Nové markery v diagnostice akutního poškození (AKI) a selhání ledvin (ASL)

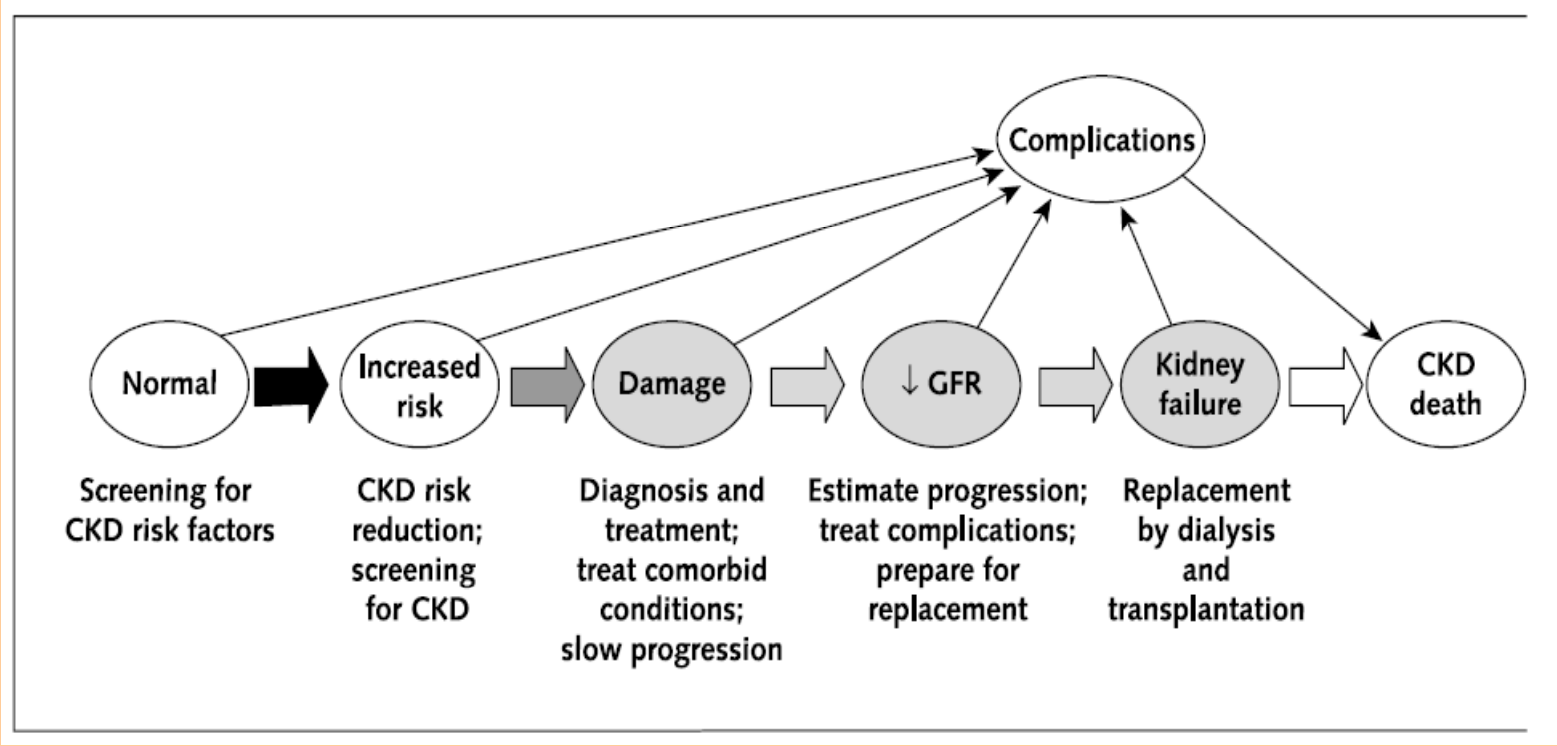
Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.
Klinika nefrologie TC IKEM
a
Subkatedra nefrologie IPVZ

Akutní poškození ledvin (AKI) je náhlý často reverzibilní pokles exkrečně-metabolické funkce ledvin, který je ve své těžší formě spojen s výrazným poklesem diurézy.

AKI probíhá jako oligoanurická nebo neoligoanurická forma.

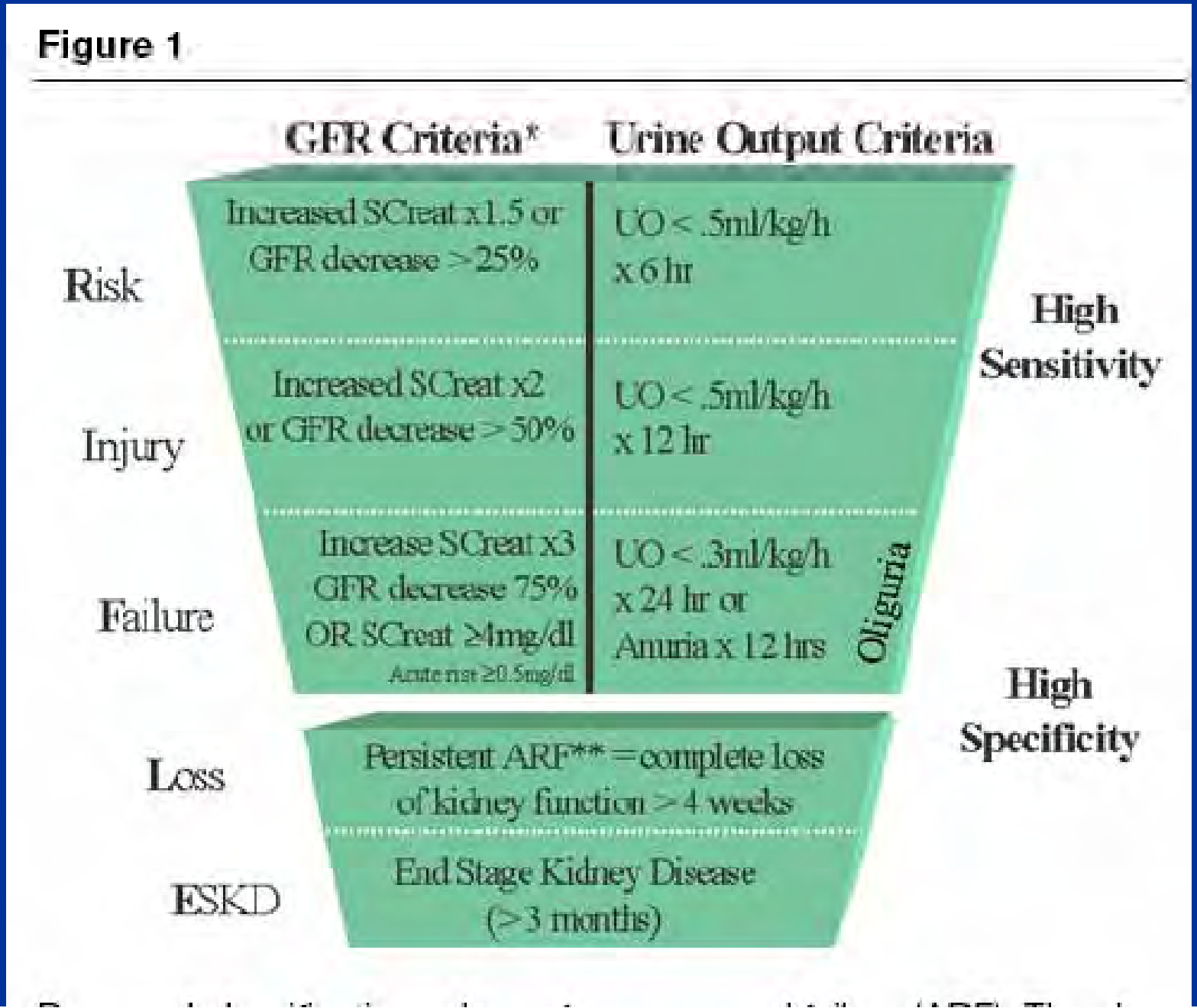
Selhání funkce ledvin je charakterizováno stavem, kdy ledviny nejsou schopny vylučovat dusíkaté katabolity, vodu a elektrolyty ani za bazálních podmínek. Je porušena acidobazická rovnováha, syntéza i degradace hormonů (erytropoetin, aktivace vit. D, renální prostaglandiny, renin, insulin, glukagon, kalcitonin apod.) a metabolitů (glukoneogenesa, interkonverse aminokyselin).

Stadia renálního poškození / selhání



Levey (2003)

RIFLE Criteria



Kritéria RIFLE a stádia akutního poškození ledvin (AKI) dle nové klasifikace

RIFLE	S kreatinin v séru (µmol/l) Glomerulární filtrace (ml/s)	Diuréza(ml/h)	AKI - stádia
Riziko (Risk)	S_{kr} > o 50% (1,5x) GF < o 25% v průběhu 1-7 dní	oligurie - D<0,5ml/kg/h min.6h neoligoanurie – diuréza zachována	I. stádium
Poškození ledvin (Injury)	S_{kr} > o 100% (2x) GF < o 50%	oligurie - D<0,5ml/kg/h min.12h neoligoanurie – diuréza zachována	II. stádium
Selhání ledvin (Failure)	S_{kr} > o 200% (3x) či > 350µmol/l při vzestupu o 50 µmol/l GF < o 75%	oligurie - D<0,5ml/kg/h delší než 24h či anurie min. 12h neoligoanurie – výjímečně diuréza zachována	III. stádium Akutní selhání ledvin
Ztráta funkce ledvin (Loss)	akutní selhání ledvin s afunkcí delší než 4 týdny	anurie či oligurie	
Terminální selhání funkce (End – stage kidney disease)	afunkce trvající déle než 3 měsíce	anurie či oligurie	

* Přepočet na S_{kr} v µmol/l = $\frac{mg\% \times 10^4}{113}$

Hodnoty zaokrouhleny

Nové laboratorní markery akutního poškození ledvin

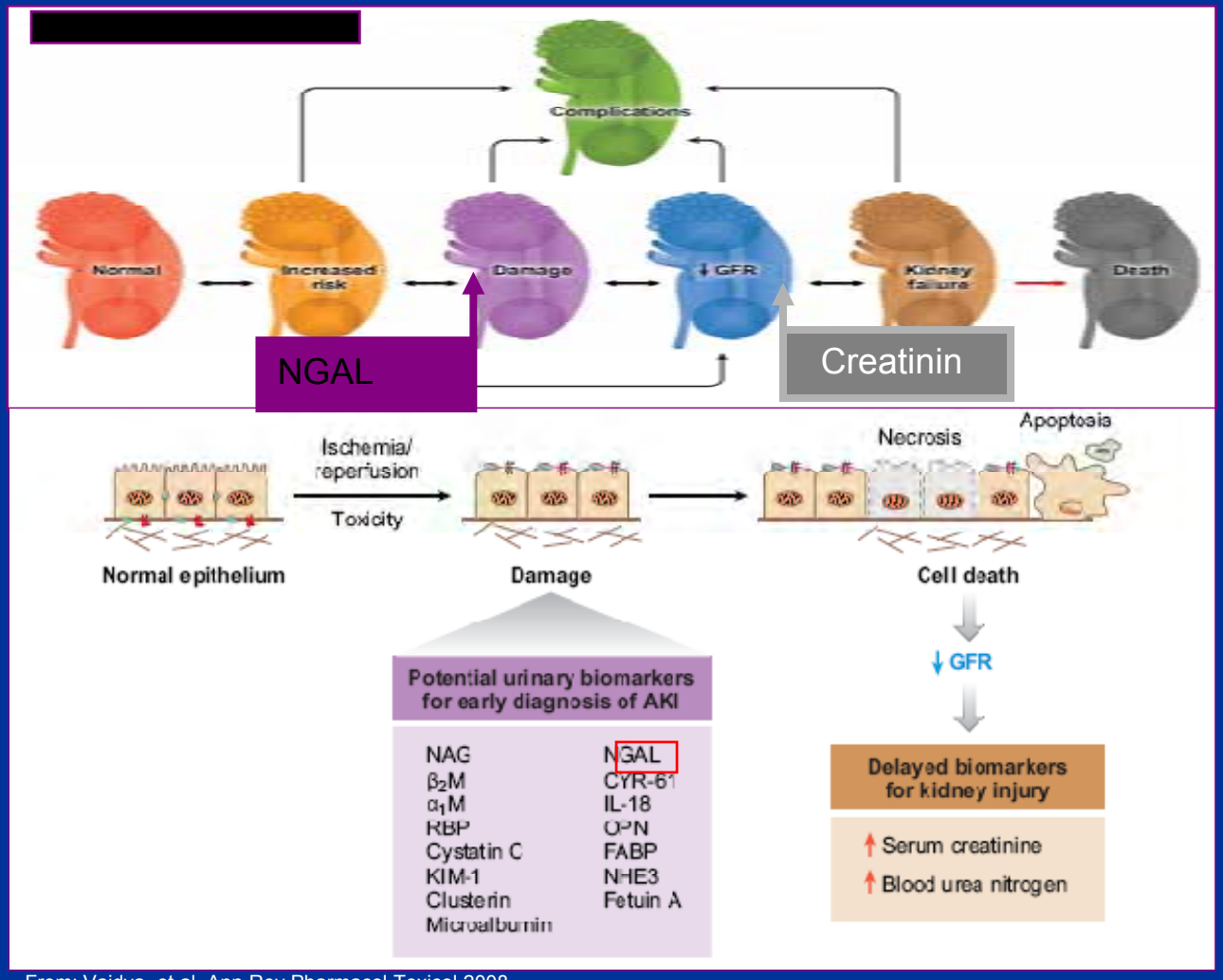
Současný stav diagnostiky AKI a jeho omezení

- diagnóza AKI je v současnosti založena zejména na parametrech souvisejících se sérovým kreatininem (viz RIFLE klasifikace)
- kreatinin není nejvhodnější marker pro sledování akutních změn funkce ledvin
- nárůst kreatininu je pozorován obvykle nejdříve až 24 – 72 hodin po začátku poškození, kdy již 50% funkce ledvin může být ztraceno

- <u>nutnost získání nového biomarkeru, který bude</u> (podobně jako cTn u IM):
- *- schopen zachytit renální poškození v časných stádiích*
- *- specifický vzhledem k renálním funkcím*
- *- snadno stanovitelný (praktické využití)*

Devarajan, Expert Opin Med Diag 2008
Waikar, *et al*. Clin J Am Soc Nephrol 2008
Honore, *et al*. Intensive Care Med 2007

Nové biomarkery akutního renální poškození



From: Vaidya, et al. Ann Rev Pharmacol Toxicol 2008

Acute Kidney Injury

Serum Creatinine (1926)

Biomarkers Isolated

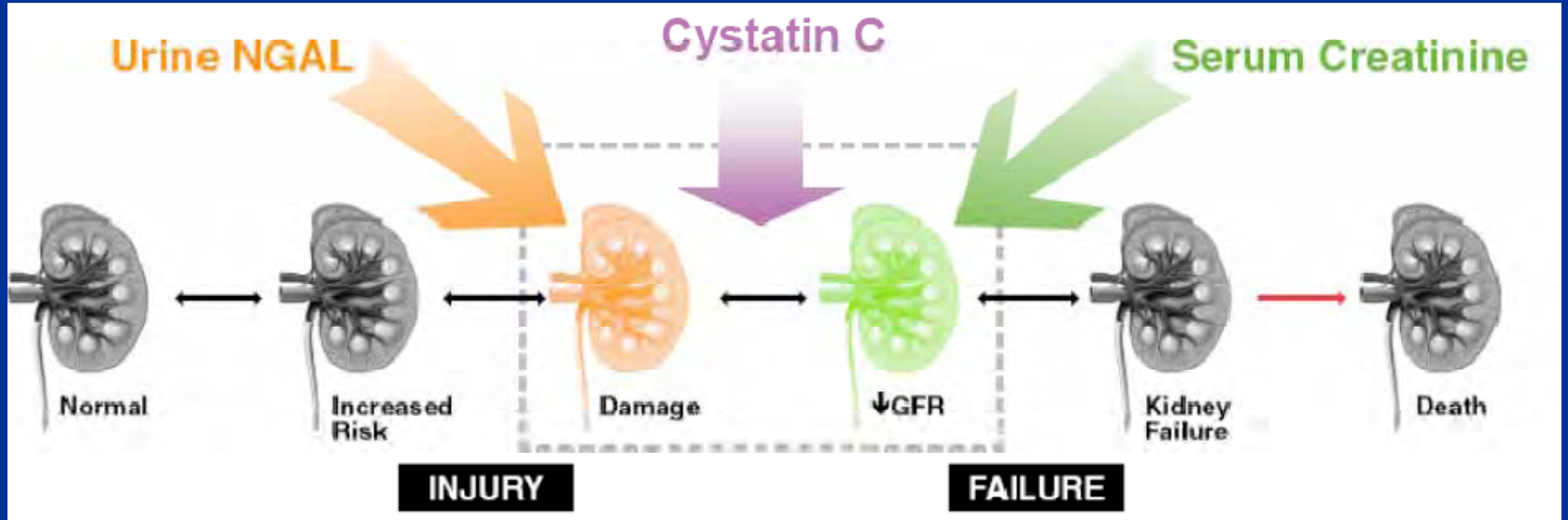
KIM-1 1961

Cystatin C 1968

IL-18 1985

NGAL 1993

Biomarkery renální poškození



Urine NGAL

- Measures Protein
- Injury
- Rises Earlier than Creatinine
- Links to Pathophysiology of Kidney

Cystatin C

- Measures GFR
- Functional Marker
- Superior to Creatinine
  - Unaffected by weight, height, muscle mass & gender
  - No baseline required
  - Advantage in specific populations

Serum Creatinine

- Measures GFR
- Functional Marker
- Gold Standard
- Requires a baseline to diagnose AKI

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)

- transmembránový protein exprimovaný v buňkách proximálního tubulu (výlučně)
- časná reakce na akutní poškození ledvin
- odštěpená ektodoména se dostává do moče, kde se deteguje jako marker tubulární léze (fyziologicky v moči nepatrné koncentrace)
- funkce není jasná (ektodoména obsahuje struktury podobné imunoglobulinu a mucinu – účast v prvotních reparačních procesech?)
- zvýšení v moči předchází funkční lézi
- exprese KIM-1 je spojena s dediferenciací proximálních tubulárních buněk, vylučování do moče provází tubulární poškození ledvin (van Timmeren, 2007)

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)

- vyvolávající faktory zvýšení
  - ischemie ledvin (s vaskulitidou, s alergickou intersticiální nefritidou, u membranózní nefropatie, při používání nesteroidních antiflogistik),
  - toxické poškození,
  - akutní tubulární nekróza,
  - dysfunkce štěpu bez rejekce nebo s rejekcí,
  - zánětlivé, fibrotizující a nádorové postižení ledvin
  - choroby ledvin spojené s proteinurií (Han, 2002, van Timmeren, 2006).

Interleukin 18

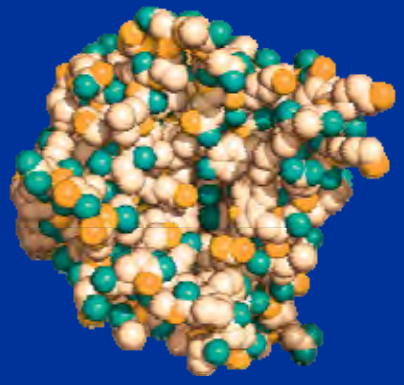
- potenciální marker časné detekce akutního renálního poškození
- rodina IL-1
- regulátor imunitní odpovědi
- exprimován ve tkání postižené
  - zánětem,
  - autoimunitním procesem
  - nádorem
- stanovení v moči
- zkušenosti u akutního poškození ledvin???
- role u pacientů v intenzívní péči (časný marker akutního selhání, Parikh, 2005)

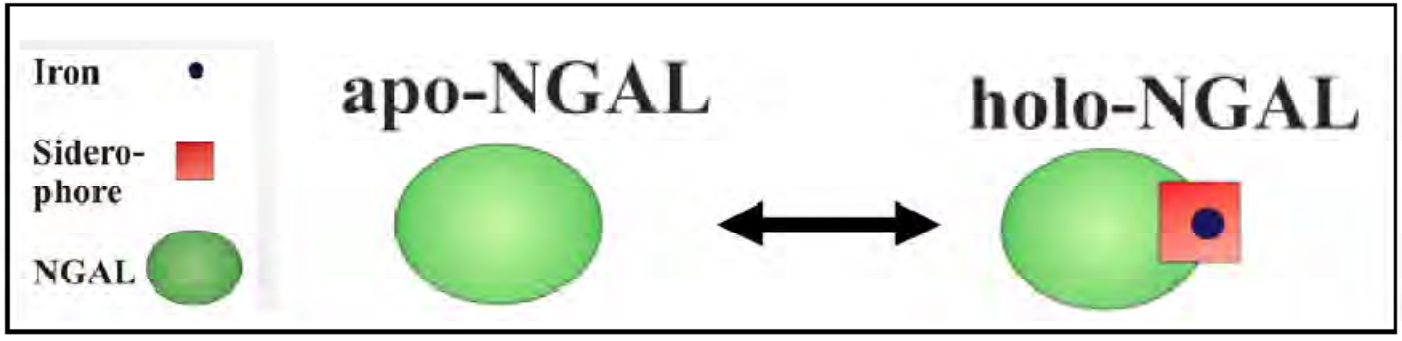
Neutrophil gelatinase–associated lipocalin (NGAL)

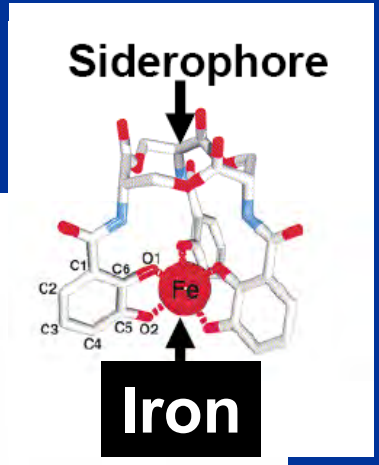
- člen lipokalinové rodiny
- v moči přítomen po toxickém a ischemickém poškození
- časný marker akutního poškození ledvin
- indikační skupiny
  - ischemie ledvin po srdečních operacích
  - operace na velkých cévách
  - nefrotoxické poškození kontrastními látkami nebo aminoglykosidy
  - proteinurické léze ledvin
  - diabetická nefropatie
  - stavy po transplantacích ledvin
  - systémový lupus erytematodes
  - další (Brunner, 2006, Mishra, 2003)

Co je NGAL?

- **NGAL** (Neutrophil gelatinase-asscociated lipocalin; neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin; syn. lipocalin-2, siderocalin, lidský neutrofilní lipokalin)
- člen lipokalinové rodiny proteinů (25kD)
- byl objeven ve specifických granulích neutrofilů (vázán kovalentně na gelatinázu)
- význam v boji proti bakteriální infekci urogenitálního traktu: váže se na tzv. siderofory (cheláty), proteiny tvořící komplex se železem (hlavní zdroj Fe pro bakterie)







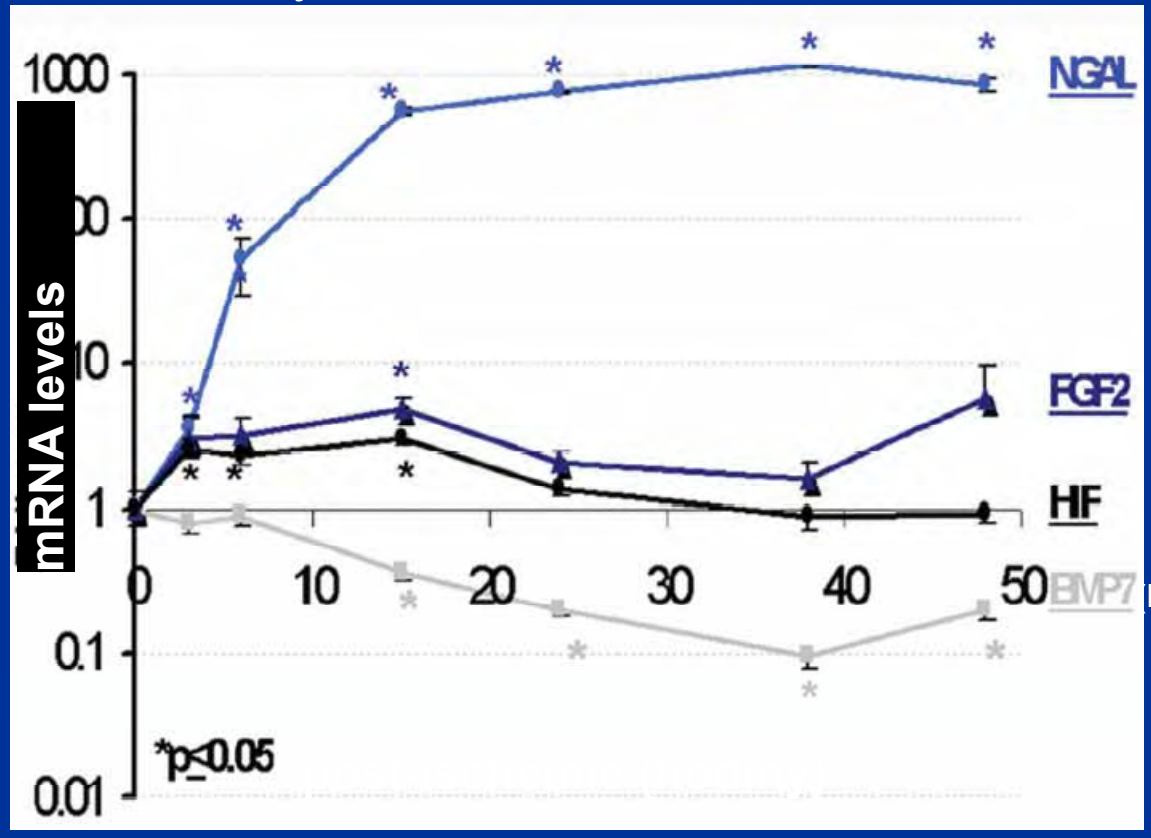
Goetz et al. Mol Cell 2002

Honore, *et al*. Intensive Care Med 2007
Devarajan, Expert Opin Med Diag 2008
Waikar, *et al*. Clin J Am Soc Nephrol 2008

Syntéza NGAL postiženou ledvinou

- Studie na zvířatech ukázaly že NGAL je jedním z prvních proteinů, jehož koncentrace se rychle zvyšují po ischemických či nefrotoxických podnětech působících na ledviny

[redacted]



(basic fibroblast growth factor)

(hypoxia-inducible factor)

(bone morphogenic protein 7)

Adapted from: Schmidt-Ott, *et al*. JASN 2007

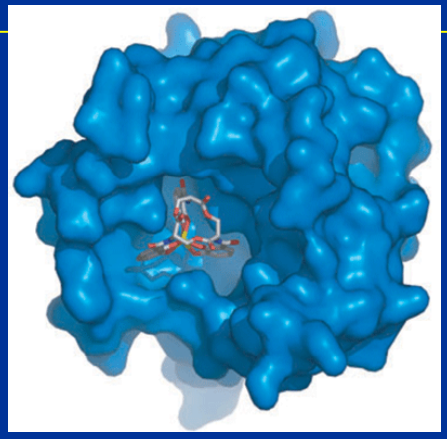
Role NGAL v patofyziologii AKI

1/ Protektivní funkce

- V časných stádiích AKI vznik komplexu NGAL/chelát-Fe snižuje poškození epitelu tubulů a brání apoptóze

2/ Proliferační funkce

- V pozdních stádiích AKI je NGAL zodpovědný za regeneraci - růst a diferenciaci nových epiteliálních buněk



Krystalická struktura NGAL vázaného na Fe(III)-Enterobactin (Fishbach, et al. Nat Chem Biol 2006)

Patofyziologie NGAL

časné AKI → chelace železa → **↓ apoptóza**

pozdní AKI → transport železa do tkání → **↑ proliferace**

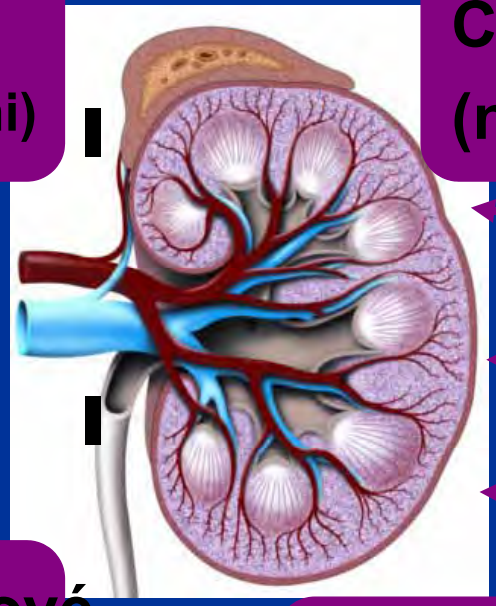
→ renoprotektivní efekt

NGAL a nejčastější příčiny AKI

- Řada studií potvrdila že **NGAL detekovaný v moči je časným markerem akutního renálního poškození při různých klinických stavech**

Nefrotoxické poškození
(např. kontrastními látkami)

Chirurgické zákroky
(např. CPB)



Po transplantaci
Ledvin

Sepse, multisystémové
orgánové selhání

Vážné choroby
(např. srdeční selhání,
Systémový lupus erythematodes)

Adapted from Parikh and Devarajan, Crit Care Med 2008,36:159-65

N-acetyl-beta-d-glukózaminidáza (NAG)

- enzym lysozomů (renálních tubulárních buněk a jinde)
- degraduje mukopolysacharidy a glykoproteiny
- velký protein (m.h. 140000 – 150000)
- za normálních okolností neprochází glomerulární membránou
- přítomnost v moči
  - při poruše glomerulární membrány
  - u poškození buněk renálních tubulů
  - při kombinaci obou dějů.

N-acetyl-beta-d-glukózaminidáza (NAG)

- využití při tubulopatiích
  - při intoxikaci léky, těžkými kovy
  - u diabetes mellitus (pátrání po diabetické nefropatii)
  - u rejekce ledviny a podobně.
- diabetes
  - zvýšení NAG v moči = časná známka tubulopatie
  - před prokazatelnou poruchou bazální membrány glomerulů (v období negativní mikroalbuminurie)
  - profiltrovaný albumin se díky zvýšené reabsorpci v proximálním tubulu do moče nedostává a v moči je tak přítomna pouze NAG, v dalším stadiu je překročena reabsorpční kapacita tubulů a objevuje se mikroalbuminurie (společně s NAG v moči) a později je přítomnost NAG v moči podmíněna nejen poruchou glomerulární bazální membrány, ale také destrukcí tubulárních buněk.

Cystatin C - lepší marker ke sledování funkce ledvin než kreatinin

- Cystatin C je sérový protein o nízké molekulové hmotnosti (120 AK), který je z krve volně filtrován ledvinami a proto slouží k hodnocení funkce ledvin
- Cystatin C je produkován všemi typy jaderných buněk v těle v konstantním množství.

- **Koncentrace cystatinu C v krvi je nepřímo úměrná rychlosti glomerulární filtrace.**
- Hladiny cystatinu C jsou nezávislé na:
- - hmotnosti a výšce
- - množství svalové hmoty,
- - věku
- - pohlaví
- - interferujících látkách (metabolity, léky,…)
- **To z něj činí vhodnější marker detekce funkce ledvin než je kreatinin**

Cystatin C – pro a proti

- odpadá nutnost sběru moče
- nejsou interference Jaffé pozitivních látek
- není významná závislost na věku a pohlaví
- v porovnání s kreatininem spíše vyšší diagnostická efektivita
- dobrá korelace se standardními metodami odhadu GF

- ekonomicky náročné stanovení s menší dostupností
- není jasná role v pokročilém selhání ledvin
- možné ovlivnění koncentrací u kuřáků, při zvýšeném CRP, u terapie kortikoidy
- nejistá role u chorob jater, u tyreopatií, akutních poruch ledvin, u diabetiků, starších osob a obézních

Příčiny ASL vyžadující dialyzační léčbu v nemocniční léčbě (upraveno dle Turney et al)

Příčiny chirurgické	47,5 %	z toho Operativní výkony	33,1 %
		Chirurgická sepse	9,4 %
		Močová obstrukce	8,6 %
		Trauma	7,0 %
		Kardiovaskulární výkony	6,0 %
		Malignity	3,9 %
		Pankreatitidy	1,8 %
		Popáleniny	1,3 %
Příčiny interní	21,2 %	Sepse	8,3 %
		Akutní postižení jater	3,3 %
		Deplece vody a iontů	3,2 %
		ICHS	2,7 %
		DM	2,2 %
		Ostatní	3,9 %
Přímé postižení renálního parenchymu	12,4 %	Polyarteritida	2,3 %
		GN se srpky	1,9 %
		HUS	1,6 %
		GN proliferativní	1,4 %
		GN nejasné	1,4 %
		SLE	1,1 %
		Ostatní	2,7 %
Gynekologie	10,6 %		
Otravy	8,3 %		

GN = glomerulonefritida, HUS = hemolyticko-uremický syndrom
SLE = systémový lupus erytematodes

Akutní renální poškození (AKI)

- s AKI je spojená vysoká morbidita a mortalita (40 - 80%; v ČR cca 62%)

Table 3. Period Prevalence of Acute Renal Failure and Mortality by Country*

	No. of Participating Centers (N = 54)	No. of Patients (N = 1738)	Period Prevalence (95% CI), %	Predicted Mortality, %†	Hospital Mortality (95% CI), %
Australia	6	293	6.3 (5.6-7.0)	47.0	53.4 (47.7-59.1)
Belgium	3	163	8.8 (7.5-10.1)	43.2	57.7 (50.1-65.3)
Brazil	4	153	4.8 (4.0-5.5)	43.6	76.8 (70.1-83.6)
Canada	2	93	4.6 (3.7-5.6)	56.8	59.8 (49.8-69.8)
China	2	77	8.8 (6.9-10.7)	48.5	61.0 (50.1-71.9)
Czech Republic	1	21	16.8 (10.2-23.4)	44.6	61.9 (41.1-82.7)
Germany	2	129	3.3 (2.7-3.8)	39.4	61.9 (53.4-70.4)
Greece	1	5	2.4 (0.3-4.5)	62.2	80.0 (44.9-100.0)
Indonesia	1	25	4.4 (2.7-6.1)	41.4	72.0 (54.4-89.6)
Israel	1	10	2.1 (0.8-3.4)	61.3	100.0
Italy	6	109	5.4 (4.4-6.4)	32.0	50.5 (41.1-59.8)
Japan	4	90	5.5 (4.4-6.6)	40.8	64.0 (54.1-74.0)
The Netherlands	2	113	6.1 (5.0-7.2)	49.5	62.5 (53.5-71.5)
Norway	2	50	3.7 (2.7-4.7)	46.6	62.0 (48.5-75.5)
Portugal	2	36	22.1 (15.7-28.5)	53.7	63.9 (48.2-79.6)
Russia	1	14	2.6 (1.3-3.9)	82.6	61.5 (35.1-88.0)
Singapore	2	31	6.3 (4.2-8.4)	59.3	74.2 (58.8-89.6)
Spain	2	16	10.5 (5.6-15.3)	32.2	43.8 (19.4-68.1)
Sweden	1	9	4.7 (1.7-7.7)	25.7	22.2 (0-49.4)
Switzerland	1	26	3.2 (2.0-4.4)	44.3	65.4 (47.1-83.7)
United Kingdom	1	52	20.6 (15.6-25.5)	63.7	73.1 (61.0-85.1)
United States	6	194	8.0 (6.8-9.3)	44.2	52.1 (45.0-59.2)
Uruguay	1	29	12.9 (8.5-17.3)	35.6	65.5 (48.2-82.8)
Overall			5.7 (5.5-6.0)	45.6	60.3 (58.0-62.6)

Abbreviation: CI, confidence interval.
*Countries are provided for illustrative purposes only because sampling was not representative of any given country.
†Calculated with Simplified Acute Physiology Score II.

Uchino et al. JAMA 2005

Patofyziologické faktory vzniku AKI

I. pokles průtoku krve kortikální vrstvou ledviny
II. změna permeability glomerulární membrány
III. tubulární reflux ("leakage") filtrátu.
IV. tubulární obstrukce

I když je zřejmé, že AKI je způsobeno vždy poškozením renálním, z hlediska základní příčiny lze užít zjednodušené dělení příčin AKI na :

- prerenální (tzv.funkční)
- renální (primární poškození ledvinného parenchymu)
- postrenální (urologické, při obstrukci močových cest)

Hlavní tři mechanismy vedoucí k prerenální formě AKI jsou:

- **snížený efektivní intravaskulární volum**
- **snížený srdeční výdej**
- **poruchy v intrarenální hemodynamice**

Tubulární poškození vedoucí k AKI

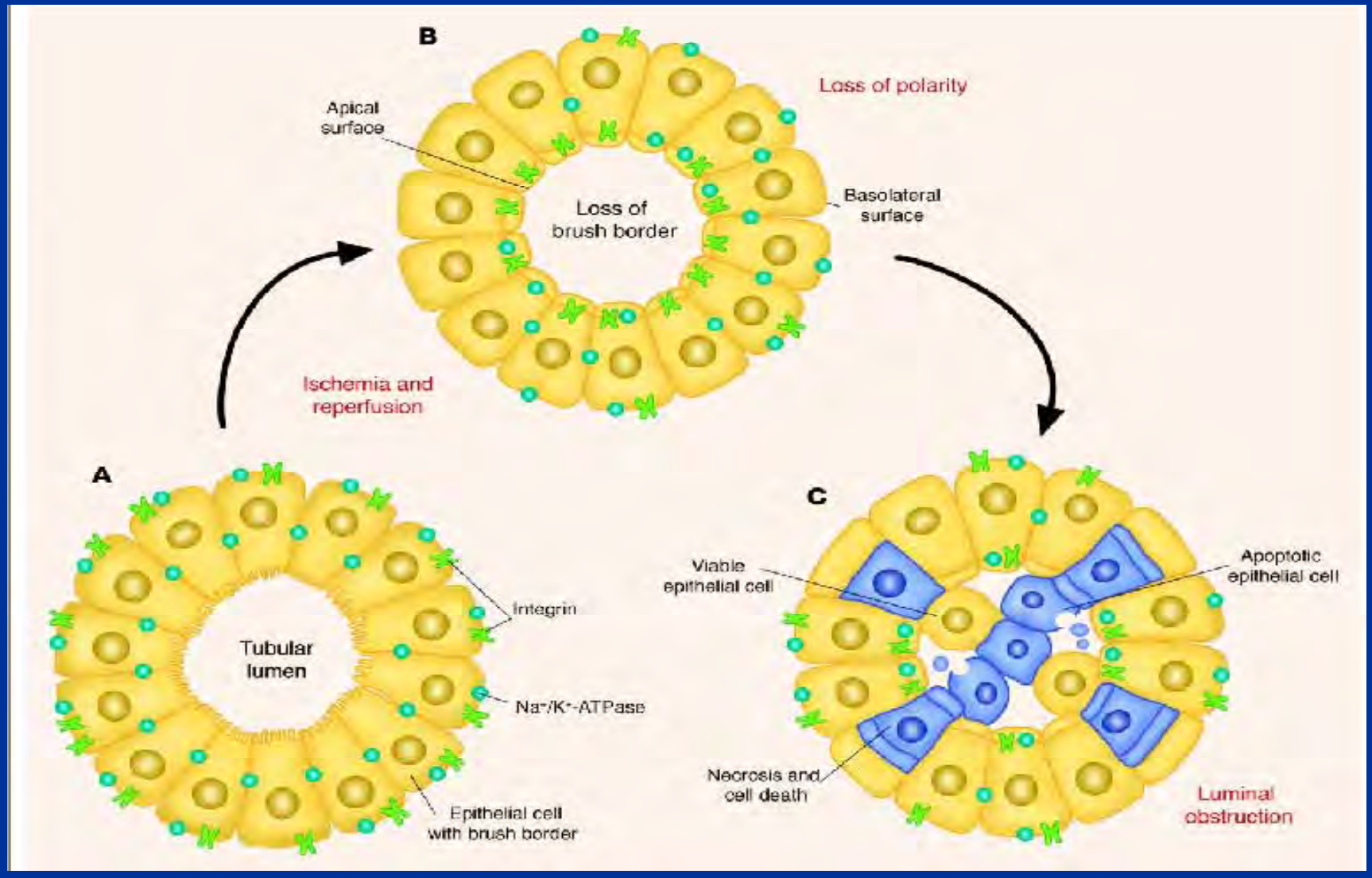
Akutní tubulární nekróza:

- ischemická
- prolongovaná hypoperfuze při prerenálním AKI (hypovolemie, snížený srdečný výdej, porušená intrarenální hemodynamika), hemodynamicko-hypovolemický šok, operace v mimotělním oběhu
- při septických stavech (toxoinfekčně-hypovolemický šok)
- při multiorgánovém postižení
- nefrotoxická :antibiotika
  cytostatika a imunosupresiva
  organická rozpustidla,glykoly,houby,jedy, těžké kovy
  radiokontrastní látky
- při pigmenturii (hemoglobin, myoglobin)
- při těhotenství o po porodu

Intratubulární obstrukce:

- depozice krystalů
- depozice proteinů

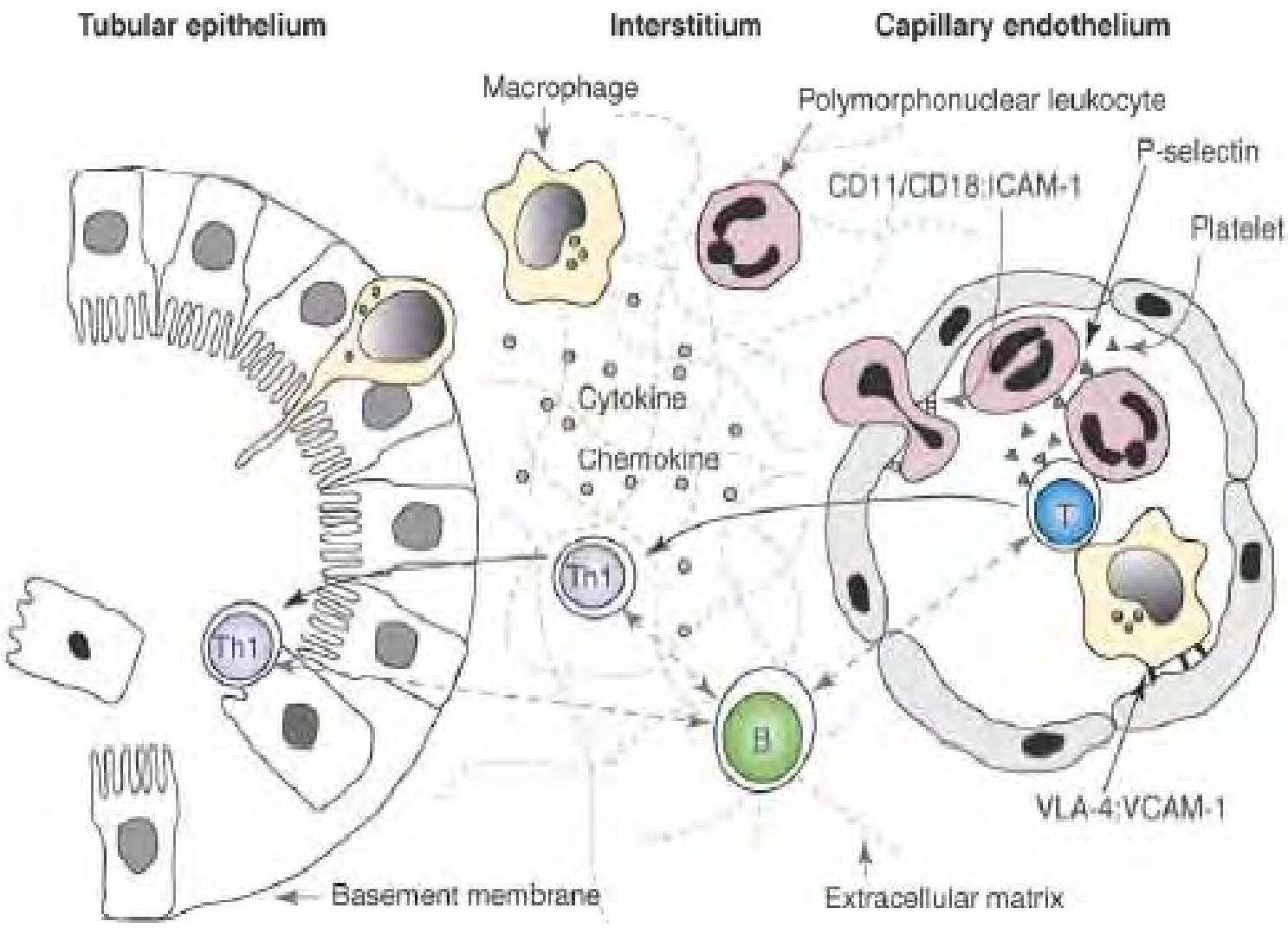
Loss of cellular polarity and tubular obstruction in ischemic AKI



Morfologické rozdíly mezi buněčnou apoptózou a nekrózou

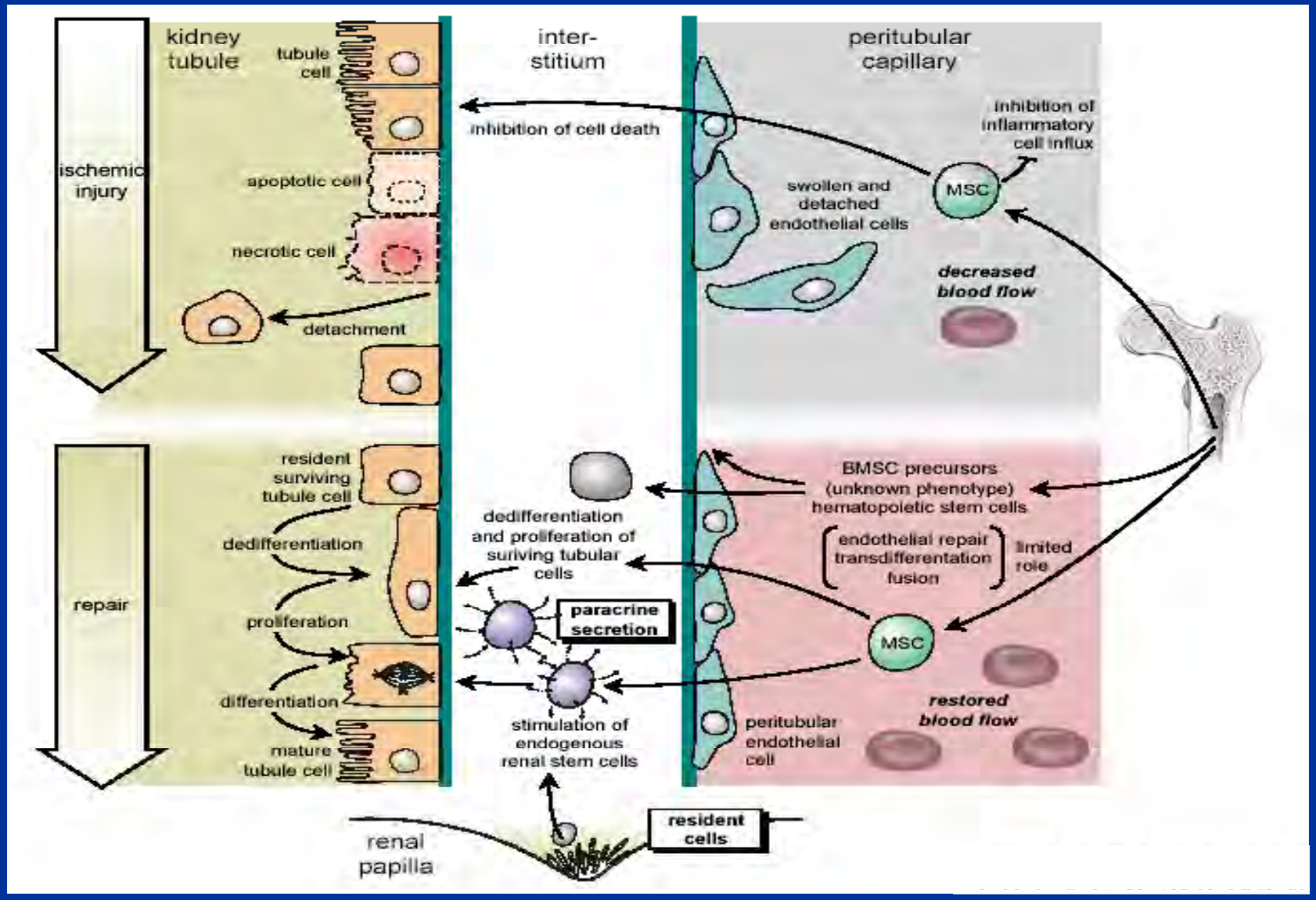
Morfologické charakteristiky	*Apoptóza*	*Nekróza*
Velikost buňky	snížená	zvýšená (onkóza)
Integrita buněčné membrány	rel. normální	chybí
Mitochondrie	normální	edematózní, porušené
Mezibuněčná adhezivita	chybí časně	zůstává
Exfoliace	časná	pozdní
Kondenzace chromatinu nukleární fragmentace	typická	chybí
Morfologie jádra (el. mikroskop)	kolaps chromatinu do elektron-denzních tělísek	bez denzních tělísek
Obsah cytosolu	chybí	charakteristický
Odumřelé buňky ve tkáni	ojedinělé bb.	skupiny bb.
Tkáňový zánět	chybí	typický
Fagocytóza odumřelých bl.	typická	chybí

Ischemic AKI and inflammatory cells



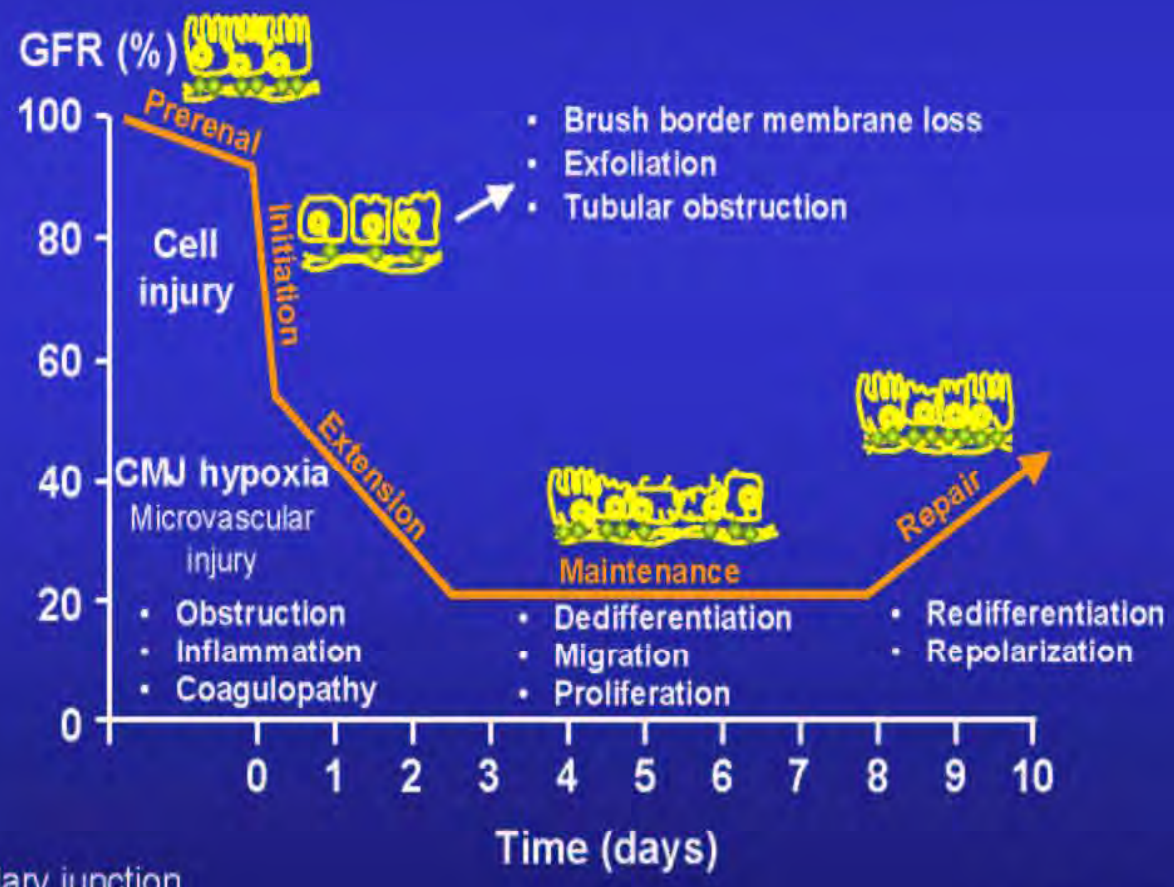
Ikeda et al, Drug Disc Today, 2006, 11: 364- 370

Repair of tubular injury and role of stem cells



Krause, Cantley, J Clin Invest 115:1705-1708, 2005 (modified by M. De Broe, NDT 20: 2318-2320,2005)

Renal function begins to recover 8 days after acute kidney injury



CMJ = corticomedullary junction

Sutton *et al. Kidney Int* 2002

Základní program vyšetření při akutních stavech v nefrologii

Anamnesa: operace, traumata, gravidita, šok, toxické látky, transfuze krve, aplikace kontrastní látky, nefrotoxické léky atd.
Stav nemocného: hydratace, vyšetření per rectum, poklep nad symfysou, krajina ledvin
Monitorace: TK+P, CŽT, přesná diuréza
Rozbor krve: Na, K, Ca, P, kyselina močová, urea, kreatinin, osmolalita, glykemie, Astrup, krevní obraz
Rozbor moči: diuresa, moč chemicky + sediment, kultivace, Na, K, Ca, P, kyselina močová, urea, kreatinin, osmolalita
Sonografie: velikost a tvar ledvin a dutého systému, močový měchýř, prostata

Laboratorní nálezy při dif. dg. prerenální a renální formy AKI

	Normální hodnoty	Prerenální formy ASL	Renální formy ASL
U_{osm} (mmol/l)	400 - 600	> 400	< 400 (blíží se plasmatické)
spec. hmotnost	1015 - 1025	> 1020	1010 (isostenurie)
U_{Na} (mmol/l)	15 - 40	< 20	> 30
U_{Kr}/P_{Kr} (umol/l)	20 - 60	> 40	< 20
FE_{Na} /C_{Na}/C_{Kr} . 100/ (%)	1 - 3	< 1	> 3
index ASL $U_{Na} \cdot P_{Kr}/U_{kr}$	2 - 3	< 1	> 3
C_{H2O} /V – C_{osm}/ (ml/s)	záporné hodnoty	záporné hodnoty	kladné hodnoty

Akutní poškození ledvin probíhá v několika fázích:

1. Fáze počátečního poškození(oligoanurie x neoligoanurie)
2. Fáze časné diurézy
3. Fáze pozdní diurézy
4. Fáze reparace (glomerulární, následně tubulární funkce)

Léčebné možnosti hyperkalemie

	Dávkování	Začátek účinku
Inhibice membránového účinku draslíku:		
Kalcium iv	10-30 ml 10 % Ca gluk	Několik minut
Sodík iv	20-40 ml 10 % NaCl (není-li kontraindikace)	Minuty
β-mimetika iv	1-2 mg	Několik minut
Podpora utilizace kalia v buňce		
Glukosa + insulin iv	250 ml 40 % G + 24 j NZI PUR	1 hod
Natrium bikarbonát iv	50-100 ml NaHCO3 8.4 %	15-30 minut
Potenciace fekální eliminace – iontoměřiče		
Per os, klysma	1-2 odměrky za 2 hod	60-120 minut
Metody očišťující krev		
Hemodialýza	4 až 5 hod	Do 10 min
Peritoneální dialýza	2-3 hodiny	Do 10 min

Indikace k dialýze u nemocných s AKI

absolutní	1. Hyperkalemie > 6.0 2. Hyperhydratace se srdečním selháním 3. Těžká metabolická acidóza 4. Klinicky vyjádřená uremie (perikarditis, GIT, neuropatie apod.) 5. Intoxikace dialyzovatelným jedem
nutná	6. Hyperazotomie (urea > 35 mmol/l, kreatinin > 500 - 600 umol/l/l) 7. Hyperkalcemie > 3,5 mmol/l, hyperurikemie >1000umol/l/l 8. Oligoanurie > 3 dny

Faktory ovlivňující přežívání nemocných s AKI

1.	Etiologie AKI
2.	Stupeň poškození (oligurie, kreatinin, frekvence dialýz)
3.	Počet a stupeň současně postižených orgánů
4.	Věk, preexistující choroby (diabetes, ICHS, jaterní léze apod.)
5.	Komplikace - infekční: septikémie, plicní infekce, uroinfekce - metabolické: katabolismus, dehydratace, iontový rozvrat - orgánové: kardiorespirační selhání, gastrointerstinální komplikace, těžší jaterní léze, poruchy CNS, pankreatitida, popáleniny

Z hlediska klinické praxe lze doporučit následující časový sled léčebných opatření :

1.Zvládnutí život ohrožujících stavů a komplikací AKI

2. Odstranění vyvolávající příčiny AKI

3. Úprava konzervativními prostředky

4. Dialyzační techniky (CAVH, CVVH, hemodialýza, CAPD, hemofiltrace, plazmaferéza, hemoperfuze

DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST!
VŠECHNY SÍLY STRANY A LIDU
ZA USKUTEČNĚNÍ ZÁVĚRŮ XVII. SJEZDU KSČ