

论著·临床研究

尿 L-FABP 与尿 NGAL 联合应用在儿童心脏术后急性肾损伤早期诊断中的价值

唐荣 敖翔 钟永 王睿苓 周巧玲

(中南大学湘雅医院肾内科, 湖南 长沙 410008)

[摘要] **目的** 探讨尿肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)与尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)联合应用在儿童心脏术后急性肾损伤(AKI)早期诊断中的价值。**方法** 以需建立体外循环(CPB)的97例先天性心脏病儿童为研究对象,收集其心脏手术前及术后不同时间点的血尿标本,分别测定血清肌酐(Scr)、尿L-FABP和尿NGAL水平,并比较AKI组($n=18$)和非AKI组($n=79$)患儿术后各标志物的动态变化。应用受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)评估标志物单独及其联合应用在预测术后AKI发生中的作用。**结果** AKI组患儿尿L-FABP和尿NGAL水平在术后2h、6h均显著高于非AKI组,其浓度变化明显早于Scr的升高。尿L-FABP在术后2h、6h单独预测AKI发生的AUC分别为0.921和0.896;尿NGAL在术后2h、6h单独预测AKI发生的AUC分别为0.908和0.928。术后2h及6h尿L-FABP及NGAL联合应用预测术后AKI发生的AUC分别为0.942和0.929。**结论** 尿L-FABP和尿NGAL在儿童心脏术后AKI早期即显著升高,明显早于Scr的改变,可早期预测AKI的发生,而两者联合应用可使诊断的精确性进一步提高。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(7): 770-775]

[关键词] 肝型脂肪酸结合蛋白;中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;先天性心脏病;急性肾损伤;儿童

Values of combination of urinary L-FABP and NGAL in early diagnosis of acute kidney injury after cardiac surgery in children

TANG Rong, AO Xiang, ZHONG Yong, WANG Rui-Ling, ZHOU Qiao-Ling. Department of Nephrology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China (Zhou Q-L, Email: zqling8315@163.com)

Abstract: Objective To investigate the values of combination of urinary liver-type fatty acid-binding protein (L-FABP) and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in early diagnosis of acute kidney injury (AKI) after cardiac surgery in children. **Methods** A total of 97 children with congenital heart disease undergoing cardiopulmonary bypass surgery were enrolled. Serum and urine samples were collected before and after surgery. Levels of serum creatinine (Scr), urinary L-FABP, and urinary NGAL from AKI group ($n=18$) and non-AKI group ($n=79$) were measured, and the postoperative dynamic changes in these markers were compared between the two groups. The receiver operating characteristic (ROC) curve and the area under ROC curve (AUC) were used to assess the values of these markers alone or in combination in the prediction of postoperative AKI. **Results** The levels of urinary L-FABP and NGAL in the AKI group were significantly higher than those in the non-AKI group at 2 and 6 hours after surgery, and the changes in their concentrations were earlier than Scr. The AUCs of urinary L-FABP alone in predicting AKI at 2 and 6 hours after surgery were 0.921 and 0.896 respectively, and those of urinary NGAL alone were 0.908 and 0.928 respectively. Those of their combination were 0.942 and 0.929 respectively. **Conclusions** Urinary L-FABP and NGAL significantly increase in the early stage of AKI after cardiac surgery in children, which are significantly earlier than the changes in Scr. They can be used to predict the occurrence of AKI in the early stage. A combination of the two biomarkers can further improve the accuracy of diagnosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(7): 770-775]

Key words: Liver-type fatty acid-binding protein; Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Congenital heart disease; Acute kidney injury; Child

[收稿日期] 2017-02-19; [接受日期] 2017-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金资助(81500559)。

[作者简介] 唐荣,女,博士,主治医师。

[通信作者] 周巧玲,女,教授。

先天性心脏病（简称先心病）是儿童最常见的心脏病，其发病率约占出生婴儿的0.4%~5%^[1]。随着医疗技术的发展，越来越多的先心病患儿通过外科手术得到治愈，手术治疗先心病常需建立体外循环（cardiopulmonary bypass, CPB）以替代心肺功能^[2]。而急性肾损伤（acute kidney injury, AKI）是儿童先心病CPB术后常见而严重的并发症，其发生率约为5%~33%之间^[3]，其中约5%需要透析治疗，而透析患者的病死率可高达80%^[4]。因此，早期诊断并治疗AKI对先心病CPB术后患者具有重要的临床意义。

尽管目前临床上仍采用血肌酐（Scr）、内生肌酐清除率、尿量等指标对CPB术后AKI进行诊断，但其并不能及时反映AKI的发生发展。近年来，一些新的生物学标志物的发现使更早预测CPB术后AKI成为可能，如中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白（neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL）、肾损伤分子1（kidney injury molecule-1, KIM-1）、肝型脂肪酸结合蛋白（liver-type fatty acid binding protein, L-FABP）、半胱氨酸蛋白酶抑制剂C（cystatin C, Cys C）等^[5-7]。研究表明，标志物的联合应用可以提高AKI预测的准确性^[8]。本研究通过比较发生AKI与未发生AKI两组CPB术前及术后不同时间点尿L-FABP及NGAL水平的变化，探讨尿L-FABP及NGAL联合应用在儿童先心病CPB术后AKI早期诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

前瞻性选取2015年1月至2016年1月在我院心脏外科行先心病CPB手术的患儿97例。纳入标准：在我院心脏外科住院，并接受先心病CPB手术的患儿。排除标准：（1）术前存在肾功能不全；（2）合并急、慢性感染；（3）合并糖尿病；（4）合并先天性泌尿系畸形；（5）术前或研究过程中使用肾毒性药物。

AKI的诊断标准为术后48~72 h内Scr较基线值升高 $\geq 50\%$ ^[9-11]，按此标准将患儿分为AKI组和非AKI组。其中AKI组18例，非AKI组79例。

患儿Scr的基线值在术前72 h内检测。应用改良的儿童RIFLE标准（pRIFLE）评估AKI的严重程度，采用Schwartz公式计算由肌酐、身高估算的肌酐清除率（estimated creatinine clearance, eCrCl）：风险期为eCrCl下降25%~50%；损伤期为eCrCl下降50%~75%；衰竭期eCrCl下降 $>75\%$ ，或绝对值 $<35 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ ^[12]。

1.2 一般资料的收集

收集患儿的原始病例资料，包括年龄、性别、体重、原发疾病、术前并发基础疾病、住院时间、入住ICU时间、手术类型、CPB时间、尿量、术前术后的血尿生化指标、行肾脏替代治疗（renal replacement therapy）情况及转归等。

1.3 标本收集

每个患儿留取5次尿液标本：0 h（术前），以及CPB术后2 h、6 h、12 h及24 h。同时在0 h（术前），以及CPB开始后第24 h、48 h、72 h、96 h及120 h分别采集血标本，留取血清检测Scr。上清尿和血清在检测前置入 -80°C 冰箱冷冻保存。

1.4 Scr、尿L-FABP及尿NGAL水平检测

Scr在全自动生化分析仪上测定；采用酶联免疫吸附法（ELISA）测定尿L-FABP（美国R&D公司）及尿NGAL（美国R&D公司）水平，按试剂盒的要求进行测定。根据标准曲线计算待测样本所对应的尿L-FABP和NGAL的浓度，并且用同步尿肌酐（Ucr）校正后以 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{Cr})$ 表示。

1.5 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件进行数据处理。正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，组间比较采用成组 t 检验；计数资料以频数和率（%）表示，组间比较用 χ^2 检验。多个时间点两组之间数值的比较运用重复测量的方差分析。运用受试者工作特征（ROC）曲线及曲线下面积（AUC）对尿L-FABP、尿NGAL预测AKI的敏感性和特异性进行评价。AUC在0.8~0.9为预测准确性佳， >0.7 为有临床应用价值， <0.7 为预测能力差。根据其ROC曲线确定截断值，并根据截断值确定其敏感性和特异性。运用ROC曲线分析术后两个标志物联合预测AKI的AUC的价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料、手术情况及转归

入选的97例患儿中,18例(19%)在术后72 h内发生了AKI。其中,10例Scr在CPB术后24~48 h升高,8例Scr升高于术后48~72 h。79例未发生AKI的患儿Scr在CPB术后5 d内无明显改变(从术前的 0.51 ± 0.02 mg/dL到术后第5天的 0.47 ± 0.03 mg/dL)。而AKI组患儿Scr术前为 0.42 ± 0.03 mg/dL,术后24 h即开始升高,术后48 h为 0.79 ± 0.07 mg/dL,术后5 d Scr仍保持在较高水平(图1)。重复测量的方差分析结果显示,不同时间点的Scr差异有统计学意义($F=201.76$, $P=0.00007$),AKI组与非AKI组组间Scr均值差异有统计学意义($F=789.42$, $P=0.0005$),时间与分组间存在交互作用($F=232.66$, $P=0.0003$)。

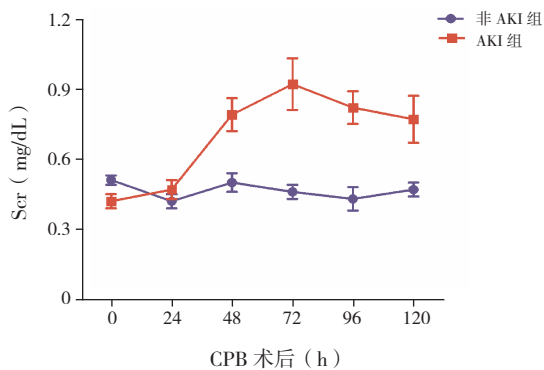


图1 术后Scr水平的变化

AKI组和非AKI组间年龄、性别、基础Scr、主动脉阻断时间等方面的比较差异无统计学意义($P>0.05$)。AKI组患儿CPB时间以及住院时间均较非AKI组延长(均 $P<0.01$)。在AKI组中,有3例(17%)患儿进行了肾脏替代治疗,均为腹膜透析治疗。AKI组较非AKI组的病死率增加($P<0.01$)。见表1。按照pRIFLE分期,AKI组有6例(33%)为风险期,7例(39%)为损伤期,5例(28%)为衰竭期。

表1 两组患儿一般资料的比较

项目	非AKI组 (n=79)	AKI组 (n=18)	$t(\chi^2)$ 值	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	4.6 ± 1.4	2.5 ± 0.9	3.231	0.123
男[n(%)]	37(47)	10(56)	(0.875)	0.432
女[n(%)]	42(53)	8(44)	(0.356)	0.548
死亡[n(%)]	2(3)	1(6)	(13.457)	0.003
CPB时间($\bar{x} \pm s$, min)	101 ± 26	187 ± 41	11.549	0.002
主动脉阻断时间(min)	48 ± 21	55 ± 29	2.106	0.707
基础肌酐(mg/dL)	0.51 ± 0.02	0.42 ± 0.03	4.552	0.314
住院时间($\bar{x} \pm s$, d)	8.1 ± 2.1	21.3 ± 4.6	17.835	0.001
透析[n(%)]	0	3(17)	(20.225)	0.0005

2.2 CPB术后尿L-FABP与NGAL的动态变化

18例患儿依据术后Scr较基线值升高 $\geq 50\%$ 这一标准诊断为AKI,但是对AKI的诊断延迟到了术后48~72 h。对各组患儿的尿L-FABP水平进行检测,发现AKI组与非AKI组术前尿L-FABP水平差异无统计学意义($P>0.05$)。AKI组尿L-FABP水平从术前 23 ± 11 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{Cr})$ 升高至术后2 h的 510 ± 115 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{Cr})$ 、6 h的 312 ± 67 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{Cr})$ 及12 h的 119 ± 54 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{Cr})$,其中术后2 h即达峰值(图2)。重复测量的方差分析结果显示,不同时间点的尿L-FABP浓度差异有统计学意义($F=695.76$, $P=0.0001$),AKI组与非AKI组之间尿L-FABP水平差异有统计学意义($F=3777.95$, $P=0.0008$),时间与分组间存在交互作用($F=608.07$, $P=0.0006$)。

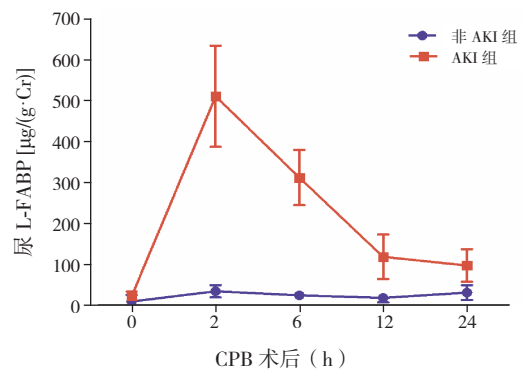


图2 术后尿L-FABP浓度的变化

如图3所示,尿NGAL水平的动态变化趋势与尿L-FABP相似。不同时间点的尿NGAL水平差异有统计学意义($F=247.36$, $P=0.0009$),AKI组与非AKI组之间尿NGAL浓度差异有统计学意义($F=2292.98$, $P=0.00011$),时间与分组间存在交互作用($F=153.63$, $P=0.0003$)。

2.3 尿L-FABP及NGAL对术后AKI的预测作用

术后2h及6h尿L-FABP浓度预测AKI发生的AUC分别为0.921和0.896。当2h和6h尿L-FABP水平的截点分别为125.3 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{Cr})$ 和83.1 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{Cr})$ 时,其预测AKI的敏感性分别为0.827和0.775,特异性分别为0.789和0.802。同时发现,术后2h及6h尿NGAL水平预测AKI发生的AUC分别为0.908和0.928。当2h和6h尿NGAL水平

的截点为63.8 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{Cr})$ 和48.6 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{Cr})$ 时,其预测AKI的敏感性分别为0.854和0.769,特异性分别为0.790和0.843。见表3及图4。

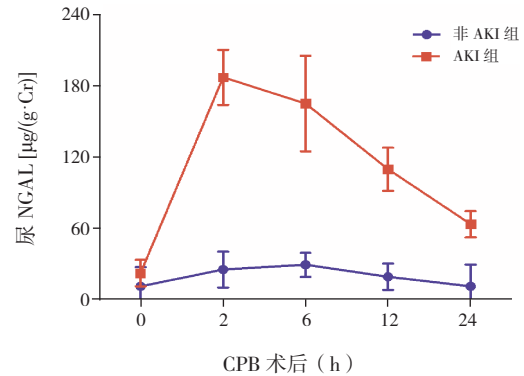


图3 术后尿NGAL浓度的变化

表3 术后2h及6h尿L-FABP及NGAL预测AKI的AUC

标志物	AUC (95%CI)	截点值 $[\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{Cr})]$	敏感性	特异性	P值
术后2h L-FABP	0.921(0.867~0.974)	125.3	0.827	0.789	0.005
术后6h L-FABP	0.896(0.826~0.966)	83.1	0.775	0.802	0.009
术后2h NGAL	0.908(0.846~0.969)	63.8	0.854	0.790	0.0008
术后6h NGAL	0.928(0.875~0.982)	48.6	0.769	0.843	0.001

注: [L-FABP] 肝型脂肪酸结合蛋白; [NGAL] 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白。

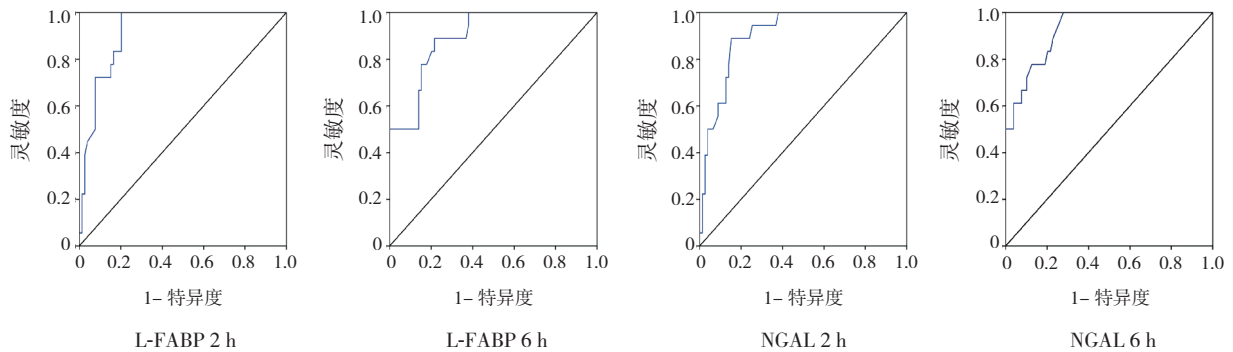


图4 术后2h及6h尿L-FABP及NGAL预测AKI的ROC曲线

2.4 尿L-FABP及NGAL联合检测预测术后AKI的价值

术后2h尿L-FABP及NGAL联合应用预测术后AKI发生的AUC为0.942(95%CI: 0.897~0.986); 术后6h尿L-FABP及NGAL联合应用预测术后AKI发生的AUC为0.929(95%CI: 0.875~0.983), 见图5。

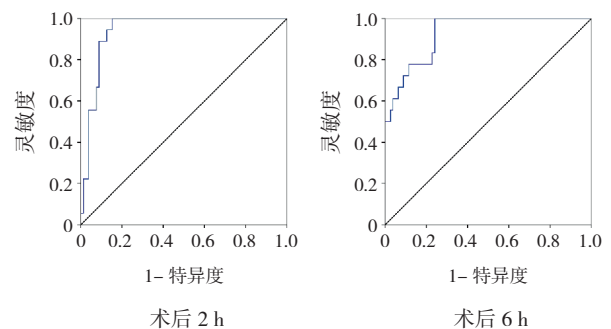


图5 尿L-FABP及NGAL联合检测预测术后AKI的ROC曲线

3 讨论

AKI是儿童心脏术后常见的并发症,尽管目前AKI的诊断及治疗技术均明显提高,但AKI相关并发症及病死率仍然较高。早期诊断并尽早干预治疗,有助于肾脏损伤的逆转。而用于AKI诊断的Scr或尿量标准在时间上往往滞后,因此,寻找能够早期诊断CPB术后AKI的生物标记物,有利于AKI的早期干预及治疗。

脂肪酸结合蛋白(fatty acid binding protein, FABP)属于脂结合蛋白家族,与细胞膜和细胞内的蛋白质有关^[13]。L-FABP最早发现于肝细胞,在肾脏近端小管、胰腺及小肠等也有表达,参与游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)在细胞内的摄取、转化及氧化等多种代谢途径,是维持FFA在体内稳定的关键调节因子之一^[14]。在应激状态下,肾脏近端小管内FFA过度聚集,其氧化和过氧化产物导致肾小管损伤加重,肾小管上皮细胞内L-FABP大量表达^[15]。研究显示,L-FABP在某些类型的AKI如肾移植、脓毒症、造影剂肾病及心脏术后的AKI中具有重要作用^[16-18]。Portilla等^[9]发现,尿L-FABP浓度可用于小儿心脏术后并发AKI的早期敏感预测指标。本研究也表明,尿L-FABP在AKI早期(术后2h)即明显升高;运用Scr诊断AKI,需等到术后48~72h方可诊断,而应用术后2h尿L-FABP进行预测,可使AKI的诊断时间明显提前。术后2h及6h尿L-FABP在预测AKI时的AUC分别为0.921和0.896。同时,尿液标本容易收集,且检测方便,提示术后早期尿L-FABP水平的升高能较好地预测AKI的发生。然而,L-FABP可受其他因素的影响,如慢性肾脏疾病包括糖尿病肾病、原发性局灶性肾小球硬化症、多囊性肾病等^[19];同时,由于L-FABP在肝脏中大量表达,因此尿L-FABP水平易受到其血浓度的影响,在伴有肝肾疾病或肝移植合并肾损伤时,尿L-FABP的检测特异度和敏感度均可能受到影响。

NGAL属于载脂蛋白超家族,最初发现并主要表达在活化的中性粒细胞,在人的多个组织器官(如肾脏、肺、前列腺及子宫等)中为低表达,当上皮细胞受到刺激时,NGAL表达明显升高。各种原因导致肾脏损伤时,肾小管上皮细胞受到损害,分泌并释放NGAL,NGAL可作为早期诊断

AKI的敏感且特异的标志物,为AKI最有价值的生物标志物之一^[20]。Mishra等^[21]研究发现,CPB术后AKI患者尿NGAL水平在术后2h即明显升高,其预测AKI的准确性达0.998。尿NGAL预测AKI行肾脏替代治疗的AUC为0.73~0.89^[22]。但也有研究表明尿NGAL预测心脏术后AKI发生具有局限性^[23]。其原因可能为标本储存条件、留尿的时间点、术后AKI诊断标准不同等。本研究检测了术后2h及6h尿NGAL水平,发现其预测AKI的AUC分别达到0.908和0.928。

研究表明,术后0~12h的不同时间点的2~5个标志物联合检测可提高AKI诊断准确性^[24]。联合检测对于临床上AKI的诊断、治疗和预后更有指导价值。本研究显示,联合应用术后2h及6h尿L-FABP及NGAL预测AKI发生的AUC分别达0.942和0.929,提示联合检测可更准确地预测AKI的发生。并且,术后2h和6h均可很好地预测AKI,提示可选择这两个时间点进行标本采集。这为临床标本的合理采集提供了时间窗,有利于临床实际应用。

本研究尚存在一些不足之处:(1)监测时间点不足,检测各生物标志物的浓度时,无法准确确定达峰时间及浓度;(2)为单中心研究,有一定的局限性;样本量有限,有待扩大样本量;(3)某些指标的作用机制尚不清楚。

综上所述,本研究探讨了尿L-FABP和尿NGAL在儿童心脏术后AKI患者中的早期诊断价值,并发现术后二者联合应用可进一步提高AKI诊断的准确性,提示二者可作为儿童心脏术后AKI的早期诊断指标,且二者联合检测在先心病术后所致AKI的早期诊断中具有更大的临床价值。

[参考文献]

- [1] Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease[J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 39(12): 1890-1900.
- [2] Miliareis C, Beker S, Gewitz M. Cardiopulmonary stress testing in children and adults with congenital heart disease[J]. Cardiol Rev, 2014, 22(6): 275-278.
- [3] Li S, Krawczeski CD, Zappitelli M, et al. TRIBE-AKI Consortium. Incidence, risk factors, and outcomes of acute kidney injury after pediatric cardiac surgery: a prospective multicenter study[J]. Crit Care Med, 2011, 39(6): 1493-1499.
- [4] Sethi SK, Goyal D, Yadav DK, et al. Predictors of acute kidney injury post-cardiopulmonary bypass in children[J]. Clin Exp

- Nephrol, 2011, 15(4): 529-534.
- [5] Ronco C. Biomarkers for acute kidney injury: is NGAL ready for clinical use?[J]. Crit Care, 2014, 18(6): 680.
- [6] Paikh CR, Thiessen-Philbrook H, Garg AX, et al. TRIBE-AKI Consortium. Performance of kidney injury molecule-1 and liver fatty acid-binding protein and combined biomarkers of AKI after cardiac surgery[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2013, 8(7): 1079-1088.
- [7] Zappitelli M, Greenberg JH, Coca SG, et al. Association of definition of acute kidney injury by cystatin C rise with biomarkers and clinical outcomes in children undergoing cardiac surgery[J]. JAMA Pediatr, 2015, 169(6): 583-591.
- [8] Prowle JR, Calzavacca P, Licari E, et al. Combination of biomarkers for diagnosis of acute kidney injury after cardiopulmonary bypass[J]. Ren Fail, 2015, 37(3): 408-416.
- [9] Portilla D, Dent C, Sugaya T, et al. Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery[J]. Kidney Int, 2008, 73(4): 465-472.
- [10] Han WK, Wagener G, Zhu Y, et al. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009, 4(5): 873-882.
- [11] Beger RD, Holland RD, Sun J, et al. Metabonomics of acute kidney injury in children after cardiac surgery[J]. Pediatr Nephrol, 2008, 23(6): 977-984.
- [12] Thomas ME, Blaine C, Dawnay A, et al. The definition of acute kidney injury and its use in practice[J]. Kidney Int, 2015, 87(1): 62-73.
- [13] Thumser AE, Moore JB, Plant NJ. Fatty acid binding proteins: tissue-specific functions in health and disease[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2014, 17(2): 124-129.
- [14] Martin GG, Atshaves BP, McIntosh AL, et al. Liver fatty-acid-binding protein (L-FABP) gene ablation alters liver bile acid metabolism in male mice[J]. Biochem J, 2005, 391(Pt 3): 549-560.
- [15] McMahon BA, Murray PT. Urinary liver fatty acid-binding protein: another novel biomarker of acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2010, 77(8): 657-659.
- [16] Przybylowski P, Koc-Zorawska E, Malyszko JS, et al. Liver fatty-acid-binding protein in heart and kidney allograft recipients in relation to kidney function[J]. Transplant Proc, 2011, 43(8): 3064-3067.
- [17] Doi K, Noiri E, Sugaya T. Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new renal biomarker in critical care[J]. Curr Opin Crit Care, 2010, 16(6): 545-549.
- [18] Manabe K, Kamihata H, Motohiro M, et al. Urinary liver-type fatty acid-binding protein level as a predictive biomarker of contrast-induced acute kidney injury[J]. Eur J Clin Invest, 2012, 42(5): 557-563.
- [19] Xu Y, Xie Y, Shao X, et al. L-FABP: A novel biomarker of kidney disease[J]. Clin Chim Act, 2015, 445: 85-90.
- [20] Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for human acute kidney injury[J]. Biomark Med, 2010, 4(2): 265-280.
- [21] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery[J]. Lancet, 2005, 365(9466): 1231-1238.
- [22] Hjortrup PB, Haase N, Wetterslev M, et al. Clinical review: Predictive value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury in intensive care patients[J]. Crit Care, 2013, 17(2): 211.
- [23] Liangos O, Tighiouart H, Perianayagam MC, et al. Comparative analysis of urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass[J]. Biomarkers, 2009, 14(6): 423-431.
- [24] de Geus HR, Betjes MG, Bakker J. Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges[J]. Clin Kidney J, 2012, 5(2):102-108.

(本文编辑: 邓芳明)