

УДК 616.61-001-003.811

ШРАМЕНКО Е.К.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецк, Украина

ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ S-NGAL У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ПОЧЕК РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Резюме. В статье представлены данные исследования s-NGAL у 35 пациентов с острым повреждением почек (ОПП) преренального, ренального и субренального генеза. Уровни s-NGAL изучались при поступлении больных в ОИТ (в стадии олигоанурии) и в стадии восстановления диуреза (фаза полиурии). Самые высокие уровни s-NGAL при поступлении выявлены у больных с ренальным ОПП. При этом в стадии восстановления диуреза (спустя 2–4 недели с момента поступления), несмотря на снижение азотемии, уровень s-NGAL оставался высоким. У больных с преренальным и субренальным ОПП отмечалось быстрое уменьшение концентрации s-NGAL при восстановлении диуреза. Таким образом, определение уровня s-NGAL при поступлении в ОИТ дает возможность уточнить вариант (преренальный, ренальный, субренальный) ОПП, оценить тяжесть повреждения канальцев почек и прогнозировать исход.

Ключевые слова: острое повреждение почек, ранние маркеры ОПП, s-NGAL.

Актуальность

Острое повреждение почек (ОПП) — тяжелое, полиэтиологическое осложнение многих заболеваний. Одним из решающих факторов в оказании помощи пациентам с ОПП является ранняя диагностика и установление причины ОПП.

Наиболее перспективным и революционным в плане раннего выявления ОПП считается NGAL (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) — липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (25 кД). NGAL выявляется как в моче (u-NGAL), так и в плазме крови (s-NGAL). В ряде исследований [1, 2, 4] NGAL представлен как «ренальный тропонин», самый ранний маркер острого повреждения. При развитии ОПП NGAL повышается в течение 2 часов, обнаруживается в моче и в плазме у пациентов с ОПП за 24 часа до повышения креатинина. Этот белок, с одной стороны, отражает тяжесть повреждения почек, с другой — защищает почечные канальцы от дальнейшего поражения. Функция сывороточного липокалина (s-NGAL) при ОПП — ограничение и/или уменьшение тяжести повреждений в проксимальных канальцах почек [1, 6]. NGAL «нормализует» поврежденные ткани за счет: участия в процессе апоптоза, повышения выживаемости поврежденных клеточных структур, восстановления поврежденного эпителия, стимуляции дифференцировки и структурной реорганизации почечных эпителиальных клеток. Впервые был выделен из нейтрофилов человека и описан в 1993 г. Связан с протеолитическим ферментом, называ-

емым желатиназой нейтрофилов. Опыты на животных показали, что NGAL — один из самых ранних белков, индуцируемых клетками почечных канальцев при ишемическом или нефротоксическом стрессе [1, 5]. При ОПП NGAL из плазмы крови поступает в почки, фильтруется и реабсорбируется в проксимальных канальцах почти полностью. В моче появляется u-NGAL, который синтезируется локально, в дистальных частях нефрона, в течение нескольких часов после ОПП, его функция — стимуляция выживания и пролиферации клеток в этом отделе, который обычно подвергается апоптозу при ОПП. Достаточно много исследований посвящено изучению уровня u-NGAL, который экспрессируется быстро в больших количествах в канальцах почек при их повреждении. Но так же быстро его концентрация в моче и снижается. Кроме того, уровень u-NGAL повышается при многих заболеваниях почек [1–3]. Меньше исследований посвящено изучению уровня s-NGAL, хотя считается, что именно s-NGAL наиболее специфичен для ОПП. Практически нет исследований, посвященных изменению s-NGAL в динамике развития ОПП и при реабилитации пациентов, перенесших это заболевание. А так как в реанимационный центр ДОКТМО больные поступают с уже развившейся олигоанурией (ОА) и повышенными цифрами креатинина и мочевины в плазме

© Шраменко Е.К., 2014

© «Украинский журнал хирургии», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

крови (стадия F ОПП по классификации RIFLE), были изучены диагностические возможности s-NGAL в уточнении варианта ОПП, тяжести поражения почек и их реабилитации в процессе интенсивной терапии.

Цель исследования: провести сравнительную оценку динамики уровней s-NGAL у больных с преренальным, ренальным и постренальным ОПП, поступивших в ОИТ, в стадии олигоанурии и восстановления диуреза для определения перспективы использования этого показателя в дифференциальной диагностике различных вариантов ОПП, а также в качестве маркера повреждения и восстановления (реабилитации) почечных канальцев.

Материал и методы

Определяли уровни NGAL в сыворотке крови (s-NGAL). В исследование включены 35 больных с острым повреждением почек преренального (12), ренального (16) и субренального генеза (7) в стадии олигоанурии (1-я группа) и в стадии восстановления диуреза (2-я группа). Средний возраст пациентов составил 48 ± 10 лет. Из них было 15 женщин и 20 мужчин. Контрольную группу составили 10 здоровых доноров. Пациенты находились на лечении в реанимационном центре, отделении активных методов детоксикации ДОКТМО. 19 больным проводилось гемодиализное лечение (114 сеансов) через артериовенозный шунт или двухходовый катетер на аппаратах АК-90, АК-200 (Gambro), Tina (Baxter), диализаторы — Alwal GFE, GFS, Poluflux (Gambro), F-5 (Fresenius). Уровень s-NGAL (нг/мл) определяли иммуноферментным методом на анализаторе SunRise TouchScreen, тест-система Human lipocaline-2/NGAL ELIZA (Biovendor, Чешская Республика). Полученные данные обработаны с помощью лицензионной программы MedStat. При сравнении выборкой достоверной считали разницу при $p < 0,05$. Для оценки корреляционной связи s-NGAL с показателями азотемии (мочевина, креатинин), электролитного обмена (калий, натрий, хлор) и индексом резистентности (RI) в основном стволе почечной артерии использовали стандартный коэффициент корреляции Пирсона (r).

Результаты и обсуждение

Были сравнены результаты данных s-NGAL у больных с преренальным, ренальным и субренальным ОПП. Уровень NGAL оценивался при поступлении

(стадия олигоанурии) и в стадии восстановления диуреза (фаза полиурии), при нормализации показателей азотемии.

В группе больных с преренальным и ренальным ОПП при поступлении s-NGAL был повышен, достоверно отличался от данных контрольной группы и составил соответственно $31,99 \pm 0,49$ нг/мл и $32,99 \pm 0,34$ нг/мл (табл. 1). Достоверной разницы между показателями NGAL при преренальном и ренальном ОПП при поступлении выявлено не было. У больных с субренальным ОПП s-NGAL при поступлении был повышен в сравнении с данными в контрольной группе, но был достоверно ($p < 0,001$) ниже, чем при преренальном и ренальном ОПП, и составил $14,56 \pm 0,42$ нг/мл.

После лечения, в стадии восстановления диуреза, в группе преренального ОПП s-NGAL достоверно снизился, но оставался повышенным в сравнении с контрольной группой. В группе ренального ОПП на 20–30-е сутки лечения в стадии восстановления диуреза (диализное лечение прекращено) уровни NGAL практически не отличались от данных при поступлении, а у двух больных с трансформацией ОПП в ХПН даже были несколько выше ($33,0 \pm 1,3$ нг/мл), чем при поступлении, несмотря на восстановление диуреза и снижение показателей азотемии. Такое стойкое повышение уровней s-NGAL спустя 3–4 недели при тяжелой форме ОПП можно объяснить тем, что регенерация эпителия канальцев происходит в течение месяца, а дальнейшее восстановление продолжается до года. При субренальном ОПП после восстановления пассажа мочи и снижения азотемии показатели NGAL приближались к данным в контрольной группе.

Таким образом, s-NGAL отражает при поступлении в стадии олигоанурии изменения, которые произошли в канальцах почек. Известно, что, с учетом этиопатогенеза, самые выраженные тубулярные нарушения развиваются в группе ренального ОПП. И цифры s-NGAL в этой группе также были самыми высокими. В динамике восстановления эпителия почечных канальцев в группе ренального ОПП происходит длительно, более месяца и до года. И тот факт, что s-NGAL не снизился достоверно в стадии восстановления диуреза (фаза полиурии) в этой группе, подтверждает тяжелые и стойкие тубулоинтерстициальные нарушения при ОПП ренального генеза. В группе преренального ОПП при поступлении в стадии олигоанурии также зафиксированы высокие цифры s-NGAL, которые достоверно не отличались от

Таблица 1. Изменение показателей s-NGAL у больных с ОПП при поступлении и в стадии восстановления диуреза

Генез ОПП	s-NGAL, нг/мл (M ± m)		
	Стадия олигоанурии (1-я группа)	Стадия восстановления диуреза (2-я группа)	Контрольная группа
Преренальная, n = 12	$31,99 \pm 0,49^*$	$21,2 \pm 2,4^{**}$	–
Ренальная, n = 16	$32,99 \pm 0,34^*$	$31,87 \pm 0,90$	$13,6 \pm 0,8$
Субренальная, n = 7	$14,56 \pm 0,42$	$13,70 \pm 0,35$	–

Примечания: * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** — $p < 0,05$ по сравнению с первой группой.

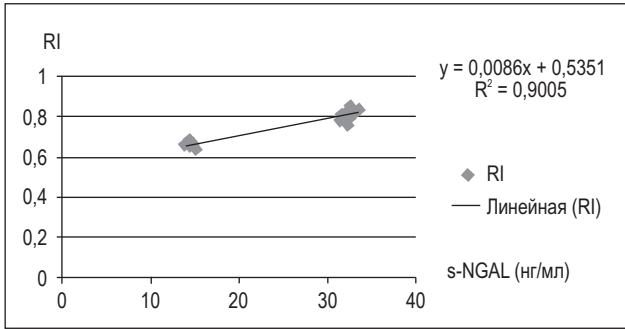


Рисунок 1. Корреляционная зависимость уровня s-NGAL от показателя почечной гемодинамики RI при поступлении в ОИТ у пациентов с ОПП в стадии олигоанурии

показателей в группе ренального ОПП. Это также свидетельствовало о тяжелых изменениях в канальцах почек. Однако в процессе интенсивной терапии цифры s-NGAL достоверно снизились в стадии восстановления диуреза, хотя и не достигли значений контрольной группы. Такая динамика свидетельствовала о тяжелом, но, возможно, менее распространенном и глубоком тубулярном поражении. При этом восстановление почечных повреждений (регенерация эпителия) происходило в более короткие сроки в сравнении с ренальным ОПП. В группе субренального ОПП, несмотря на анурию, тяжесть пациентов и высокие цифры азотемии, s-NGAL не повышался достоверно в сравнении с нормой. Это свидетельствовало о большей сохранности тубулярного аппарата почек в этой группе в сравнении с группами преренального и ренального ОПП. В стадии восстановления диуреза в группе субренального ОПП показатели NGAL практически соответствовали данным в контрольной группе.

Для оценки взаимосвязи с показателями функционального состояния почек изучен коэффициент корреляции уровней NGAL с данными азотемии (мочевина, креатинин), электролитного обмена (калий, натрий, хлор) и индексом резистентности в основном стволе почечной артерии в стадии ОА и восстановления диуреза (фаза полиурии). В целом в стадии ОА выявлена слабая корреляционная связь показателя s-NGAL с уровнем мочевины и креатинина плазмы независимо от варианта ОПП. Уровни s-NGAL были повышены раньше, чем цифры мочевины и креатинина. В группе субренального ОПП невысоким цифрам NGAL ($14,56 \pm 0,42$ нг/мл) при поступлении могли соответствовать крайне высокие показатели креатинина плазмы крови (2200 мкмоль/л). Во всех группах ОПП выявлена сильная положительная связь s-NGAL с уровнями натрия и хлора плазмы крови, что может быть объяснено тем фактом, что эти ионы принимают активное участие в регуляции почечных процессов и функций, особенно в системе почечных канальцев. Не выявлена корреляционная связь с калием плазмы ни в одной группе ОПП. С RI в стадии ОА корреляционная связь была умеренной, более сильной — в группе преренального и ренального ОПП. В стадии восстановления диуреза также не

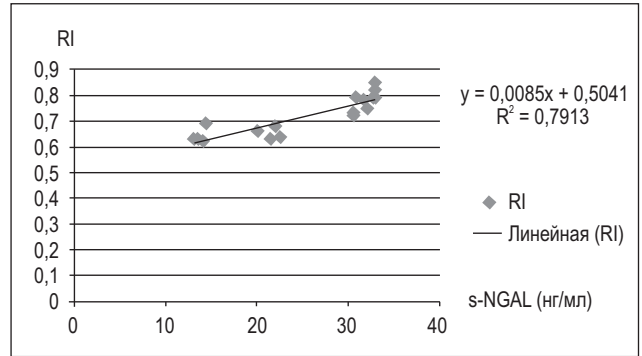


Рисунок 2. Корреляционная зависимость уровня s-NGAL от показателя RI в стадии восстановления диуреза (полиурии)

выявлено корреляции между цифрами s-NGAL и показателями мочевины и креатинина плазмы крови. В группе ренального ОПП s-NGAL оставался высоким, а уровни мочевины и креатинина снижались. В группе преренального ОПП в стадии восстановления диуреза выявлена умеренная корреляционная связь с уровнем мочевины плазмы крови. Сохранялась высокая степень корреляции между s-NGAL и цифрами натрия и хлора ($p < 0,001$).

Наиболее тесная и устойчивая связь независимо от варианта ОПП была выявлена между уровнем s-NGAL и показателем почечной гемодинамики RI при поступлении в стадии олигоанурии, а также в стадии восстановления диуреза (рис. 1, 2).

Выявлена сильная прямая корреляционная связь между уровнем s-NGAL и RI при поступлении: $r_{xy} = 0,95$ ($p < 0,001$).

В стадии полиурии также выявлена сильная прямая корреляционная зависимость между уровнем s-NGAL и RI: $r_{xly1} = 0,89$ ($p < 0,001$).

Менее сильная корреляционная связь в стадии восстановления по сравнению со стадией олигоанурии ($p < 0,05$) может быть объяснена тем, что индекс резистентности нормализуется быстрее в стадии восстановления диуреза, чем s-NGAL, который в преренальной и ренальной группах ОПП продолжает оставаться повышенным, несмотря на восстановление водо- и азотвыделительной функций почек.

Таким образом, s-NGAL может служить дополнительным критерием в дифференциальной диагностике различных вариантов ОПП. Оценка полученных уровней s-NGAL должна проводиться в комплексе с данными анамнеза и клинической картины заболевания, комплексного УЗИ с доплерометрией, с учетом динамики клинико-биохимических лабораторных показателей.

Выводы

1. Уровни s-NGAL у больных с ОПП в стадии олигоанурии повышены. Наиболее высокие цифры наблюдаются при ренальном ОПП.

2. Определение уровня s-NGAL при поступлении в ОИТ дает возможность уточнить характер (преренальный, ренальный, субренальный) ОПП.

3. Изучение уровня s-NGAL в динамике лечения позволяет оценить тяжесть повреждения канальцев почек и прогнозировать исход ОПП и трансформацию его в ХПН.

4. При тяжелом ОПП в стадии восстановления диуреза (фаза полиурии) и снижении до субнормальных цифр азотемии s-NGAL остается высоким, что свидетельствует о неполном восстановлении структур и функций почек.

Список литературы

1. Вельков В.В. NGAL (липокалин 2) — «ренальный тропонин», ранний маркер острого повреждения почек: значение для нефрологии и кардиохирургии (часть 1) / Вельков В.В. // *Лабораторна діагностика*. — 2012. — № 1(59). — С. 42-57.
2. Вельков В.В. NGAL (липокалин 2) — «ренальный тропонин», ранний маркер острого повреждения почек (часть 2) / Вельков В.В. // *Лабораторна діагностика*. — 2012. — № 2(60). — С. 46-55.
3. Arany I. When less is more: apoptosis during acute kidney injury / Arany I. // *Kidney Int.* — 2008. — Vol. 74. — P. 261-262.
4. Devarajan P. Emerging biomarkers of acute kidney injury / Devarajan P. // *Contrib. Nephrol.* — 2007. — Vol. 156. — P. 203-212.
5. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury / Mori K. [et al.] // *L. Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 115. — P. 610-621.
6. Dual Action of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin / Schmidt-Ott K.M., Mori K., Li J.Y. [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2008. — Vol. 18. — P. 407-413.

Получено 28.04.14 ■

Шраменко Є.К.

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, Донецьк, Україна

ДИНАМІЧНІ ЗМІНИ S-NGAL У ХВОРИХ ІЗ ГОСТРИМ ПОШКОДЖЕННЯМ НИРОК РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Резюме. У статті подано дані дослідження s-NGAL у 35 пацієнтів із гострим пошкодженням нирок (ГПН) преренального, ренального та субренального генезу. Рівні s-NGAL вивчалися при надходженні хворих у ВІТ (в стадії олігоанурії) та в стадії відновлення діурезу (фаза поліурії). Найбільш високі рівні s-NGAL при надходженні виявлені у хворих із ренальним ГПН. При цьому в стадії відновлення діурезу (через 2–4 тижні з моменту надходження), незважаючи на зниження азотемії, рівень s-NGAL

залишався високим у хворих із преренальним і субренальним ГПН відмічалось швидке зменшення концентрації s-NGAL при відновленні діурезу. Таким чином, визначення рівня s-NGAL при надходженні у ВІТ дає можливість уточнити варіант (преренальний, реальний, субренальний) ГПН, оцінити тяжкість пошкодження канальців нирок і прогнозувати результат.

Ключові слова: гостре пошкодження нирок, ранні маркери ГПН, s-NGAL.

Shramenko Ye.K.

Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk, Ukraine

DYNAMIC CHANGES OF S-NGAL IN PATIENTS WITH ACUTE KIDNEY INJURY OF VARIOUS ORIGIN

Summary. Introduction. Acute kidney injury (AKI) is a severe, polyethiologic complication of many diseases. The most significant factor to provide benefit of AKI treatment is early diagnostics. Blood neutrophil gelatinase-associated lipocalin (s-NGAL) is arguably the most promising emerging biomarker (25 kDa, protein) for detection of AKI. There are urine NGAL (u-NGAL), and plasma NGAL (p-NGAL). Experiments on animals have shown that NGAL is one of the earliest proteins induced renal tubular cells in ischemic or nephrotoxic stress. This protein on the one hand reflects the severity of renal damage, with another — protects renal tubules from further destruction. The most specific for AKI, especially in the absence of urine is considered s-NGAL.

The aim of our study: a comparative validation of s-NGAL level changes in patients with prerenal, renal and postrenal AKI during oliguric stage and in stage of recovery of diuresis.

Material and Methods. The study included 35 patients with prerenal (12), renal (16) and subrenal AKI (7) in oliguric stage (group 1) and in the stage of recovery diuresis (group 2). The average age of the patients was 48 ± 10 years. The Level of s-NGAL (ng/ml) was determined by ELISA analyzer SunRise TouchScreen, test system Human lipocalin-2/NGAL ELIZA (Biovendor, Czech Republic). The obtained data were processed using the licensed program MedStat. To assess correlation of s-NGAL with levels of azotemia, electrolytes (potassium, sodium, chloride), and resistive index (RI) in renal artery a standard Pearson coefficient (r) was used.

Results. In patients with prerenal and renal AKI in oliguric stage s-NGAL level was elevated and significantly different from those of the control group, amounted to 31.99 ± 0.49 and 32.99 ± 0.34 ng/ml. There was not significant difference between s-NGAL levels in prerenal and renal AKI in oliguric stage. In patients with subrenal AKI s-NGAL at admission was elevated in comparison with those in the control group, but was significantly ($p < 0.001$) lower than in prerenal and renal AKI (14.56 ± 0.42 ng/ml). In the stage of restoration of diuresis in prerenal AKI s-NGAL level significantly decreased, but remained elevated compared with the control group. In renal AKI patients s-NGAL levels did not differ from those on admission and in 2 patients were even slightly higher (33.0 ± 1.3 ng/ml), inspite of restoration of diuresis and subnormal levels of azotemia. So, in severe AKI s-NGAL level remains high even in polyuric stage, which confirms the fact of incomplete recovery of renal structure and function. In patients with subrenal AKI s-NGAL level decreased soon after restoration of urine passage and were near the control group data. Strong direct correlation was found between s-NGAL and RI in oliguric stage, as well as s-NGAL and RI in the stage of diuresis recovery. There was not significant correlation with other markers of AKI.

Conclusion. Thus, s-NGAL may consider being an additional criterion for diagnostics of different variants of AKI and severity of renal dysfunction.

Key words: acute kidney injury, early biomarkers of acute kidney injury, s-NGAL.