

目前,临床多采用监测血清肌酐水平评定肾功能损伤情况,但是,血清肌酐水平与年龄、性别、体质量等因素有关,同时,血清肌酐与肾小球滤过率呈非直线关系,当肾小球滤过率下降 50%,血清肌酐水平仍可在正常范围内,因此,血清肌酐对于早期评定肾功能损伤的灵敏度较低^[3-4]。故寻找新的特异度及灵敏度高的指标对 AKI 的诊断具有重要意义。研究发现,中性粒细胞明胶酶相关性载脂蛋白(NGAL)及肾损伤分子 1(KIM-1),生理情况下可微量表达,但是肾功能损伤后,上皮细胞受损可诱发 NGAL 大量表达,检测 NGAL 及 KIM-1 水平为早期诊断 AKI 提供了可能^[5-6]。因此,本文将探讨检测先天性心脏病小儿术后不同时间点的 NGAL 和 KIM-1 水平,对预测发生 AKI 的意义进行分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 4 月至 2015 年 12 月 67 例在本院进行心肺分流术的先天性心脏病患儿作为研究对象,依据 pRIFLE 标准分为 AKI 组($n=24$)及非 AKI 组($n=43$)。本研究经本院伦理道德委员会审核批准,并获得患儿家属的支持,均签署知情同意书。纳入标准:(1)患儿年龄为 2 个月至 6 岁;(2)患儿均为先天性心脏病患者;(3)患儿均能进行心肺分流术,即通过使心脏停搏后,进行心肺转流术,增加肺循环血流量,改善患儿临床症状。排除标准:(1)患儿伴有感染,不易进行手术;(2)患儿伴有严重肾功能损伤;(3)患儿父母不同意入组研究。两组患儿的性别、年龄等一般情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具体数据见表 1。

1.2 方法 所有入组患儿于术前,术后 2、4、12、24、48 h 收集患儿血液 1.5 mL,3 500 r/min 离心 5 min 后,收集血清,于-80℃保存备用,检测血清肌酐水平;所有入组患儿于术后 2、4、6、12、24 h 留取患儿尿液 5 mL,3 500 r/min 离心 5 min 后,收集上清液,于-80℃保存备用,检测尿 NGAL、KIM-1 水平。采用碱性苦味酸法检测血清肌酐水平,分析仪采用日立 HITACHI7180 进行分析。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测尿 NGAL、KIM-1 水平,试剂盒由 Usen Life Science 公司提供,

操作步骤严格按照说明书进行。

1.3 观察指标 观察患儿术前、术后 2、4、12、24、48 h 的血清肌酐检测水平。观察患儿术后 2、4、6、12、24 h 的尿 NGAL、KIM-1 检测水平。

1.4 统计学处理 本研究数据采用 SPSS20.0 软件处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验进行比较;计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验进行比较。绘制尿 NGAL、KIM-1 预测小儿先天性心脏病术后 AKI 的受试者工作特征曲线(ROC 曲线),计算 ROC 曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 患儿一般情况比较

指标	n	男/女 (n/n)	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	身长 ($\bar{x}\pm s$,cm)	体质量 ($\bar{x}\pm s$,kg)
AKI 组	24	14/10	3.32 \pm 2.81	71.54 \pm 12.85	8.44 \pm 3.27
非 AKI 组	43	24/19	3.93 \pm 2.25	72.29 \pm 11.76	10.37 \pm 4.31
χ^2/t		0.158 1	1.877 9	0.242 1	1.906 4
P		0.690 9	0.064 9	0.809 4	0.061 0

2 结 果

2.1 两组患儿手术前后血清肌酐水平检测结果 两组患儿术前,术后 2、4 h 肌酐水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);但非 AKI 组患者术后 12、24、48 h 肌酐水平检测明显低于 AKI 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.2 两组患儿术后尿 NGAL、KIM-1 水平检测结果 非 AKI 组患儿术后 2、4、6、12 h 尿 NGAL 水平明显低于 AKI 组,差异有统计学意义($P<0.05$),而两组患儿术后 24 h 尿 NGAL 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);两组患儿术后 2 h 尿 KIM-1 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),非 AKI 组患者术后 4、6、12、24 h 尿 KIM-1 水平明显低于 AKI 组($P<0.05$)。见表 3。

表 2 两组患儿手术前后血清肌酐水平检测结果($\bar{x}\pm s,\mu\text{mol/L}$)

组别	n	术前	术后 2 h	术后 4 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
AKI 组	24	79.27 \pm 17.32	93.45 \pm 21.50	85.00 \pm 18.35	137.09 \pm 21.23	126.42 \pm 22.75	114.07 \pm 20.46
非 AKI 组	43	79.83 \pm 16.32	85.71 \pm 16.14	77.31 \pm 16.64	85.03 \pm 17.04	82.04 \pm 18.87	81.04 \pm 15.72
t		0.553 2	1.667 4	1.656 7	11.215 3	9.560 8	7.115 7
P		0.582 1	0.100 2	0.102 4	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

表 3 两组患儿术后尿 NGAL、KIM-1 水平检测结果($\bar{x}\pm s,\mu\text{mol/L}$)

指标	组别	n	术后 2 h	术后 4 h	术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h
NGAL	AKI 组	24	12.35 \pm 4.77	16.09 \pm 5.17	25.30 \pm 15.17	39.36 \pm 13.23	36.43 \pm 4.92
	非 AKI 组	43	9.31 \pm 6.53	9.78 \pm 7.17	10.01 \pm 5.91	12.58 \pm 4.32	11.37 \pm 5.29
	t		37.693 5	51.735 8	24.679 3	17.799 5	1.813 3
	P		<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	0.074 4
KIM-1	AKI 组	24	282.74 \pm 20.79	305.59 \pm 38.47	312.05 \pm 35.57	494.06 \pm 43.49	612.36 \pm 48.72
	非 AKI 组	43	285.34 \pm 27.58	291.37 \pm 29.41	295.91 \pm 32.93	284.55 \pm 28.34	294.31 \pm 29.39
	t		0.401 8	13.948 8	70.433 5	39.987 2	11.904 0
	P		0.689 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

表 4 术后不同时间点 NGAL 及 KIM-1 水平对诊断先天性心脏病患儿术后 AKI 的 AUC(95%CI)

检测指标	术后 2 h	术后 4 h	术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h
NGAL	0.710(0.611~0.727)	0.739(0.795~0.793)	0.738(0.575~0.781)	0.834(0.631~0.912)	0.712(0.534~0.806)
KIM-1	0.557(0.414~0.626)	0.762(0.703~0.801)	0.717(0.703~0.803)	0.781(0.654~0.817)	0.871(0.665~0.933)
NGAL 和 KIM-1	0.542(0.479~0.624)	0.885(0.765~0.922)	0.833(0.685~0.892)	0.810(0.718~0.860)	0.913(0.745~0.968)

2.3 术后不同时间点尿 NGAL 及 KIM-1 水平诊断先天性心脏病患儿术后 AKI 的 AUC 单独检测尿 NGAL 水平协助诊断 AKI 的最佳时间点为术后 12 h,AUC 为 0.834(95% CI:0.631~0.912);单独检测 KIM-1 水平协助诊断 AKI 的最佳时间点为术后 24 h,AUC 为 0.871(95% CI:0.665~0.933);联合检测尿 NGAL 及 KIM-1 水平协助诊断 AKI 的最佳时间点为术后 24 h,AUC 为 0.913(95% CI:0.745~0.968)。见表 4。

3 讨 论

随着心脏手术技术的日益成熟,先天性心脏病患儿手术成功率大幅度提高,显著改善了患儿的生存质量^[7]。AKI 为先天性心脏病术后常见的危重并发症,研究统计,其发病率占住院患儿的 3%~7%,部分地区可达 18%^[8]。近年来,虽然临床诊疗水平不断进步,尤其是肾脏替代治疗技术发展非常迅速,但是先天性心脏病患儿术后发生 AKI 及病死率仍然较高。研究发现,早期对小儿先天性心脏病术后进行有效干预治疗,可帮助逆转肾功能损伤^[9]。血清肌酐作为传统检测指标,对评定肾功能损伤具有重要的临床意义,本次研究结果显示,两组患儿术前,术后 2、4 h 肌酐水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);但非 AKI 组患者术后 12、24、48 h 肌酐水平检测明显低于 AKI 组($P<0.05$)。说明血清肌酐对评定肾功能损伤灵敏度较低,往往出现延迟,若治疗不及时,可造成肾功能不可逆性损伤。因此,寻找及应用新的生物学标志物,帮助临床医生更好地早期诊断 AKI 成为研究的热门话题。

有研究者在 1993 年发现 NGAL 可与中性粒细胞明胶酶相结合,NGAL 相对分子质量为 25×10^3 ,为一种分泌蛋白,是脂钙蛋白超家族的成员^[10]。生理条件下,NGAL 可于肾脏、肺、胃及小肠上皮微量表达,当肾脏出现缺血或中毒损伤时,上皮细胞损伤诱导 NGAL 大量分泌^[11]。临床研究证实,体外循环或者肾移植术后,可早期在患者尿液及血液中检测到 NGAL^[12]。因此,NGAL 其被许多学者认为可作为早期 AKI 的生化指标。相关研究发现,对体外循环术后发生 AKI 的患儿,其术后 2 h 尿 NGAL 水平预测发生 AKI 的 AUC 为 0.998,具有较好的诊断价值^[13]。文献^[14]进一步证实缺血及肾毒性损伤后,NGAL 基因及蛋白表达上调,使血和尿 NGAL 水平升高,成为最早、最稳定的特征性蛋白质之一,同时,也更容易从血尿中检测 NGAL 水平。本研究结果显示,非 AKI 组患者术后 2、4、6、12 h 尿 NGAL 水平明显低于 AKI 组,而两组患者术后 24 h 尿 NGAL 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结果与文献报道相符,说明肾功能损伤后,NGAL 表达水平上调,致尿 NGAL 水平明显增加。因此,尿 NGAL 水平升高对评估肾功能损伤具有重要价值。

Ichimura 等^[15]采用表象差异分析法在缺血再灌注老鼠的肾脏细胞中发现一种新的 I 型跨膜蛋白质,由 334 个氨基酸残基构成,并依据其特点将其命名为 KIM-1。KIM-1 为免疫球蛋白基因超家族中的一员,可在金属基质蛋白酶的作用下分解

为可溶性片段释放进入尿液中,并可在尿液中稳定存在较长时间,极少受到尿液理化性质的影响^[16]。生理条件下,KIM-1 在肾脏极少表达,在尿液中几乎检测不到,但当肾脏因缺氧等因素受损后,肾近曲小管上皮细胞顶膜可特征性表达,可在患者尿液中检测到;另外,KIM-1 表达的特异性与及时性,使其成为评估肾缺血缺氧损伤的理想标志物^[17]。研究发现,体外循环术后患者尿 KIM-1 水平可在肾脏损伤后 12 h 内明显升高,术后 12 h 尿 KIM-1 水平预测发生 AKI 的 AUC 为 0.830,说明尿 KIM-1 有较高的预测性^[18]。本研究结果显示,两组患者术后 2 h 尿 KIM-1 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),非 AKI 组患者术后 4、6、12、24 h 尿 KIM-1 水平明显低于 AKI 组($P<0.05$)。说明患儿术后发生肾功能损伤,可较早被发现,灵敏度明显高于血清肌酐,因此,尿 KIM-1 水平升高对评估肾功能损伤具有重要价值。

NGAL 为一种灵敏度较高的肾功能损伤生化指标,本研究结果显示,NGAL 水平先升高后降低,说明发生急性肾损伤后尿 NGAL 水平变化较早,灵敏度较高。但有报道指出,尿 NGAL 水平易受感染等因素影响,导致特异度较低^[19];而尿 KIM-1 水平则恰好相反,其水平与尿 NGAL 相比,升高时间较晚,灵敏度也较低,但其受泌尿系感染的影响较小,可在尿液中稳定存在。本研究结果显示,单独检测尿 NGAL 水平协助诊断 AKI 的最佳时间点为术后 12 h,AUC 为 0.834(95% CI:0.631~0.912);单独检测 KIM-1 水平协助诊断 AKI 的最佳时间点为术后 24 h,AUC 为 0.871(95% CI:0.665~0.933);联合检测尿 NGAL 和 KIM-1 水平协助诊断 AKI 的最佳时间点为术后 24 h,AUC 为 0.913(95% CI:0.745~0.968)。说明与单独检测尿 NGAL 水平或者尿 KIM-1 水平相比,联合检测在术后 24 h 时的 AUC 最大,均高于单独检测,说明联合检测尿 NGAL 和 KIM-1 可弥补各自不足,对小儿先天性心脏病术后发生 AKI 具有较好的预测价值。

综上所述,小儿先天性心脏病术后检测尿 NGAL、KIM-1 可作为早期发生 AKI 的生物学指标,但各自有不足,联合检测对发生 AKI 的早期预测价值更大。

参考文献

[1] 曾海丽,杨华彬. 儿童急性肾损伤诊断标准的解读[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(5):334-336.

[2] 李飞,庄乙君. 小儿心脏术后合并急性肾损伤行腹膜透析治疗的临床研究[J]. 中国妇幼保健,2015,30(20):3409-3410.

[3] Thongprayoon C,Cheungpasitporn W,Kittanamongkolchai W, et al. Optimum methodology for estimating baseline serum creatinine for the acute kidney injury classification[J]. Nephrology (Carlton),2015,20(12):881-886.

[4] 高绪霞,张健群,王以新,等. 肌酐增高患者对心外科手术术后急性肾损伤的影响[J]. 心肺血管病杂志,2015,34(5):

- 360-363.
- [5] 俸家富. 急性肾损伤的实验室检测标志物[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(6): 410-414.
- [6] Torregrosa I, Montoliu C, Urios A, et al. Urinary KIM-1, NGAL and L-FABP for the diagnosis of AKI in patients with acute coronary syndrome or heart failure undergoing coronary angiography[J]. Heart Vessels, 2015, 30(6): 703-711.
- [7] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Novel biomarkers early predict the Severity of acute kidney injury after cardiac surgery in adults[J]. Ann Thorac Surg, 2009, 88(1): 124-130.
- [8] Cooper DS, Basu RK, Price JF, et al. The kidney in critical cardiac disease: proceedings from the 10th international conference of the pediatric cardiac intensive care society[J]. World J Pediatr Congenit Heart Surg, 2016, 7(2): 152-163.
- [9] 温昱鹏, 常诚, 王仲伦, 等. 儿童非紫绀型先天性心脏病体外循环术后急性肾损伤相关危险因素分析[J]. 天津医药, 2015, 43(5): 515-517.
- [10] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis[J]. Am J Kidney Dis, 2009, 54(6): 1012.
- [11] 郭露露, 赵卫红. NGAL 与肾脏疾病研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2015, 31(2): 156-160.
- [12] 刘会琼, 范太兵, 袁心刚. 胱抑素 C 和 NGAL 与先天性心脏病患儿术后急性肾损伤的相关性研究[J]. 中国实用医药, 2016, 11(10): 42-43.
- [13] 王静, 崔红蕊, 胡秀红, 等. 尿 NGAL、KIM-1 对先天性心脏病患儿术后急性肾损伤的预测价值[J]. 山东医药, 2016, 56(48): 92-94.
- [14] Srisawat N, Murugan R, Lee M, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts recovery from acute kidney injury following community-acquired pneumonia. [J]. Kidney Int, 2011, 80(5): 545-552.
- [15] Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury[J]. J Biol Chem, 1998, 273(7): 4135-4142.
- [16] 谷翠芝, 李清初, 曾凝, 等. 急性肾损伤患者 NGAL、KIM-1 与血肌酐的相关性[J]. 广东医学, 2015, 18(20): 3179-3181.
- [17] 江洁龙, 苏克亮, 袁园, 等. 尿肾损伤分子-1 在急性肾损伤诊断中的价值[J]. 中国临床保健杂志, 2015, 13(3): 249-251.
- [18] Nickolas TL, O'rourke MJ, Yang J, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury[J]. Ann Intern Med, 2008, 148(11): 810.
- [19] 王琳, 崔应麟, 王长安, 等. 肾移植术后并发急性肾损伤患者尿液中 NGAL 水平及临床意义[J]. 中国医药科学, 2016, 6(15): 9-12.

(收稿日期: 2017-02-13 修回日期: 2017-05-07)

(上接第 2689 页)

- [2] Cao H, Qian H, Xu W, et al. Mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord ameliorate ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats[J]. Biotechnol Lett, 2010, 32(5): 725-732.
- [3] Cao H, Hui Q, Yan Y, et al. Pretreatments with injured microenvironmental signals altered the characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells[J]. Biotechnol Lett, 2016, 38(1): 157-165.
- [4] Lin YC, Ko TL, Shih YH, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells promote recovery after ischemic stroke[J]. Stroke, 2011, 42(7): 2045-2053.
- [5] Hsieh JY, Wang HW, Chang SJ, et al. Mesenchymal stem cells from human umbilical cord express preferentially secreted factors related to neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72604.
- [6] Cheng Q, Zhang Z, Zhang S, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against ischemic brain injury in mouse by regulating peripheral immunoinflammation[J]. Brain Res, 2015, 1594: 293-304.
- [7] 王艳, 闵鹤鸣, 张苗苗, 等. 脑缺血再灌注损伤后 BMSCs 不同示踪方式的比较[J]. 天津医药, 2015, 43(12): 1377-1381.
- [8] 王阳, 曹志强. 绿色荧光蛋白转基因大鼠骨髓间充质干细胞的分离鉴定[J]. 中国组织工程研究, 2014, 1(37): 5923-5928.
- [9] 张玲, 翁云层, 张云, 等. 重组慢病毒载体介导不同启动子驱动的绿色荧光蛋白在多种(不同)细胞中的表达影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015, 7(3): 161-165.
- [10] Liu N, Zhang Y, Fan L, et al. Effects of transplantation with bone marrow-derived mesenchymal stem cells modified by Survivin on experimental stroke in rats[J]. J Transl Med, 2011, 9: 105-115.
- [11] 韩志桐, 苏宁, 吴日乐, 等. GFP 转基因小鼠神经干细胞移植治疗大鼠帕金森病的实验研究[J]. 临床神经外科杂志, 2012, 9(3): 139-142.
- [12] 杜杰, 高小青, 涂江义, 等. 绿色荧光蛋白作为骨髓间充质干细胞示踪标记物在脑出血脑内的表达[J]. 重庆医学, 2011, 40(14): 1364-1366.
- [13] 惠玲, 刘毅, 宋枚. 绿色荧光蛋白和胰岛素基因共表达重组腺病毒载体的构建及感染人脐带间充质干细胞的实验研究[J]. 解放军医药杂志, 2013, 25(10): 6-10.

(收稿日期: 2017-04-07 修回日期: 2017-05-25)