

# Močový cystatin C jako časný biomarker akutního poškození ledvin při kardiovaskulární chirurgii

*Koyner JL, Bennett MR, Worchester EM, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. Kidney Int 2008,74:1059–1069.*

V posledním údobí se zintenzivnily snahy o časnou detekci poškození funkce ledvin ještě před rozvojem akutního selhání ledvin. Významně k tomu přispěla nová klasifikace RIFLE vytvořená nefrology spolu s intenzivisty kladoucí důraz na časná stadia počínajícího poškození. Spolu s tím se hledají biomarkery, které by časnou diagnózu a na ni navazující léčebná opatření umožnily. Ideální biomarker či set biomarkerů umožňuje časnou identifikaci, ohodnocení tíže rizika a přispívá k diagnostické klasifikaci příčiny.

Autoři se ve své studii zabývají stanovením cystatinu C v moči u nemocných s akutním poškozením ledvin (AKI) následujícím po výkonech kardiovaskulární chirurgie s cílem snížit morbiditu a event. mortalitu této pooperační komplikace. Akutní poškození ledvin je častou komplikací a v současně podobě definice AKI (RIFLE klasifikace) se může vyskytovat až u 40 % nemocných, z nichž 1–5 % vyžaduje náhradu funkce ledvin (RRT), nejčastěji hemodialýzu či užití kontinuálních metod. Rychlý vzestup sérové koncentrace kreatininu v pooperačním období bývá spojen

s těžkým průběhem AKI většinou ve formě akutního selhání ledvin s výrazně zvýšenou mortalitou. To se týká především starších a komplikovaných nemocných. Nicméně četné studie ukazují, že sérový kreatinin (dosud bráný jako zlatý standard pro stanovení AKI) je v těchto případech opožděným markerem zjištěným již v době výrazného poškození renálního parenchymu. Z řady nových biomarkerů (KIM-1, interleukin-18, cystatin C, NGAL) si autoři pro sledování vybrali dva posledně uvedené s tím, že stanovení bylo provedeno v plazmě i moči.

Pro zařazení do studie bylo vyšetřeno celkem 262 nemocných, z nichž 162 bylo následně vyřazeno z důvodu nesplnění vstupních kritérií a 49 nemocných nedalo informovaný souhlas. Ze zbylých 81 nemocných souhlasících se zařazením vyplnilo 73 nemocných celý protokol, jeden nemocný zemřel přímo na operačním sále a byl vyřazen.

Autoři studie se rozhodli sledovat ve skupině 72 nemocných, kteří podstoupili elektivní kardiovaskulární výkon, NGAL (neutrophil gelatinase associated lipocalin) a cystatin C (CyC) v plazmě a moči. Akutní poškození ledvin bylo definováno jako zvýšení plazmatického kreatininu o  $\geq 25\%$  či nutnost náhrady funkce ledvin v prvních 72 hodinách po chirurgickém výkonu. Celkem u 34 (47,2 %) nemocných se vyvinulo pooperační AKI (primární sledovaný parametr studie).

Plazmatické hodnoty NGAL a CyC nebyly schopny detekovat AKI v prvních šesti hodinách po výkonu. Naproti tomu, močové koncentrace NGAL a CyC byly časně zvýšeny u 34 nemocných, u nichž se následně vyvinulo AKI ve srovnání s nemocnými bez rozvoje AKI. Močové hodnoty NGAL v čase přijetí na jednotku intenzivní péče (JIP) a močový CyC 6 hodin po přijetí na JIP poskytovaly validní údaje pro predikci AKI. Nejpresnější odhad AKI bylo možné na základě těchto vyšetření učinit již za šest hodin po kardiovaskulárním výkonu. Z toho lze uzavřít, že stanovení močových koncentrací (především dostupnějšího CyC) může významně urychlit diagnózu a přispět k časným léčebným opatřením.

U všech nemocných byly též změřeny koncentrace a odpady sodíku a močoviny v moči a vypočítány frakční exkrece. Za hodnoty glomerulární filtrace (GF) byly dosaženy hodnoty vypočtené dle MDRD, což však není přesné měření GF v situaci akutního poškození či selhání ledvin. Při statistickém hodnocení hodnot frakční exkrece Na byl zjištěn v časném pooperačním období pouze hraniční rozdíl mezi skupinou s rozvíjejícím se AKI a bez něho. Při hodnocení frakční exkrece močoviny, a to jak v krátkodobém, tak i střednědobém období, nebyl rozdíl významný.

Velmi dobrá korelace byla prokázána při vzájemném hodnocení plazmatických a močových koncentrací NGAL a CyC.

Při analýze hodnocení výsledků je zřejmé, že plazmatická hodnota CyC je vyjádřením hodnoty glomerulární filtrace, zatímco močová koncentrace svědčí pro závažné poškození buněk proximálního tubulu ledviny. Plazmatická koncentrace cystatinu je více prediktorem pozdějšího poškození než nález cystatinu C v moči, který je bezprostřední známkou tubulární léze. Je však známo, že plazmatický CyC se zvyšuje u nemocných s AKI jeden až dva dny před zvýšením plazmatického kreatininu. Tento fenomén je vysvětlen i kratším poločasem eliminace CyC. Na druhé straně bylo ukázáno, že koncentraci CyC mohou ovlivnit nezávisle na úrovni GF též poruchy tyreoidálních funkcí, podávání kortikoidů a známky zánětu. Otevřenou otázkou je též vliv tělesné hmotnosti a změn svalové hmoty.

NGAL o m. hm. 25 kDa jako člen lipokalinové rodiny je významně up-regulován v ischemické myši a krysí ledvině. Také hodnoty NGAL jsou zvýšeny v plazmě a moči dříve, než se zvýší hodnoty kreatininu u nemocných po transplantaci ledviny a perkutánní

koronární intervenci. Mishra et al prokazovali u dětí již dvě hodiny po kardiovýkonu zvýšené hodnoty NGAL v plazmě i moči předcházející následně zvýšení kreatininu. Zvýšení však nebylo přítomno u dětí bez AKI. Analogicky Wagener et al prokázali časný výskyt NGAL v moči u dospělých po kardiovaskulárních výkonech, u nichž se následně objevilo AKI.

Studie má pochopitelně své limity. Jsou uvedeny výsledky studie jednoho centra o limitovaném počtu pacientů. Hodnota GF nebyla stanovena přímo se stanovením sběru moči, ale výpočtově (MDRD, CyC). Akutní poškození ledvin bylo definováno zvýšením  $S_{kr}$  o 25 % během 72 hodin po kardiovýkonu, zatímco předchozí srovnávací studie udávaly zvýšení o 50 %.

Studie však ukázala, že zvýšené koncentrace močového CyC lze užít jako časný biomarker AKI u dospělých a že zvýšení předcházelo elevaci kreatininu v plazmě. Podobně prediktivní význam mělo stanovení močového NGAL.

## ■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

*V současné klinické praxi se diagnóza akutního poškození ledvin dosud nejčastěji stanovuje měřením sérové koncentrace kreatininu. Při akutních změnách funkce ledvin však není hodnota kreatininu spolehlivým ukazatelem. Za prvé, koncentrace kreatininu v séru může kolísat v širokém rozmezí v závislosti na věku, pohlaví, svalové hmotě, metabolismu svalů, užívaných lécích a na stavu hydratace. Za druhé, při akutních změnách glomerulární filtrace neodráží koncentrace kreatininu v séru – až do dosažení ustáleného stavu – přesně funkci ledvin. To může trvat i několik dní. Studie u zvířat přitom prokázaly, že rozvoji AKI lze často zabránit nebo jej lze léčit, je však třeba zasáhnout velmi časně po vyvolávajícím podnětu, dlouho předtím, než se vůbec začne koncentrace kreatininu v séru zvyšovat.*

*Intenzivní výzkum v této oblasti byl vyvolán snahou zlepšit časnou diagnostiku AKI. Klasické biomarkery v moči, jako jsou vále a frakční exkrece sodíku, nejsou dostatečně citlivé a jsou také nespecifické pro časné rozpoznání AKI. Jiné tradiční biomarkery v moči, například filtrované vysokomolekulární bílkoviny a bílkoviny nebo enzymy v tubulech, také plně nevyhovují pro nízkou specificitu a vysokou cenu standardizovaných metod stanovení.*

*Nejperspektivnější časné biomarkery AKI jsou:*

### **a) Neutrofilní lipokalin asociovaný s gelatinázou (NGAL)**

*Pomocí mikročipové analýzy byl ve zvířecích modelech identifikován neutrofilní lipokalin asociovaný s gelatinázou (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) jako jeden z nejčasněji indukovaných genů a proteinů v ledvinách po ischemickém nebo nefrotoxickém poškození. Protein NGAL se krátce po AKI snadno zjišťoval v krvi a v moči. V průřezové studii vykazovali dospělí s prokázaným AKI (definovaným jako zdvojnásobení sérové koncentrace kreatininu v období kratším než pět dnů) více než desetinásobný vzestup sérové koncentrace NGAL a více než stonásobný vzestup koncentrace NGAL v moči oproti kontrolním osobám.*

*Protein NGAL byl hodnocen jako biomarker rozvoje AKI i při transplantaci ledvin. Biopsie ledvin provedené jednu hodinu po anastomóze cév vykazovaly statisticky významnou korelaci mezi intenzitou barvení NGAL a opožděným rozvojem funkce štěpu. V prospektivní multicentrické studii koncentrace NGAL ve vzorcích moči získaných v den transplantace odhalily příjemce kava-verózních ledvin, u nichž následně došlo k opožděnému rozvoji funkce štěpu a kteří potřebovali dialýzu (což se pravidelně stávalo o dva až čtyři dny později).*

V multicentrické studii hemolyticko-uremického syndromu spojeného s průjmem bylo zjištěno, že pomocí koncentrace NGAL v moči lze předpovídat i závažnost AKI a nutnost zahájení dialyzační léčby. Přibývá i důkazů z prospektivních studií, které naznačují, že koncentrace NGAL v plazmě a v moči jsou prediktivním biomarkerem rozvoje AKI po podání kontrastní látky. A konečně, pomocí koncentrace NGAL v moči bylo možné předpovědět rozvoj a závažnost AKI v heterogenní prospektivně hodnocené skupině kriticky nemocných pacientů s poškozením ledvin neznámé doby trvání.

Celkově byla tedy koncentrace NGAL prokázána jako senzitivní a specifický biomarker akutního poškození ledvin různé etiologie, který je obrovským příslibem pro včasnou diagnostiku. Je však zároveň známo, že stanovení koncentrace NGAL může být ovlivněno již přítomným onemocněním ledvin a systémovou infekcí nebo infekcí močových cest. Velmi slibné cílené standardizované metody stanovení koncentrace NGAL v současné době procházejí rozsáhlými klinickými zkouškami.

### b) Cystatin C

Cystatin C je inhibitor cysteinové proteázy, který je tvořen a vylučován do krve pravidelně všemi jadernými buňkami. Volně prochází glomeruly, je plně zpětně vstřebáván proximálním tubulem a není secernován. Zjistilo se, že vylučování cystatinu C do moči předpovídá nutnost zahájení náhrady funkce ledvin (renal replacement therapy, RRT) u pacientů s prokázaným AKI již minimálně o den dříve, s hodnotou AUC = 0,75. V podmínkách intenzivní péče 50% zvýšení sérové koncentrace cystatinu C předpovědělo rozvoj AKI o jeden den (AUC = 0,97) a o dva dny (AUC = 0,82) dříve, než došlo k vzestupu sérové koncentrace kreatininu. V již dříve publikované studii se však sérová koncentrace cystatinu C neprokázala jako spolehlivější v časně diagnostice AKI v porovnání se sérovou koncentrací kreatininu a pomocí koncentrace cystatinu C nebylo možné předpovědět výsledný klinický stav.

Cystatin C by tedy mohl být slibným kandidátem pro zařazení do sérového „panelu“ pro stanovení AKI. V první řadě jde o citlivý ukazatel poklesu glomerulární filtrace. Močové vylučování cystatinu C je pak ukazatelem vlastního poškození ledvin. Výhodou cystatinu C je komerční dostupnost standardizovaných imunonefelometrických metod jeho stanovení.

### c) Molekula poškození ledvin 1 (KIM-1)

Molekula poškození ledvin 1 (kidney injury molecule-1, KIM-1) je transmembránový protein, který není přítomen ve zdravé ledvině, nicméně je exprimován v dediferencovaných buňkách proximálního tubulu po ischemickém nebo nefrotoxickém inzultu. Při AKI dochází k jeho zvýšené expresi a v moči lze detekovat jeho proteolyticky zkrácenou doménu. V průřezové studii bylo při biopsiích ledvin zjištěno, že v proximálních tubulech ledvin u pacientů s prokázaným AKI (převážně ischemické etiologie) se výrazně zvýšila tvorba KIM-1 a na základě přítomnosti KIM-1 v moči bylo možné rozlišit ischemické AKI od prerenální formy AKI a chronického onemocnění ledvin.

Nedávno provedená studie zkoumala vztah mezi KIM-1 a souhrnným hodnoceným parametrem (dialýza nebo úmrtí) u hospitalizovaných pacientů. Hodnota AUC pro koncentraci KIM-1 v moči jako prediktoru dosažení souhrnného hodnoceného parametru činila 0,61. Skóre „Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II“ mělo hodnotu AUC = 0,78. Tato hodnota se po přidání KIM-1 k modelu zvýšila na 0,85. Celkově tyto výsledky ukazují, že zvýšená koncentrace KIM-1 v moči je u hospitalizovaných pacientů s AKI spojena se zhoršenou prognózou.

Protein KIM-1 je dalším slibným kandidátem pro zařazení do močového „AKI-panelu“. Jeho výhoda spočívá v tom, že je zřejmě specifičtější pro ischemické poškození ledvin a není významně ovlivněn chronickým onemocněním ledvin nebo infekcí močových cest. Může být proto důležitým biomarkerem pro rozlišení mezi jednotlivými podtypy AKI.

### d) Interleukin 18

Interleukin (IL) 18 je prozánětlivý cytokin, který se po akutním poškození ledvin začíná uvolňovat v proximálním tubulu a jeho štěpný produkt se vylučuje do moči. V myším modelu byla koncentrace IL-18 v moči zvýšena při ischemickém AKI. V průřezové studii u lidí byla koncentrace IL-18 v moči výrazně zvýšena u pacientů s prokázaným AKI, ne však u jedinců s infekcí močových cest, s chronickým onemocněním ledvin, s nefrotickým syndromem nebo se selháním ledvin prerenální etiologie.

V prospektivní multicentrické studii koncentrace IL-18 ve vzorcích moči odebraných v den transplantace umožnila rozpoznat příjemce kadaverózních ledvin, u nichž byl následně opožděn rozvoj funkce štěpu a kteří potřebovali dialyzační léčbu (zpravidla za dva až čtyři dny). Křivka operační charakteristiky pro předpověď opožděného rozvoje funkce štěpu na základě koncentrace IL-18 v moči v den 0 vykazovala v obou studiích AUC = 0,9.

V poslední době se zjistilo, že koncentrace NGAL a IL-18 v moči představují významné biomarkery u dětí podstupujících kardiokirurgické výkony. U pacientů, u nichž došlo k rozvoji AKI dva až tři dny po operaci, se NGAL začal vylučovat do moči do dvou hodin po výkonu, přičemž maximální hodnoty dosáhla jeho koncentrace po šesti hodinách. Koncentrace IL-18 v moči se zvýšila zhruba po šesti hodinách a maxima dosáhla 12 hodin po operaci. Hodnoty obou markerů – koncentrace NGAL i IL-18 – nezávisle korelovaly s trváním AKI.

IL-18 je tedy též slibným kandidátem pro zařazení do teoretického močového „AKI-panelu“. IL-18 je specifičtější pro ischemické akutní poškození ledvin a jiné formy akutní tubulární nekrózy a jeho koncentrace zřejmě ani není ovlivněna prerenální hyperazotémií, chronickým onemocněním ledvin či infekcí močových cest. IL-18 současně nabízí prognostické informace týkající se závažnosti a mortality již v době stanovení diagnózy AKI.

### Literatura

- Coca SG, Yalavarth R, Concato J, et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int* 2008;73:1008–1016.
- Herget-Rosenthal S, Poppen D, Husing J, et al. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chim* 2004;50:522–558.
- Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. NGAL as a biomarker of acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231–1238.
- Wagner G, Jan M, Kim M, et al. Association between increases in urinary NGAL and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006;105:485–491.

## Nové poznatky o tukové tkáni u chronických chorob ledvin

Axelsson J. The emerging biology of adipose tissue in chronic kidney disease: from fat to facts. *Nephrol Dial Transpl* 2008;23:3041–3046.

**Motto: Žádná dieta neodstraní všechny tuk z těla, protože vždy zbudě tuk v mozku. Bez mozku můžete sice dobře vypadat, ale jedině, co můžete dělat, je státní služba.** G. B. Show

**P**řes toto varování (nebo právě kvůli němu) celosvětově roste incidence obezity společně s diabetem 2. typu a hypertenzí. Navíc, metabolický syndrom (i bez hypertenze a diabetu) předsta-