children undergoing congenital heart surgery: analysis of the pediatric health information systems database[J]. *Circulation*, 2010, 122(21): 2123-2130.
- [10] 李晓芸, 罗刚健, 黎尚荣, 等. 术前肌酐和尿素氮正常患者肝移植早期急性肾损伤的发生与生存分析 [J]. *中山大学学报*

- (医学科学版), 2013, 34(3): 397-401.
- [11] 孙华东, 王振康, 何胜平, 等. 血清胱抑素与血肌酐监测在心脏手术相关急性肾损伤诊断中的应用 [J]. 山东医药, 2013, 53(19): 45-47.
- [12] FAN H, ZHAO Y, SUN M, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, kidney injury molecule-1, N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase levels and mortality risk in septic patients with acute kidney injury[J]. Arch Med Sci, 2018, 14(6): 1381-1386.
- [13] SCHUH M P, NEHUS E, MA Q, et al. Long-term stability of urinary biomarkers of acute kidney injury in children[J]. Am J Kidney Dis, 2016, 67(1): 56-61.
- [14] ICHII O, HORINO T. MicroRNAs associated with the development of kidney diseases in humans and animals[J]. J Toxicol Pathol, 2018, 31(1): 23-34.
- [15] LI Y, LIU X P, DU A L, et al. miR-203 accelerates apoptosis and inflammation induced by LP S via targeting NFIL3 in cardiomyocytes[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(4): 6605-6613.
- [16] WANG Y P, DONG Q, GU Y, et al. Up-regulation of miR-203 expression induces endothelial inflammatory response: Potential role in preeclampsia[J]. Am J Reprod Immunol, 2016, 76(6): 482-490.
- [17] KE X F, FANG J, WU X N, et al. MicroRNA-203 accelerates apoptosis in LPS-stimulated alveolar epithelial cells by targeting PIK3CA[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 450(4): 1297-1303.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 熊田辛, 查正彪, 郑智, 等. 先天性心脏病患儿术后发生急性肾损伤的危险因素及早期检测血清 microRNA-203 的意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(10): 38-44.