

© М.С.Мосоян, С.Х.Аль-Шукри, А.М.Есаян, А.Ш.Румянцев, О.В.Галкина, Д.М.Ильин, С.В.Корза, 2013
УДК [616.61-089.87-06:616.61-001]-07

*М.С. Мосоян¹, С.Х. Аль-Шукри¹, А.М. Есаян², А.Ш. Румянцев³,
О.В. Галкина⁴, Д.М. Ильин¹, С.В. Корза¹*

NGAL – РАННИЙ БИОМАРКЕР ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПОЧКИ И НЕФРЭКТОМИИ

*M.S. Mosoyan, S.Kh. Al-Shukri, A.M. Yesayan, A.Sh. Rumyantsev,
O.V. Galkina, D.M. Ilin, S.V. Korza*

NGAL – IS THE EARLY MARKER OF ACUTE KIDNEY INJURY AFTER RADICAL AND PARTIAL NEPHRECTOMY

¹Кафедра урологии, ²кафедра нефрологии и диализа, ³кафедра пропедевтики внутренних болезней, ⁴НИИ нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Определить вероятность развития острого повреждения почек (ОПП) после нефрэктомии и резекции почки. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Было исследовано 17 больных раком почки. Пятерым пациентам была выполнена нефрэктомия, 12 пациентов перенесли резекцию почки. Вмешательства выполнялись открытым, лапароскопическим и робот-ассистированным способами. Резекция почки производилась в условиях регионарной ишемии с пережатием почечной паренхимы путем наложения специальных инструментов. Концентрацию креатинина сыворотки крови определяли до операции и через 24 ч. Уровень NGAL плазмы исследовали до операции и через 2 ч. Уровень NGAL мочи определяли до операции через 2, 4 и 8 ч. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Во всех случаях установлен гистологический диагноз светлоклеточный рак. В группе нефрэктомии и резекции почки исходный уровень креатинина сыворотки крови, NGAL плазмы крови и мочи не превышали нормальных значений. После операции в группе нефрэктомии уровень NGAL мочи начал повышаться через 2 ч после операции. Максимальные значения получены через 8 ч после операции – увеличение показателя до 123,4±29,1 нг/мл. В группе резекции почки NGAL мочи также начал повышаться через 2 ч после операции. Максимальные значения через 8 ч после операции 25,4±14,6 нг/мл. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Концентрация NGAL мочи в динамике позволяет выявить острое повреждение почек уже через 2 часа после операции.

Ключевые слова: резекция почки, нефрэктомия, острая почечная недостаточность, острое повреждение почек, ОПП, НГАЛ, липокалин, регионарная ишемия.

ABSTRACT

THE AIM OF STUDY was to find out the beginning of the acute kidney injury (AKI) after partial or radical nephrectomy. **PATIENTS AND METHODS.** 17 patients with renal cell carcinoma were treated either via radical (5 cases) or partial (12 cases) nephrectomy. The procedures were performed through open, laparoscopic or robotic approaches. Partial nephrectomies were made under regional (local) ischemia by putting special clamps on renal parenchyma. The serum creatinine was measured before procedure and 24 h later. Plasma NGAL levels was measured before surgery and 2 hours later. Urine NGAL was measured before surgery after 2, 4 and 8 hours. **RESULTS.** The histological diagnosis was RCC in all cases. In groups of radical and partial nephrectomy initial level of blood serum creatinine, blood serum NGAL and urine level didn't exceed normal values. In radical nephrectomy group urine NGAL level increased 2 hours after surgery. Maximal values were detected at 8 hours after surgery (increase of factor to 123,4±29,1 ng/ml). In group of partial nephrectomy urine NGAL begin to increase at 2 hours after surgery too. Maximal values were detected after 8 hours after surgery 25,4±14,6 ng/ml. **CONCLUSIONS.** Concentration of urine NGAL over time provide to reveal acute kidney injury 2 hours after surgery.

Key words: partial nephrectomy, radical nephrectomy, acute kidney injury, NGAL, lipocalin, regional ischemia.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что нефрэктомия и резекция почки, выполненные по поводу локализованного рака

почки, значительно улучшают выживаемость пациентов [1, 2]. Резекции почки следует отдавать предпочтение во всех возможных случаях, даже если размеры опухоли превышают 7 см (стадия T2), при условии выполнения операции в урологическом центре экспертного класса [1, 3, 4]. Обоснованием

Мосоян М.С. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 17, кафедра урологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, тел.: 921-9632277, E-mail: moso03@yandex.ru

подобных рекомендаций является то, что резекция почки обеспечивает значительно лучшее сохранение функции почек (вне зависимости от способа ее выполнения), предотвращает развитие или замедляет прогрессирование уже существующей хронической болезни почек (ХБП), а также снижает риск сердечно-сосудистых осложнений и смерти [5–7]. Несмотря на все преимущества резекции, у каждого шестого пациента в течение первых лет после операции развивается ХБП 4 стадии, причем в большинстве своем это пациенты с исходной сниженной скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) и относительно небольшим объемом сохраненной в ходе оперативного вмешательства паренхимы [8]. Не менее грозным последствием резекции почки является развитие острого повреждения почек (ОПП). Это состояние отличается высокой летальностью: до 50% пациентов, находившихся на диализе из-за ОПП, умирают, а у 25% выживших в течение 3 лет развивается терминальная стадия ХБП [8]. Ежегодно ОПП осложняет ранний послеоперационный период почти у 20% пациентов, причем на его развитие оказывают влияние не только качество и количество сохраненной паренхимы, но и длительность и метод тепловой ишемии [9]. Развитие ОПП после операции является фактором неблагоприятного прогноза со стороны возможных сердечно-сосудистых катастроф [10]. Становится очевидным, что ОПП опасно как само по себе, так и в связи с отдаленными последствиями, такими как ХБП и сердечно-сосудистые осложнения. Поэтому важным этапом лечения локализованного рака почки является предупреждение развития ОПП и его ранняя диагностика в первые сутки после операции.

В настоящее время стандартом в диагностике изменений функции почек является определение уровня скорости клубочковой фильтрации, которая, как правило, рассчитывается по уровню сывороточного креатинина. Однако диагностика ОПП по изменению уровня креатинина сыворотки крови запаздывает, так как концентрация его начинает повышаться лишь спустя 24–48 ч после повреждения почек [11]. К тому же, расчетные методы оценки скорости клубочковой фильтрации при ОПП не отличаются точностью. Поэтому в последние годы идет интенсивная работа по поиску новых, ранних маркеров для диагностики ОПП.

К показателям, которые позволяют оценить риски и прогнозировать развитие ОПП в первые часы после повреждения, относят липокалин, ассоциированный с желатиной нейтрофилов (NGAL), N-ацетил-В-D-глюкозаминидазу (NAG), интерлей-

кин-18 (IL-18), молекулу почечного повреждения-1 (KIM-1), печеночный протеин, связывающий жирные кислоты (L-FABP) и цистатин С. Каждый из них в отдельности может предоставить различную информацию о функциональном состоянии почек. В то же время, концентрация NGAL в моче представляется наиболее перспективным маркером, который обладает высокой чувствительностью и специфичностью в диагностике ОПП [11].

NGAL – это белок семейства липокалинов, являющийся компонентом острой фазы воспалительного ответа с молекулярной массой 25 кД. В нормальных условиях он синтезируется в разных органах и различных типах клеток, свободно фильтруется в клубочковом аппарате почки и полностью реабсорбируется в проксимальных канальцах. В результате ишемического/реперфузионного повреждения почки повышается уровень NGAL в плазме и ухудшается реабсорбция NGAL в проксимальных канальцах почки. Одновременно усиливается синтез NGAL в дистальных отделах нефрона, что и составляет основную часть мочевого NGAL. Поврежденная почка не является основным источником плазменного NGAL, таковыми являются преимущественно печень и легкие. На уровень NGAL в плазме крови могут оказывать влияние различные сопутствующие состояния, такие как ХБП, артериальная гипертензия, системные инфекции, воспалительные и онкологические, что в целом снижает специфичность теста [12]. При этом скорое появление мочевого NGAL, опережающее на часы и дни другие показатели, утвердило его в качестве раннего биомаркера развивающегося ОПП и предиктора возможной трансформации его в ХБП.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

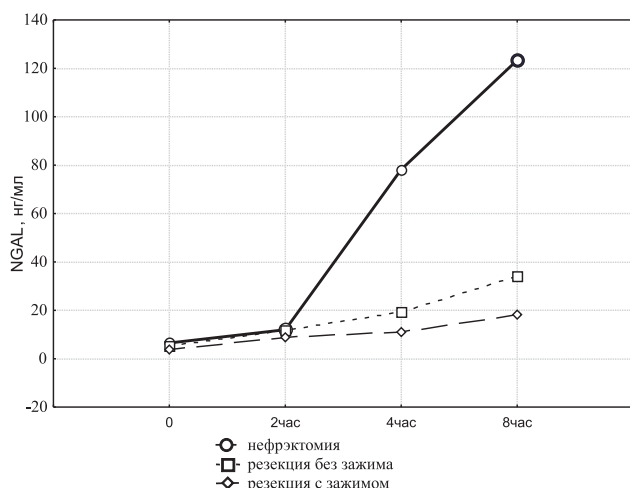
Всего по поводу локализованного рака почки в стадии T1–T2 было оперировано 17 больных (8 женщин, 9 мужчин), в возрасте от 18 до 76 лет. Размер опухолей, по данным КТ, составлял от 1,9 до 12,3 см.

1-я группа пациентов состояла из пятерых больных, которым была выполнена нефрэктомия (3 открытых, 1 лапароскопическая, 1 робот-ассистированная), 2-я группа – из 8 больных, перенесших резекцию почки без наложения зажима (6 открытых, 1 лапароскопическая, 2 робот-ассистированных), 3-я группа – из 4 больных, перенесших резекцию почки с наложением зажима (1 открытая, 2 лапароскопических и 1 робот-ассистированная). Возраст пациентов в 1-й группе составил $51,6 \pm 14,7$ года, во 2-й – $55,8 \pm 17,1$ года, в 3-й – $54,0 \pm 21,2$ года, различия не достоверны,

$p > 0,1$. Размеры опухоли в 1-й группе составили $8,1 \pm 3,1$ см, во 2-й группе – $4,0 \pm 1,8$ см (различия с 1-й группой достоверны, $p < 0,007$), в 3-й группе – $3,7 \pm 1,6$ см (различия с 1-й группой достоверны, $p < 0,012$). Различий между 2-й и 3-й группами не выявлено, $p > 0,1$.

Все оперативные вмешательства выполнялись в положении больных на боку: открытые операции доступом в XI межреберье; лапароскопические и робот-ассистированные – трансперитонеальным доступом. В ходе оперативного приема при резекции почки применялся метод регионарной ишемии с использованием зажимов оригинальной конструкции (при 1 открытой, 2 лапароскопических и 1 робот-ассистированной резекциях почки), которые накладывались на паренхиму почки на 2 см проксимальнее опухоли, что позволяло сохранить кровоток в остальном органе. Применялись два зажима для открытой резекции опухолей среднего сегмента и полюсов почки, а также зажим для лапароскопической и робот-ассистированной резекции. Для обеспечения гемостаза и ушивания раны почки использовались нити V-loc, клипсы Hem-o-lok и Lapra-ty, гемостатический материал Surgicel. Операционный материал был отправлен на гистологическое исследование, стадия заболевания определена по системе TNM.

У всех больных методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию NGAL в плазме крови до операции и через 2 ч после операции, а также концентрацию NGAL в моче через 2, 4 и 8 ч после операции. Референсными считали уровень NGAL в плазме крови $37\text{--}106$ нг/мл, в моче – $0,7\text{--}9,6$ нг/мл



Динамика концентрации NGAL в моче до и после операции по поводу рака почки. ANOVA по Фридману для нефрэктомии $\chi^2=13,5$, $p < 0,003$, для резекции почки без зажима – $\chi^2=22,9$, $p < 0,0001$, для резекции почки с зажимом – $\chi^2=12,0$, $p < 0,007$.

Также у всех пациентов определяли уровень креатинина сыворотки крови до операции и спустя 24 ч после вмешательства.

Данные приведены в виде средней арифметической $\pm$ стандартное отклонение. Достоверность различий между средними арифметическими в двух группах оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа. Для множественных сравнений использовали однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений по Фридману. Статистическая обработка материала выполнялась с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа (Statistica for Windows v. 6.0). Статистически значимой считали величину двустороннего $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам гистологического исследования во всех препаратах выявлен светлоклеточный почечно-клеточный рак. Длительность регионарной ишемии во 2-й группе составила $13,5 \pm 3,2$ мин.

Уровень NGAL плазмы крови до операции составлял в группе нефрэктомии $81,3 \pm 32,9$ нг/мл, в группе резекции почки без зажима – $84,5 \pm 43,9$ нг/мл, в группе резекции почки с зажимом – $77,6 \pm 32,9$ нг/мл, междугрупповые различия недостоверны, $p > 0,1$. Через 2 ч после операции концентрация NGAL в плазме крови в 1-й группе увеличилась до $144,1 \pm 63,8$ нг/мл, во 2-й группе – до $123,3 \pm 28,7$ нг/мл, $115,1 \pm 31,2$ нг/мл, междугрупповые различия недостоверны, $p > 0,1$.

На рисунке представлена динамика уровня NGAL в моче до и после операции по поводу рака почки. Концентрация NGAL в моче до операции в группе нефрэктомии не превышала $6,5 \pm 4,5$ нг/мл, в группе резекции почки без зажима – $5,2 \pm 3,0$ нг/мл, в группе резекции почки с зажимом – $3,7 \pm 2,7$ нг/мл, междугрупповые различия недостоверны, $p > 0,1$. Через 2 ч после операции уровень NGAL в моче в 1-й группе увеличился до $11,9 \pm 9,1$ нг/мл, во 2-й – до $11,6 \pm 9,6$ нг/мл, в 3-й – до $8,7 \pm 4,5$ нг/мл, междугрупповые различия недостоверны. Через 4 ч концентрация NGAL мочи возросла в 1-й группе до $78,2 \pm 41,3$ нг/мл, во 2-й – до $19,3 \pm 6,0$ нг/мл (различия с 1-й группой достоверны, $p < 0,0001$), в 3-й – до $11,0 \pm 4,8$ нг/мл (различия с 1-й группой достоверны, $p < 0,0001$; различия со 2-й группой достоверны, $p < 0,038$). Через 8 ч уровень NGAL в 1-й группе увеличился до $123,4 \pm 29,1$ нг/мл, во 2-й – до $34,0 \pm 12,8$ нг/мл (различия с 1-й группой достоверны, $p < 0,0005$), в 3-й группе – $18,2 \pm 4,7$ нг/мл (различия с 1-й группой достоверны, $p < 0,0008$; различия со 2-й группой достоверны, $p < 0,041$).

В обеих группах повышение концентрации NGAL в моче в течение первых двух часов происходило содружественно в 2 раза по сравнению с исходными значениями. Однако в дальнейшем в группе нефрэктомии произошел резкий вираж показателя (более чем в 20 раз), в то время как в группе резекции почки без зажима уровень NGAL в моче увеличился в 7 раз, а в группе резекции почки с зажимом в 4,5 раза. Очевидно, что уровень NGAL в моче уже через 2 ч после операции превышал нормальные значения в 1-й и 2-й группах.

Корреляционных взаимосвязей между длительностью ишемии при резекции почки и уровнем креатинина в сыворотке крови, а также концентрацией NGAL в плазме крови и моче получено не было.

Концентрация креатинина сыворотки крови до операции в группе нефрэктомии составила $0,084 \pm 0,011$ ммоль/л, а через 24 ч после операции – $0,119 \pm 0,015$ ммоль/л, т.е. увеличилась на 40%. В группе резекции почки без зажима уровень креатинина сыворотки крови до операции составил $0,082 \pm 0,015$ ммоль/л (междугрупповые различия недостоверны, $p > 0,1$), а через 24 ч после операции – $0,108 \pm 0,027$ ммоль/л (междугрупповые недостоверны, $p > 0,1$), т.е. увеличился на 31%. В группе резекции почки с зажимом уровень креатинина сыворотки крови до операции составил $0,095 \pm 0,004$ ммоль/л (междугрупповые различия недостоверны, $p > 0,1$), а через 24 ч после операции – $0,113 \pm 0,012$ ммоль/л (междугрупповые различия недостоверны, $p > 0,1$), т.е. увеличился на 19%.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существует традиционное представление о том, что оперативное лечение рака почки может сопровождаться ОПП только в случае нефрэктомии у больных высокого риска. Результаты нашего исследования убеждают в том, что даже при органосохраняющей операции – резекции почки – могут быть выявлены признаки ОПП. Однако такой традиционный показатель, как уровень креатинина сыворотки крови у оперированных нами больных, повышался в небольшой степени, не соответствующей критериям ОПП даже при нефрэктомии. Вместе с тем, динамика NGAL убеждает в том, что ОПП развивается как при нефрэктомии, так и при резекции почки. Следовательно, необходимо искать такие способы хирургического вмешательства, при которых риск ОПП сводился бы к минимуму. В этой связи хотелось бы обратить внимание на динамику концентрации NGAL в моче у пациентов, перенесших резекцию почки с наложением специального зажима, обеспечивающего регионарную, а

не тотальную ишемию почки во время операции.

У пациентов после нефрэктомии изучаемые нами показатели повышались в большей степени по сравнению с пациентами после резекции почки, что свидетельствует в пользу более выраженного повреждения почек по сравнению с органосохраняющими операциями, как это было показано в одном из последних крупных европейских исследований [5].

Меньшее нарастание NGAL мочи в первые часы после резекции почки с наложением специального зажима, вероятно, связано с тем, что большая часть органа не выключается из кровотока. Вероятно, этим же объясняется и отсутствие взаимосвязи между длительностью ишемии почки при ее резекции и концентрацией креатинина сыворотки крови, а также NGAL в плазме крови и моче.

В данном исследовании впервые в Российской Федерации был определен уровень NGAL плазмы крови и мочи до и в динамике после операции по поводу рака почки. На сегодняшний день в мировой литературе крайне мало сведений, посвященных проблеме нашего исследования. Наши данные находят подтверждение в работе Z. Abassi и соавт. [13]. Его группа исследовала изменение уровня мочевого NGAL спустя 1, 3, 8, 24, 48 и 72 ч после операции и искала взаимосвязь полученных результатов с данными креатинина сыворотки крови через 8 и 24 ч после операции, а также с длительностью ишемии. Оказалось, что NGAL мочи, взятой через 3 ч после вмешательства, коррелирует с показателями креатинина, взятого через 24 ч, а 8-часовой и 24-часовой NGAL достоверно связан с длительностью ишемии.

В нашем исследовании концентрация NGAL в плазме крови через 2 ч после операции повышалась недостаточно для того, чтобы заподозрить ОПП. Определение концентрации NGAL в моче в раннем послеоперационном периоде мы считаем наиболее информативным. Для оценки тяжести ОПП представляется важным и определение концентрации NGAL в моче в динамике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании мы показали, что в результате нефрэктомии оставшаяся часть почки повреждается уже в первые часы после операции, что отражается в повышении концентрации NGAL в моче и плазме. Нефрэктомия приводит к небольшому нарастанию уровня креатинина лишь через 24 ч после вмешательства, при этом показатели NGAL в моче и плазме крови существенно изменяются уже спустя 2, 4 и 8 ч после операции. При

резекции почки большое значение имеет вариант ишемии: резекция, выполненная в условиях регионарной ишемии с пережатием почечной паренхимы, обеспечивает минимальное увеличение показателей креатинина, мочевого и плазменного NGAL. Поэтому использование зажима с целью обеспечения регионарной, а не тотальной ишемии мы рассматриваем как один из хирургических методов профилактики ОПП у больных, оперированных по поводу рака почки.

NGAL может рассматриваться как ранний предиктор развития ОПП после нефрэктомии и резекции почки. Использование определения NGAL в плазме крови и моче позволит разработать новые подходы к оперативному лечению рака почки для минимизации развития ОПП.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ljungberg B. Guidelines on renal cell carcinoma. *European Association of Urology* 2012; 25-27
2. MacLennan S. Systematic review of oncological outcomes following surgical management of localised renal cancer. *Eur Urol* 2011; 61(5): 972-993
3. Poppel H.V. Treatment of localised renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2011; 60(4): 662-672
4. Becker F. Short-term functional and oncologic outcomes of nephron-sparing surgery for renal tumours ≥ 7 cm. *Eur Urol* 2011; 59(6): 931-937
5. MacLennan S. Systematic review of perioperative and quality-of-life outcomes following surgical management of localised renal cancer. *Eur Urol* 2012; 62(6): 1097-1117
6. Есаян АМ. Почечно-клеточный рак и хроническая болезнь почек: внимание к отдаленным неонкологическим исходам. *Нефрология* 2012; 16(4): 94-99
7. Weight C.. Nephrectomy Induced Chronic Renal Insufficiency is Associated With Increased Risk of Cardiovascular Death and Death From Any Cause in Patients With Localized cT1b Renal Masses. *Journal of Urology* 2010; 183(4): 1317-1323
8. Waikar SS. Diagnosis, Epidemiology and Outcomes of Acute Kidney Injury. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 844-861
9. Thompson RH. Renal function after partial nephrectomy: effect of warm ischemia relative to quantity and quality of preserved kidney. *Urology* 2012; 79(2): 356-360
10. Sejima T. Oncological and functional outcomes after radical nephrectomy for renal cell carcinoma: A comprehensive analysis of prognostic factors. *Int J Urol* 2012; Sep 25 [Epub ahead of print]
11. Sprenkle P. Molecular markers for ischemia, do we have something better than creatinine and glomerular filtration rate? *Arch Esp Urol* 2013; 66(1): 99-114
12. Halawa A. The early diagnosis of acute renal graft dysfunction. *Ann Transplant* 2011; 16(1): 90-98
13. Abassi Z. Urinary NGAL and KIM-1: Biomarkers for Assessment of Acute Ischemic Kidney Injury Following Nephron Sparing Surgery. *The Journal Of Urology* 2013; 189: 1559-1566 [Epub ahead printing]

Поступила в редакцию 13.03.2013 г.

Принята в печать 27.03.2013 г.