



Urine biochemistry in septic and non-septic acute kidney injury: a prospective observational study^{☆,☆☆}

**Sean M. Bagshaw MD, MSc^{a,b,*}, Michael Bennett PhD^c,
Prasad Devarajan MD^c, Rinaldo Bellomo MD^b**

^a*Division of Critical Care Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, University of Alberta, 3C1.12 Walter C Mackenzie Center, 8440–112 ST NW, Edmonton, Alberta, T6G 2B7, Canada*

^b*Department of Intensive Care, Austin Hospital, Heidelberg, Victoria, 3084 Australia*

^c*Department of Pediatrics, Division of Nephrology, Cincinnati Children's Hospital, Cincinnati, 45229, USA*

Az akut vesekárosodást jelző ideális paraméterek jellemzői

- Noninvasivitás
- Megfelelő érzékenység, korai jelzőérték
- Specifikus az akut vesekárosodásra
- Megfelelően gyors analitikai eljárással meghatározható
- Alkalmas kockázatbecslésre
- Alkalmas az akut vesekárosodás formáinak elkülönítésére
- Szabadon filtrálódik a glomerulusokon keresztül, tubuláris exkréció nélkül

Kis molekulasúlyú fehérjék, mint a tubuluskárosodás korai biomarkerei

β 2-mikroglobulin (β 2M ,11,8 kDa)

- Valamennyi magvas sejt felszínén expresszálódik (MHC I)
- Glomerulárisan filtrálódik, proximális tubulusokban visszaszívódik
- Koncentrációemelkedése 4-5 nappal megelőzheti a seKREAT emelkedését
- Vizeletben, pH 6 alatti értéknél, szobahőn hamar elbomlik
- Potenciálisan nephrotoxikus hatású vegyületek terápiás alkalmazása esetén

α 1-mikroglobulin (α 1M, 27-33 kDa)

- A máj szintetizálja, vizeletben stabbilabb, mint a β 2M
- Glomerulárisan filtrálódik, proximális tubulusokban visszaszívódik
- Koncentrációját befolyásolják egyéb (máj)-betegségek is!
- Prognosztikai szerepe akut vesebetegségben

További kis molekulású markerek

Cystatin C (Cys-C, 13 kDa)

- Proteáz inhibitor, szérum-koncentrációja független nemtől, kortól, izomtömegtől
- Glomeruláris filtráció, tubuláris abszorpció, majd katabolizáció
- Szérum-koncentrációja érzékenyebb GFR-marker, mint a KREAT

Albumin (66,3 kDa, mikroalbuminuria: 30-300 mg/L)

- Glomeruláris károsodás mellett tubuláris károsodásban is jelez (kontrasztanyagok !)
- Nephrotoxikus kemoterapeutikumok (cisplatin, methotrexat, ifosfamid), antibiotikumok (gentamycin)

Kis molekulású fehérjék, mint biomarkerek

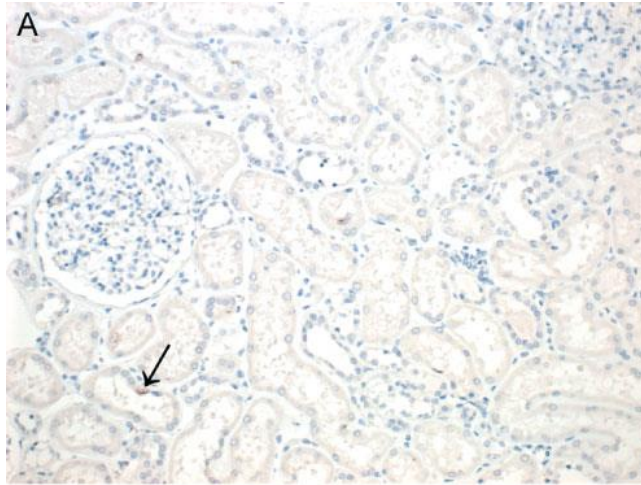
Retinol-kötő fehérje (RBP, 21 kDa)

- Az A-vitamin transzportja a májból egyéb szövetekbe
- Glomeruláris filtráció, tubuláris abszorpció
- A vizeletben pH<6 esetén stabilabb a β 2M-nál, tubuláris károsodásban korábban jelez, mint a NAG
- Nehézfém-okozta vagy cyclosporin által indukált vesekárosodásban érzékeny marker

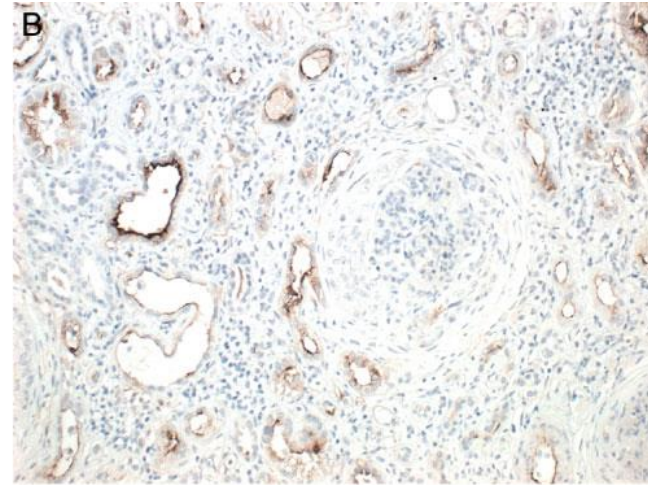
KIM-1 (I típusú sejtmembrán glycoprotein)

- Kidney Injury Molecule-1
- Proximális tubuluskárosodásban minden eddigi hagyományos paraméternél és a tubuláris enzimnél korábban jelez: AUC-ROC : 0,99 (gold st: hisztopatológiai vizsg.)
- Kiemelkedő sens. és spec. értékek ! (Dieterle et al.: 2007. Toxicologist 96:383 abstr.)
- Tubulo-intersticiális károsodásokban, gyulladásokban,
- glomeruláris exkréciója nem jellemző

KIM-1 jelenléte tubularis epithelsejtekben humán vesebetegségben (immunhisztokémia)

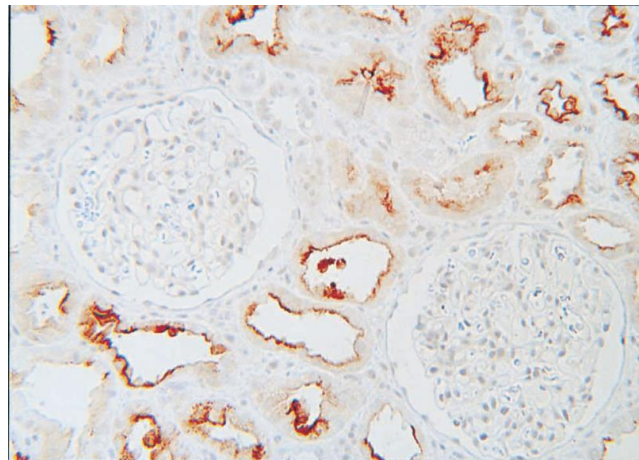


normál vesezövet



glomerulonephritis

akut
tubuláris
nekrózis



Timmeren et al.: *J Pathol* 2007;
212: 209–217

Han et al.: *Kidney International*,
2002.Vol. 62 : 237–244

Kutatás alatt álló, celluláris folyamatokban szerepet játszó markerek

FABP (zsírsav-kötő fehérje)

- L(liver)típus a proximális tubulusokban, H(heart)-típus a distalis tubulusokban
- Krónikus vesebetegségben, diabetikus nephropathia, IgA nephropathia, kontrasztanyag okozta nephropathia

CLUSTERIN (glycoprotein)

- a károsodás utáni *dedifferenciálódó* tubuláris sejtek felszínén termelődik, lehetséges jelzőszerep polycystás vesebetegségek, vesesejt-karcinómák esetén

OSTEOPONTIN

- Savas tulajdonságú glycoprotein, integrinek, I típusú kollagén, fibronectin kötésére alkalmas molekula
- Kemoatraktáns, amely a monocyták szöveti infiltrációjában játszik szerepet
- [*akut interstitialis nephritis*](#), *interstitialis fibrosis kialakulása*
- Részvétel a gyulladáshoz vezető reakciókban, ahol az oxigén szabadgyökök és lysoszómális enzimek felszabadulása a tubulusok szöveti károsodásához (fibrosis) vezet

Vizeletben ürülő tubularis enzimek

- Proximalis tubulus sejtek károsodásának vagy diszfunkciójának markerei
- Forrásaik: lysosomák, tubulusok köbhámsejtjeinek kefeszegély membránja, tubulus sejtek citoplasmája
- Vizsgálati eredmények igazolják az enzimek aktivitás emelkedését **már enyhe tubuláris károsodásban,**
- Jelentősége az **akut veseelégtelenség kialakulási kockázatának megítélésében**
- **Krónikus glomeruláris károsodásban** emelkedett értékek (specifitás ATN vonatkozásában?)

NAG, mint tubuláris enzim

- ***N-acetyl- β -D-glucosaminidase (hexóزامинидáz)***
- izoenzimjei:
 - „A” forma (savas), „B” forma (bázikus)
 - előfordulása: máj, vese, lép: mindkét forma
szérumban: főleg az A forma
terhes nők széruma: P-forma
 - az A (savas) izoenzim jelenléte egyes esetekben
diagnosztikus értékű lehet

Neutrophil gelatináz-asszociált lipokalin NGAL

- Eredetileg az ***aktivált neutrophil fehérvérsejtek specifikus granulumaiban*** fedezték fel gelatinázhoz kötött formában
- Ms: 25 kD, a tubularis epithelsejtek felépítésében vesz részt (***növekedési és differenciálódási faktor***), elősegíti az epithelsejtek normális proliferációját (egyéb szövetekben is !)
- ***Ischemiás vesekárosodásban*** az NGAL ***gén expressziója a 10- szeresére fokozódott***. A vizeletben ürülő kis molekulású fehérjemolekulák egyike, transzport funkciót is betölt
- Egyes vizsgálatok szerint ***tubularis károsodásban koncentrációemelkedése megelőzi a tubuláris enzimek emelkedését***



Urine biochemistry in septic and non-septic acute kidney injury: a prospective observational study^{☆,☆☆}

Sean M. Bagshaw MD, MSc^{a,b,*}, Michael Bennett PhD^c,
Prasad Devarajan MD^c, Rinaldo Bellomo MD^b

^a*Division of Critical Care Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, University of Alberta, 3C1.12 Walter C Mackenzie Center, 8440–112 ST NW, Edmonton, Alberta, T6G 2B7, Canada*

^b*Department of Intensive Care, Austin Hospital, Heidelberg, Victoria, 3084 Australia*

^c*Department of Pediatrics, Division of Nephrology, Cincinnati Children's Hospital, Cincinnati, 45229, USA*

Akut vesekárosodás (AKI)

- Súlyos betegségek gyakori szövődménye
- Befolyásolja a mortalitást, a vese regenerációját, erőforrások felhasználását
- A szepszis hajlamosító tényező
- Szeptikus betegek rosszabb prognózisa
- Vizsgálati eredmények alapján jelentős patofiziológiai különbség feltételezhető a szeptikus és a hagyományos iszkémiás/toxikus hatásra bekövetkező AKI állapotok között
- A szeptikus /nem szeptikus AKI elkülönítése
 - Jelentős klinikai relevanciája
 - Prognosztikai jelentősége lehet

AKI diagnóza

- Tradicionális laboratóriumi paraméterek
 - seKreatinin
 - Vizelet kiválasztás
- Alapjául szolgálnak a betegség konszenzusos meghatározásainak, klasszifikációnak
- KDIGO Clinical Practice Guideline (RIFLE+AKIN)
 - *Kidney Disease, Improving Global Outcomes*
- Vizelet paraméterek és származtatott értékei
 - uNa, FENa, FEUrea, NGAL

AKI kategóriák

- Pre-renal azotaemia
 - $\text{UNa} < 20 \text{ mmol/L}$
 - $\text{FENa} < 1\%$
 - $\text{FEUrea} < 35\%$
- Akut tubularis necrosis
 - $\text{UNa} > 40 \text{ mmol/L}$
 - $\text{FENa} > 2\%$
 - $\text{FEUrea} > 35 \%$

A vizsgálat tárgya

- A vizelet biokémiai paramétereinek vizsgálata szeptikus és nem-szeptikus akut vesekárosodásban
- A vizelet paraméterek összefüggése a vesekárosodás NGAL markerével
- A paraméterek összefüggése az AKI állapot romlással
- Összefüggés a vesepótló terápia alkalmazásával és a kórházi mortalitással

Prospektív követéses csoportvizsgálat

- STROBE guideline alapján (*Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*)
- Beválasztás szempontjai:
 - 18 évnél idősebb súlyos betegek
 - Korai AKI állapot (RISK) a RIFLE kategóriák alapján (Risk, Injury, Failure, Loss, End-Stage)
 - Szepszis jelenléte/hiánya (kontroll csoport)
- Kizárás szempontjai
 - Korábbi vesetranszplantáció, $GFR < 15 \text{ ml/min m}^2$
 - Igazolt/vélt akut glom.nephritis, korábbi vesepótló terápia (RRT), akut intersticiális nephritis

Meghatározások

- AKI : RIFLE kategorizálás seKreat és vizelet kiválasztás alapján,
- „korai” AKI: a felvétel utáni 48 órán belül
- eGFR: MDRD képlet
- Szepszis állapota: konszenzusos guideline (*International Sepsis Definitions Conference*)
- Betegség súlyossági foka: APACHE II score
- Szervi diszfunkció/ elégtelenség: SOFA score (*Sequential Organ Failure Assesment*)

Meghatározások

- Vasoaktív terápia : vasopresszor, inotrop hatóanyag alkalmazása
- Shock: átlagos artériás vérnyomás < 60 Hgmm
 - Vasoaktív támogatás
 - Laktát(plazma) ≥ 4 mmol/L
 - Oliguria: < 400 ml/ 24h
- Romló AKI (RIFLE kategóriák alapján):
 - Risk \rightarrow Injury,
 - Risk \rightarrow Failure,
 - Injury \rightarrow Failure
 - Vesepótló terápia kezdeményezése

Table 1 Summary of baseline characteristics

Characteristic	Septic (n = 43)	Non-septic (n = 40)	<i>P</i>
Age (y) (mean [SD])	67.9 (16.3)	60.6 (16.3)	.04
Male sex (n, %)	23 (53.5)	27 (67.5)	.26
Weight (kg) [mean (SD)]	71.2 (15.4)	81.1 (17.8)	.01
Charlson Comorbidity Score (mean [SD])	4.1 (3.0)	2.4 (2.2)	.005
Cardiac disease (%)	41.9	55	.28
COPD (%)	27.9	12.5	.11
Diabetes mellitus (%)	20.9	25.0	.80
Liver Disease (%)	11.6	17.5	.54
Surgical admission (n, %)	22 (51.2)	26 (65.0)	.27
Cardiac surgery (n, %)	2 (9.1)	18 (69.2)	<.001
Emergency surgery (n, %)	19 (86.4)	4 (15.4)	<.001
APACHE II Score (mean [SD])	23.5 (5.4)	19.2 (8.9)	.008
SOFA Score (mean [SD])	8.2 (3.1)	6.3 (3.4)	.008
Mechanical ventilation (n, %)	26 (60.5)	33 (82.5)	.03
Vasoactive therapy (n, %)	34 (79.1)	25 (62.5)	.15
Shock (n, %)	38 (88.4)	30 (75.0)	.16

Table 2 Details of kidney function and outcomes

Parameter	Septic (n = 43)	Non-septic (n = 40)	<i>P</i>
Baseline kidney function:			
Serum creatinine ($\mu\text{mol/L}$) [med (IQR)]	75 (65-85)	76 (68-90)	.73
Serum urea (mmol/L) [mean (SD)]	5.6 (2.8)	5.8 (2.3)	.75
eGFR (mL/min per 1.73m ²) [mean (SD)]	87.9 (27.0)	92.5 (34.4)	.50
eGFR <60 mL/min per 1.73m ² (n, %)	3 (7.0)	6 (15.0)	.30
Enrolment kidney function:			
Serum creatinine ($\mu\text{mol/L}$) [mean (SD)]	155 (94)	146 (146)	.71
Serum urea (mmol/L) [mean (SD)]	12.2 (7.1)	10.1 (8.5)	.25
RIFLE category at enrolment:			
Risk (n)	26 (60.5)	30 (75.0)	.43
Injury (n)	10 (23.3)	6 (15.0)	
Failure (n)	7 (16.3)	4 (10.0)	
Urine Output (mL/h) (median [IQR]) [¶]	63 (46–132)	69 (44–145)	.74
Oliguria/anuria (n, %) [§]	5 (12.2)	7 (19.4)	.53

Table 2 Details of kidney function and outcomes

Parameter	Septic (n = 43)	Non-septic (n = 40)	<i>P</i>
Nephrotoxin (n, %)*	24 (55.8)	29 (72.5)	.17
Radiocontrast media (n, %)	12 (27.9)	11 (27.5)	1.0
Aminoglycosides (n, %)	16 (37.2)	4 (10.0)	.005
Cardiopulmonary bypass (n, %)	2 (9.1)	18 (69.2)	<.001
Rhabdomyolysis (n, %)	1 (2.3)	7 (17.5)	.03
Amphotericin (n, %)	1 (2.3)	1 (2.5)	1.0
Other drugs (n, %)	0 (0)	2 (2.5)	.34
Loop diuretics (n, %)	29 (67.4)	21 (52.5)	.19
Worsened AKI (n, %)	11 (25.6)	9 (22.5)	.80
Renal replacement therapy (n, %) [♠]	5 (12.5)	8 (18.6)	.55
ICU Length of stay (median [IQR])	6 (2–11)	2 (2–4.5)	<.001
ICU Death (n, %)	14 (32.6)	4 (10.0)	.02
Hospital length of stay (median [IQR])	17 (10–30)	9 (7–18)	.003
Hospital death (n, %)	19 (44.2)	6 (15.0)	.004

FeNa = fractional excretion of sodium; FeU = fractional excretion of urea.

[¶] Urine output average over 6 hours prior to study enrollment.

[§] Oliguria defined as <400 mL urine output in 24 hrs prior to enrollment.

[♠] Continuous RRT was the initial modality received by all patients.

* Nephrotoxin exposure: rhabdomyolysis was defined as a serum creatine kinase >1500 U/L; other drugs included tacrolimus and acyclovir.

Table 1. Charlson Comorbidity Index Scoring System

Score	Condition
1	Myocardial infarction (history, not ECG changes only) Congestive heart failure Peripheral vascular disease (includes aortic aneurysm ≥ 6 cm) Cerebrovascular disease: CVA with mild or no residua or TIA Dementia Chronic pulmonary disease Connective tissue disease Peptic ulcer disease Mild liver disease (without portal hypertension, includes chronic hepatitis) Diabetes without end-organ damage (excludes diet-controlled alone)
2	Hemiplegia Moderate or severe renal disease Diabetes with end-organ damage (retinopathy, neuropathy, nephropathy, or brittle diabetes) Tumor without metastases (exclude if >5 y from diagnosis) Leukemia (acute or chronic) Lymphoma
3	Moderate or severe liver disease
6	Metastatic solid tumor AIDS (not just HIV positive)

NOTE. For each decade > 40 years of age, a score of 1 is added to the above score.

Abbreviations: ECG, electrocardiogram; CVA, cerebrovascular accident; TIA, transient ischemic attack; AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; HIV, human immunodeficiency virus.

Table 3 Summary of enrolment urine biochemistry and derived indices

Parameter	Septic (n = 43)	Non-septic (n = 40)	<i>P</i>
UNa (mmol/L) (median [IQR])	43 (15-85)	57 (25-112)	.04
UNa <20 mmol/L (n, %)	13 (30.2)	8 (20.0)	.32
UNa 20-40 mmol/L (n, %)	6 (13.9)	6 (15.0)	1.0
UNa >40 mmol/L (n, %)	24 (55.8)	26 (65.0)	.50
FeNa (%) (median [IQR])	0.93 (0.13-2.20)	0.72 (0.28-2.89)	.85
FeNa <0.5% (n, %)	17 (39.5)	17 (42.5)	.83
FeNa 0.5%-1% (n, %)	7 (16.3)	6 (15.0)	1.0
FeNa 1%-2% (n, %)	8 (18.6)	4 (10.0)	.35
FeNa >2% (n, %)	11 (25.6)	13 (32.5)	.63
FeU (%) (median [IQR])	38.7 (27.2-49.3)	42.0 (31.1-51.3)	.44
FeU <35% (n, %)	16 (37.2)	12 (30.0)	.64
FeU 35%-50% (n, %)	17 (39.5)	18 (45.0)	.66
FeU >50% (n, %)	10 (23.3)	10 (25.0)	1.0
Urine specific gravity (mean [SD])	1.015 (0.01)	1.014 (0.01)	.48
Urine pH (mean [SD])	5.16 (0.6)	5.58 (0.9)	.02
Urine NGAL (ng/mg) (median [IQR])	203.6 (33.3-719.6)	39.0 (13.9-201.9)	.004
Plasma NGAL (ng/mL) (median [IQR])	292.8 (154.0-557.6)	166.2 (91.8-252.3)	.02

FeNa (Frakcionált Na ürítés : $(uNa/seNa)/(uKreat/seKreat) \times 100$

FeU (Frakcionált karbamid ürítés: $(uKarbamid/seKarbamid)/(uKreat/seKreat) \times 100$

Összegzés

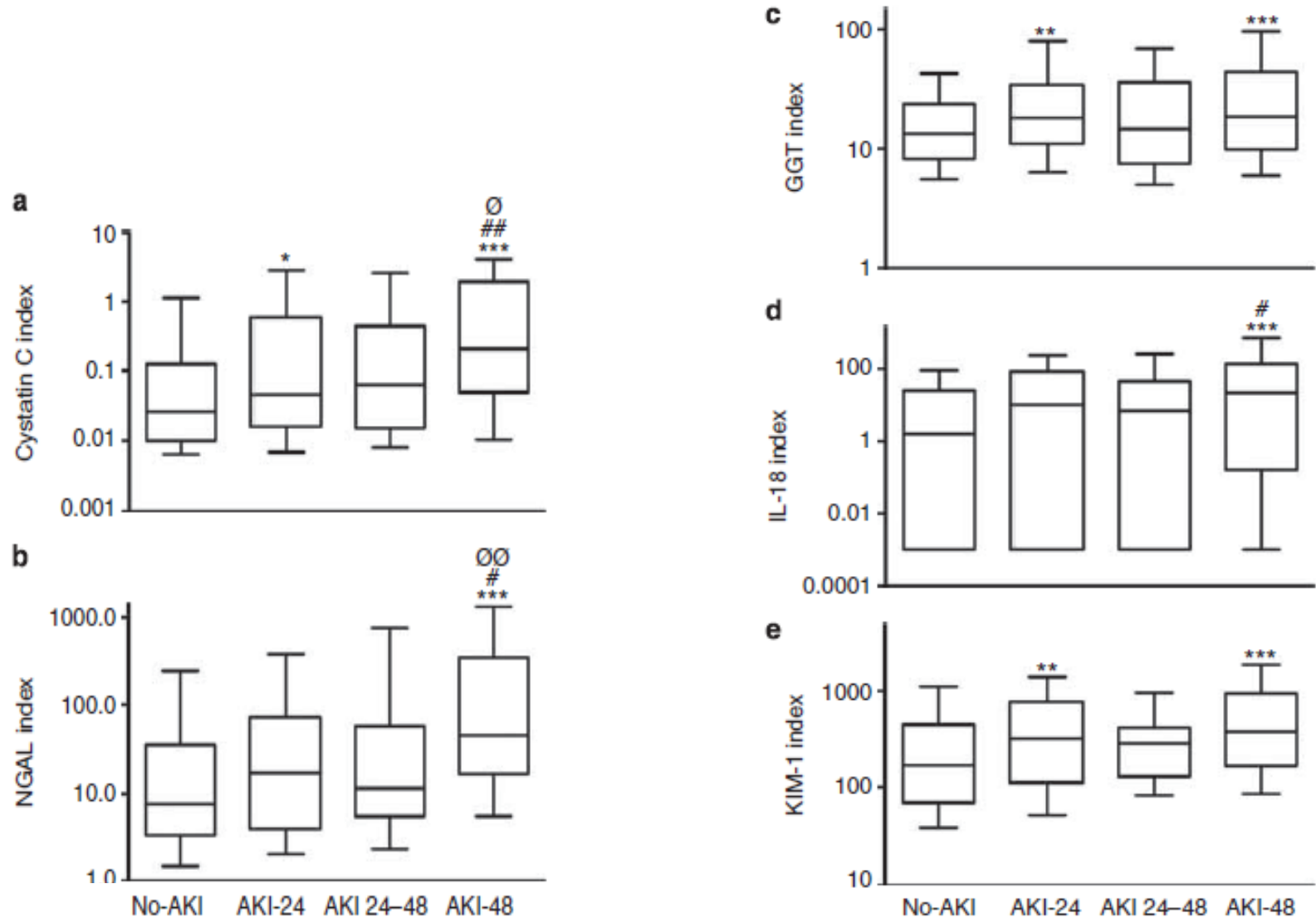
- Vizelet paraméterek diagnosztikai értékének vizsgálata a szeptikus és nem-szeptikus akut vesekárosodás elkülönítésében
- összefüggés keresése az AKI súlyosbodásával, a szükséges veseótló terápia alkalmazásával, és a kórházi mortalitások számával kapcsolatban
- A vizsgálatok nem igazolták a uNa, FENa és a FEurea paraméterek diagnosztikus prediktív/prognosztikus értékét a fenti körülményekkel összefüggésben
- Mikroszkóposan igazolt tubuláris károsodásban szenvedők 50%-ban a FENa < 1 % tévesen jelez pre-renális azotaemiát
- A uNGAL ($P=0,004$) és a pINGAL ($P=0,02$) esetében sikerült szignifikáns eltérést igazolni a szeptikus illetve a nem-szeptikus vesekárosodott betegek mintáiból mért értékek között

Some biomarkers of acute kidney injury are increased in pre-renal acute injury

Maryam Nejat¹, John W. Pickering¹, Prasad Devarajan², Joseph V. Bonventre³, Charles L. Edelstein⁴, Robert J. Walker⁵ and Zoltán H. Endre^{1,6}

¹Christchurch Kidney Research Group, Department of Medicine, University of Otago, Christchurch, New Zealand; ²Department of Nephrology and Hypertension, Cincinnati Children's Hospital Medical Centre, Cincinnati, Ohio, USA; ³Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA; ⁴Division of Renal Diseases and Hypertension, University of Colorado, Denver, Colorado, USA; ⁵Department of Medicine and Surgery, University of Otago, Dunedin, New Zealand and ⁶Department of Nephrology, Prince of Wales Clinical School, University of New South Wales, Sydney, New South Wales, Australia

Az egyes betegcsoportokban mért vizelet paraméterek átlagértékei közötti különbség az AKI időtartamának függvényében



A pre-renal AKI betegcsoport elkülönítése a vizeletparaméterek átlagértékei közötti különbség alapján

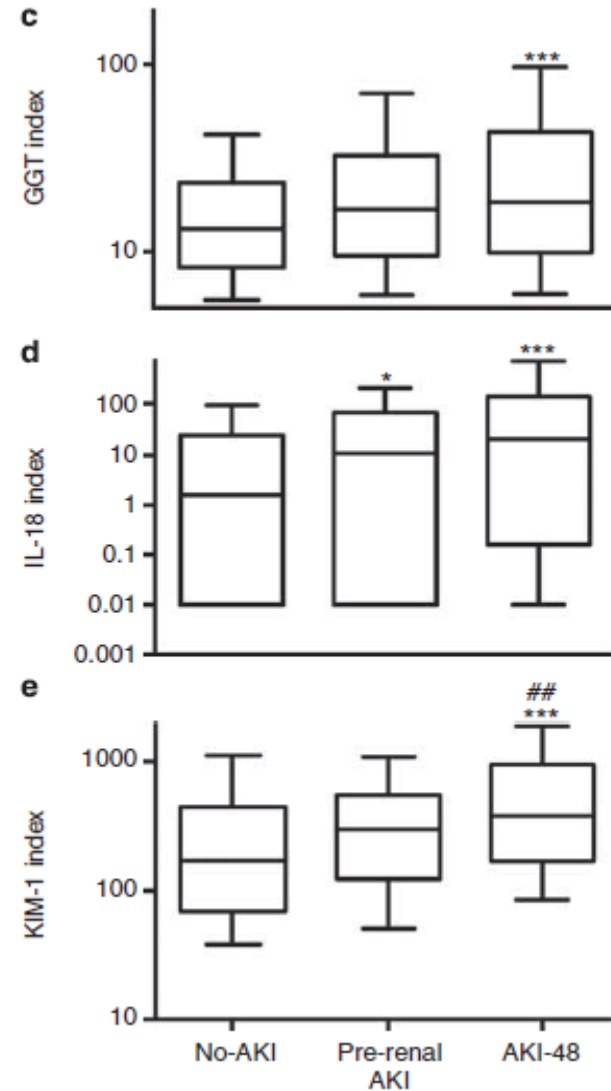
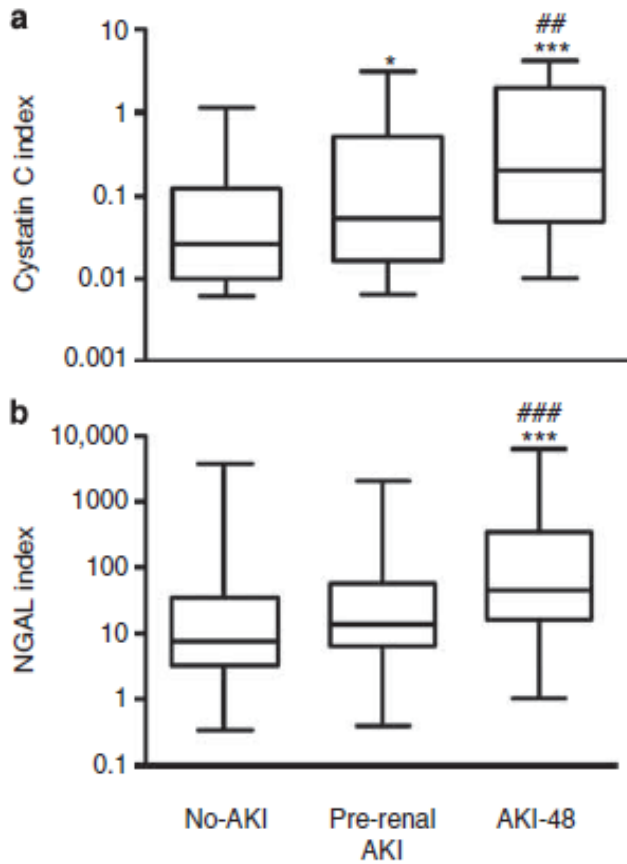


Table 2 | Urinary biomarker concentrations^a

Biomarker	No-AKI (<i>n</i> =285) ^b	Pre-renal AKI (<i>n</i> =61) ^c	Pre-renal AKI vs. no-AKI		AKI 48 vs. no-AKI		AKI 48 vs. pre-renal AKI	
			<i>P</i> -value	AKI 48 (<i>n</i> =114) ^d	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value	Test for trend <i>P</i> -value (ANOVA) ^e	
CysC, median (IQR) mg/mmolCr	0.026 (0.010–0.12)	0.054 (0.017–0.53)	0.017	0.21 (0.05–1.9)	<0.001	0.0097	<0.001	
NGAL, median (IQR) µg/mmolCr	7.7 (3.3–35)	14 (6.5–56)	0.052	44 (16–345)	<0.001	<0.001	<0.001	
GGT, median (IQR) U/mmolCr	13 (8.2–24)	17 (9.6–33)	0.097	18.5 (9.9–45)	<0.001	0.25	<0.01	
IL-18, median (IQR) ng/mmolCr	1.6 (0.001–25)	10.9 (0.001–66)	0.017	22 (0.16–137)	<0.001	0.053	<0.001	
KIM-1, median (IQR) µg/mmolCr	170 (69–445)	297 (121–549)	0.028	376 (169–943)	<0.001	0.034	<0.001	

Abbreviations: AKI, acute kidney injury; CysC, cystatin C; GGT, γ -glutamyl transpeptidase; IL, interleukin; IQR, interquartile range; KIM, kidney injury molecule; NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

^aBiomarker concentrations shown are the median (IQR) of the maximum concentration indexed to creatinine within 24 h of admission.

^bFor all biomarkers except NGAL: *n*=280.

^cFor all biomarkers except NGAL: *n*=57.

^dFor all biomarkers except NGAL: *n*=103.

^eAfter adjustment for age, sex, APACHE II score, and estimated baseline glomerular filtration rate and sepsis.

Significance is vs. no-AKI in each case.

Összegzés

- A paraméterek értékei az AKI időtartamával arányosan növekedtek
- A „no-AKI” csoporttal összevetve a „pre-renal AKI” csoport betegeinél a CysC, IL-18, KIM-1 vizeletben mért értékei szignifikánsan magasabbak
- Kísérletes körülmények között a biomarkerek emelkedése arányos a szöveti károsodás mértékével (*Ozer et al., Nat Biotechnol 2010; 28:486-494*)
 - Jelen vizsgálatban biopsziás vizsgálatok nem történtek
- Az átmeneti, ill.pre-renális AKI esetén a biomarkerek emelkedése enyhébb fokú, a funkciózavar reverzibilis
- A tubuláris károsodás mértéke is megítélhető (mikroszkóp!)
- A biomarkerek emelkedésének mértéke fordított arányú a tubuláris funkció „megtartottságával”
- Az akut vesekárosodás kategóriáinak megállapítása a jövőben :
 - A károsodás mértékének megítélése (biomarkerek koncentrációváltozásai)
 - a glomeruláris funkció változásának mértéke és tartama
 - A Na reabszorpció (egyéb tubuláris funkció) megtartottsága