

Katarzyna Jobs, Alicja Rączka, Anna Jung,
Marianna Lichosik

Received: 16.02.2010

Accepted: 26.02.2010

Published: 30.06.2010

Ocena stężenia ludzkiej obojętnochłonnej lipokaliny (NGAL) w surowicy i moczu dzieci z wadami układu moczowego, poddanych badaniu z użyciem dożylnego środka kontrastowego – doniesienie wstępne

Estimation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in blood and urine of children with congenital urinary abnormalities, after intravenous radiocontrast media – pilot study

Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej Wojskowego Instytutu Medycznego, Warszawa.

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Jung

Adres do korespondencji: Katarzyna Jobs, ul. Żelazna 82/84 m. 15, 00-894 Warszawa, tel.: 0 604 410 304, e-mail: kjobs@wim.mil.pl
Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Badania z użyciem dożylnych środków kontrastowych są często niezbędne w diagnostyce różnych schorzeń. Jednocześnie, mimo stosowania coraz bezpieczniejszych preparatów, po ich podaniu nadal obserwuje się, przeważnie przejściowe, pogorszenie funkcji nerek nazywane nefropatią pokontrastową. Wielokrotne epizody ostrego uszkodzenia funkcji nerek (AKI) mogą z czasem doprowadzić do przewlekłej choroby nerek. W ostatnich latach odkryto nowy, czuły parametr, oceniający ostre uszkodzenie funkcji nerek bardzo wcześnie, bo już w ciągu kilku godzin po zadziałaniu czynnika szkodliwego. Jest nim stężenie we krwi i, przede wszystkim, w porcji moczu ludzkiej obojętnochłonnej lipokaliny (NGAL). **Celem pracy** jest wstępna ocena stężenia NGAL u pacjentów badanych z użyciem dożylnego środka cieniującego. **Materiał** stanowiło 7 pacjentów z wadami układu moczowego (5 dziewczynek, 2 chłopców w średnim wieku 8,5 roku), u których wykonano urografię. Wszyscy badani mieli prawidłową czynność nerek, nie stwierdzano u nich mikroalbuminurii. **Wyniki:** Przed podaniem kontrastu średnie stężenie NGAL w surowicy wynosiło 69,9 ng/ml, w porcji moczu – 15,8 ng/ml. Po 4 godzinach od podania kontrastu średnie stężenie NGAL w porcji moczu podniosło się do 44,18 ng/ml. Po 48 godzinach średnie stężenie NGAL w surowicy wynosiło 54,31 ng/ml, w porcji moczu średnie stężenie obniżyło się do 31,18 ng/ml. **Wnioski:** Zwraca uwagę fakt potrojenia stężenia NGAL w porcji moczu po 4 godzinach od podania dożylnego kontrastu i utrzymywania się wyższych stężeń po 48 godzinach od badania, co może świadczyć o negatywnym wpływie środka kontrastowego na czynność nerek nawet u pacjentów bez cech przewlekłej choroby nerek.

Słowa kluczowe: NGAL, wady układu moczowego, dożylne środki kontrastowe, dzieci, nefropatia pokontrastowa

Summary

For diagnostic and treatment purpose it is often necessary to perform radiologic examinations with radiocontrast media. Once, in spite of making contrast media more and more safe, specific form of acute kidney injury (AKI), called contrast-induced nephropathy, is still common complication. Many incidences of acute renal injury can lead to chronic renal disease. Lately a promising biomarker for early diagnosis of AKI was found. It is neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). Its level in blood and urine rises within few hours from the time of insult. **The aim of the study** was preliminary estimation of NGAL level in patients receiving intravenous contrast because of urography. **Material:** Seven patients with urinary tract abnormalities (5 girls, 2 boys, mean age 8.5 years). They had normal renal function and had not microalbuminuria. **Results:** Before administration of the contrast, mean NGAL blood level was 69.9 ng/ml and mean NGAL urine level was

15.8 ng/ml. Four hours after contrast administration mean urine NGAL level raised to 44.18 ng/ml. Forty-eight hours later mean NGAL blood level was 54.31 ng/ml and mean urine NGAL level – 31.18 ng/ml, still twofold higher than before contrast administration. **Conclusions:** It is of notice that urine NGAL was threefold higher 4 hours after contrast administration than before, and higher level persisted 48 hours later. It is possible that intravenous contrast administration has negative influence on renal function even in patients with initially good renal function.

Key words: NGAL, urinary tract abnormalities, radiocontrast media, children, contrast-induced nephropathy

Badania z użyciem dożylnych środków kontrastowych stanowią niezbędny element diagnostyki wielu schorzeń. Mimo opracowania coraz bezpieczniejszych form kontrastów oraz schematów postępowania towarzyszących ich stosowaniu⁽¹⁾ nadal procedury wymagające ich użycia niosą ze sobą ryzyko spowodowania powikłania znanego pod nazwą nefropatii pokontrastowej (NK). W definicji wskazuje się na konieczność wystąpienia cech ostrego uszkodzenia nerek (AKI) lub pogorszenia się ich funkcji u chorego z przewlekłą chorobą nerek (PChN) w krótkim czasie po zastosowaniu radiologicznego środka cieniującego. Warunkiem postawienia diagnozy jest brak innych przyczyn obserwowanego zjawiska⁽²⁾. Nefropatia pokontrastowa ma zazwyczaj skąpą manifestację kliniczną i jest zjawiskiem odwracalnym. Wiadomo jednak, że istnieje bezpośrednia korelacja między czasem trwania subklinicznego uszkodzenia a dalszymi losami chorego, szczególnie jeśli kontrast dożylny podawany był wielokrotnie^(3,4). W definicji NK mówi się o wzroście stężenia kreatyniny w surowicy obserwowanym po 48-72 godzinach od podania radiokontrastu. Wykazano jednak, że ostre uszkodzenie kanalików nerkowych rozpoczyna się znacznie wcześniej i jedynie z powodu trudności dotychczas stosowanych do jego monitorowania metod nie byliśmy w stanie wcześniej ustalić rozpoznania. Zanim wzrośnie stężenie kreatyniny w surowicy, może

dojść do utraty 50% funkcji nerek⁽³⁾. Wiadomo także, że wczesne stadia uszkodzenia są często odwracalne. W ostatnich latach pojawiły się nowe biomarkery, które dają szansę na wczesną, bo już w kilka godzin po zadziałaniu czynnika potencjalnie szkodliwego, ocenę zagrożenia wystąpieniem AKI. Jednym z nich jest ludzka obojętnochłonna lipokalina (NGAL)^(5,6). Celem pracy była wstępna ocena stężenia NGAL w surowicy i moczu dzieci z wadami układu moczowego, poddanych badaniu z użyciem dożylnych środków kontrastowych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiło 7 pacjentów z wadami układu moczowego (2 chłopców, 5 dziewczynek, średni wiek 8,5 roku), u których wykonano urografię przy użyciu hipposmolalnego kontrastu jodowego (johexol) podanego w dawce 1 ml/kg masy ciała. Po zakwalifikowaniu do badań pacjenci mieli pobraną krew w celu oceny stężenia kreatyniny, cystatyn C, eGFR i NGAL. W drugiej porcji moczu po nocy oznaczono stężenie kreatyniny i NGAL, a w dobowej zbiorczej moczu stężenie kreatyniny i albumin.

Wszyscy badani mieli prawidłową czynność nerek, co oceniano, wykonując wstępnie badanie stężenia kreatyniny, cystatyn C oraz wyliczając klirens kreatyniny. U żadnego pacjenta nie wykazano obecności mikroalbuminurii w moczu zbieranym w ciągu 24 godzin. Żaden chory nie miał aktualnie zakażenia układu moczowego. Dane wstępne zebrano w tabeli 1.

Po 4 godzinach od podania dożylnego środka kontrastowego pacjenci mieli pobraną porcję moczu w celu oznaczenia stężenia NGAL. Po 48 godzinach we krwi pobranej od badanych oceniono stężenia kreatyniny, cystatyn C, eGFR i NGAL, w porcji moczu oznaczono NGAL, a w moczu dobowym – wydalanie albumin. Dla oceny poprawności wykonywanych oznaczeń badaniem poddano także 3 zdrowych dzieci w podobnym wieku, przyjętych do Kliniki w celu diagnostyki bólów głowy (tabela 2).

Oznaczeń dokonywano, używając ogólnie przyjętych metod: stężenia kreatyniny metodą enzymatyczną (suchej chemii), cystatyn C i albuminurii metodą nefelometryczną, NGAL oznaczano metodą immunoenzymatyczną ELISA (Quantikine, R&D systems),

Lp.	Badany (płeć)	Rozpoznanie	Wiek w latach
1.	A.H. (K)	Obustronne poszerzenie UKM	15
2.	W.O. (K)	Zdwojenie lewego UKM i lewego moczowodu, OPM NL	8
3.	J.R. (K)	Wodonercze prawostronne, zdwojenie nerki lewej	2
4.	M.K. (M)	Wodonercze lewostronne	11
5.	K.B. (K)	Poszerzenie prawego UKM, OPM NL	6
6.	M.L. (K)	Wodonercze prawostronne	15
7.	M.B. (M)	Wodonercze lewostronne	3,5

K – kobieta; M – mężczyzna; UKM – układ kielichowo-miedniczkowy; OPM – odpływ pęcherzowo-moczowodowy; NL – nerka lewa

Tabela 1. Parametry określające grupę badaną

	Pacjent (pleć)	Wiek	Kreat. s	eGFR	Cystatyna C	Wsp. alb.-kreat.	NGAL s	NGAL m
1.	K.Z. (K)	13	0,4	190	0,7	0,03	77,6	8,4
2.	D.D. (K)	7	0,5	226	0,62	0,02	94,0	19,5
3.	W.C. (M)	14	0,5	180	0,8	0,008	65,0	1,0

K – kobieta; M – mężczyzna; kreatynina – mg/dl; cystatyna C – mg/l; NGAL – ng/ml; s – surowica; m – moczu; wsp. alb.-kreat. – współczynnik albuminowo-kreatyninowy (n do 0,02)

Tabela 2. Parametry określające grupę kontrolną

manualnie, odczytując wynik przy użyciu czynnika RD 19110-220R.

Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Wojskowego Instytutu Medycznego.

WYNIKI

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 3. Jako zakres wartości referencyjnych NGAL, zgodnie z zaleceniem producenta zestawu diagnostycznego, przyjęto: 42-177 (śr. 119) ng/ml w surowicy i 0,4-72 (śr. 9,94) ng/ml w porcji moczu.

Z uwagi na małą liczebność grupy badanej wyniki przedstawiono jedynie w formie oznaczenia średniej wartości w grupie.

Przed podaniem środka kontrastowego średnie stężenie NGAL wynosiło: w surowicy pacjentów – 69,9 ng/ml, w porcji moczu – 15,8 ng/ml. Po 4 godzinach od podania kontrastu średnie stężenie NGAL, w porcji moczu osiągnęło wartość 44,18 ng/ml.

Po 48 godzinach od podania radiokontrastu nie stwierdzono zmian wartości stężenia kreatyniny i cystatyny C w surowicy, w dobowej zbiorce moczu nie wykazano obecności mikroalbuminurii. Średnie stężenie NGAL, w surowicy wyniosło 54,31 ng/ml, w porcji moczu – 31,18 ng/ml, nadal ponad dwukrotnie przekraczając wartości sprzed podania kontrastu.

OMÓWIENIE

Częstość występowania nefropatii pokontrastowej w populacji ogólnej jest szacowana na 1%, a więc

powikłanie nie pojawia się często. Jednak u chorych obciążonych czynnikami ryzyka, do których należy zaliczyć przede wszystkim przewlekłą chorobę nerek, nawet w najwcześniejszych stadiach, może się pojawiać z częstością sięgającą 50%. U pacjentów hospitalizowanych jest trzecią w kolejności przyczyną ostrego uszkodzenia nerek^{1,5}. Wśród czynników ryzykujących powstania wymienia się także odwodnienie i częste powtarzanie badań lub procedur z użyciem kontrastu^{1,2}. W piśmiennictwie nie ma wielu doniesień na temat badań kontrastowych u pacjentów z wadami nerek, bez cech przewlekłej choroby nerek. Jeszcze rzadsze są doniesienia dotyczące dzieci. Patrz w artykule opublikowanym przed dwoma laty w „Pediatric Nephrology” uważa podanie dożylnych środków kontrastowych za ważny czynnik ryzyka ostrego uszkodzenia nerek⁶. Z uwagi na potrzebę wypracowania standardu dotyczącego postępowania przygotowawczego i profilaktyki NK podjęliśmy próbę oceny zagrożenia powikłaniem w tej grupie chorych. Zestawiono powszechnie stosowane metody oceny funkcji nerek, zgodnie z definicją nefropatii pokontrastowej, z oceną przy zastosowaniu nowego i czułego parametru, jakim wydaje się być stężenie ludzkiej obojętnochłonnej lipokaliny, NGAL. Jest to białko o masie cząsteczkowej 25 kDa związane z żelatynazą neutrofilów, bierze udział w metabolizmie żelaza. W nerkach i surowicy ludzi zdrowych występuje w niewielkich ilościach, natomiast w przypadku ostrego niedokrwienia lub zadziatania czynnika nefrotoksycznego jego ilość narasta wielokrotnie i szybko. Rejon promotora genu dla NGAL zawiera czynnik transkrypcyjny NF-κB, który jest szybko aktywowany w cewkach nerkowych po

	Wyniki wstępnych oznaczeń						4 h po badaniu		48 h po badaniu			
	Kreat. s	eGFR	Cystatyna C	Wsp. alb.-kreat.	NGAL s	NGAL m	NGAL m	Kreat. s	Cystatyna C	NGAL s	NGAL m	Wsp. alb.-kreat.
1.	0,5	109	0,74	0,005	100,4	19,0	26,8	0,5	0,75	71,6	22,7	0,006
2.	0,4	160	0,78	0,02	33,2	7,95	15,4	0,3	0,69	42,6	5,34	0,02
3.	0,5	175	1,34	0,02	74,8	15,27	87,3	0,6	0,9	69,0	93,6	
4.	0,6	97	1,05	0,009	52,4	57,6	78,0	0,6	1,08	29,0	79,8	0,02
5.	0,4	98	0,67	0,014	61,0	6,9	93,6	0,4		48,0	11,7	0,02
6.	0,7	223	0,97	0,018	62,0	1,05	3,45	0,7	0,94	54,0	2,71	0,02
7.	0,2	169	0,62	0,02	106,0	2,85	4,74	0,2	0,66	66,0	2,43	0,01

Kreatynina – mg/dl; cystatyna C – mg/l; NGAL – ng/ml; s – surowica; m – moczu; wsp. alb.-kreat. – współczynnik albuminowo-kreatyninowy (n do 0,02)

Tabela 3. Wyniki badanych parametrów przed podaniem i po podaniu kontrastu dożylnego (4 i 48 godzin)

ostrym uszkodzeniu. Ilość NGAL w moczu zaczyna gwałtownie narastać po 2-3 godzinach od zadziałania czynnika szkodliwego⁴⁹. W 2009 roku Haase i wsp. opublikowali metaanalizę, której wyniki dowodzą, iż stężenie NGAL ma wartość zarówno diagnostyczną, jak i prognostyczną w ocenie zagrożenia AKI. Jednym z ocenianych czynników było zagrożenie nefropatią po-kontrastową. W ocenie brano pod uwagę także opracowania dotyczące dzieci. Co więcej, autorzy twierdzą, że wartość predykcyjna parametru była lepsza u dzieci niż u chorych dorosłych¹⁰.

W wykonanym przez nas badaniu wyjściowe wartości NGAL w surowicy badanych były zbliżone do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Po 48 godzinach od podania dożylnego środka kontrastowego nie stwierdzono zwiększenia stężenia NGAL w surowicy badanych.

Z kolei wyjściowe wartości NGAL w porcji moczu badanych były mniej więcej o 50% wyższe od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Wartości NGAL w porcji moczu badanych po 4 godzinach od podania kontrastu dożylnego były trzykrotnie wyższe od wartości wyjściowych. Po 48 godzinach od podania kontrastu dożylnego wartości NGAL w porcji moczu badanych były nadal ponad dwukrotnie wyższe od wartości wyjściowych.

Zaobserwowanego przez nas zjawiska zwiększenia stężenia NGAL w moczu poddanych działaniu dożylnego kontrastu jedowego chorych nie można jednoznacznie interpretować z uwagi na małą liczbę badanych. Doniesienie traktujemy jako pilotażowe. Teoretycznie zwiększenie stężenia NGAL może być wyrazem negatywnego wpływu środków kontrastowych na czynność nerek. Wśród badanych dzieci nie było pacjentów z cechami przewlekłej choroby nerek, zwracano także uwagę na brak cech odwodnienia. Z drugiej strony nie stosowano ustalonego protokołu podawania płynów przed wykonaniem urografii i po jej wykonaniu, a przeprowadzane badania mają między innymi przyzczynić się do jego opracowania. W piśmiennictwie takie protokoły stworzono dla chorych dorosłych z cechami przewlekłej choroby nerek¹⁰. Wskazówki dotyczące właściwego przygotowania do kontrastowych badań dzieci

zagrożonych PChN, ale także bez cech uszkodzenia nerek byłyby pomocne dla kwalifikujących do badań lekarzy.

WNIOSKI

Zwraca uwagę wyższe wyjściowe stężenie NGAL w moczu badanych w porównaniu z grupą kontrolną. Po podaniu dożylnego środka kontrastowego stwierdzono ponad trzykrotne zwiększenie stężenia NGAL w moczu badanych po 4 godzinach od ekspozycji na kontrast. Zwiększenie stężenia NGAL w moczu badanych utrzymywało się po 48 godzinach.

Czynność nerek monitorowana stężeniem kreatyniny i cystatyny C nie uległa pogorszeniu po zastosowaniu dożylnego kontrastu.

Interpretacja znaczenia zaobserwowanego zwiększenia stężenia NGAL w moczu po podaniu dożylnego kontrastu wymaga badań obejmujących większą grupę chorych. Jest jednak możliwy negatywny wpływ dożylnych środków kontrastowych na czynność nerek nawet u chorych bez cech PChN.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Rudnick M.R., Tumlir J.A.: Prevention of radiocontrast media-induced acute kidney injury (acute renal failure). www.uptodate.com.
2. Niemczyk S., Giers K.: Nefropatia pokontrastowa. *Terapia* 2008; 11: 60-64.
3. Małyszko J.: NGAL jako troponina w nefrologii. W: Więcek A. (red.): 8 Katowickie Seminarium „Postępy w nefrologii i nadeśnieniu tętniczym”. Katowice 2008: 50-63.
4. Haase M., Bellomo R., Devarajan P. i wsp.: Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.* 2009; 54: 1012-1024.
5. Kagan A., Sheikh-Hamad D.: Contrast-induced kidney injury: focus on modifiable risk factors and prophylactic strategies. *Clin. Cardiol.* 2010; 33: 62-66.
6. Patzer L.: Nephrotoxicity as a cause of acute kidney injury in children. *Pediatr. Nephrol.* 2008; 23: 2159-2173.