

© Сафина А.И., Даминова М.А., 2011

А.И. Сафина, М.А. Даминова

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ЛИПОКАЛИНА-2, АССОЦИИРОВАННОГО С НЕЙТРОФИЛЬНОЙ ЖЕЛАТИНАЗОЙ, В МОЧЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ В КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

ГБОУ ДПО КГМА Минздравсоцразвития России, г. Казань, РФ

В данном исследовании проведена оценка диагностической и прогностической значимости уровня липокалина-2, ассоциированного с нейтрофильной желатиназой (NGAL), в моче как раннего маркера нарушения функций почек у новорожденных в критических состояниях. Было проведено комплексное обследование 55 доношенных новорожденных детей, 40 из которых – новорожденные в критических состояниях, а 15 – здоровые доношенные новорожденные группы контроля. При определении NGAL в моче выявлено, что на 3–5-й день жизни у новорожденных в критических состояниях наблюдаются повышенные значения этого показателя по сравнению с группой контроля с последующим понижением к 10–14-му дню жизни. У 15% детей уровень NGAL в моче на 3–5-й день жизни был значительно выше пограничного уровня (более 150 нг/мл) при умеренно сниженном уровне скорости клубочковой фильтрации, максимальное понижение которого наблюдалось лишь к 10–14-му дню жизни, и при повышенной активности в моче ферментов нефротелия (лактат-дегидрогеназы, щелочной фосфатазы и γ -глутамилтрансферазы).

Ключевые слова: новорожденные, липокалин-2, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой в моче, функция почек, острая почечная недостаточность.

Authors estimated diagnostic and prognostic importance of urinary concentration of Lipocalin-2, associated with neutrophilic gelatinase (NGAL) as early marker of renal functions disorders in neonates in critical states. Complex examination was performed in 55 full-term neonates, including 40 neonates in critical states and 15 healthy neonates as control group. Determination of NGAL level in urine showed that in 3–5-th days of life neonates in critical states had more high NGAL level in comparison with control with its decrease in 10–14-th days of life. Urinary NGAL in 3–5-th days was significantly more than borderline level (150 ng/ml) in 15% of neonates in critical states and was associated with moderate decrease of glomerular filtration rate (minimal GFR occurred in 10–14 days of life) and with increased urinary levels of nephrothelial enzymes (lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpherase).

Key words: neonates, lipocalin-2, associated with urinary neutrophilic gelatinase, renal functions, acute renal failure.

Неонатальный период является важным этапом в становлении функций почек у новорожденных. Негативное воздействие повреждающих факторов в пренатальный и неонатальный периоды, вызывая морфологические и функциональные повреждения почек, способствует формированию

хронической болезни почек (ХБП) [1]. По данным различных исследователей, частота заболеваний органов мочевой системы (ОМС) у новорожденных детей, перенесших реанимационные мероприятия, составляет от 30 до 36% [2].

Этому способствуют морфофункциональная

Контактная информация:

Сафина Асия Ильдусовна – д.м.н., проф., зав. каф. педиатрии и неонатологии
ГБОУ ДПО КГМА Минздравсоцразвития России
Адрес: 420034 г. Казань, ул. Декабристов, 125а
Тел.: (843) 262-52-66, E-mail: kafped@yandex.ru
Статья поступила 23.12.11, принята к печати 28.06.12.

незрелость ОМС, перенесенная асфиксия, гемодинамические нарушения, инфекции, использование нефротоксических лекарственных препаратов. На ранних этапах повреждения почек у новорожденных отсутствуют информативные диагностические критерии, свидетельствующие о нарушении функции почек [3]. Они появляются тогда, когда происходит значительное нарушение функции почек, в виде снижения диуреза (олигурия, анурия), повышения уровня креатинина в сыворотке и снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Неспецифичность клинической симптоматики и низкая информативность существующих методов обследования затрудняют своевременную диагностику повреждения почек у новорожденных, выбор оптимальной терапии, предрасполагают к развитию ХБП, что имеет уже и медицинское и социальное значение [4].

В последние годы был найден маркер, концентрация которого при остром повреждении почек нарастает на 1–2 дня раньше, чем уровень креатинина и отражает остроту и тяжесть поражения почек [5, 6] – липокалин-2, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL). NGAL – белок с молекулярной массой 25 кДа, синтезируется эпителиальными клетками, в том числе проксимальных канальцев. В зависимости от условий липокалин-2 может быть и фактором выживания клеток и проапоптотическим фактором. Уровни в моче и плазме коррелируют, если синтез липокалина-2 повышен. Особенно высокая концентрация в моче наблюдается при прямой секреции из поврежденных канальцев. Рост концентрации липокалина-2 в моче наблюдается при острой почечной недостаточности (ОПН), остром тубулярном некрозе или тубулоинтерстициальной нефропатии. При ОПН NGAL из плазмы крови поступает в почки, фильтруется и реабсорбируется в проксимальных канальцах. При повреждении почечных канальцев происходит повышение уровня NGAL как в сыворотке (в 7–16 раз), так и в моче (в 25–1000 раз!). При ОПН источниками высоких плазменных уровней NGAL являются печень, легкие, нейтрофилы, макрофаги и другие клетки иммунной системы. Как оказалось, хотя NGAL плазмы свободно фильтруется клубочками, он в большой степени реабсорбируется в проксимальных канальцах за счет эндоцитоза. Любая экскреция NGAL в мочу происходит только тогда, когда она связана с повреждением проксимальных ренальных канальцев, что предотвращает реабсорбцию NGAL, и/или с повышением синтеза NGAL в почках *de novo*. Кроме того, установлено, что высокий уровень выделения NGAL с мочой является предиктором неблагоприятного исхода при ОПН. Наиболее высокий пограничный уровень NGAL в моче у детей – 100–135 нг/мл [7]. В литературе практически отсутствуют исследования по определению уровня NGAL в моче у новорожденных.

Целью нашего исследования явилась оценка диагностической и прогностической значимости уровня NGAL в моче как раннего маркера нарушения функций почек у новорожденных в критических состояниях.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 55 доношенных новорожденных детей, из них 40 новорожденных составили основную группу, а 15 – группу сравнения. Новорожденные основной группы (40 детей, из них 24 мальчика и 16 девочек) находились на стационарном лечении в отделении реанимации МУЗ Городская детская больница № 1 г. Казани, куда они поступали из родильных домов на 1–2-е сутки жизни. Тяжесть состояния детей основной группы была обусловлена асфиксией, дыхательными нарушениями, тяжелым перинатальным поражением ЦНС и инфекционно-воспалительной патологией. Критериями исключения детей из основной группы были: гестационный возраст менее 38 недель, врожденные пороки развития ОМС, инфекционно-воспалительные поражения почек, а также несогласие родителей. Группу контроля, сформированную методом случайной выборки, составили 15 условно здоровых доношенных новорожденных (8 мальчиков и 7 девочек). Средний гестационный возраст составил $39,1 \pm 0,4$ недели (от 39 до 40 недель), средняя масса тела $3189,6 \pm 56,2$ г.

Обследование детей включало сбор данных анамнеза, анализ медицинской документации, клиническое наблюдение, лабораторные и инструментальные методы исследования. Особое внимание уделялось течению антенатального и неонатального периодов, объему реанимационной помощи, длительности искусственной вентиляции легких, наличию отека легкого, синдрому, при менению нефротоксических препаратов.

Оценку функции почек у новорожденных проводили двукратно: на 3–5-е и 10–14-е сутки жизни. Исследовали суточный и почасовой диурез, уровень мочевины и креатинина в сыворотке крови и моче с расчетом СКФ в мл/мин/1,73 м² по модифицированной формуле Шварца = $(0,45 \cdot \text{длина тела в см}) / (\text{креатинин плазмы в мкмоль/л} \cdot 0,0113)$. Для уточнения степени и локализации повреждения структурно-функциональных элементов нефрона определяли активность ферментов – щелочной фосфатазы (ЩФ), γ -глутамил-трансферазы (ГГТ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в моче с пересчетом на 1 мг выделенного с мочой креатинина [8].

Определение уровня NGAL в моче методом иммуноферментного анализа проводили также на 3–5-е и 10–14-е сутки жизни с помощью наборов Human Lipocalin-2/NGAL (ELISA).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов приложений Microsoft Office XP для статистической обработки материала – Microsoft Excel (версия 9.0) и программы

Таблица 1

**Показатели функции почек у новорожденных
в критических состояниях и у детей контрольной группы**

Пациенты	Мочевина в крови, ммоль/л (M±2m)	Креатинин в крови, мкмоль/л (M±2m)	СКФ, мл/мин/1,73 м ² (M±2m)	Диурез, мл/кг/ч (M±2m)
3–5-е сутки				
Основная группа	17,67±4,23*	187,71±14,74*	33,26±4,36*	3,4±0,33
Группа контроля	3,60±1,23	44,6±10,1	61,3±14,3	3,1±0,41
10–14-е сутки				
Основная группа	16,81±3,91*	73,46±15,8*	35,41±6,92*	3,8±0,27
Группа контроля	3,84±1,36	14,56±3,86	65,6±7,86	5,1±0,32

Здесь и в табл. 2 и 3: * $p < 0,05$ при сравнении показателей у детей контрольной группы.

STATISTICA 6.0. Из совокупности данных рассчитывали среднюю арифметическую вариационного ряда (M), среднее квадратическое отклонение, ошибку средней арифметической (m). При расчете достоверности различий полученных данных использовали t-критерий Стьюдента. Все вычисляемые при статистическом анализе величины и формулируемые гипотезы удовлетворяли уровню значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Анализ анамнестических данных показал, что у 90% обследованных новорожденных основной группы и 21% детей контрольной группы имелись факторы риска, связанные с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, экстрагенитальной патологией, патологическим течением беременности и родов у матерей. Однако у матерей детей основной группы достоверно чаще, чем в группе контроля, выявлялись соматическая патология (55,1 и 25,4%, $p < 0,01$) в виде анемии и заболеваний ОМС; беременность осложнялась гестозом (37,5 и 12,7%, $p < 0,05$), фетоплацентарной недостаточностью (12,5 и 6,4%, $p < 0,05$), хронической внутриутробной гипоксией плода (20 и 5,9%, $p < 0,01$). Патология родов у матерей детей основной группы в виде патологического преламинарного периода (9%), несвоевременного излития околоплодных вод (29%), слабости потужного периода (70%), преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты (18%, $p < 0,01$) вели к развитию острой интранатальной гипоксии (95%), осложнившейся аспирацией мекония (65%) и перинатальным поражением ЦНС (97%).

Клинические признаки, позволяющие заподозрить поражение почек, были выявлены у 93% детей ($n=37$) в виде отеочного синдрома (I степени – 80%, II степени – 13%). При этом снижение диуреза $< 0,5$ мл/кг/ч на 5–6-й день жизни отмечалось только у 2 детей (5%). У 93% детей основной группы имелись изменения в анализах мочи в виде протеинурии ($< 0,5$ г/л – 85%; $> 0,5$ г/л – 8%), микрогематурии (75%), цилиндрурии (20%).

У детей основной группы на 3–5-е сутки жизни установлено нарушение азотовыделительной функции почек (табл. 1) в виде повышения уровня мочевины (≥ 5 раз) и креатинина (≥ 4 раз) в сыворотке крови по сравнению с группой контроля. К 10–14-м суткам жизни имело место снижение уровня креатинина в сыворотке, однако его уровень у детей основной группы оставался в 5 раз более высоким, чем в контроле. Уровень мочевины в сыворотке к 10–14-му дню у детей основной группы практически не менялся, оставаясь в 4 раза выше, чем в контрольной группе. СКФ была умеренно снижена практически у всех детей основной группы в сравнении с группой контроля и оставалась неизменной на протяжении первых 2 недель жизни ребенка.

Следует отметить, что в момент нахождения детей на стационарном лечении в отделении реанимации новорожденных ни одному пациенту не был выставлен диагноз ОПН, поскольку у них не было снижения диуреза, а повышение уровня креатинина носило транзиторный характер.

Исследование уровня NGAL в моче установило следующее: на 3–5-й день жизни у новорожденных основной группы уровень NGAL в моче был в 3 раза выше, чем в контрольной группе, а к 10–14-му дню жизни он снижался до контрольных значений (табл. 2).

Анализируя полученные данные, мы установили прямую взаимосвязь уровня NGAL в моче с уровнем креатинина в крови ($r=0,74$; $p < 0,01$) и СКФ ($r=0,72$; $p < 0,05$). Нормализация уровня

Таблица 2

**Уровень NGAL в моче у новорожденных
в критических состояниях
и у детей контрольной группы**

Пациенты	NGAL в моче, нг/мл (M±2m)	
	3–5-е сутки	10–14-е сутки
Основная группа	50,8±11,1*	16,16±3,28
Группа контроля	16,6±3,24	13,64±2,45

Таблица 3

Ферментурия у новорожденных в критических состояниях и у детей контрольной группы

Пациенты	NGAL в моче, нг/мл (M±2m)	ЩФ, МЕ/г креатинина (M±2m)	ГГТ, МЕ/г креатинина (M±2m)	ЛДГ, МЕ/г креатинина (M±2m)
3–5-й день				
Основная группа	50,8±11,1*	48,6±10,51*	89,08±10,08*	55,58±11,43*
Группа контроля	16,6±3,24	31,7±2,6	43,5±2,4	28,12±8,6
10–14-е сутки				
Основная группа	16,16±3,28	25,93±4,75	89,23±12,27*	30,03±8,22
Группа контроля	13,64±2,45	28,6±5,4	43,5±2,4	26,24±6,4

NGAL в моче к 10–14-му дню жизни не сопровождалась нормализацией уровня креатинина и мочевины сыворотки, а также СКФ. Наблюдая за детьми в катамнезе, мы установили, что к 30–40-му дню все показатели пришли в норму. Следовательно, нормализация NGAL в моче к 10–14-му дню жизни свидетельствует о легком обратимом повреждении почек у новорожденных в критических состояниях.

При анализе активности ферментов в моче на 3–5-й день жизни было установлено повышение уровня всех ферментов (ЛДГ, ГГТ, ЩФ) у детей основной группы (табл. 3). К 10–14-му дню жизни уровень ЛДГ и ЩФ в моче у детей основной группы достоверно снижался до нормальных значений, параллельно с уровнем NGAL в моче ($r=0,62$; $p<0,05$), тогда как уровень ГГТ не менялся.

Значения NGAL в моче у 6 детей (15%) основной группы на 3–5-й день жизни были ≥ 150 нг/мл ($156,2\pm 14,6$ нг/мл), что свидетельствует об остром повреждении почек. У этих детей к 10–14-му дню жизни уровень NGAL в моче оставался на том же уровне ($174,4\pm 20,1$ нг/мл; $p>0,05$) без тенденции к снижению. Уровень креатинина в сыворотке и СКФ к 10–14-му дню у этих детей были достоверно выше аналогичных данных у детей с уровнем NGAL <100 нг/мл (см. рисунок).

Заключение

Таким образом, у новорожденных в критических состояниях отмечается повышение уровня NGAL в моче на 3–5-е сутки жизни и нормализация показателей к 10–14-му дню жизни. Уровень NGAL в моче имеет прямую корреляционную связь с уровнями креатинина, величиной СКФ,

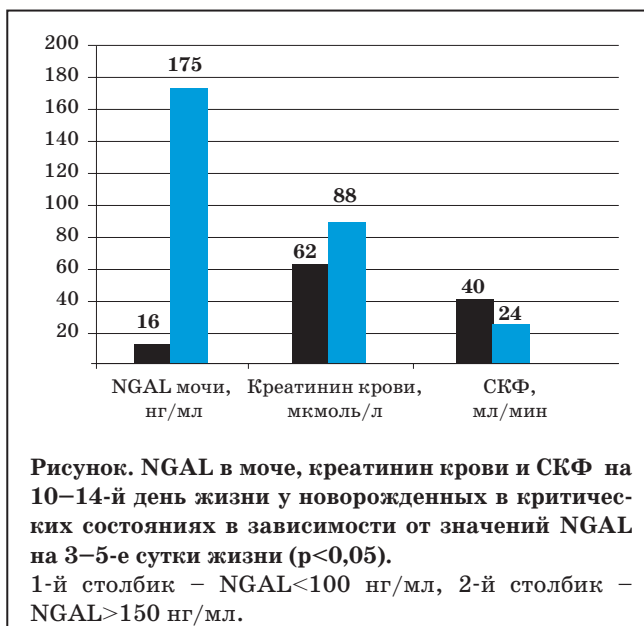


Рисунок. NGAL в моче, креатинин крови и СКФ на 10–14-й день жизни у новорожденных в критических состояниях в зависимости от значений NGAL на 3–5-е сутки жизни ($p<0,05$). 1-й столбик – NGAL <100 нг/мл, 2-й столбик – NGAL >150 нг/мл.

активностью ферментов мочи (ЛДГ, ЩФ). Величина NGAL в моче ≥ 150 нг/мл у новорожденных на 3–5-е сутки жизни служит плохим прогностическим критерием длительно сохраняющегося повреждения почек, а нормализация уровня NGAL в моче к 10–14-му дню жизни свидетельствует о хорошем почечном прогнозе, несмотря на высокие значения креатинина и мочевины в сыворотке и снижение СКФ. Следовательно, определение уровня NGAL в моче наряду с традиционными методами диагностики может быть рекомендовано для диагностики и прогноза острого повреждения почек у новорожденных в критических состояниях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байбарина Е.Н. Нарушения функций почек при критических состояниях у новорожденных детей: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 1999: 33 с.
2. Karłowicz MG, Adelman RD. Acute renal failure in the neonate. Clin. Perinatology. 1992; 19 (1): 139–158.
3. Чугунова О.Л. Поражение органов мочевой системы в перинатальном и неонатальном периоде (новые технологии в диагностике, оценке эффективности в лечении и прогнозе): Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2001.
4. Lattanzio MR, Nelson P, et al. Acute Kidney Injury: New Concepts in Definition, Diagnosis, Pathophysiology, And Treatment. JAOA. 2009; 109 (1): 13–19.
5. Honore PM, Joannes-Boyau O, Boer W. The early biomarker of acute kidney injury: in search of the Holy Grail. Intensive Care Med. 2007; 33: 1866–1868.
6. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury. Expert Opin. Med. Diag. 2008; 2 (4): 387–398.
7. Askenazi DJ, Namasivayam Ambalavanan, Stuart L. Goldstein acute kidney injury in critically ill newborns: What do we know? What do we need to learn? Pediatr. Nephrol. 2009; 24: 265–274.
8. Юрьева Э.А., Длин В.В. Диагностический справочник нефролога. М.: Оверлей, 2007: 352 с.