

© С.В.Байко, А.В.Сукало, А.И.Бураковский, 2017
УДК 616.63-008.6-053.32-07 : 616.153.962+612.118.223
doi: 10.24884/1561-6274-2017-3-39-46

С.В. Байко¹, А.В. Сукало^{1,2}, А.И. Бураковский³

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ NGAL, БЕЛКОВ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА C3 И C4, ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

¹1-я кафедра детских болезней Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь, ²Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь, ³Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

S.V. Baiko¹, A.V. Sukalo^{1,2}, A.I. Burackovski³

DIAGNOSTIC VALUE OF BLOOD NGAL, COMPLEMENT PROTEINS C3 AND C4, IMMUNOGLOBULINS IN CHILDREN WITH HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME

¹1st Department of Pediatrics, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus, ²Belarusian National Academy of Sciences, Minsk, Belarus, ³Institute of Bioorganic Chemistry, Belarusian National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

РЕФЕРАТ

Цель работы – определить изменения уровней липокалина, ассоциированного с желатиназой нейтрофилов (NGAL), белков системы комплемента C3, C4, иммуноглобулинов крови у детей с гемолитико-уремическим синдромом (ГУС) и найти взаимосвязи между ними и факторами, определяющими тяжесть повреждения почек. Проспективное исследование включало 159 детей: 35 в острой фазе ГУС, 124 – перенесших ГУС не ранее 6 месяцев после выписки из стационара и 28 практически здоровых детей. Обнаружено повышение NGAL у всех детей с ГУС, наиболее выраженное у нуждавшихся в заместительной почечной терапии. Выявлена активация альтернативного пути системы комплемента при ГУС Д «+», обусловленная снижением фракции C3 при нормальном уровне C4. Степень повышения NGAL и снижения C3 комплемента имеют тесные корреляционные связи с параметрами, отражающими тяжесть почечного повреждения. В дебюте ГУС отмечается снижение IgG, IgA и нормальные уровни IgM, что может указывать на неадекватную гуморальную защиту и риски инфекционных осложнений.

Ключевые слова: гемолитико-уремический синдром, дети, липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов, компоненты комплемента C3 и C4, иммуноглобулины, острое повреждение почек.

ABSTRACT

The AIM: to determine changes of levels of blood neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), complement proteins C3 and C4, immunoglobulins in children with hemolytic-uremic syndrome (HUS) and to find the relationship between them and factors determining the severity of kidney injury. A prospective study included 159 children: 35 in the acute phase of HUS, 124 – after HUS, at least 6 months after discharge from the hospital and 28 healthy children. NGAL was elevated in all children with HUS more pronounced in those who required renal replacement therapy. Activation of the alternative pathway of the complement system in HUS D «+» due to reduced C3 and normal C4 levels was found. The degree of increasing NGAL and decreasing complement C3 has a close correlation with parameters reflecting the severity of renal damage. At the onset of HUS the decreasing of IgG and IgA with normal IgM levels was found, indicating inadequate humoral protection and the risks of infectious complications.

Key words: hemolytic uremic syndrome (HUS), children, neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), complement C3 and C4, immunoglobulins, acute kidney injury.

ВВЕДЕНИЕ

Гемолитико-уремический синдром (ГУС) наиболее частая причина острого повреждения почек (ОПП) у детей раннего возраста. ГУС – клинико-лабораторный симптомокомплекс, включающий

микроангиопатическую гемолитическую анемию, тромбоцитопению и ОПП [1].

В настоящее время ГУС подразделяется на 2 группы:

1. ГУС, индуцированный инфекцией:
 - типичный ГУС, вызванный шига- (STEC) или и веротоксин- (VTEC)
 - продуцирующими бактериями, или про-

Байко С.В. 220020, Беларусь, Минск, ул. Нарочанская, д. 17. Белорусский государственный медицинский университет, 1-я кафедра детских болезней. Тел.: +375 (17) 250-37-61, e-mail: baiko@yandex.ru.

дуцирующим нейраминидазу *Streptococcus pneumoniae*,

2. Атипичный ГУС, обусловленный генетическими нарушениями или изменениями иммунной системы, приводящими к патологии системы комплемента:

Первая группа заболеваний в структуре причин ГУС составляет 90–95% и в подавляющем числе случаев развивается на фоне диареи, поэтому часто обозначается термином ГУС Д «+» (типичный, диарея-ассоциированный ГУС) до точного установления его этиологии [2, 3].

Острое повреждение почек (ОПП) является неотъемлемой частью ГУС. Согласно рекомендациям KDIGO (Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury) по диагностике и лечению ОПП, опубликованных в 2012 году, оценку функции почек проводят по уровню креатинина сыворотки крови и динамике его нарастания, а также по степени снижения почасовой скорости мочеотделения [4].

Основным недостатком такого подхода является невозможность доклинического выявления ОПП. Во многих случаях увеличение концентрации креатинина происходит лишь через 24–48 часов после развития ОПП. Это связано с тем, что почки обладают значительным функциональным резервом, поэтому концентрация креатинина не изменяется до тех пор, пока не развивается дисфункция более 50% почечной паренхимы. Кроме того, повышение уровня креатинина в сыворотке крови может зависеть не только от функции почек, но и от других факторов, не связанных с мочевыделительной системой [5]. Именно поэтому, в течение последних лет идет активный поиск биологических маркеров, которые обладают большей чувствительностью и специфичностью, чем креатинин, и могут помочь в ранней диагностике ОПП.

Идеальный биомаркер должен продуцироваться клетками почек, а его уровень – повышаться непосредственно сразу после и пропорционально степени их повреждения и снижаться вскоре после улучшения функции почек. Данным требованиям в основном соответствует липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, липокалин-2).

NGAL – белок с молекулярной массой 25 кДа. Первоначально он был выделен из супернатанта активированных нейтрофилов человека, однако позднее было показано, что NGAL может синтезироваться в разных органах и различными типами клеток (например, гепатоцитами, адипоцитами,

клетками почечных канальцев и др.). У здорового человека NGAL в крови определяется в небольшой концентрации [6, 7].

Повышение синтеза NGAL в клетках проксимальных канальцев связано с ишемией почечной паренхимы или ее поражением нефротоксическими соединениями. При ишемическом повреждении почек выработка NGAL в клетках канальцевого эпителия многократно увеличивается, возрастает его концентрация в крови и экскреция с мочой, опережая повышение концентрации креатинина [8]. Содержание NGAL как в моче, так и в сыворотке крови увеличивается пропорционально тяжести и длительности повреждения почек [9].

Достоинством определения NGAL является то, что его уровень можно быстро и просто измерить в небольших объемах биологических жидкостей при помощи средств современного иммунохимического, в частности, – иммуноферментного – анализа. Важность раннего выявления таких маркеров ОПП, как NGAL, не вызывает сомнения, поскольку открывает возможности для своевременного лечения ГУС.

Иммуноглобулины (Ig) являются продуктами, образованными системой В-лимфоцитов, и участвуют в специфических гуморальных защитных реакциях организма. Основные функции Ig включают нейтрализацию и агглютинацию антигена, активацию комплемента и опсонизацию. IgM самостоятельно не является опсономом, а только в комплексе с компонентом комплемента C3b приобретает эту функцию. IgM является очень эффективным агглютинином, поскольку имеет пентамерическую структуру. У человека определяют четыре подкласса IgG: из них IgG1 и IgG3 связывают C3b, и эти комплексы являются наиболее важными опсономинами. IgG2 и, возможно, IgG4 играют роль агглютининовых антител против микробных полисахаридов. IgA, имеющийся на поверхности слизистой оболочки, состоит из равных количеств двух подклассов IgA1 и IgA2, образованных плазматическими клетками в слизистой оболочке. Секреторный IgA не является опсономом; он предотвращает прикрепление бактерий к поверхности слизистой оболочки, угнетает подвижность бактерий, вызывает их склеивание и нейтрализует эндотоксины и вирусы [10].

Не изучена направленность изменений уровня иммуноглобулинов у детей с ГУС, при том, что в большинстве случаев дебют заболевания связан с инфекционным процессом, обусловленным энтерогеморрагическими *E.coli* или *Shigella dysenteriae* I типа. Не установлено влияние остро-

го почечного повреждения, особенно протекающего с олигоанурией, на их клиренс.

Система комплемента является важным элементом врожденного иммунитета и активируется в результате иммунного ответа организма под действием как антител, относящихся к иммуноглобулинам классов IgG и IgM, так и бактериальных липосахаридов или других соединений. Активированные белки системы комплемента либо непосредственно разрушают патоген (киллерное действие), либо обеспечивают лучшее их поглощение фагоцитами (опсонизирующее действие); либо выполняют функцию хемотаксических факторов, привлекая в зону проникновения патогена клетки воспаления [11]. Механизмы активации системы комплемента достаточно хорошо описаны при многих заболеваниях, однако недостаточно изучены у детей с пост-диарейным ГУС.

Цель работы: определить изменения уровней NGAL, белков системы комплемента C3, C4, иммуноглобулинов крови у детей с ГУС и оценить их диагностическую значимость. Выявить взаимосвязи между исследуемыми параметрами и факторами, определяющими тяжесть почечного повреждения и исхода (уровнями лейкоцитов, аланинаминотрансферазы (АлАТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) крови в дебюте заболевания, длительностью анурии и нормализации уровней креатинина и др.).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проспективное, продольное исследование проводилось с 1 января 2013 года по 31 декабря 2015 года на базе Республиканского центра детской нефрологии и почечной заместительной терапии (УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска). Обследовано 159 детей: основную группу составили 35 пациентов в остром периоде ГУС, группу сравнения – 124 человека, перенесших ГУС не ранее 6 месяцев после выписки из стационара, группу контроля – 28 здоровых детей. Обследование включало сбор данных анамнеза, анализ медицинской документации, клиническое наблюдение, лабораторные и инструментальные методы исследования.

Для изучения NGAL при диарея-ассоциированном ГУС выделено 4 группы пациентов: 1-я – острый период ГУС без потребности в диализе (n=6), медиана возраста 1,92 (1,33–6,67) лет, 2-я – острый период ГУС с необходимостью в диализной терапии (n=20), медиана возраста 2,5 (1–9,42) лет, 3-я – переболевшие ГУС (n=60), медиана возраста 6,4 (1,58–12,67), катамнез забо-

левания 4,13 (0,5–8,5) лет; 4-я – 28 практически здоровых детей. Отдельно изучались уровни липокалина-2 при атипичном ГУС (аГУС) у мальчика (№1) в возрасте 6,67 лет с развитием в остром периоде кровоизлияния в головной мозг и смертью, и девочки (№2) 7,42 лет с геморрагическим инсультом при поступлении в диализный центр (ДЦ) и исходом в терминальную почечную недостаточность. Оба ребенка находились на лечении гемодиализом. Проведен забор образцов сыворотки крови в 4 основных точках: 1 точка – поступление в ДЦ, 2 точка – восстановление нормального уровня тромбоцитов, 3 точка – достижение адекватного диуреза (более 1 мл/кг/час) и 4 точка – нормализация уровней креатинина крови. Определение уровней NGAL крови осуществляли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «Human Lipocalin-2 / NGAL (ELISA), R&D Systems» (США).

С целью оценки изменений уровней иммуноглобулинов и белков системы комплемента C3 и C4 в крови у детей с ГУС выделено 2 группы: в острой фазе ГУС – 35 пациентов с медианой возраста 2,33 (1,0–9,42) лет и 124 ребенка, перенесших ГУС в анамнезе, в возрасте 6,21 (1,58–16,08) лет, катамнез заболевания 4,34 (0,5–9,17) лет. Исследования фракций комплемента C3, C4 и иммуноглобулинов проводились на автоматическом биохимическом анализаторе «Olympus MU 400» («Beckman Coulter», США) методом турбодиметрии с использованием наборов BioSystems (Испания).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программ «Microsoft Excel 2003» («Microsoft Corporation», США) и «STATISTICA 10.0» («StatSoft Inc.», США). Рассчитывали средние величины и стандартное отклонение ($M \pm SD$) при нормальном распределении признака, медиану и квартили: Me (P25; P75) и Me (Min-Max) – при несимметричном. Для сравнения переменных с нормальным распределением использовали параметрические методы статистического анализа, при несимметричном – непараметрические: хи-квадрат (χ^2), χ^2 с поправкой Йейтса (χ^2 Йейтса), тест Манна-Уитни. Взаимосвязь переменных оценивали по коэффициенту корреляции Спирмена (R_s). Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке уровней NGAL у пациентов с острым ГУС Д «+» выявлено, что максимальная

Таблица 1

Динамика изменений NGAL в сыворотке крови у пациентов с ГУС Д «+»

Пациенты	n	NGAL в сыворотке крови, нг/мл			
		1-я точка	2-я точка	3-я точка	4-я точка
1-я группа	6	123,5 [85,8;281,1]	157,1 [90,1;166,3]	–	109,6 [105,6;134,5]
2-я группа	20	425,9 [347,1;515,3]	356,1 [332,9;427,3]	271,2 [230,5;307,3]	76,6 [66,5;138,2]
3-я группа (сравнения)	60	42,9 [30,1; 55,4]			
4-я группа (контроля)	28	53,8 [43,5;63,1]			
p		p _{1-2, 1-3, 1-4, 2-3, 2-4} < 0,001	p _{1-2, 1-3, 1-4, 2-3, 2-4} < 0,001	p _{2-3, 2-4} < 0,001	p _{1-3, 1-4, 2-3, 2-4} < 0,05
аГУС (№1)	1	365,2	469,6	–	–
аГУС (№2)	1	393,5	364,5	388,5	–

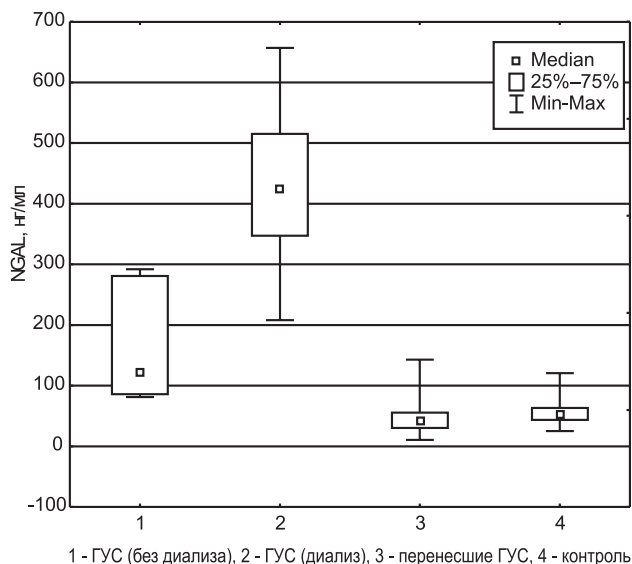


Рис. 1. NGAL сыворотки крови у детей с ГУС Д «+» при поступлении в диализный центр.

концентрация его в сыворотке отмечалась при поступлении в стационар и имела тенденцию к снижению в 1-й группе и значимое снижение во 2-й гр. в процессе восстановления функции почек (табл. 1). Отсутствие столь значимого изменения NGAL в группе ГУС без диализа, в сравнении со второй группой, можно объяснить более быстрой нормализацией уровней креатинина крови (в 1-й гр. – $7,2 \pm 4,4$ дней, а во 2-й $18,2 \pm 6,7$ дней, $p < 0,001$), при том что на восстановление эпителия проксимальных почечных канальцев, как правило, требуется больше времени. У всех детей в острой фазе ГУС при поступлении в ДЦ, с потребностью и без в заместительной почечной терапии (ЗПТ), выявлено значимое повышение данного маркера в сравнении с группой после перенесенного ГУС (3-я гр.) и контролем (4-я гр.), что подтверждает наличие ренальных повреждений (табл. 1, рис. 1).

Таблица 2

Динамика изменений уровней иммуноглобулинов у детей с ГУС Д «+»

Ig	Поступление / выписка из ДЦ	ГУС острая фаза	ГУС перенесенный	P
Ig G	Поступление, г/л	5,5 [4,6;6,6]*	9,6 [8,3;11,3]	U=121, p<0,001
	частота низких уровней (%)	17 / 19 (89,5%)**	22 / 115 (19,1%)	χ^2 Йейтса=39,1, p<0,001
	Выписка, г/л	7,6 [6,1;9,3]*	9,6 [8,3;11,3]	U=737, p<0,01
	частота низких уровней (%)	10 / 21 (47,6%)**	22 / 115 (19,1%)	χ^2 =10,68, p<0,01
	P	U=82,5, p* < 0,01 χ^2 Йейтса=6,54, p** < 0,05		
Ig A	Поступление, г/л	0,62 [0,4;1,1]	0,95 [0,66;1,3]	U=1273, p<0,01
	частота низких уровней (%)	19 / 31 (61,3%)	45 / 124 (36,3%)	χ^2 =6,39, p<0,05
	Выписка, г/л	0,68 [0,34;1,48]	0,95 [0,66;1,3]	U=1350, p<0,05
	частота низких уровней (%)	17 / 29 (58,6%)	45 / 124 (36,3%)	χ^2 =4,86, p<0,05
	P	–		
Ig M	Поступление, г/л	0,68 [0,55;0,86]***	1,0 [0,82;1,32]	U=668, p<0,001
	частота повышенных значений (%)	0 / 23 (0%)	6 / 124 (4,8%)	–
	Выписка, г/л	1,18 [0,9;1,49]***	0,95 [0,66;1,3]	–
	частота повышенных значений (%)	3 / 25 (12%)	6 / 124 (4,8%)	–
	P	U=118, p*** < 0,001		

Таблица 3

Белки системы комплемента С3 и С4 у детей с ГУС Д «+»

	Поступление / выписка из ДЦ	ГУС острая фаза	ГУС перенесенный	P
С3	Поступление, г/л	0,75 [0,67;0,91]*	1,06 [0,95;1,18]	U=791, p<0,001
	частота низких уровней (%)	26 / 34 (76,5%)**	22 / 124 (17,7%)	$\chi^2=43,51$, p<0,001
	Выписка, г/л	1,18 [1,06;1,28]*	1,06 [0,95;1,18]	U=1152, p<0,01
	частота низких уровней (%)	2 / 31 (6,5%)**	22 / 124 (17,7%)	–
	P	U=112, p*<0,001 χ^2 Йейтса=29,63, p***<0,001		
С4	Поступление, г/л	0,21 [0,19;0,25] ***	0,26 [0,23;0,3]	U=1230, p<0,001
	частота низких уровней (%)	0 / 35 (0%)	2 / 124 (1,6%)	–
	частота повышенных значений (%)	0 / 35 (0%) ****	2 / 124 (1,6%)	–
	Выписка, г/л	0,34 [0,28;0,39] ***	0,26 [0,23;0,3]	U=833, p<0,001
	частота повышенных значений (%)	5 / 29 (17,2%) ****	2 / 124 (1,6%)	χ^2 Йейтса=9,81, p<0,01
	P	U=107,5, p***<0,001 χ^2 Йейтса=3,06, p****=0,08		

Степень повышения NGAL была существенно выше в группе детей, нуждавшихся в диализе, отражая тяжесть повреждения почечных канальцев (табл. 1, рис. 1).

У ребенка с фатальным исходом аГУС (№1) отмечалось в динамике повышение уровней NGAL, а у ребенка с исходом в терминальную ХПН – эти уровни практически не изменились в процессе течения патологического процесса в почках (табл. 1).

При поступлении в ДЦ у 89,5% детей в острой фазе ГУС Д «+» выявлено снижение уровней IgG в сравнении с возрастными нормами и данными группы сравнения (p<0,001) (табл. 2). В процессе восстановления функции почек при ГУС отмечалось повышение уровней IgG, однако у 47,6% пациентов они сохранялись ниже нормы. Низкие уровни IgA также часто определялись у детей в острой фазе ГУС Д «+» (у 61,3%), частота и уровень которых, в отличие от IgG, практически не изменялись к моменту выписки из стационара (табл. 2). Уровни IgM при поступлении в ДЦ хотя и были существенно ниже чем в группе сравнения (p<0,01), но они находились в пределах возрастной нормы (табл. 2). В динамике имелось значимое их нарастание к концу пребывания в клинике (p<0,01) и у 12% пациентов они превышали нормативные значения (табл. 2).

У двоих детей с аГУС уровни иммуноглобулинов при поступлении в ДЦ не выходили за границы возрастной нормы: у первого пациента IgG – 9,6, IgA – 1,95, IgM – 0,77 г/л, у второго : 9,95, 1,25, 0,7 г/л, соответственно.

На активацию системы комплемента по альтернативному пути указывает существенное

снижение уровней С3 (p<0,001) у 76,5% детей в острой фазе ГУС Д «+» при госпитализации в стационар и сохранение С4 в пределах нормы. В динамике заболевания отмечалось нарастание как С3 (p<0,001), так и С4 фракций (p<0,001) (табл. 3).

По-видимому, активация альтернативного пути комплемента связана с тяжестью повреждения почек, о чем свидетельствует снижение С3 фракции комплемента ниже возрастной нормы у 85,7% пациентов с ГУС, нуждавшихся в диализе, по сравнению с теми, кому он был не показан – у 28,6% детей (p<0,01) и перенес его ранее – у 17,7% (p<0,01). Такая же закономерность выявлялась и при сравнении абсолютных значений С3 (0,73 (0,62; 0,84) г/л по сравнению с 1,07

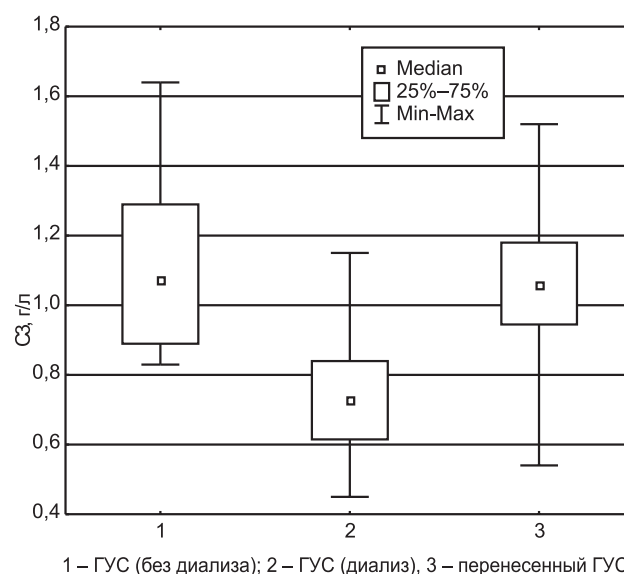


Рис. 2. Уровни С3 фракции комплемента у детей с ГУС Д «+» при поступлении в диализный центр.

Таблица 4

Взаимосвязи уровней NGAL, С3 фракции комплемента с различными параметрами, включая определяющие степень почечного повреждения, у детей с ГУС Д «+»

	Параметры	NGAL (R_s)	С3 комплемент (R_s)
1.	Потребность в диализе	0,73	- 0,6
2.	Длительность госпитализации в реанимации	0,56	- 0,49
3.	Длительность госпитализации в ДЦ	0,68	- 0,53
4.	Длительность нормализации тромбоцитов крови	0,46	- 0,44
5.	Длительность нормализации креатинина	0,51	- 0,59
6.	Продолжительность анурии	0,72	- 0,48
7.	Продолжительность диализа	0,7	- 0,54
При поступлении в диализный центр:			
8.	Натрий	- 0,71	-
9.	Общий белок	- 0,64	0,52
10.	Альбумин	- 0,49	-
11.	Креатинин	0,79	- 0,45
12.	Лактатдегидрогеназа	0,55	-
13.	Аланинаминотрансфераза	0,84	- 0,42
14.	Общий билирубин	- 0,67	-
15.	IgG	-	0,67
16.	С4 фракция комплемента	-	0,64

(0,89; 1,29) и 1,06 (0,95;1,18) г/л, соответственно ($p < 0,001$) (рис. 2).

Выраженное снижение уровней С3 фракции комплемента выявлено у двоих детей с аГУС: 0,56 г/л и 0,69 г/л, при нормальных уровнях С4: 0,18 и 0,35 г/л, соответственно.

Нами выявлены тесные корреляционные связи между уровнями NGAL и С3 фракции комплемента сыворотки крови при поступлении в ДЦ у детей с ГУС Д «+» и показателями, определяющими степень тяжести почечного повреждения (значениями креатинина, длительностью его нормализации, потребностью в диализе, продолжительностью анурии и диализа), а также другими (табл. 4, рис. 3). В табл. 4 приведены только статистически значимые корреляции ($p < 0,05$).

Обнаружена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь средней силы между уровнями IgG и IgA ($R_s = 0,59$), IgM ($R_s = 0,54$), С3 фракцией комплемента ($R_s = 0,67$); IgA и IgG ($R_s = 0,59$), IgM ($R_s = 0,62$); IgM и IgG ($R_s = 0,54$), IgM ($R_s = 0,62$), витамином Д ($R_s = 0,47$) и отрицательная высокой силы с уровнем фибриногена А ($R_s = - 0,7$) и средней с интерлейкином-18 ($R_s = - 0,56$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Маркером раннего повреждения почек является NGAL, уровень которого существенно повышается в сыворотке крови и в моче через часы после развития острого почечного повреждения [9]. Н. Trachtman и соавт. впервые изучены изменения уровней NGAL в моче у детей с ГУС Д «+» в зависимости от тяжести почечного повреждения [12]. Авторы отдают предпочтение измерению данного маркера в моче, т.к. в сыворотке крови уровень последнего может повышаться при васкулитах [13] и без почечного повреждения. По-

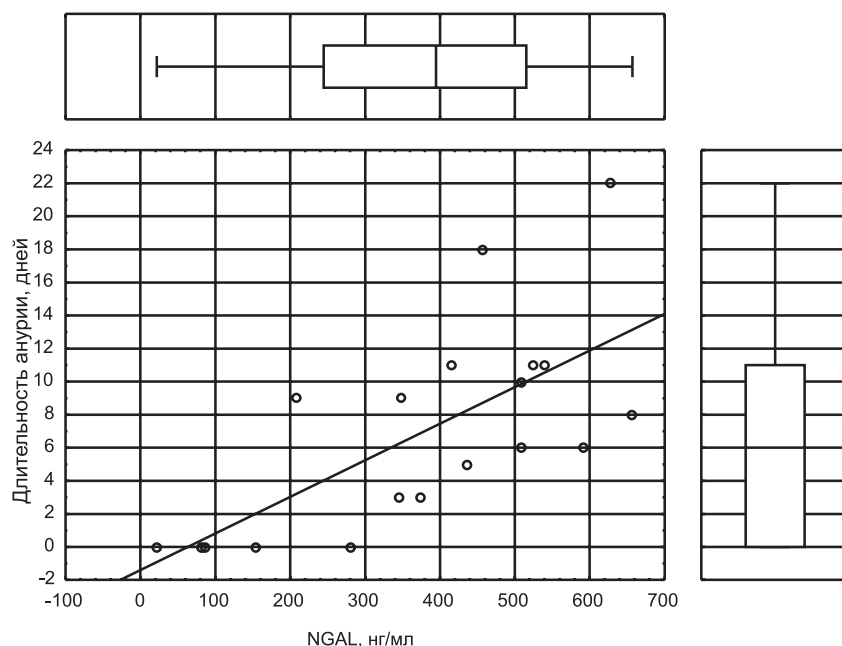


Рис. 3 Корреляционная зависимость длительности анурии от уровней NGAL в крови при поступлении в диализный центр.

сколькx ГУС Д «+» не относится к васкулитам, а у большей части пациентов рано развивается анурия, нами предпринята попытка оценить уровни и динамику изменений NGAL в крови при данной патологии. При поступлении в ДЦ выявлено повышение уровней NGAL у всех детей, как нуждавшихся в ЗПТ, так и без нее, что отражает развитие ренальных повреждений. Значимое превышение NGAL отмечалось у пациентов с ГУС, которые в последующем получали ЗПТ ($p < 0,001$), отражая тяжесть повреждения проксимальных канальцев почек и определяя дальнейший прогноз (рис. 1). Оценка концентрации NGAL в сыворотке крови и динамики его изменений может служить основой для определения критериев почечного повреждения при ГУС и определения тактики лечения (необходимости начала диализной терапии).

Снижение С3 фракции комплемента и продуктов его распада (С3b, С3с, С3d) у детей с ГУС Д «+» ранее было описано в литературе [14, 15]. Повышение уровня продукта распада С3 – фактора В указывало на активацию альтернативного пути комплемента [14]. В последующем это подтверждено выявлением высоких уровней фактора Вв и мембраноатакующего комплекса комплемента С5b-9 у детей в острой фазе ГУС Д «+» [16, 17, 18]. Однако не было обнаружено взаимосвязей между степенью активации комплемента и тяжестью почечных повреждений и исходов ГУС [16, 17]. По результатам нашего исследования снижение уровней комплемента С3 при нормальном уровне С4 в крови свидетельствовало об активации комплемента по альтернативному пути у всех пациентов с ГУС Д «+». Кроме того, установлена связь между активацией системы комплемента и тяжестью почечного повреждения: уровни С3 были ниже и встречались чаще у детей, нуждавшихся в ЗПТ ($p < 0,001$) (рис. 2).

Значения NGAL и С3 фракции комплемента в сыворотке крови у пациентов с ГУС Д «+» отражают тяжесть почечного повреждения, что подтверждается выявлением тесных корреляционных связей между ними и факторами, определяющими это повреждение (уровнями креатинина при поступлении в ДЦ, длительностью их нормализации, наличием потребности в диализе, продолжительностью анурии и диализа).

Изменения уровней иммуноглобулинов у больных с ГУС Д «+» впервые описано в работе L. Monnens и соавт., которые обнаружили низкие уровни IgG и высокие IgA, IgM при поступлении в стационар [19]. В нашем исследовании выявлены низкие уровни IgG, IgA и нормальные IgM,

с последующим нарастанием значений IgG, М и без существенной динамики IgA к моменту выписки из ДЦ. Эти изменения указывают на снижение гуморального иммунитета при данном заболевании.

Среднесрочный прогноз при аГУС неблагоприятный, причем более серьезный у взрослых по сравнению с детьми. Прогноз определяется генотипом аномалии системы комплемента [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования показали, что определение NGAL в сыворотке крови у пациентов с ГУС позволяет на ранних этапах заболевания выявлять ОПП. Получены убедительные данные об активации альтернативного пути системы комплемента у детей с ГУС Д «+», а степень снижения С3 фракции, также как и повышение уровней липокалина крови отражают тяжесть почечного повреждения. Снижение IgG и IgA в дебюте заболевания указывают на недостаточность гуморального иммунитета и высокие риски инфекционных осложнений, требующие соответствующей профилактики.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ruggerenti P, Noris M, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy, hemolytic uremic syndrome, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Kidney Int* 2001; 60(3): 831–846
2. Байко СВ. Гемолитико-уремический синдром: эпидемиология, классификация, клиника, диагностика, лечение (Часть 1). *Нефрология и диализ* 2007; 9(4): 370–377 [Bajko SV. Gemolitiko-uremicheskij sindrom: e'pidemiologiya, klassifikaciya, klinika, diagnostika, lechenie (Chast' 1). *Nefrologiya i dializ* 2007; 9(4): 370–377]
3. Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016; 31(1): 15–39
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int Suppl* 2012; 2(1): 1–138
5. Uchino S. Serum creatinine. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16(6): 562–567
6. Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993; 268(14): 10425–1032
7. Kjeldsen L, Cowland JB, Borregard N. Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin and homologous proteins in rat and mouse. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1482(1–2): 272–283
8. Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarjan P et al. The predictive performance of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) increases with grade of acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(11): 3349–3354
9. Mishra J, Ma O, Prada A et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(10): 2534–2543
10. Adachi T. Structures and functions of antibodies. *Nihon Rinsho* 2005; 63(Suppl 4): 237–242
11. Cho H. Complement regulation: physiology and disease relevance. *Korean J Pediatr* 2015; 58(7): 239–244
12. Trachtman H, Christen E, Cnaan A et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in D+HUS: a novel marker of renal injury. *Pediatr Nephrol*. 2006; 21(7): 989–994

13. Ohlsson S, Wieslander J, Segelmark M. Increased circulating levels of proteinase 3 in patients with anti-neutrophilic cytoplasmic autoantibodies-associated systemic vasculitis in remission. *Clin Exp Immunol* 2003; 131(3): 528-535

14. Monnens L, Molenaar J, Lambert PH et al. The complement system in hemolytic-uremic syndrome in childhood. *N Engl J Med* 1980; 13(4): 168-171

15. Robson WL, Leung AK, Fick GH et al. Hypocomplementemia and leukocytosis in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Nephron* 1992; 62(3): 296-299

16. Keir LS, Saleem MA. Current evidence for the role of complement in the pathogenesis of Shiga toxin haemolytic uraemic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2014; 29(10): 1895-1902

17. Thurman JM, Marians R, Emlen W et al. Alternative pathway of complement in children with diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(12): 1920-1924

18. Angioi A, Fervenza FC, Sethi S et al. Diagnosis of complement alternative pathway disorders. *Kidney Int* 2016; 89(2): 278-288

19. Monnens L, Samwel M, Lestijo BJ et al. Serum immunoglobulin levels in the hemolytic-uremic syndrome in children. *Acta Paediatr Belg* 1980; 33(3): 157-161

20. Лора Ш, Фремю-Бачи В (Loirat C, Fremaux-Bacchi V). Атипичный гемолитико-уремический синдром. *Нефрология* 2012; 16(2): 16-48 [Atipichnij Gemolitiko-uremicheskij sindrom. *Nefrologiya*. 2012; 16(2): 16-48]

Сведения об авторах:

Доцент Байко Сергей Валерьевич
220020, Беларусь, Минск, ул. Нарочанская, д. 17. Белорусский государственный медицинский университет 1-я кафедра детских болезней. Тел.: +375 (17) 250-37-61, e-mail: baiko@yandex.ru

Dr. Sergey V. Baiko, MD, PhD

Affiliation: 220016, Belarus, Minsk, Narochanskaya St., 17, 1st Department of Pediatrics, Belarusian State Medical University. Phone: +375 (17) 250-37-61, e-mail: baiko@yandex.ru

Академик НАН Сукало Александр Васильевич

220020, Беларусь, Минск, ул. Нарочанская, д. 17. Белорусский государственный медицинский университет 1-я кафедра детских болезней, заведующий. Тел.: +375 (17) 250-37-61, e-mail: kafedra.pediatric1@yandex.ru

Prof. Alexander V. Sukalo, MD, PhD, DMedSci, Acad.

Affiliation: 220016, Belarus, Minsk, Narochanskaya St., 17, 1st Department of Pediatrics, Belarusian State Medical University. Phone: +375 (17) 250-37-61, e-mail: kafedra.pediatric1@yandex.ru

Бураковский Алесь Игоревич

220141, Беларусь, Минск, ул. Купревича, д. 5/2. Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси. Тел.: +375 (17) 380-39-25, e-mail: alesbur@ya.ru

Ales I. Burakovski, PhD

Affiliation: 220141, Belarus, Minsk, Kuprevich Str. 5/2, Institute of Bioorganic Chemistry, Belarusian National Academy of Sciences. Phone: +375 (17) 380-39-25, e-mail: alesbur@ya.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 20.09.2016 г.

Принята в печать: 31.03.2017 г.