

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

**Brankica B. Spasojević-Dimitrijeva**

**POREĐENJE SUBKLINIČKE  
NEFROTOKSIČNOSTI  
IZAZAVANE GADOLINIJUMOM I JODNIM  
KONTRASTNIM SREDSTVOM  
KOD DECE SA NORMALNOM BUBREŽNOM  
FUNKCIJOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE  
MEDICAL FACULTY

**Brankica B. Spasojević-Dimitrijeva**

**COMPARISON BETWEEN SUBCLINICAL  
NEPHROTOXICITY  
AFTER GADOLINIUM AND IODINATED-  
BASED CONTRAST MEDIA EXPOSURE  
IN CHILDREN WITH NORMAL RENAL  
FUNCTION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

**Podaci o mentoru i članovima komisije:**

**Mentor:** Prof. dr Mirjana Kostić, Univerzitetu Beogradu, Medicinski fakultet

**Članovi komisije:**

1. Prof. dr Biljana Stoimirović, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
2. Prof. dr Jelena Kotur Stevuljević, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet
3. Prof. dr Amira Peco-Antić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, profesor u penziji

**Na početku, želim da se od srca zahvalim:**

- **Mentoru, prof. dr Mirjani Kostić**, na nesebičnoj podršci i pomoći tokom istraživanja, izbora teme i izrade disertacije
- **Prof. dr Jeleni Kotur-Stevuljević**, na izuzetnom entuzijazmu, ličnom određivanju biomarkera i dragocenoj pomoći prilikom statističke obrade podataka
- **Prof. dr Milanu Đukiću**, na kontinuiranoj podršci i pomoći prilikom prikupljanja podataka
- **Prof.dr Amiri Peco-Antić**, na neprocenjivoj podršci mom celokupnom kliničkom i akademskom napretku
- **dr Jadranki Mitrović i dr Biljani Vukmirović**, na njihovoj svesrdnoj pomoći u odrađivanju laboratorijskih analiza
- Mojim kolegama **doktorima, medicinskim sestrama službe nefrologije, kardiologije, radiologije i laborantima službe biohemije** Univerzitetske dečje klinike bez kojih ovog rada ne bi bilo
- **Poštovanim ispitanicima i njihovim roditeljima** koji su uzeli učešće u istraživanju
- **Porodici i prijateljima**, koji su me podržavali u trenucima gubitka optimizma

**Posvećeno Lari, seki, mami i tati**

## POREĐENJE SUBKLINIČKE NEFROTOKSIČNOSTI

### IZAZAVANE GADOLINIJUMOM I JODNIM KONTRASTNIM SREDSTVOM

### KOD DECE SA NORMALNOM BUBREŽNOM FUNKCIJOM

#### SAŽETAK

**Cilj:** Da se utvrdi razliku između gadolinijumskog i jodnog kontrasta u nastanku subkliničkog oštećenja bubrega iskazanog novim biomarkerima (NGAL i KIM). Da se ispita pojava eventualnog kliničkog oštećenja bubrega u populaciji dece sa normalnom bubrežnom funkcijom posle primene gadolinijumskog i jodnog kontrasta kao i mogućnost njenog što ranijeg otkrivanja upotrebom novih biomarkera, serumskog i urinarnog NGAL-a i urinarnog KIM-1. Da se evaluiira eventualni uticaj intravenske hidracije pre i posle primene kontrasta na nastanak bubrežnog oštećenja kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom. Da se razmotri uticaj doze primenjenog kontrasta kao i istovremene primene antihipertenzivne terapije na nastanak bubrežnog oštećenja

**Metodologija:** Naše prospektivno istraživanje je obavljeno kod 123 dece i adolescenata kod kojih su primenjene dve vrste kontrastnih snimanja u periodu od 1. januara 2013 godine do 31 decembra 2015 godine. Prva grupa (n=58) pacijenata sa acijanogenim urođenim srčanim manama je tokom angiografije primala nisko osmolarni, ne-jonski kontrast na bazi joda (iopromide, Ultravist<sup>®</sup> 370). Drugu grupu (n=65) su sačinjavali pacijenti sa suspektnim anomalijama urotrakta, bilo izvodnog sistema, bilo krvnih sudova bubrega kojima je rađena MR angiografija/urografija sa primenom gadolinijumskog kontrasta (gadopentetate dimeglumine, Magnevist<sup>®</sup>). Svakom pacijentu su uzimani uzorci urina pre snimanja (unutar 24h od snimanja, 0h), zatim posle 4, 24 i 48 sati od primenjenog kontrasta. Uzorci seruma su uzimani tri puta: pre snimanja, posle 24 i 48 sati od primenjene kontrastne procedure. Pored standardnih laboratorijskih parametara, u navedenim uzorcima su metodom ELISA određivani i serumski cistatin C, serumski i urinarni NGAL i urinarni KIM-1.

**Rezultati:** Pacijenti koji su primili iopromide (n=58) su imali izraženiji pad eGFR posle 24 h ( $\Delta$ GFR 10,77 (21,24) ml/min/1,73m<sup>2</sup>) u poređenju sa pacijentima koji su kao kontrastno sredstvo primili Gd-DTPA (n=65), ( $\Delta$ GFR 5,93 (21,23) ml/min/1,73m<sup>2</sup>). Za razliku od cistatina C koji se nije menjao kroz vreme u obe grupe kontrasta, u grupi pacijenata koja je primala iopromide, posle 24h od ekspozicije kontrastu, serumski kreatinin je značajnije porastao u odnosu na grupu

koja je primila Gd-DTPA ( $\Delta$ creatinine 6,0 (10,0)  $\mu\text{mol/l}$ ,  $P=0,03$ ;  $\Delta$ creatinine 4,0 (12,0)  $\mu\text{mol/l}$ ,  $P=0,027$ ). Slični nalazi su bili i posle 48h, ali bez statistički značajne razlike među grupama kontrasta. Vrednosti  $FE_{Na}$  i  $FE_K$  su posle 24 časa od primene jednog kontrasta bile statistički značajno niže u odnosu na bazalne, a vrednosti TRP i glikozurije su istovremeno u obe kontrastne grupe beležile tranzitorni porast. Posle 24 sata od primene kontrasta, serumski NGAL je imao veći porast u grupi koja je primala jodni kontrast i ovaj porast je i dostigao statističku značajnost. (iopromide:  $\Delta s\text{NGAL}$  4,3 (16,55) ng/ml,  $P=0,032$ ; Gd-DTPA:  $\Delta s\text{NGAL}$  0,7(16,6) ng/ml,  $P=0,783$ ). U isto vreme, porast serumskog NGAL za  $\geq 25\%$  u odnosu na bazalne vrednosti je zabeležen kod 32,6% ispitanika koji su primili iopromide i kod 25,5% ispitanika koji su primili Gd-DTPA. Srednji porast serumskog NGAL-a u ove dve subgrupe ispitanika je bio 62,23% u grupi koja je dobila jodni kontrast i 36,44% u grupi koja je primila Gd-DTPA ( $p=0,002$ ). Posle 48 sati od primene kontrasta, urinarni KIM-1 je porastao značajnije u grupi koja je primila Gd-DTPA (Gd-DTPA:  $\Delta u\text{KIM-1}$  50,9 (200,7) pg/ml,  $P=0,015$ ; iopromide:  $\Delta u\text{KIM-1}$  34,5 (210,45) pg/ml,  $P=0,23$ ). Međugrupna razlika u procentu porasta uKIM-1 je takođe bila statistički značajna ( $P=0,012$ ). U grupi ispitanika koji su dobili jodni kontrast, dva (3,9%) su dijagnostikovani kao CI-AKI, a u grupi koja su primila Gd-DTPA bilo je šest ispitanika sa CI-AKI ili 9,7% ( $p=0,29$ ). Samo je porast urinarnog KIM-1 posle 24 sata od ekspozicije kontrastu bio značajno veći u grupi ispitanika sa dijagnostikovanom CI-AKI (CI-AKI: 367,3 (221,5) pg/ml; ne CI-AKI: 308,2 (192,1) pg/ml,  $p=0,009$ ). Rezultati ROC analize za normalizovane vrednosti uKIM-1 su pokazale da je AUC uKIM-1/uCr posle 24 sata od ekspozicije kontrastu 0,757 (95% interval pouzdanosti [CI]:0,629-0,885:  $P=0,035$ ). Posle 24 sata od ekspozicije kontrastu, vrednosti KIM-1/uCr za ranu detekciju CI-AKI veće od 214 pg/mg su pokazale senzitivnost od 83,3 % i specifičnost od 54,2%.

**Zaključak:** Primena gadolinijuma u grupi dece sa normalnom bubrežnom funkcijom može dovesti do slične nefrotoksičnosti kao i primena jodnih kontrastnih sredstava. CI-AKI prema najnovijim i do sada naojštrijim kriterijumima je bio zastupljen čak i kod većeg broja pacijenata posle primene gadolinijumskog helata, ali bez statističke značajnosti. Primena jednog i gadolinijumskog kontrastnog sredstva kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom nije dovela do izrazitog (najmanje dvostrukog) porasta novih biomarkera, ali je porast uKIM-1 bio statistički značajan posle primene gadolinijumskog helata. Normalizovana vrednost urinarnog KIM-1 može

da bude rani prediktivni faktor za nastanak oštećenja bubrega posle intravenske primene kontrasta kod dece sa normalno bubrežnom funkcijom.

**Ključne reči:** akutno oštećenje bubrega (AKI), deca, gadolinijum, kontrastna sredstva, NGAL, KIM-1

**Naučna oblast:** pedijatrija

**Uža naučna oblast:** pedijatrijska nefrologija

# COMPARISON BETWEEN SUBCLINICAL NEPHROTOXICITY AFTER GADOLINIUM AND IODINATED-BASED CONTRAST MEDIA EXPOSURE IN CHILDREN WITH NORMAL RENAL FUNCTION

## ABSTRACT

**Aim:** To determine the difference between gadolinium and iodine contrast media in the development of subclinical kidney damage expressed with new biomarkers (NGAL and KIM). To investigate the possible occurrence of acute kidney injury in children with normal renal function after administration of iodinated and gadolinium based contrast and investigation the possibility of its early detection by using new biomarkers, such serum and urinary NGAL and urinary KIM-1. Also, to evaluate the possible effect of intravenous hydration before and after contrast on kidney function in children with normal renal function. And, to assess the impact of the dose of administered contrast media, as well as, evaluation of concomitant antihypertensive therapy on the possible renal impairment in children with normal kidney function.

**Material and Methods:** We performed a prospective study of 123 children and adolescents undergoing contrast media exposure in a single center from January 1<sup>st</sup>, 2013 to December 31<sup>st</sup>, 2015. The first group (n=58) of patients with acyanotic congenital heart disease were undergoing angiography with low osmolar non-ionic, iodine based contrast administration (iopromide, Ultravist<sup>®</sup> 370). The second one (n=65) consisted of patients with suspected urinary tract anomalies who were undergoing MR angiography/urography with gadolinium based contrast administration (gadopentetate dimeglumine, Magnevist<sup>®</sup>). For each patient, four urine samples were obtained that corresponded to time 0 h (within 1-day pre contrast exposure), 4, 24 and 48 hours after procedure. The serum samples were obtained three times: within 1-day pre contrast exposure, 24 and 48 hours after procedure. In addition to standard laboratory parameters, serum cystatin C, serum and urinary NGAL and urinary KIM-1 were determined by ELISA.

**Results:** Patients who have received iopromide (n = 58) had a more pronounced decrease eGFR after 24 h ( $\Delta$ GFR 10.77 (21.24) ml / min / 1.73m<sup>2</sup>) as compared to patients who received a Gd-DTPA (n = 65), ( $\Delta$ GFR 5.93 (21.23) ml / min / 1.73m<sup>2</sup>). In contrast to the cystatin C, which did not change over time in both groups of contrast, in the group of patients who received iopromide,



after 24 hours of exposure contrast, serum creatinine, is significantly increased in comparison with the group which received Gd-DTPA ( $\Delta$ creatinine 6.0 (10.0)  $\mu\text{mol/l}$ ,  $P = 0.03$ ;  $\Delta$ creatinine 4.0 (12.0)  $\mu\text{mol/l}$ ,  $P = 0.027$ ). Similar findings were after 48 hours, but without statistically significant differences between groups. Values of  $\text{FE}_K$  and  $\text{FE}_{\text{Na}}$  after 24 hours from the administration of iodinated contrast were significantly lower in comparison to baseline, and at the same time point, values of glycosuria and TRP had a transient increase in the both contrast group. In the iopromide group, 24h after, the serum NGAL rose higher than in the Gd-DTPA group but without statistical significance between the two groups ( $\Delta$ sNGAL 4.3 ng/ml (IQR 16.55),  $\Delta$ sNGAL 0.7 ng/ml (IQR 16.6),  $p=0.992$ ). At the same time point, serum NGAL increased  $\geq 25\%$  from baseline in 32.6% of patients who received iopromide and in 25.5% of patients who received Gd-DTPA. The median increase in this subgroup of patients was 62.23% in iopromide group and 36.44% in Gd-DTPA group ( $p= 0.002$ ). In the Gd-DTPA group, 48h after, the urinary KIM-1 rose higher than in the iopromide group (Gd-DTPA:  $\Delta$ uKIM-1 50,9 (IQR 200.7) pg/ml,  $P=0,015$ ; iopromide:  $\Delta$ uKIM-1 34.5 (IQR 210.45) pg/ml, $p=0.23$ . The difference between groups were also statistically significant( $p=0,012$ ). In the iopramide group, 2 patients (3.9%) were diagnosed with CI-AKI as did 6 patients (9.7%) in the Gd-DTPA group. Urinary KIM-1 levels 24 hours after contrast exposure were significantly higher in the group of patients with CI-AKI (CI-AKI:367.3 (221.5) pg/ml; ne CI-AKI:308.2 (192.1) pg/ml,  $p=0,009$ ). The results of the ROC analyses for the normalized urinary KIM-1 show the AUC of the uKIM-1/uCr at 24 hours post CM exposure was 0.757 (95% confidence interval [CI]:0.629-0.885,  $P=0.035$ ). At 24 hours after CM exposure, values in normalized urinary KIM-1 with concentrations  $> 214$  pg/mg had a sensitivity of 83.3 %, and a specificity of 54.2% for the early detection of CI-AKI.

**Conclusions:** In children with normal renal function exposures to iodinated and gadolinium based media might lead to subclinical nephrotoxicity and could be detected using serum NGAL and urinary KIM-1. Iodine and gadolinium contrast media applications did not lead to pronounced (at least double) increase in new biomarkers, but u KIM-1 increase was significant after gadolinium exposures. According new criteria, CI-AKI incidence was higher in gadolinium contrast group, but without statistically significant difference. Normalized urinary KIM-1 could be one of the most useful non-invasive markers in detecting CI-AKI after iodine and gadolinium-based media exposure.

**Key words:** acute kidney injury, gadolinium, children, contrast media, KIM-1, NGAL

**Scientific field:** pediatrics

**Scientific subfield:** pediatric nephrology

## SADRŽAJ

1.Uvod.....	1
1.1.Akutno oštećenje bubrežne funkcije izazvano kontrastnim sredstvima.....	1
1.1.1. Definicija i incidenca.....	1
1.1.2. Releventnost određivanja serumskog kreatinina posle primene kontrasta- standardni biomarker AKI.....	1
1.1.3. Odnos albuminurija/kreatinurija kao marker CI-AKI.....	4
1.1.4. Cistatin C (CysC) kao marker CI-AKI.....	5
1.1.5. Novi biomarkeri u dijagnostici (CI)-AKI.....	6
1.1.5.1.Koncept subkliničkog akutnog oštećenja bubrežne funkcije .....	6
1.1.5.2. „Neutrophil gelatinase associated lipocalin“ (NGAL).....	8
1.1.5.2.1. Fiziologija NGAL-a.....	9
1.1.5.2.2. Metode merenja NGAL.....	10
1.1.5.2.3. NGAL kao biomarker.....	11
1.1.5.3. “Kidney injury molecule -1 “, KIM-1.....	12
1.2. Kontrasti na bazi joda.....	15
1.2.1.Patofiziologija CI-AKI kod jodnih kontrasta.....	17
1.2.1.1.Citotoksični efekat jodnog kontrasta – model ćelijske kulture.....	17
1.2.1.1.1. Direktno toksično dejstvo na tubulske ćelije.....	17
1.2.1.1.2. Efekat vazokonstrikcije na protok krvi u bubrežima.....	17
1.2.1.1.3. Reperfuzija i stvaranje reaktivnih kiseoničnih radikala.....	19
1.2.2. Efekti jodnih kontrastnih sredstava na protok krvi u bubrežima u humanoj populaciji.....	19
1.2.2.1. Niska frakciona ekskrecija natrijuma u CI-AKI.....	20
1.2.3. Put primene kontrasta.....	20
1.2.4. Doza primenjenog kontrasta.....	21
1.3. Kontrastna sredstva na bazi gadolinijuma.....	22

1.3.1.	Struktura i farmakokinetika gadolinijumskih kontrasta.....	22
1.3.2.	Mogući mehanizam nefrotoksičnosti GBCM.....	23
1.3.3.	Odsustvo značajne nefrotoksičnosti GBCM.....	24
1.3.3.1.	Sigurnost/bezbednost primene GBCM kod bolesnika sa normalnom bubrežnom funkcijom.....	24
1.3.3.2.	Bezbednost primene GBCM kod pacijenata sa CKD.....	25
1.3.4.	Nefrotoksičnost i GBCM.....	26
1.3.5.	Nefrogena sistemska fibroza.....	27
1.4.	Prevenција CI-AKI.....	28
1.4.1.	Hidratacija.....	28
1.4.1.1.	Intravenska hidratacija.....	28
1.4.1.2.	Oralna hidratacija.....	28
1.4.1.3.	Hidratacija bazirana na natrijum biakrbonatu.....	29
1.4.2.	Farmakološka profilaksa.....	29
1.4.2.1.	N-Acetilcistein (NAC).....	30
1.4.2.2.	Askorbinska kiselina.....	31
1.4.2.3.	Statini.....	31
1.4.2.4.	Teofilin.....	32
1.4.2.5.	Ciljana bubrežna terapija.....	32
2.	Ciljevi rada.....	34
3.	Materijal i metodi.....	35
3.1.	Ispitanici i dizajn studije.....	35
3.2.	Merenje i preračunavanje standardnih serumskih i urinarnih parametara.....	37
3.3.	Merenje biomarkera.....	37
3.4.	Statistička analiza.....	37
4.	Rezultati.....	39

4.1. Bazične karakteristike ispitanika i demografski podaci.....	39
4.2. Promene standardnih biomarkera bubrežne funkcije i cistatina C tokom studije.....	42
4.2.1. Promene standardnih serumskih biomarkera i cistatina C.....	42
4.2.2. Promene standardnih urinarnih parametara.....	46
4.3. Promene novih biomarkera tokom studije.....	52
4.3.1. Promene serumskog i urinarnog NGAL tokom studije.....	54
4.3.2. Promene urinarnog KIM-1 tokom studije.....	55
4.4. Korelacija serumskog i urinarnog NGAL i urinarnog KIM-1 sa standardnim renalnim markerima i drugim kliničkim pokazateljima.....	57
4.5. Subklinička nefrotosičnost kontrastnih sredstava (CI-AKI).....	57
4.6. Učestalost nastanka, kliničke karakteristike i rana dijagnoza CI-AKI.....	59
4.6.1. CI-AKI – učestalost.....	59
4.6.2. Uticaj količine kontrasta, intravenske hidracije i primene ACEI/ARB na nastanak CI-AKI.....	63
4.6.3. Rana dijagnoza CI-AKI i značaj ranih biomarkera.....	65
5. Diskusija.....	69
6. Zaključci.....	88
7. Literatura.....	89
Spisak skraćenica.....	106
Biografija autora.....	109

## 1. UVOD

### 1.1. Akutno oštećenje bubrežne funkcije izazvano kontrastnim sredstvima

#### 1.1.1. Definicija i incidenca

Do danas je prošlo više od 60 godina od kada je opisan prvi slučaj akutnog oštećenja bubrežne funkcije posle radiokontrastnog snimanja (1). Poslednjih godina je u dramatičnom porastu primena brojnih dijagnostičkih procedura u kojima se koriste kontrastna sredstva. Kontrasti na bazi joda se najčešće koriste kako u dijagnostici, tako i tokom raznih hirurških procedura. Akutno oštećenje bubrežne funkcije uzrokovano kontrastnim sredstvom, a u anglosaksonskoj literaturi poznato kao „Contrast medium-induced acute kidney injury (CI-AKI)“, predstavlja značajan i čest problem, posebno kod odraslih, hospitalizovanih bolesnika. Ovaj naziv je ranije u literaturi bio poznat kao nefropatija nastala pod uticajem primenjenog kontrasta ili „contrast-induced nephropathy ili skraćeno CIN“. U opštoj populaciji je procenjeno da se CI-AKI dešava u 15% slučajeva posle intravaskularne primene kontrasta na bazi joda (2). Glavni faktori rizika za nastanak CI-AKI su: preegzistirajuće hronično oštećenje bubrežne funkcije ili „chronic kidney disease (CKD)“, diabetes mellitus, hemodinamska nestabilnost bolesnika, srčano popuštanje, anemija, istovremena upotreba drugih nefrotoksičnih lekova, veća zapremina i brzina primene određenog kontrastnog sredstva. Prisustvo navedenih faktora, povećava rizik za nastanak CI-AKI za oko 50%, sa verovatnoćom da će kod oko 1% navedenih bolesnika biti neophodna i terapija zamene bubrežne funkcije (3-5). Za populaciju dece, ne postoje slični pouzdani podaci, ali je prva retrospektivna analiza nastanka AKI u tercijarnom pedijatrijskom centru identifikovala nefrotoksine kao značajne uzročnike AKI u 17% slučajeva (6). CI-AKI se definiše kao nastanak neželjenog događaja kod bolesnika koji intravaskularno primaju kontrast u sklopu radioloških snimanja. Ovaj neželjeni događaj predstavlja slabljenje bubrežne funkcije (rapidna deterioracija) u vidu porasta serumskog kreatinina (SCr) ili cistatina C, koji mogu biti prolazni ili pak mogu progredirati u mnogo teže hronično oštećenje bubrežne funkcije (2).

#### 1.1.2. Releventnost određivanja serumskog kreatinina posle primene kontrasta - standardni biomarker AKI

U literaturi postoji mnogo različitih definicija bubrežnog oštećenja nastalog posle primene kontrasta. Danas, novo razumevanje sindroma AKI zahteva i revidiranje definicije kontrastne nefropatije, uz upotrebu modernih kriterijuma koji definišu nastanak bubrežnog oštećenja i njegove disfunkcije (7). Dijagnoza i terapija AKI su postali multidisciplinarni problem koji uključuje pre svih intenzivnu negu, kardiologiju, hepatologiju, radiologiju i druge discipline. Uz ovakvu evoluciju, termin akutna bubrežna insuficijencija („acute renal failure, ARF“) koji je u kliničkoj praksi korišten decenijama, zamenjen je terminom akutno oštećenje bubrežne funkcije (AKI). Novi termin označava potencijalno reverzibilno oštećenje bubrega koje se dešava u vremenskom okviru od nekoliko sati ili dana. Stoga, dok novi termin oštećenja bubrega ne podrazumeva obavezno i disfunkciju, dijagnoza akutnog oštećenja bubrežne funkcije se i dalje postavlja na osnovu promena u serumskom kreatininu ili pak smanjenja diureze, kao manifestacija akutnog pada glomerulske filtracije („glomerular filtration rate, GFR“). AKI, nastala kao posledica primene kontrasta je u većini slučajeva neoligurijska, a markeri poput nalaza cilindara, kristala ili formiranih elemenata u sedimentu urina, zatim frakcione ekskrecije natrijuma ( $FE_{Na}$ ), su veoma varijabilni, nesenzitivni i nespecifični markeri rane dijagnoze (8). Zatim, vrlo dobro je poznato da serumski kreatinin predstavlja nerealan pokazatelj akutnih promena bubrežne funkcije (9). Prvo, nivo serumskog kreatinina varira u zavisnosti od uzrasta, pola, mišićne mase, mišićnog metabolizma, primene raznih medikamenata kao i stanja hidracije. Takođe, tokom akutnih promena glomerulske filtracije, serumski kreatinin ne prikazuje precizno stepen glomerulske filtracije dok god se ne dostigne uravnoteženo stanje za koje je potrebno nekoliko dana. Od nedavno je počelo više pažnje da se posvećuje nastanku strukturnih oštećenja nefrona, a koji su sumirani u meta analizi novog renalnog markera NGAL („neutrophil gelatinase-associated lipocalin“), (10). Humani bubrezi poseduju značajnu funkcionalnu rezervu, tako da samo u slučaju oštećenja značajnog broja nefrona, dolazi i do istovremene redukcije u GFR. Do porasta serumskog kreatinina dolazi zapravo kada je kompromitovano 50% i više od ukupne bubrežne mase. U ovoj situaciji, oštećenje koje zahvata manje od 50% može da ne dovede do porasta serumskog kreatinina, ili pak da prouzokuje samo marginalne izmene u bazalnoj jačini glomerulske filtracije. Stoga se veruje da značajan procenat pacijenata može da razvije subkliničko oštećenje bubrežne funkcije, tzv., subkliničku AKI. Tako je Komitet za bezbednu primenu kontrastnih medija, a u okviru Evropskog udruženja urogenitalne radiologije („The European Society of Urogenital Radiology (ESUR) Contrast Media Safety Committee“),

nedavno obnovio vodič za CI-AKI uz zadržavanje prethodne definicije oštećenja bubrežne funkcije pod dejstvom kontrasta. Tu se navodi da je „CIN- contrast-induced nephropathy“ stanje kod koga smanjenje bubrežne funkcije nastaje unutar tri dana od intravaskularne primene kontrastnih sredstava a u odsustvu alternativne etiologije. Porast serumskog kreatinina za više od 25% ili za više od 44  $\mu\text{mol/l}$  (0.5 mg/dl) ukazuje na nastanak CIN” (11). Dodatno, nove klasifikacije AKI, poput RIFLE (akronim za „Risk of renal dysfunction, Injury to the kidney, Failure of kidney function, Loss of kidney function, and End-stage Renal Disease“), (12), pediatric RIFLE (pRIFLE), (13) ili modifikovane RIFLE klasifikacije, tzv., AKIN („Acute Kidney Injury Network“) kriterijuma (14) uključuju kao minimalan dijagnostički kriterijum nastanka AKI, smanjenje preračunatog klirensa kreatinina (eGFR) za najmanje od 25% ili porast serumskog kreatinina za najmanje od 26,5  $\mu\text{mol/l}$  (0.3 mg/dl). RIFLE kriterijum stratifikuje pacijente prema promeni serumskog kreatinina u odnosu na bazalni i/ili smanjenja diureze (12). Brojne studije, poput Chertow-a i sar. su pokazale da su i tako marginalne izmene udružene sa lošijim ishodom kod bolesnika (15). Ovaj novi pristup je dodatno utvrđen i najnovijim KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) preporukama, ali koje i dalje zadržavaju isključivo funkcionalne kriterijume u dijagnostici AKI, tj. kriterijum smanjenja GFR koji može da nastane tek posle dužeg vremena od samog oštećenja bubrega. Nova definicija AKI prema KDIGO preporuci (16) važi i za CI-AKI i predstavlja pomoć u objedinjavanju kliničkog i naučnog jezika u okviru ovog zajedničkog problema. Dva različita dijagnostička kriterijuma za nastanak AKI su predložena: prvi na osnovu apsolutnog ili relativnog porasta serumskog kreatinina i drugi na osnovu smanjenja diureze. Ova definicija određuje AKI na osnovu sledećeg: porasta kreatinina u serumu od  $\geq 0.3\text{mg/dl}$  ( $\geq 26.5\mu\text{mol/l}$ ) unutar 48 sati, porasta kreatinina za  $\geq 1,5$  puta u odnosu na bazalnu ili pretpostavljenu vrednost unutar prethodnih 7 dana, ili pak na osnovu smanjenja diureze za  $< 0,5\text{ml/kg/sat}$  tokom najmanje 6 sati. Dodatno, prema težini AKI se stratifikuje u tri kategorije (Tabela 1). Ovi novi pristupi, iako čak i prefinjeni u odnosu na ranije kriterijume AKI koji su obično podrazumevali dupliranje serumskog kreatinina ili potrebu za dijalizom, i dalje su bazirani na funkcionalnim kriterijumima koji podrazumevaju smanjenje GFR.



Tabela 1. KDIGO kriterijumi za nastanak AKI (16)

Stadijum	Serumski kreatinin	Diureza
1	1,5-1,9 puta veći od bazalnog ILI porast $\geq 0,3$ mg/dl ( $\geq 26,5$ $\mu$ mol/l)	< 0,5 ml/kg/sat tokom 6-12 sati
2	2-2,9 puta veći od bazalnog	< 0,5 ml/kg/sat za više od 12 sati
3	3x veći od bazalnog ILI porast serumskog kreatinina na vrednosti $\geq 4,0$ mg/dl ( $\geq 353,6$ $\mu$ mol/l) ILI početak terapije zamene bubrežne funkcije ILI kod mlađih od 18 godina, smanjenje GFR na vrednosti <35 ml/min/1,73m <sup>2</sup>	< 0,3 ml/kg/sat tokom više od 24 sata ILI anurija više od 12 sati

### 1.1.3. Odnos albuminurija/kreatinurija kao marker CI-AKI

Povišeni albumini u urinu su direktna posledica glomerulskog i ili tubulskog oštećenja i povišeni su u slučaju pre svega glomerulske disfunkcije. Albuminurija je dobro poznati marker za progresiju bolesti kod bolesnika sa CKD i faktor rizika za kardiovaskularne bolesti. Prema britanskom vodiču („National institute for Health and Clinical Excellence –NICE“), određivanje odnosa albuminurija/kreatinurija u porciji urina se preporučuje kao test prve linije u dijagnostici proteinurije. Odnos albuminurija/kreatinurija je mnogo senzitivniji u detekciji niske, ali klinički signifikantne proteinurije (17). Obzirom da primena kontrastnog sredstva može da dovede do vaskularnog i tubulskog oštećenja, rezultujuća proteinurija može da ukaže na nastanak CI-AKI. Koristeći ovu hipotezu, Levin i saradnici su pokazali da kontrastna sredstva mogu dovesti do pogoršanja albuminurije, a da NAC kao potencijalni nefroprotektivni agens sa antioksidativnim delovanjem može da dovede do njenog smanjenja (18). Pogoršanje albuminurije zbog razvoja

CI-AKI je opisano kod pacijenata kojima je rađena endovaskularna reparacija aortne aneurizme (19).

#### 1.1.4. Cistatin C (CysC) kao marker CI-AKI

CysC je neglikozilirani protein od 13 kDa koji sadrži 122 aminokisline i pripada familiji inhibitora cistein proteinaze. Kao proteinazni inhibitor, CysC je uključen u intracelularni katabolizam proteina i peptida. On je produkt tzv., „housekeeping“ gena koji je eksprimiran u svim ćelijama sa jedrom i stepen njegove produkcije je konstantan (20). Obzirom da se cistatin C ne vezuje značajno za proteine i da je male molekulske mase, slobodno se filtrira u glomerulima (>99%). Takođe se ne sekretuje u tubulima, ali se u njima reapsorbuje, a potom i razgrađuje tako da se ne vraća u krvotok (21). Ova poslednja karakteristika CysC onemogućava računanje klirensa CysC korišćenjem njegove koncentracije u urinu. Upotreba CysC u proceni GFR-a je bazirana na sličnom razmišljanju kao i za ureju ili kreatinin, međutim činjenica da se ne vraća u krvotok i ne sekretuje u tubulima, CysC je skoro idealan endogeni marker za procenu GFR. Pokazano je da je mnogo precizniji u proceni GFR u odnosu na serumski kreatinin, pogotovo kod bolesnika sa CKD (22). Koncentracija CysC u plazmi ne zavisi od mišićne mase i ta činjenica ga čini superiornijim u odnosu na kreatinin kada je u pitanju procena bubrežne funkcije kod bolesnika sa značajnim gubitkom mišićne mase (23). Za razliku od kreatinina, nivo CysC ne zavisi ni od pola, premda neki lekovi ili stanja poput primene kortikosteroida ili bolesti štitaste žlezde, mogu nezavisno uticati na njegov nivo u krvi (23). U slučaju razvoja AKI, pokazano je da je CysC udružen sa povećanim mortalitetom i rizikom od nastanka neželjenih kardiovaskularnih događaja, kao i da je mogući senzitivniji marker AKI pruzrokovane primenom kontrasta kod odraslih (24,25). Nekoliko studija (24,26,27) je koristilo promene CysC u definiciji AKI na sličan način kako je to već standardno preporučeno za porast serumskog kreatinina. Međutim, ove promene i značaj CysC u definiciji AKI treba da se potvrdi u budućim velikim studijama. Cys C može precizno da detektuje renalnu disfunkciju 24-48h pre serumskog kreatinina, obzirom da njegov nivo raste značajno i kada se GFR smanji na 88-95 ml/min/1.73m<sup>2</sup> (28). U nedavnoj studiji iz Irana, pokazana je značajnija dijagnostička preciznost CysC u odnosu na kreatinin u slučaju AKI ( AUC – „area under ROC curve“ za SCr je bio 0,55, a za CysC 0,93), (29). U ovoj studiji je „cut-off“ vrednost za cistatin C bila definisana na 0,6 mg/L. Slično su pokazali i Villa i sar., (30), zatim Delanaye i sar., (31) da CysC ima veću senzitivnost u poređenju sa serumskim kreatininom u detekciji smanjenja klirensa kreatinina na vrednosti

ispod 80 ml/min/ 1,73m<sup>2</sup>. U tumačenju serumskog cistatina C ipak treba biti oprezan jer neki ne renalni faktori mogu da podižu njegovu vrednost (32). Tako je jedna velika studija sa 8000 pacijenata pokazala da brojni faktori mogu nespecifično povećati CysC uključujući: stariju dob, muški pol, gojaznost, veću visinu, pušenje cigareta, visoku vrednost C-reaktivnog proteina (CRP), (33). Kao što je već rečeno, CysC se kompletno reapsorbuje u proksimalnim tubulima i stoga je njegova fiziološka koncentracija u urinu ekstremno niska. U slučaju oštećenja tubula, kompromitovana je i reapsorpcija CysC što dovodi do povećanja njegove koncentracije u urinu (32). Proteinurija sama po sebi takođe povećava urinarnu ekskreciju cistatina C (32). U jednoj meta analizi je pokazano da urinarna ekskrecija CysC ima samo umeren značaj u dijagnostici AKI, dok se serumski CysC pokazao kao dobar biomarker u predikciji AKI (34).

#### 1.1.5. Novi biomarkeri u dijagnostici (CI)-AKI

##### 1.1.5.1. Koncept subkliničkog akutnog oštećenja bubrežne funkcije

Odnedavno, u literaturi se pojavila mogućnost da se dijagnoza AKI postavi mnogo ranije, skoro „real-time“, upotrebom pojedinih strukturnih ili funkcionalnih biomarkera ili njihove kombinacije (35). Kliničke studije su ukazale na dodatan značaj ovih biomarkera u odnosu na samo određivanje serumskog kreatinina, i to ne samo za ranu dijagnozu AKI, već i detekciju strukturnih oštećenja bubrega čak i kada bubrežna disfunkcija ili porast serumskog kreatinina nikada i ne bude manifestan (36,37). Prema ovom novom pristupu, možemo da razmišljamo o ranoj dijagnostici CI – AKI (Tabela 2).

Tabela 2. Konceptualni okvir za dijagnozu subkliničke i kliničke CI-AKI (7)

	Funkcionalni kriterijumi (ESUR/RIFLE/AKIN/KDIGO)	Strukturni kriterijumi (Biomarkeri)
Odsustvo CI-AKI	negativni	negativni
CI-AKI sa strukturnim oštećenjem	negativni	pozitivni
CI-AKI sa bubrežnom disfunkcijom	pozitivni	negativni
CI-AKI sa strukturnim oštećenjem i bubrežnom disfunkcijom	pozitivni	pozitivni

Činjenica da akutno oštećenje bubrežne funkcije nije klinički manifestno prema klasičnim kriterijumima, ne znači nedvosmisleno da su bubrezi intaktni. Ovo subkliničko oštećenje može biti otkriveno novim biomarkerima i, premda ne odgovara klasičnim kriterijumima, trebalo bi da u slučaju AKI posle primene kontrasta, bude definisano kao CI-AKI. Da bi se napravilo relevantno poređenje, može da se upotrebi dijagnoza akutnog infarkta miokarda gde porast troponina može biti dodatni triger u dijagnostici i terapijskoj intervenciji i to čak i u odsustvu klasičnih znakova i simptoma. Smatra se da budući kriterijumi mogu dobro integrisati jedan ili više ovih markera bubrežnog oštećenja sa serumskim kreatininom, diurezom i/ili drugim funkcionalnim markerima (38). Do danas nemamo dovoljno podataka na osnovu kojih bismo okarakterisali težinu strukturnog oštećenja bubrega baziranu na biomarkerima, pa prema tome i stepenovanje ovog sindroma i dalje počiva na merenju serumskog kreatinina, tj. trenutka kada već bubrežna disfunkcija postane manifestna. Stoga, prisustvo nove klase AKI bi moglo biti dijagnostikovano primenom komercijalno dostupnih markera tubulskog oštećenja kao što su NGAL (iz krvi i urina) i L-FABP „L-type fatty acid binding protein“ (iz urina) koji bi mogli, ali i ne moraju biti povišeni u sklopu klinički manifestnog sindroma koji se karakteriše porastom serumskog kreatinina ili pak smanjenjem GFR. Stoga bi testiranje seruma i urina pre i posle radioloških procedura mogla postati realnost, omogućavajući brz i pravovremen skrining nastanka CI-AKI. Na vidiku su i dodatni markeri koji uključuju: KIM-1 („kidney injury molecule-1“) kao bubrežni protein koji učestvuje u regeneraciji tkiva, zatim marker celularnog

oštećenja kao što su glutation transferaze (alpha glutathione S-transferase (GST) i Pi GST). Predlaže da se ovi biomarkeri klasifikuju u dve grupe: prva, oni koji pokazuju promene u bubrežnoj funkciji (npr., serumski kreatinin, cistatin C, količina urina) i druga, oni koji preslikavaju strukturno oštećenje bubrega (KIM-1, NGAL, IL-18 i drugi). Kombinacija funkcionalnih i strukturnih biomarkera bubrežnog oštećenja omogućava jednostavan metod za stratifikaciju pacijenata sa AKI. Prema ova dva fundamentalna kriterijuma, predložene su 4 subgrupe pacijenata sa AKI: (a) bez promene markera, (b) sa prisutnim samo oštećenjem, (c) sa prisutnim samo funkcionalnim promenama, i (d) sa kombinacijom strukturnog i funkcionalnog oštećenja (39). Stoga je identifikovana nova kategorija pacijenata „sa subkliničkim AKI“ kod kojih su samo povećani markeri strukturnog oštećenja bez istovremenih slabljenja bubrežne funkcije. Dijagnoza subkliničke AKI danas može biti dostupna upotrebom sasvim pouzdanih testova kojima se određuju biomarkeri bubrežnog oštećenja. Ovi testovi imaju vrlo visoku senzitivnost i specifičnost (40). Sekvencionalna merenja ovih biomarkera nam mogu pomoći u daljoj identifikaciji inzulta, da li se radi o prolaznom ili oštećenju koje traje. Ovo produženo stanje može biti udruženo sa visokim rizikom od nastanka neželjenog ishoda u daljem praćenju ovih pacijenata, poput potrebe za terapijom zamene bubrežne funkcije ili većeg rizika od mortaliteta (36,41). Stoga su ovi fiziološki biomarkeri neophodni ne samo u ranoj fazi AKI, nego i kasnije kroz ceo proces trajanja i evolucije AKI. Ovi fiziološki procesi predstavljaju integrativno okruženje u kome se obavlja interreakcija medijatora inflamacije, neravnoteža u hemeostazi kiseonika, azot oksida i kiseoničnih radikala koji dovode do mikrocirkulatorne disfunkcije, zatim poremećena tkivna oksigenacija što sve skupa vodi u AKI (42). Novi markeri tubulskog oštećenja bi trebalo da se inkorporiraju u dijagnostičke kriterijume RIFLE ili KDIGO (Tabela 1) i kao takvi da se koriste u budućim istraživanjima.

#### 1.1.5.2. „Neutrophil gelatinase associated lipocalin“ (NGAL)

„Neutrophil gelatinase-associated lipocalin“ (NGAL) je protein koji pripada familiji lipokalina. Lipokalini sadrže 8  $\beta$  lanaca koji formiraju jedan cilindar poput čašice, tzv. „ $\beta$ -barrel enclosing a calyx“. Ovaj „calyx“ vezuje i transportuje razne supstance niske molekulske težine. Ovi proteini takođe mogu da se vežu za receptore u ćelijskoj membrani (43). Humani NGAL predstavlja polipeptidni lanac od 178 aminokiselina sa molekulskom masom od 25 kDa.

Eksprimiraju ga neutrofili i razne druge epitelne ćelije. U raznim tkivima poput uterusa, prostate, pljuvačnih žlezda, pluća, traheje, želudca, kolona i bubrega su prisutni različiti stepeni ekspresije gena za sintezu NGAL (44). Nedavna saznanja da NGAL vezuje siderofore (molekule koje sekretuju mikroorganizmi i koje vezuju gvožđe) i da je značajno eksprimiran u raznim patološkim stanjima poput akutnog oštećenja bubrega, podstaklo je brojne studije. NGAL u plazmi se slobodno filtrira u glomerulima i najvećim delom reapsorbuje u proksimalnim tubulima (32). Do urinarne ekskrecije NGAL dolazi kada je kompromitovana njegova reapsorpcija bilo zbog tubulskog oštećenja, bilo zbog njegove povećanje sinteze, ili pak kombinacije ova dva faktora. Izvorno je pretpostavljeno da NGAL potiče iz epitela proksimalnih tubula bubrega (45). Studije koje su usledile, pokazale su da se mesto glavne sinteze NGAL nalazi u Henle-ovoj petlji i sabirnim tubulima bubrega, (46), ukazujući na činjenicu na povišeni urinarni NGAL potiče i iz proksimalnih i distalnih tubulskih segmenata nefrona. Mishra i sar., su inicijalno u eksperimentalnim (45), a potom i u kliničkim studijama (47) pokazali da je NGAL novi rani marker AKI koji dosta obećava u budućnosti. NGAL koji može da se nađe u proksimalnim tubulima posle bilo kakvog ishemijskog oštećenja, tu može da stigne glomerulskom filtracijom, a posle njegove sinteze u drugim organima kao što je jetra.

#### 1.1.5.2.1. Fiziologija NGAL-a

Siderofore su proteini koje sintetišu bakterije i koji vezuju gvožđe iz ekstracelularnog prostora. Ovi proteini zarobljavaju gvožđe i to sa veoma visokim afinitetom, i na taj način obezbeđuju bakterijama kontinuiranu dostavu gvožđa nephodnu za njihov rast i preživljavanje. Enterohelin predstavlja jednu od takvih siderofora koju produkuju pojedini sojevi bakterija. Otkriće uloge NGAL u metabolizmu gvožđa potiče od kristalografskih studija Goetz-a i sar., (48) koji su prvi detektovali unutar „calyx-a“ NGAL prisustvo kompleksa enterohelina i gvožđa. NGAL je tako prozvan siderokalinom, kao prvi protein kod sisara koji vezuje i transportuje bakterijske siderofore (48). Dalje su otkrivena dva značajna receptora koja vezuju NGAL. Prvi je tzv. „megalin-cubulin multiscavenger“ kompleks smešten na četkastoj površini renalnih tubulskih ćelija, a drugi je 24p3R receptor (NGAL je inicijalno nazivan 24p3), koji predstavlja organski katjonski transporter. Smatra se da ovi receptori imaju ulogu u transportu i endocitozi NGAL. Sam proces endocitoze se obavlja bilo sa samim proteinom NGAL (Apo-NGAL) ili pak sa

NGAL vezanim u kompleksu sa sideroforma i gvoždem (Holo-NGAL), (49). Celularni efekti ovog procesa zavise od forme u kojoj je obavljena endocitoza NGAL. Kada se endocitoza NGAL obavlja kao Apo-NGAL, NGAL zarobljava intracelularno gvožđe i transportuje ga izvan ćelije dovodeći do deplecije intracelularnog gvožđa. Sa druge strane, kada se endocitoza obavlja u formi Holo-NGAL, NGAL otpušta kompleks gvožđa i siderofora, doprinoseći na taj način povećanju intracelularnog nivoa gvožđa (49). S obzirom da NGAL ima sposobnost vezivanja i transporta bakterijskih siderofora, na taj način prevenira rast bakterijskih sojeva koji zavise od dostave gvožđa iz samih siderofora (48). Biološki značaj ovog nalaza je potvrđen u eksperimentu sa genetski modifikovanim miševima koji su deficitarni za NGAL. Pokazano je da su oni u odnosu na divlji tip mnogo osetljiviji na infekciju sa *Escherichia coli* bakterijom i da im je smrtnost mnogo veća (49).

#### 1.1.5.2.2. Metode merenja NGAL

Postoje tri izoforme NGAL: 25 kDa monomer, 45 kDa homodimer, i 135 kDa heterodimer. Za neutrofile je karakteristična izoforma homodimera, premda u izvesnoj količini u njima je ekspimirana i monomerna izoforma (32). Monomere NGAL, a u izvesnoj meri i heterodimere, sintetišu epitelne ćelije tubula bubrega. Stoga bioesej koji diferencira ove izoforme je ujedno i najkorisniji u specifikaciji mesta sinteze NGAL, obzirom da ne-renalni izvori njegove sinteze mogu biti „confounders“ u interpretaciji nalaza u sklopu procene oštećenja bubrega. Nedavno je razvijen imunoesej koji omogućava razlikovanje ovih izoformi NGAL (50). Drugi faktori koji mogu da utiču na koncentraciju NGAL a stoga i na interpretaciju nalaza uključuju uzrast, pol, markere inflamacije i funkciju jetre (51). U publikovanim studijama su korištene različite metode merenja NGAL. U inicijalnim studijama (45), merenje i urinarnog i serumskog NGAL je rađeno Western blot tehnikom. U narednim studijama su upotrebljavane imunoblot ili tehnike bazirane na ELISA testovima upotrebom komercijalno dostupnih monoklonskih NGAL antitela (Antibodyshop, Gentofte, Denemark). Kasnije je standardizovan test za merenje plazmatskog NGAL – „Triage®NGAL, Device (Biosite Incorporated, San Diego, CA, USA)“ . Pokazano je da ovaj esej dobro korelira sa ELISA testovima u pilot studiji koja je rađena sa 40 uzoraka plazme i 12 kalibracija. Njegova klinička aplikacija je kasnije potvrđena u studiji sa 120 pacijenata kojima je rađen kardio pulmonarni bajpas (CPB), (52). Kod 45 pacijenata se razvila

AKI, a njena dijagnoza je postavljena sa zakašnjenjem od 2-3 dana, za razlike od plazmatske koncentracije NGAL koja je tri puta porasla unutar 2h. Za „cut.off“ vrednost od 150 ng/ml posle 2h od intervencije, AUC u predikciji AKI je 0,96 sa senzitivnošću od 0,84 i specifičnošću od 0,94. Za ovaj test je potrebno samo 1 mikrolitar plazme i kvantitativni rezultat je gotov unutar 15 minuta. Za kliničku upotrebu je dostupan i urinarni analizator ARCHITECT® (Abbott Diagnostics, Illinois, USA). U pilot studiji sa 136 uzoraka urina i 6 kalibracionih standarda, koncentracija urinarnog NGAL-a određenom sa ARCHITECT® analizatorom je bila odlična u odnosu na nalaze ELISA testa. Njegova klinička aplikacija je kasnije potvrđena i u studiji 196 pacijenata kojima je rađen CPB (41). Dijagnoza AKI na osnovu serumskog kreatinina kasni 2-3 dana posle CPB, dok vrednost urinarnog NGAL-a raste 15x već unutar 2h, a zatim i 25x posle 4-6h od CPB. Za „cut-off“ vrednost od 100 ng/ml NGAL posle 2h, vrednost AUC za predikciju AKI je 0,95, uz senzitivnost od 0,82 i specifičnost od 0,90 (41). Test se jednostavno koristi bez potrebe za sprovođenjem prethodnih manuelnih koraka. Neophodna količina urina je samo 150 µL, a kvantitativni rezultat je dostupan unutar 35 minuta.

#### 1.1.5.2.3. NGAL kao biomarker

##### *Akutno oštećenje bubrega (AKI)*

U poslednjih 10 godina smo svedoci brojnih napredaka u terapiji AKI. I pored toga nije došlo do značajnog smanjenja morbiditeta i mortaliteta. Serumski kreatinin je nesenzitivan i kasni marker AKI (9). Veoma je važno što pre dijagnostikovati AKI kako bi se što pre preduzele prave mere. Sve ovo je dovelo do velikih istraživačkih napora kako bi se otkrili novi markeri AKI. NGAL se pojavljuje kao jedana od molekula koja najviše obećava među brojnim novim potencijalnim biomarkerima (53). Kao što je ranije pomenuto, Mishra i sar., (45), su bili prvi autori koji su sugerisali NGAL kao novi rani biomarker. U mišjem modelu ishemija-reperfuzionog oštećenja koje je nastalo posle 30 minuta od bilateralne arterijske okluzije, NGAL je bio jedan od 7 gena čija je sinteza značajno pokrenuta. NGAL se lako detektovao u urinu već 2h posle ishemije. Interesantno da je povišen NGAL detektovan i kod miševa posle 5 minuta trajanja ishemije, ali posle 6h, zatim posle 4h kod miševa kod kojih je ishemija trajala 10 ili 20 minuta. Stoga, je pokazano da je urinarni NGAL veoma senzitivni marker ishemijske AKI i da njegov nivo korelira sa trajanjem bubrežne ishemije. Dodatno, urinarni NGAL je u mišjem modelu



nefrotoksične AKI bio detektabilan i posle jednog dana od primene cisplatina, sugerišući na taj način njegovu senzitivnost i u drugim modelima tubulskog oštećenja (45). U prospektivnoj studiji koja je obuhvatila 71 dete posle CPB (47), dijagnoza AKI na osnovu serumskog kreatinina je bila moguća posle 1-3 dana. Urinarni NGAL posle 2h je bio naj snažniji nezavisni prediktor nastanka AKI sa AUC od 0,998. „Cut-off“ vrednost od 50 µg/L je bila senzitivna 100% i specifična od 98% u ovoj predikciji. Slično je i „cut-off“ vrednost plazmatskog NGAL od 25 µg/L imala senzitivnost od 70% i specifičnost od 90% u predikciji nastanka AKI uz AUC od 0,91. U drugoj prospektivnoj studiji koja je obuhvatila 91 dete sa urođenom srčanom manom, pokazano je da su i urinarni i plazmatski NGAL faktori predikcije za nastanak CI-AKI unutar 2h od elektivne kateterizacije srca (54). Zapitelli i sar., (55) su ispitivali vrednost urinarnog NGAL kod 140 pacijenata na MV. Pokazali su da urinarni NGAL poraste značajno (> 6 puta), i to 2 dana ranije u odnosu na serumski kreatinin. Takođe su pokazali da njegov nivo korelira sa težinom AKI. Serumski NGAL je takođe ispitivan kod 143 kritično bolesne dece sa sistemskim inflamatornim odgovorom (SIRS) ili septičkim šokom unutar 24h od prijema u jedinicu intenzivne nege (56). Pokazano je da je u ovoj populaciji bolesnika visoko senzitivna ali nespecifičan marker AKI (senzitivnost 84%, specifičnost 39%). U meta analizi je potvrđen podjednak dijagnostički značaj serumskog i urinarnog NGAL u nastanku AKI (10). U odsustvu značajnog porasta SCr, NGAL može detektovati bolesnike sa subkliničkim oštećenjem bubrežne funkcije koji takođe povećava rizik za nastanak neželjenog ishoda (36). U studiji od 196 dece posle CPB, urinarni NGAL 2h posle operacije je bio dobar prediktor potrebe za terapijom zamene bubrežne funkcije, dužinom hospitalizacije i mortalitetom (41).

#### 1.1.5.3. „Kidney injury molecule -1“, KIM-1

Oštećenje ćelijskog epitela je fundamentalni događaj u patofiziologiji akutnog oštećenja bubrega, a S3 segment proksimalnog tubula je posebno osetljiv na ovo ishemijsko i toksično oštećenje (57). Za razliku od mozga i srca, kod kojih tkivno oštećeno ishemijskom ne može da se oporavi, bubreg sa svojom kompleksnom arhitekturom ima sposobnost oporavka kako funkcionalnog tako i morfološkog. „Kidney injury molecule-1 (KIM-1)“, takođe poznat i kao HAVCR („hepatitis A virus cellular receptor“) i TIM-1 („T cell immunoglobulin and mucin protein“), je zapravo transmembranski glikoprotein tip 1 koji se značajno eksprimira posle ishemijskog ili toksičnog

oštećenja bubrega (kako humanih, tako i kod pacova) i to u epitelnim ćelijama proksimalnog tubula. KIM-1 protein je primarno lokalizovan u apikalnoj membrani ćelije, a njegov ektodomen se pod uticajem visoko regulisanih procesa iseca posle čega dolazi do oslobađanja solubilne komponente KIM-1 u urin. U prekliničkim studijama je pokazano da je urinarni KIM-1 biomarker koji veoma obećava i koji prevazilazi tradicionalne biomarkere bubrežnog oštećenja (57). KIM-1 je zapravo fosfatidil serinski receptor koji prepoznaje apoptotične ćelije i usmerava ih ka lizozomima. Takođe, služi i kao receptor za oksidirane lipoproteine na taj način vešto prepoznaje signal koji šalju ćelije podvrgnute apoptozi sa svojim tzv. 'eat me' signalom. Uzimajući u obzir sve ove osobine KIM-1 molekule, može se reći da je ona jedinstvena po tome što predstavlja prvi ne-mijeloidni fosfatidil-serinski receptor koji epitelne ćelije transformiše u semi-profesionalne fagocite (58). Pored ubrzanog klirensa apoptotičnog debrisa iz tubularnog lumena, KIM-1 ima značajnu ulogu i u ograničavanju autoimunog odgovora na oštećenje. Ovo proističe iz činjenice da je fagocitoza apoptotičnih ćelija jedan od mehanizama kojim se limitira proinflamatorni odgovor. Ektodomen KIM-1 se oslobađa u urin posle oštećenja proksimalnih tubula ili pak kod pacijenata sa renalnim karcinomom („clear type renal cell carcinoma, RCC“). Ovo je potvrđeno i in vitro i in vivo na humanim i ćelijama pacova (59). Ovo oslobađanje solubilnog KIM-1 u urin se dešava zahvaljujući aktivnosti metaloproteinaza. Posle tubulskog oštećenja u cilju reparacije epitelnog integriteta i funkcije, odvija se nekoliko sekvencijalnih događaja koji uključuju ćelijsku migraciju, proliferaciju i diferencijaciju. Pokretanje regenerisanih ćelija da bi se pokrila ogoljena bazalna membrana predstavlja jedan od prvih mehanizama oporavka epitela. Jedno od novijih istraživanja Zhang-a i sar. (57), je pokazalo da pojačanje ekspresije KIM-1 podstiče ćelijski oporavak, najverovatnije podstičući migraciju ćelija na matriks bazalne membrane i proliferaciju renalnih tubulskih ćelija. KIM-1 takođe indukuje i stalnu i snažnu aktivaciju ERK MAPK („mitogen-activated protein kinases“, originalno nazvan „ERK, extracellular signal-regulated kinases“) signalnog puta, putem koga se najverovatnije i obavljaju njegove ćelijske funkcije. Modulacija ekspresije KIM-1 u epitelnim tubulskim ćelijama bi mogla predstavljati novi terapijski pristup koji bi pospešio oporavak posle akutnog bubrežnog oštećenja.

### *KIM-1 kao biomarker*

Na animalnim modelima je publikovano mnogo studija koje pokazuju značaj urinarnog KIM-1 kao neinvazivnog markera bubrežnog oštećenja. Delimičnu lista animalnih modela i kliničkih stanja u kojima je ispitivan značaj urinarnog KIM-1 predstavljaju: ishemija i oštećenje posredovano angiotenzinom u Ret pacova, dejstva raznih toksina poput cisplatina, S - (1,1,2,2-tetrafluoroethyl)-1-cysteine (TFEC), folne kiseline, gentamicina, žive, hroma, kadmijuma, jodnih kontrasta, vakomicina, ohratoksina A, ciklosporina, zatim nefropatija izazvanim prekomernim izlučivanjem proteina i starenjem (60). Prve studije o KIM-1 u humanoj populaciji su publikovane 2002. godine (59) gde su autori pokazali da je u patohistološkim preparatima kod pacijenata sa akutnom tubulskom nekrozom značajno povećana ekspresija KIM-1 kao i da se u slučaju klinički signifikantne AKI u urinu pacijenata nalazi jako visok nivo ektodomene KIM-1. Urinarni KIM-1 se eksprimira unutar 12 h od inicijalnog ishemijskog inzulata, raste pre pojave cilindara u urinu, pre regeneracije epitela i potom perzistira tokom vremena. Pokazano je da je posle primene kontrasta, nivo urinarnog KIM-1 manji u lakšim slučajevima CI-AKI. Takođe, urini pacijenata sa diabetikom i SLE nefropatijom koji imaju značajne proteinurije (>3g/dan), ali koji istovremeno nemaju znake nekroze u sedimentu urina, nemaju ni povišene nivoe urinarnog KIM-1 proteina. Stoga, proteinurija visokog ranga ne utiče na ekskretorni profil urinarnog KIM-1. Normalizacija vrednosti urinarnog KIM-1 prema koncentraciji kreatinina nosi sa sobom izvesna ograničenja obzirom da se bolesnici sa akutnim oštećenjem bubrežne funkcije ne nalaze u uravnoteženom stanju što se balansa kreatinina tiče. Nestabilna koncentracija kreatinina može značajno da utiče na ove rezultate. Da bi se ove nejasnoće maksimalno izbegle Han i sar. (59) su koristili i normalizovane i ne-normalizovane prema kreatininu vrednosti urinarnog KIM-1 i pokazali da se rezultati nisu značajno razlikovali. Zaključili su da se solubilna forma KIM-1 detektuje u urinu pacijenata sa AKI i da može da posluži kao novi biomarker oštećenja proksimalnog tubula. Han i sar. su u kasnijem radu pokazali da je KIM-1 senzitivian marker oštećenja bubrega kod dece koja se podvrgavaju kardiohirurškim operacijama (61). Liangos i sar., su evaluirali značaj urinarnog KIM-1 i drugog biomarkera, N-acetilglukozaminidaze (NAG) kod 201 pacijenta sa klinički potvrđnom AKI i pokazali su da su oba urinarna nivoa značajno održena sa mortalitetom i potrebom za obavljanje dijalize, čak i

posle korekcije u odnosu na težinu bolesti i komorbiditete (62). Vaidya i sar. su u studiji od 204 pacijenta sa ili bez dokumentovane AKI evaluirali značaj devet urinarnih biomarkera: KIM-1, NGAL, interleukin-18 (IL-18), hepatocitni faktor rasta (HGF), cistatin C, N-acetil-β-d-glukozaminidaza (NAG), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), hemokin interferon-inducibilni protein 10 (IP-10;CXCL 10) i ukupni urinarni proteini. Kada su bolesnici sa AKI poređeni sa zdravim kontrolama, AUC za KIM-1 je bio 0,95. Kombinacijom biomarkera uz upotrebu logističnog regresionog modela [skor rizika za AKI od  $2.93 \times (\text{NGAL} > 5.72 \text{ and HGF} > 0.17) + 2.93 \times (\text{PROTEIN} > 0.22) - 2 \times (\text{KIM} < 0.58)$ ] dobije se značajno bolji AUC (0.94) nego u slučaju individualnih biomarkera. Korekcija u odnosu na uzrast je pokazala da su nivoi urinarnog KIM-1, NAG, HGF, VEGF i ukupnih proteina značajno viši kod bolesnika koji su zahtevali dijalizu ili su pak završili smrtnim ishodom (63).

## 1.2. Kontrasti na bazi joda

Radiokontrasti su esencijalna sredstva u radiologiji. Do otkrića joda kao bezbednog kontrastnog sredstva je došlo akcidentalno. U ranim 1920-im kada su se preparati joda koristili u terapiji sifilisa, Osborne i saradnici su primetili da je urin pacijenta radiopakan. Prvi uspešan klinički pijelogram je načinjen 1923 godine na Mayo klinici. Od 1950 godine počinju da se široko upotrebljavaju organska radiokontrastna sredstva koja postaju najpropisivanija sredstva u istoriji moderne medicine (64). Osnovna podela jodnih kontrastnih sredstava je u dve grupe: jonska i nejonska kontrastna sredstva. Jonski jodni kontrasti disociraju u vodi, dok nejonska nemaju mogućnost disociranja u vodi ali i dalje zadržavaju određeni stepen hidrofилnosti. Odnos atoma joda i rastvorenih čestica je veoma značajna karakteristika kontrasta. Poželjno je da ovaj odnos bude što veći jer više joda označava bolju opacifikaciju, a manje rastvorenih čestica znači i manji osmotski efekat. Prema ovom odnosu je i izvršena dalja klasifikacija jodnih kontrastnih sredstava (32):

1. Visoko osmolarni kontrasti („High osmolarity contrast media-HOCM“) predstavljaju prvu generaciju ovih kontrasta i njihov odnos je 1,5 (npr., za svaka tri atoma joda prisutne su dve čestice u rastvoru (odnos 3:2). Njihova osmolarnost je od 1500 do 2000 mOsm/kg, dok je osmolarnost humane plazme 290 mOsm/kg. Ova sredstva su jonski monomeri (npr., diatrizoična kiselina) koji sadrže jonsku karboksilnu grupu vezanu za prvi atom ugljenika benzenskog prstena koji sadrži jod.

2. Nisko osmolarni kontrasti („Low Osmolality Contrast Media- LCOM“) su predstavnici druge generacije jodnih kontrasta i kod njih je odnos joda i rastvorenih čestica 3, a osmolalnost se kreće od 600 do 1000 mOsm/kg (2-3 puta veća od plazme). Mogu biti u formi nejonskih monomera bez karboksilne grupe i u formi jonskih dimera čiji rastvor ima nešto niži osmolalitet u odnosu na nejonske monomere. Trenutno dostupni LCOM u kliničkoj praksi su: jonski dimer ioxalate (Hexabrix), i brojni nejonski monomeri poput iohexola (Omnipaque), iopamidola (Niopam), iomeprola (Iomeron), iopromide-a (Ultravist), ioversola (Optiray), iobitridola (Xenetix) i iopentola (Imagopaque).
3. Izoosmolarna kontrastna sredstva („Isoosmolar Contrast Media- ICOM“) predstavljaju treću generaciju jodnih kontrastnih sredstava. Odnos atoma joda u odnosu na rastvorene čestice je 6 i njihova osmolalnost kao što im i samo ime kaže je ista kao i plazme (280-290 mOsm/kg). Ovo su dimeri, tj. vezani su u po dve molekule koje dele sporedni bočni lanac i na taj način imaju nešto veću viskoznost u odnosu na kontraste prethodne generacije. Jedini kontrast iz ove grupe odobren za intravaskularnu primenu je iodixanol (Visipaque) i sa koncentracijom joda od 320 mg/ml.

Cilj proizvodnje kontrasta u kome je objedinjena visoka atenuacija sa redukovanim neželjenim efektima rezultirala je u pojavi brojnih familija kontrasta sa različitim fizikohemijskim osobinama i fiziološkim efektima. Agensi poput diatrizoata su proizvedeni kao polarni (jonski) i predstavljaju visoko koncentrovane rastvore (visoko osmolarni) u cilju da obezbede dobru vizualizaciju i rastvorljivost u vodi (65). Premda ovi HCOM kontrasti omogućavaju veoma dobru opacifikaciju i malih struktura, veoma često su doveli do značajnih pseudoalergijskih reakcija kao i nefrotoksičnosti pogotovo kod pacijenata visokog rizika. Kod bolesnika sa CKD (preračunati GFR <60ml/min), primena HCOM prouzrokuje dva puta veću incidencu CI-AKI u odnosu na bolesnike sa normalnom bubrežnom funkcijom (66). Sledeća generacija kontrastnih sredstava (LCOM) ima osmolarnost bar 2-3 puta manju od ove prve i većina komponenti iz ove grupe su nejonski kontrasti, izuzev ioxalate-a koji je jedini jonski. Premda LCOM predstavljaju veliki napredak, njihova osmolalnost je i dalje značajno veća od plazme i još uvek mogu da dovedu do razvoja CI-AKI, doduše kod znatno manjeg procenta rizičnih bolesnika.

### 1.2.1. Patofiziologija CI-AKI kod jodnih kontrasta

Do danas je razumevanje patofiziologije oštećenja bubrega posle primene kontrasta nekompletno. Veruje se da je u ovaj mehanizam uključen pre svega direktni citotoksični efekat kontrastnog sredstva na tkivo bubrega i poremećaj renalne hemo i tubulske dinamike (32).

#### 1.2.1.1. Citotoksični efekat jodnog kontrasta – model ćelijske kulture

Dobro je poznata citotoksičnost joda prema bakterijama. Slobodni, nevezani jod ( $I_2$ ), kao i njegova polarizovana forma ( $H_2OI^+$ ) su odgovorni za antimikrobno dejstvo preparata joda. Smatra se da ove dve forme joda vezuju aminokiseline koje se nalaze u sastavu proteina ćelijske membrane, oštećuju ih i dovode do gubitka membranskog integriteta. Putem sličnog procesa, ispoljavaju i direktnu toksičnost na ćelijama tubula bubrega i njegove vaskulature uzrokujući oštećenje međućelijskih veza (32), pre svega tzv., “tight junctions“.

##### 1.2.1.1.1. Direktno toksično dejstvo na tubulske ćelije

Visoka viskoznost kontrastnih sredstava dovodi do povećanja viskoznosti tubularnog fluida čime se usporava njegov protok i dolazi do prolongirane retencije samog kontrasta. Izoosmolarni kontrasti imaju veću viskoznost u odnosu na niskoosmolarnu tako da takođe povećavaju viskoznost tubulske tečnosti (67). Jodna kontrastna sredstva smanjuju viabilnost bubrežnih ćelija u kulturi tkiva i indukuju apoptozu. Drugi toksični efekti obuhvataju oštećenje ćelijskog energetskog kapaciteta, poremećaj metabolizma kalcijuma i promenu polariteta tubulskih ćelija (65). Najčešća histopatološka karakteristika ovog poremećaja je intenzivna fokalna ili difuzna vakuolizacija ćelija proksimalnih tubula koja može da dovede i do tubulske nekroze, ranijeg naziva “osmotska nefroza” (65).

##### 1.2.1.1.2. Efekat vazokonstrikcije na protok krvi u bubrežima

U eksperimentalnim modelima je dobro dokumentovana vazokonstrikcija i redukcija protoka krvi kroz bubrege ubrzo po primeni kontrasta (68). U animalnim modelima je utvrđen bifazični hemodinamski odgovor. U ranim radovima Morris i koautori su koristeći pseći model (69) pokazali da intraarterijalna primena kontrasta inicijalno dovodi do vazodilatacije, a potom do prolongirane vazokonstrikcije sa posledičnim smanjenjem protoka krvi u bubrežima. Slične rezultate na arterijama psa su dobili i Bakris i saradnici koji su pokazali da intrarterijalna infuzija

visokoosmolarnog kontrasta dovodi do kratkotrajne vazodilatacije, a potom do intezivne, prolongirane, u trajanju od tri sata, konstrikcije bubrežne vaskularne mreže (70). Premda mehanizam ove vazokonstrikcije nije u potpunosti poznat, ovi istraživači su demonstrirali da je u vazokonstriktornoj postkontrastnoj fazi značajan influks kalcijuma. Na primer, kada se životinje pre ekspozicije kontrastu tretiraju nekim od kalcijumskih blokatora (diltiazem ili verapamil) ili drugih nespecifičnim helatorima, dolazi do značajnog umanjenja vazokonstrikcije (70). Nygren i sar. (71) su pokazali da promene u bubrežnom protoku pod uticajem kontrasta nisu uniformne, već regionalno raspoređene. Oni su koristeći eritocite obeležene hromijumom-51 i tehniku laserskog doplera pokazali da infuzija iohexola povećava protok krvi kroz koru bubrega za 20%, dok istovremeno dolazi do redukcije protoka kroz spoljnu medulu za 40%. Selektivna redukcija spoljnog medularnog protoka i rezultirajuća hipoksija mogu doprineti nastanku histopatološkog nalaza koji se viđa u modelima kontrastne nefropatije. Spoljašnja medula bubrega je posebno osetljiva na hipoksiju. Ovo je zbog velike apsorptivne aktivnosti medule što povećava njene zahteve za kiseonikom. Dostava kiseonika u spoljnu medulu je inače niska zbog difuzije kroz arteriovenski šant i velike distance između tubulskih ćelija i krvnih sudova „descending vasa recta (DVR)“ kojima krv stiže u medulu. DVR su tanki (12-15  $\mu\text{m}$  u poprečnom preseku) krvni sudovi koji potiču od eferentnih arteriola jukstamedularnih nefrona (72). Endotel ovih krvnih sudova je okružen pericitima koji imaju sposobnost aktivne kontrakcije (posebno u odgovoru na angiotenzin II, endotelin, smanjenu količinu azot oksida (NO)), a samim tim i kontrole medularnog protoka krvi (72). Intraluminalna aplikacija kontrastnih sredstava uzrokuje vazokonstrikciju DVR uzrokovanu redukcijom NO, koja se dalje pojačava u odgovor na angiotenzin II. Citotoksični efekat kontrasta na endotel može povećati oksidativni stres ili biti delom izazvan njime dovodeći do dalje vazokonstrikcije DVR (73). Ako se uzme u obzir veličina DVR, njihova konstrikcija može fizički dovesti do potpune blokade u protoku krvnih ćelija. Kontrast nepovoljno utiče na morfologiju eritrocita smanjujući njihovu plastičnost, ubrzavajući agregaciju što ima nepovoljan reološki efekat (74). Pored medularne vazokonstrikcije, kontrast može dovesti i do kortikalne vazokonstrikcije pomerajući balans između vazodilatatornih i vazokonstriktornih faktora na stranu vazokonstrikcije (32). Kortikalna, preciznije preglomerularna vazokonstrikcija, predstavlja glavni razlog redukcije GFR posle primene kontrasta. Preglomerularna konstrikcija može istovremeno redukovati i medularni protok krvi obzirom da DVR potiču od eferentnih arteriola.

#### 1.2.1.1.3. Reperfuzija i stvaranje reaktivnih kiseoničnih radikala

Dodatno oštećenje tkiva bubrega može nastati kada hipoperfuzija tkiva dovede do stvaranja reaktivnih kiseoničnih radikala koji prevazilaze antioksidantne rezerve pacijenta. Sposobnost akomodacije organizma na oštećenja pod uticajem kiseoničnih radikala se smanjuje sa starošću, tako da se smatra da je to značajan doprinoseći faktor povećanog rizika za CI-AKI u starijoj populaciji. Pored toga stanje povišenog oksidativnog stresa je prisutno kod bolesnika sa CKD i kod dijabetičara (65). Postoji nekoliko podataka o ulozi reaktivnih kiseoničnih radikala u nastanku CI-AKI. Heyman i saradnici (75) su na animalnom modelu kontrastne nefropatije istražujući efekat iohalamate-a, pokazali da primena NAC može da blokira preusmeravanje krvi od spoljnje medule ka korteksu. U studiji o ulozi oksidativnog stresa posle administracije kontrasta, Sandhu i sar., (76) su merili povećanje urinarnog odnosa malonildialdehida i kreatinina kao markera oksidativnog stresa. Ovaj odnos se povećava posle infuzije kontrasta, sugerišući vezu između primene kontrasta i stvaranja slobodnih radikala. U studiji Fiaccadori-ja i kolega, pacijentima je meren nivo 3-nitro-tirozina (marker stvaranja peroksinitrita iz superoksida) u plazmi i urinu posle kateterizacije srca (77). Urinarni 3-nitrotirozin je pokazao značajan kratkotrajan porast posle kateterizacije, dok je plazma nivo ostao povišen i do 72h od navedene procedure. Drager i sar. (78) su koristili urinarni nivo F2-izoprostana kao drugog markera oksidativnog stresa i pokazali su da je kod pacijenata sa CKD reperfuziono oštećenje evidentno odmah po učinjenoj koronarnoj angiografiji.

#### 1.2.2. Efekti jodnih kontrastnih sredstava na protok krvi u bubrezima u humanoj populaciji

Studije u kojima je izučavan efekat kontrasta na protok plazme u bubrezima kod ljudi, dale su nam konfliktne rezultate. Early i sar. (79) su određivali klirens para amino hipurata kod 39 pacijenata koji su išli na CT snimanje i nisu pokazali nikakve promene u protoku plazme 4 h posle aplikacije kontrasta. Russo i saradnici (68) su direktno merili bubrežni protok plazme pomoću klirensa para-aminohipurata kod 28 pacijenata kojima je rađena intravenska urografija i pri tome su registrovali smanjenje protoka plazme za 15%-35%, i to unutar 20-120 minuta. Još značajnija je činjenica da je 2 sata posle infuzije kontrasta, protok plazme ostao na 36% ispod bazalnih vrednosti. Značajan pad je zabeležen posle primene HOCM u odnosu na LOCM (80).



Na primer, Gruskin i sar., (81) su kod dece sa urođenim srčanim manama posle kateterizacije srca zabeležili značajnu redukciju protoka krvi, ali su ove promene bile ograničene na spoljni korteks. U suprotnosti sa ovim nalazima, Weisberg i sar., (82) nisu uspeli da utvrde bilo kakvu povezanost između promena u bubrežnom protoku krvi i razvoja CI-AKI posle kateterizacije srca. Interesantno, da je najveća incidenca CI-AKI bila kod pacijenata sa najvećim porastom bubrežnog protoka krvi, navodeći ove istraživače na zaključak da promene u bubrežnom protoku krvi ne doprinose patogenezi CI-AKI (82). Međutim, ove studije su merile samo totalni protok krvi u bubrezima, bez istraživanja regionalnih promena. Stoga je moguće da je veća incidenca CI-AKI kod pacijenata sa povećanim totalnim protokom krvi kroz bubrege zapravo refleksija većeg preusmeravanja, „šantiranja“ krvi ka korteksu uz istovremeno pogoršanje medularne hipoksije. U prilog ovih zaključaka idu i nalazi postmortem studije kod 34 odojčeta koja su umrla posle kateterizacije srca. Histološki pregled tkiva bubrega je otkrio blagu vakuolizaciju u ćelijama proksimalnog tubula, ali je istovremeno nađena i jasna nekroza unutar spoljnje medule (83).

#### 1.2.2.1. Niska frakciona ekskrecija natrijuma u CI-AKI

Frakciona ekskrecija natrijuma ( $FE_{Na}$ ) je indikator tubulske funkcije i koristi se za diferenciranje prerenalne azotemije od akutne tubulske nekroze kod pacijenata sa oligurijom. Niske vrednosti koncentracije urinarnog natrijuma i njegove frakcione ekskrecije su pronađeni kod 12 pacijenata sa CI-AKI, a nastaje ili zbog smanjene renalne perfuzije ili akutne tubulske opstrukcije (65). I drugi su pronalazili niske urinarne koncentracije natrijuma. Međutim, ovi podaci su nekonzistentni, tako da su pojedini autori opisivali i povećanu urinarnu koncentraciju natrijuma uz povećanje njegove  $FE_{Na}$  (68).

#### 1.2.3. Put primene kontrasta

Smatra se da intraarterijalna administracija kontrasta u odnosu na intravensku dovodi do češće pojave CI-AKI, pogotovo ako se kontrast ubrizgava neposredno iznad renalnih arterija zbog direktnog opterećenja bubrega kontrastom. Katzberg i sar., (84) su u studiji koja je obuhvatila 1075 bolesnika sa CKD pokazali da posle intravenske primene kontrasta u cilju kompjuterizovane tomografije, niti jedan pacijent nije zahtevao dijalizu i nije bilo smrtnih ishoda. Sa druge strane, kod intraarterijalne primene kontrasta potreba za kasnijim sprovođenjem

dijalize varira između 0,7% na nivou opšte populacije do 7% kod bolesnika sa CKD (85). Prema konczensusu Komiteta za bezbednost primene kontrasta, rizik za nastanak CI-AKI je značajno manji posle intravenske primene kontrasta u odnosu na intraarterijsku (11). Njihov zaključak je da CKD sa  $eGFR < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  predstavlja faktor rizika za intraarterijalnu primenu kontrasta, u poređenju sa bolesnicima kod kojih se primenjuje intravenski kontrast (11,86). Karlsberg i saradnici su poredili intravensku i intraarterijsku primenu jodnog kontrasta kod 264 bolesnika kojima su sukcesivno odrađene dve procedure: prvo CT snimanje, i potom posle 3-14 dana angiografija aortofemoralnih arterija (87). Autori nisu pronašli razliku u incidenci CI-AKI između ove dve grupe snimanja (7.6% posle intravenske primene iodixanola i 8.7% posle angiografije i intrarterijske primene iodixanola). Zaključili su da intravenska primena jodnog kontrasta može da bude podjednako nefrotoksična kao i intraarterijska. Oni su takođe zaključili da je većina intraarterijskih injekcija (pored koronarnih i subklavijalnih arterija) uglavnom intravenska za bubrege, obzirom da kontrast mora da prođe venski sistem dok stigne do bubrega (npr., karotidni, celijačni, distalni aortni, aortofemoralni „imaging“).

#### 1.2.4. Doza primenjenog kontrasta

Postoje različiti izveštaji o tome da li količina primenjenog kontrasta determiniše nastanak CI-AKI. Manje prospektivne studije nisu potvrdile ovu udruženost (88) dok su velike retrospektivne analize baza podataka potvrdile udruženost količine kontrasta i rizika za nastanak AKI (89). Postavljen je limit u količini primljenog kontrasta od maksimalno 300 ml (5 ml/kg podeljen sa serumskim kreatininom u mg/dl) koji je značajan prediktivni faktor za nastanak CI-AKI (90). Ova formula je primenjena retrospektivno na 16 592 pacijenta kojima je rađena kateterizacija srca a u cilju određivanja njene prediktivnosti za sprovođenje postproceduralne dijalize. Pacijenti koji su primili kontrast u količini većoj od 5 ml/kg/Scr su pod 6 puta većim rizikom da razviju nefropatiju koja zahteva dijalizu (89). Dalje se koristila i druga formula koja je uzimala u obzir odnos volumena kontrasta i klirensa kreatinina ( $v/CrCl$ ) (91). Odnos volumena kontrasta i klirensa kreatinina koji je ispod 3,7 se smatra sigurnim limitom (92). Nyman i sar. su ustanovili indeks procene za nastanak AKI na osnovu grama joda prema eGFR. Ako je ovaj indeks  $< 1$ , rizik za CI-AKI je bio 3%, dok je 25% ako je  $\text{gm joda/eGFR} \geq 1$ , (93). Ove preporuke daju ideje za nove studije, ali je pored svih napora jasno da ne postoji „safe“ doza kontrasta i da čak i

vrlo limitirane doze od manje od 100 ml mogu kod visoko rizičnih pacijenata dovesti do nastanka CI-AKI (32). Trenutni generalni konzensus koji postoji za sve pacijenti je taj da se primeni minimalna količina kontrasta da bismo dobili odgovor na kliničko pitanje zbog koga smo ovaj kontrast i primenili (11).

### **1.3. Kontrastna sredstva na bazi gadolinijuma**

Kontrastna sredstva na bazi gadolinijum („gadolinium basedd contrast media“ GBCM) su inicijalno uvedena u upotrebu kod snimanja magnetnom rezonancom (MR) i najčešće se primenjuju intravenski. Povremeno, mogu da se ubrizgavaju i intraarterijski kao zamena za jodna kontrastna sredstva tokom konvencionalne digitalne subtracione angiografije (DSA). Ova sredstva uspešno pojačavaju signal prilikom snimanja MR i obezbeđuju oštriju sliku (94).

#### 1.3.1. Struktura i farmakokinetika gadolinijumskih kontrasta

Gadolinium je trivalentni katjon ( $Gd^{3+}$ ) iz grupe lantanida sa paramagnetskim osobinama i kao slobodan jon je izrazito toksičan obzirom da ispoljava kompeticiju u odnosu na kalcijum. Kada se veže ili helira za organski ligand, smatra se generalno bezbednim sredstvom za upotrebu tokom MR. Njegova helacija takođe poboljšava i hidrosolubilnost (95). Trenutno su brojni preparati GBCM-a odobreni u SAD i/ ili Evropi: gadobenate disodium, gadodiamide, gadobutrol, gadoverstamide, gadoxetate disodium, gadofosveset trisodium. Kontrasti na bazi gadolinijuma se klasifikuju na osnovu: sposobnosti da vezuju albumine, biohemijske strukture ili pak jonizacije (jonska vs. nejonska sredstva), (95). Prema biohemijskoj strukturi postoje dve grupe ovih kontrasta: (a) makrociklične molekule, gde je Gd zarobljen kao u kavezu u svom helatu i (b) linearne molekule (94). Ovi helati Gd obezbeđuju i do 500 puta veću bubrežnu ekskreciju u odnosu na slobodan gadolinijum (96). Makrociklični helati imaju tendencu da mnogo snažnije vezuju helate gadolinijuma tako da su teoretski mnogo stabilniji u odnosu na linearne formulacije, tj. sa manjom verovatnoćom oslobađanja slobodnog gadolinijuma koji može da izazove toksične reakcije. I pored toga, većina odobrenih preparata i u Evropi i SAD su linearna jedinjenja. Tipična doza GBCM koja se koristi tokom MR je 0,1 mmol/kg, a kada se radi MR angiografija, obično su potrebne veće doze (0,2-0,4 mmol/kg), (94). Helati gadolinijuma i jodna kontrastna sredstva imaju sličnu farmakokinetiku (96). Farmakokinetika većine GBCM je slična

i oni rapidno dosežu ravnotežu između plazme i intersticijalnih odeljaka. Ovi helati su rastvorljivi u vodi, po distribuiranju u ekstracelularnim prostorima se ne metabolišu, te se tako nepromenjeni izlučuju bubrezima (većinom glomerulskom filtracijom, bez dodatne tubulske sekrecije). Naravno da ima i izuzetaka. Gadoksetate disodium ulazi i u ćelije jetre tako da se izlučuje, pored urina i fecesom. Ova vrsta GBCM se uspešno koristi za MR u patologiji jetre. Generalno GBCM nisu vezani za proteine i ne izlučuju se fecesom izuzev gadobenate-a i gadofosvesta (95). Kod osoba sa normalnom bubrežnom funkcijom, polu-život GBCM je oko 1,5 sat i oko 90% se izluči posle 24h (95). Njihova molekularna težina je između 559 i 1058 Daltona. GBCM se razlikuju međusobno i po svom osmolalitetu i viskoznosti. Nisu opisane razlike u kvalitetu slike između jonskih i nejonskih formulacija kontrastnih sredstava na bazi gadolinijuma. Međutim, nejonski oblici u principu imaju niži osmolalitet i viskoznost (94). Jonska i sredstva srednje vrednosti osmolaliteta češće prouzrokuju nekrozu tkiva u slučaju ekstravazacije za razliku od nejonskih koji su u ovim situacijama znatno manje toksični (94). Nejonske formule, pogotovo nejonske linearne, slabije vezuju  $Gd^{3+}$  u poređenju sa jonskim preparatima (94). Kao što je pomenuto, za humanu upotrebu, neophodno je da se gadolinijum veže sa ligandom, tj. helira kako bi mu se redukovala toksičnost. Iz rezultata animalnih studija, poznato je da je helat gadolinijuma i 100 puta manje toksičan (95). Značaj renalnog klirensa u farmakokinetickom profilu gadolinijumskih helata su pokazale studije kod pacijenata sa narušenom funkcijom bubrega. U jednoj studiji (97), pokazano je, da je volumen distribucije gadobenat dimeglumina datog intravenski u dozi od 0,2 mmol/kg sličan kod bolesnika sa umerenom (klirens kreatinina 31-60 ml/min) i teškom (klirens kreatinina 15-30 ml/min) CKD, ali je srednje vreme poluživota bilo značajno duže kod bolesnika sa umerenom (5,6 sati) i teškom (9,2 sata) CKD u odnosu na zdrave individue (2 sata). Poluvreme eliminacije gadodiamida je veoma produženo ( $34,3 \pm 22,9$ ) kod bolesnika na dijalizi (98). Tokom hemodijalizne sesije se prosečno 65% ubrizganog gadodiamida eliminiše. A kod pacijenata na peritonealnoj dijalizi se posle 2 sata eliminiše čak 69% od ukupne količine gadodiamida.

### 1.3.2. Mogući mehanizam nefrotoksičnosti GBCM

Gadolinijumski helati su hipertoni sa osmolalitetom koji je 2-7 puta veći u odnosu na plazmu. Oni su visoko hidrofилni sa osobinama bioloških inertnih supstanci poput manitola ili inulina. Ovi helati se, poput jodnih kontrastnih sredstava, ne apsorbuju u epitelne tubulske ćelije, što im daje

neke slične karakteristike (96), premda ove dve klase preparata imaju potpuno različitu hemijsku strukturu. Poput jednog kontrasta, helati gadolinijuma mogu iskazati svoj direktan citotoksični efekat na tubulske ćelije. Premda ovi helati imaju visok afinitet za gadolinijum, slobodni  $Gd^{3+}$  jon može da se oslobodi iz njih u slučaju prisustva visokih koncentracija kompetirajućih katjona poput bakra i zinka. U tom slučaju kompleksi gadolinijuma mogu da prolongirano ostanu u organizmu, pogotovo u pacijenata sa oštećenom bubrežnom funkcijom. Cirkulišući katjoni u telu (bakar, cink, kalcijum i gvožđe) mogu istisnuti gadolinijum iz njegovog helatnog kompleksa i dovesti do oslobađanja slobodnog gadolinijum jona (96). Ovaj proces se naziva transmetalacija, i zabeležen je i u in vitro i in vivo studijama (96).

### 1.3.3. Odsustvo značajne nefrotoksičnosti GBCM

Rani istraživački radovi su pokazali da su gadolinijumski kontrasti relativno ne-nefrotoksični kada se porede za jednim kontrastima koji se najviše koriste tokom snimanja X zracima, a to im je dalo značajnu prednost kod bolesnika sa oslabljenom bubrežnom funkcijom.

#### 1.3.3.1. Sigurnost/bezbednost primene GBCM kod bolesnika sa normalnom bubrežnom funkcijom

U velikoj retrospektivnoj analizi medicinskih kartona od 9528 pacijenata (srednjeg uzrasta od 42 godine; od 12-79 godine) koji su od januara 1999 godine do novembra 2004 godine primali GBCM za MR snimanja, incidenca akutnih neželjenih efekata je bila 0,48%, i to 46 neželjenih događaja u 45 pacijenata (urtikarija, raš, konfuzija, vrtoglavica, dispneja, palpitacije, jedan pacijent je razvio anafilaktički šok), (99). Nije bilo zabeleženo da je neko razvio CI-AKI. U drugoj retrospektivnoj studiji (100), evaluirani su kartoni pacijenata od septembra 1993 do avgusta 2004 godine i identifikovani su pacijenti koji su imali dostupne analize serumskog kalcijuma, magnezijuma i kreatinina pre i unutar 1 dan posle primene gadodiamida ili gadopentetate dimeglumina tokom MR snimanja. Istovremeno su evaluirani i pacijenti kojima su rađena dva odvojena snimanja unutar 6 meseci, jedan sa GBCM tokom MR i drugi sa jednom kontrastom. Posle primene gadolinijumskog kontrasta, nije došlo do porasta serumskog kreatinina kod 2788 snimanja kod pacijenata sa normalnom bubrežnom funkcijom. Sa druge strane, posle primene jednog kontrasta, SCr je porastao prosečno sa 1,21mg/dl ( $107\mu\text{mol/l}$ ) na

1,28 mg/dl (113  $\mu$ mol/l). U 254 snimanja kod bolesnika sa CKD, posle primene gadopentetat dimeglumina, zabeleženo je čak tranzitorno smanjenje serumskog kreatinina (sa 3,62 mg/dl [320 $\mu$ mol/l] na 3,49 mg/dl [309 $\mu$ mol/l];  $p = 0,01$ ). Stoga su autori zaključili da je administracija GBCM bezbedna i da ne izaziva nefrotoksičnost. Hoffmann i sar., (101) su evaluirali primenu gadopentetat dimeglumina u srednjoj dozi od 0,14 mmol/l i poredili njegove efekte kod bolesnika sa normalnom bubrežnom funkcijom i preegzistirajućom CKD. Kod 181 pacijenta sa normalnom bubrežnom funkcijom, nije bilo statistički značajnog porasta serumskog kreatinina i klirensa kreatinina posle primene srednje doze od 0,12 mmol/kg $\pm$ 0.04 gadolinijum helata.

### 1.3.3.2. Bezbednost primene GBCM kod pacijenata sa CKD

U jednoj manjoj studiji (102), kod 21 pacijenta sa CKD i prosečnim klirensom kreatinina od 34,5 ml/min $\pm$ 19,2, koja su primala 0,1 mmol/kg gadopentetat dimeglumina, nije bilo statistički značajnog porasta serumskog kreatinina unutar 5 dana od primene GBCM i niti jedan pacijent nije ispunio stari kriterijum za akutnu bubrežnu insuficijenciju (porast SCr  $\geq$ 88,4  $\mu$ mol/l, unutar 48 sati). Druga randomizovana, dvostruko slepa, placebo-kontrolisana studija (97) je ispitala 67 pacijenata sa umerenom CKD (klirens kreatinina, 30-60 ml/min,  $n=50$ ) ili teškom CKD (klirens kreatinina, 10-30 ml/min,  $n=17$ ). Pacijentima je rađena MR posle intravenke primene ili gadobenat dimeglumina u dozi od 0,2 mmol/l ili fiziološkog rastvora kao placebo. Nije zabeležena značajna promena klirensa kreatinina posle 1,2,3,5, i 7 dana od ekspozicije kontrastu u poređenju sa bolesnicima koji su dobili placebo. Spinosa i sar. su 2000 godine (103) objavili u nalaze prospektivne studije u kojima su rađene 42 angiografije donjih ekstremiteta kod 40 pacijenata koji su imali CKD (srednji SCr , 2,2 mg/dl [194 $\mu$ mol/l]) i udruženi diabetes melitus kod 62% bolesnika. Pacijenti su primili iohexol (srednja doza, 53 ml) ili gadodiamid (srednja doza 0,29 mmol/kg) kao suplementacije CO<sub>2</sub>. Neposredno pre procedure, svaki pacijent je hidriran sa 300-500 ml fiziološkog rastvora. CI-AKI (Porast SCr  $>$ 0,5 mg/dl [44 $\mu$ mol/l] unutar 48 sati) se desio u 40% pacijenta u grupi gde je dodavan iohexol u poređenju sa 5% u grupi gde je dodavan gadodiamid ( $p=0,03$ ). U prospektivnoj, randomizovanoj studiji iz 2001 godine (104), 21 pacijent je prema bubrežnoj funkciji podeljen u dve grupe: sa klirensom kreatinina između 30 i 80 ml/min ( $n=12$ ) i sa klirensom kreatinina manjim od 30 ml/min, ali bez onih bolesnika koji zahtevaju dijalizu ( $n=9$ ). Autori su zaključili da gadobutrol ne utiče na bubrežnu funkciju u dozi

od 0,1mmol/l ili 0,3 mmol/l, i da stoga predstavlja bezbedno kontrastno sredstvo za MR kod bolesnika sa narušenom funkcijom bubrega.

#### 1.3.4. Nefrotoksičnost i GBCM

Kao što je već rečeno, kontrasti na bazi gadolinijuma su u poređenju sa jodnim kontrastima dugo vremena smatrani bezbednim i ne-nefrotoksičnim, čak i kada se primenjuju intraarterijski i u relativno visokoj dozi. Činjenica da ova sredstva imaju znatno manju viskoznost i uobičajeno se koriste u manjoj količini (4 do 11 puta manjoj od jodnih), čini ih potencijalno manje nefrotoksičnim. Na primer, tipičan pregled na kompjuterizovanoj tomografiji (CT) zahteva oko 150 ml jodnog kontrasta, dok se tokom tipičnog MR snimanja daje 14 do 42 ml (0,1-0,3 mmol/kg gadolinijumskog kontrasta. Različite animalne studije koje su izučavale bezbednost primene gadolinijumskih kontrasta koristile su doze od 0,6-3,0mmol/kg. U odnosu na humane, ove doze se kreću od velikih (0,6 do 1,0 mmol/l) do masivnih ( 1,0-3,0 mmol/kg), (105). U ovim modelima su posle ekspozicije kontrastu zabeleženi minimalni porasti ureje i kreatinina, kao i blaga povećanja enzima tubulskih ćelija u urinu. Nefrotoksičnost se javljala pri većim dozama (>1,0 mmol/kg), a histopatološki pregledi preparata su pokazali prisustvo vakuolizacije i nekroze u tubulskim ćelijama korteksa bubrega. U literaturi su opisani slučajevi akutne bubrežne insuficijencije kod bolesnika sa CKD koji su primali kontrast na bazi gadolinijuma u dozi od 0,10-0,44 mmol/kg (106-108). U jednom prikazu kod 56 godišnje bolesnice sa hipertenzivnom krizom, na učinjenoj biopsiji bubrega 10 dana od dva uzastopna MR snimanja sa GBCM (primenjene doze od 0,10 i 0,19 mmol/kg gadopentetat dimeglumina), (106) prikazane su karakteristike akutne tubulske nekroze konzistentne sa toksičnošću gadolinijuma, uključujući segmentalnu tubulsku nekrozu, degeneraciju i značajnu proliferaciju tubulskih ćelija, zajedno sa umerenim intersticijskim edemom i inflamacijom, ali bez znaka glomerularnih ili vaskularnih promena. U randomizovanoj, prospektivnoj, kontrolisanoj pilot studiji (109) pacijenata sa srednjim GFR-om od  $31 \text{ ml/min/1,73m}^2 \pm 16$  koji su primali intraarterijalno tokom DSA prosečnu dozu gadobutrola od 0,57 mmol/kg ili 0,6 mmol/kg iohexola-a, incidenca CI-AKI (smanjenje GFR >50% unutar 48h) je bila slična u obe grupe pacijenata. Pet pacijenata ili 45% je razvilo AKI u grupi koja je dobijala jodni kontrast u poređenju sa takođe 5 ili 50% pacijenata koji su dobijali gadobutrol. Pacijenti koji su primili gadobutrol su imali veći pad GFR ( $10,0 \text{ ml/min/1,73m}^2 \pm 13,1$ ) u odnosu na one koji su dobili iohexol ( $8,7 \text{ ml/min/1,73m}^2 \pm 8,8$ ), ali ova

razlika nije imala statističku značajnost. Posle analize literature, Nyman i sar., (110), su zaključili da zahvaljujući svojim fizikohemijskim karakteristikama, helati gadolinijuma u dozi neophodnoj za dobijanje zadovoljavajućih angiograma (generalno,  $>0.3-0,4$  mmol/kg) mogu biti takođe nefrotoksični i da se GBCM ne koriste u dijagnostičke i terapijske svrhe prilikom DSA kod bolesnika sa CKD. Uopšteno se može reći, da većina studija ukazuje na to da je primena GBCM bezbedna, ali jasna nefrotoksičnost izazvana GBCM ipak može da se razvije. Ako pokušavamo sve da sumiramo, može se reći da su GBCM ipak manje nefrotoksični od ICM, i to zbog manje viskoznosti ovih sredstava ili pak mnogo manjeg volumena neophodnog za kontrastna snimanja. Uznapredovala CKD, veća doza i intraarterijalno ubrizgavanje su faktori rizika za razvoj AKI kod ovih pacijenata. Na osnovu ovih literaturnih pokazatelja o nefrotoksičnosti, Evropsko udruženje za urogenitalnu radiologiju (ESUR) i nekoliko autora preporučuju da se GBCM ne upotrebljavaju umesto ICM kod bolesnika sa CKD (96,97). Premda ne postoje preporuke o bezbednosti primene ovih kontrasta kod dece i tokom trudnoće, niti jedan preparat GBCM nije odobren za primenu u trudnoći ili kod dece mlađe od 2 godine.

#### 1.3.5. Nefrogena sistemska fibroza

Rizik za nastanak nefrogene sistemske fibroze (NSF) je veliko pitanje u radiologiji. Prvi put je zapaženo 1997 godine od strane Cowper-a i sar. i opisano 2000 godine (111). Inicijalno je nazvano fibrozirajuća nefrogena dermopatija zbog vidljivih kutanih promena na trupu i ekstremitetima u vidu velikih induriranih plakova i papula kod bolesnika sa CKD (112), i to kao stanje koje dovodi do teškog onesposobljavanja zbog sistemske fibroze, dovodeći do povećanja morbiditeta i mortaliteta. Autori nisu imali ideju šta dovodi do ove pojave i spekulisalo se sa nekim infektivnim ili toksičnim agensima kao uzročnicima. Tako je bilo sve do 2006 godine kada je Grobner nastanak NSF doveo u vezu sa primenom GBC (113). Premda uzrok NSF i dalje ostaje spekulativan, retrospektivne studije su pokazale da sama ekspozicija GBC nije odgovorna za nastanak NSF, već da su u većini slučajeva neophodni i drugi faktori za njen nastanak (114). Ovo stanje je izvanredno retko, ali, kod pacijenata sa značajno redukovanom bubrežnom funkcijom ( $GFR < 30$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>), incidenca je značajno veća, od 2,9 do 4,0% (115). Sadašnja teorija nastanka NSF pretpostavlja da prolongirani klirens GBC kod bolesnika sa oslabljenom bubrežnom funkcijom (115), povećava verovatnoću da helati gadolinijuma podlegnu procesu transmetalacije, tj. da neki od katjona normalno prisutnih u telu zauzme



njihovo mesto u helatu (115), oslobađajući na taj način slobodni gadolinijum koji se onda deponuje u raznim tkivima. U ovaj sindrom je uključen nastanak fibroze u brojnim tkivima poput skeletnih mišića, pluća, testisa, miokarda koje je posebno teško i u pojedinim slučajevima fatalno (114).

## **1.4. Prevencija CI-AKI**

### 1.4.1. Hidratacija

#### 1.4.1.1. Intravenska hidratacija

Adekvatna hidracija pacijenata koji idu na kontrastna snimanja je preporučena još pre više od 40 godina (32). Povoljan efekat hidracije je inicijalno publikovan još u ranim 1980-im godinama u studijama koji su upoređivali dobro hidrirane bolesnike sa istorijskim kontrolama (32). Od tada, razni RCT su potvrdili efikasnost intravenske primene fiziološkog rastvora počevši 12h pre i potom još 12h posle kontrastnog snimanja u prevenciji CI-AKI u odnosu na 0,45% rastvor ili bolus tečnosti pre snimanja (32). Uobičajena brzina infuzije koja se primenjivala je 1 ml/kg/h (32). Ovaj režim je nepraktičan za vanbolničke pacijente. Tako Komitet za bezbednu primenu kontrastnih sredstava (11) preporučuje hidraciju u trajanju od najmanje 6h pre i posle snimanja.

#### 1.4.1.2. Oralna hidratacija

U cilju prevazilaženja ograničenja koje nosi primana intravenske hidracije za pacijente koji su van bolnice, istraživači su preporučili primenu preproceduralne oralne hidracije praćene sa intravenskom postproceduralnom hidracijom na dan izvođenja procedure, kod bolesnika primljenih zbog kateterizacije. Dussol i sar. su randomizovali 312 bolesnika sa CKD u dve grupe. Prva grupa je primala peroralno natrijum hlorid (doza: 1gm/10 kg/dan tokom dva dana pre procedure), a druga intravenski fiziološki rastvor (15 ml/kg) tokom 6h pre procedure. Drugoj, kontrolnoj grupi je dodatno davan teofilin ili furosemid (116). Pokazano je da je u prevenciji CI-AKI oralna hidracija fiziološkim rastvorom podjednako efikasna kao i intravenska. Nedavno su Wróbel i sar., objavili da oralna hidracija mineralnom vodom primenjena brzinom od 1ml/kg/h između 6 i 12 h pre procedure i nastavljena 12 h posle procedure, kao intravenska hidracija sa

fiziološkim rastvorom ima sličan efekat na bubrežnu funkciju kod pacijenata visokog rizika koji su bili podvrgnuti koronarnoj angiografiji ili angioplastici (117).

#### 1.4.1.3. Hidratacija bazirana na natrijum bikarbonatu

Kisela sredina koja je tipična za tubulski urin pospešuje produkciju slobodnih radikala, dok ih pak visok ili normalan pH urina inhibira (32). Obzirom da primena kontrasta povećava oksidativni stres i stvaranje slobodnih radikala i reaktivnih kiseoničnih radikala (ROS), alkalizacija tečnosti tubula bikarbonatima se čini logičnom strategijom u cilju redukcije bubrežnog oštećenja. Takođe, važna je i informacija da spoljna medula koja je najpodložnija nastanku CI-AKI ima kiseo pH koji favorizuje aktivnost reaktivnih kiseoničnih radikala. U fiziološkim koncentracijama, bikarbonati čiste peroksinitrit i druge ROS generisane od strane NO (32). Povoljan efekat višeg pH u proksimalnim tubulima je potvrđen i primenom acetazolamida (inhibitora karbon anhidraze koji blokira reapsorpciju bikarbonata u proksimalnim tubulima) koji je pokazao protektivan efekat u razvoju CI-AKI. Merten i sar., su publikovali prvu studiju o nefroprotektivnom efektu bikarbonata u humanoju populaciji (118). Pacijenti su primali fiziološki rastvor u koncentraciji u dekstrozi 5% ili bolus natrijum bikarbonata rastvoren u dekstrozi od 3 ml /kg/hr tokom 1h pre primene iopamidola kao kontrasta, uz nastavak infuzije od 6h brzinom od 1 ml/kg/h posle procedure. CI-AKI se pojavila u 8 pacijenata (13,6%) koji su primali samo infuziju fiziološkog rastvora i samo kod 1 pacijenta (1,7%) u grupi onih koji su primali natrijum bikarbonat ( $p = 0,02$ ). Ovi zaključci su potvrđeni i u meta analizama (119,120), u kojima je definitivno potvrđena superiornost hidracije sa bikarbonatima u odnosu na samu primenu fiziološkog rastvora.

#### 1.4.2. Farmakološka profilaksa

Mnogi lekovi su procenjivani kao nefroprotektivni agensi u nastanku CI-AKI poput N-acetil cisteina, (NAC), statina, askorbinske kiseline i teofilina. Ali nijedan od ovih lekova nije zvanično odobren za prevenciju CI-AKI.

##### 1.4.2.1. N-Acetilcistein (NAC)

NAC može da deluje protektivno na nastanak CI-AKI suplementacijom antioksidativnog kapaciteta individue (32). U in vitro uslovima, NAC snažno neutrališe hipohlornu kiselinu i takođe reaguje sa hidroksilnim radikalima. In vivo, zbog njegove ekstenzivne degradacije, ispoljavanje bilo kakvog antioksidantnog efekta je indirektno i to putem indukcije sinteze glutaciona. Glutacion generalno ne može da uđe u ćeliju, već mora da bude sintetisan intracelularno od glicina, glutamata i cisteina (32). Cistein obezbeđuje HS grupe neophodne za sintezu glutaciona i stoga predstavlja limitirajući faktor ove sinteze. NAC posle deacilacije formira cistein koji ulazi u bubrežne ćelije i služi kao prekursor za sintezu glutaciona. Dodatno, zahvaljujući sposobnosti vezivanja slobodnih radikala, NAC takođe iskazuje i vazodilatatorne efekte. Na taj način NAC može da ublaži vazokonstrukciju do koje dolazi posle primene kontrasta, pa i na taj način ispoljavajući renoprotektivni efekat. Tepel i sar. su prvi opisali kliničku upotrebu NAC (121). U studiji je su randomizovana 83 pacijenta. Jedna grupa je primala oralno NAC od 600 mg 2x dnevno i intravensku rehidraciju 0,45% fiziološkim rastvorom, pre i posle primene kontrasta, a druga je primala placebo i hidraciju. Pacijenti koji su primali NAC su imali manju incidencu CI-AKI. Od tada su brojne studije i meta analize procenjivale NAC kao nefroprotektivni agens protiv CI-AKI i većina je favorizovala njegovu upotrebu. Ali, većina ovih studija je bila heterogena, sa dosta manjkavosti, tako da iz njih nisu proistekle jasne kliničke preporuke za primenu NAC. U cilju prevazilaženja ove heterogenosti, Gonzales i sar., su obavili meta analizu 22 studije grupišući ih u dve statistički značajno različite grupe homogenih populacija (122). Osamnaest studija iz prve grupe nije pokazalo benefit od primene NAC. Samo su četiri studije iz druge grupe (čineći samo 11% od ukupne meta analize), pokazali značajan benefit od primene NAC. Studije u prvoj grupi su bile relativno male, rane sa lošijim kvalitetom u odnosu na studije iz druge grupe. Posle dve godine od ove meta analize, publikovani su podaci iz velike multicentrične RCT sa 2308 pacijenata nazvane "Acetylcysteine for Contrast-induced nephropathy Trial (ACT)" (123). U njoj su randomizovani pacijenti iz 46 centara u Brazilu koji su primali 1200 mg NAC (ili placebo) dva puta dnevno, po dve doze pre i posle procedure. Takođe je i primenjivana intravenska rehidracija brzinom od 1 ml/kg/hr, tokom 6-12 h pre i posle procedure. U ovoj studiji, upotreba NAC kod pacijenata kojima je rađena koronarna i periferna angiografija, nije pokazala značajan efekat u redukciji incidence CI-AKI (12.7% u NAC grupi i 12.7% u kontrolnoj grupi,  $p = 0,97$ ).

#### 1.4.2.2. Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina ima ulogu antioksidanta obzirom da stupa u reakciju sa većinom biološki relevantnih radikala i oksidanata kao što su hidrosil i superoksidni jon (32). Ona preuzima elektron potencijalno štetnim oksidirajućim radikalama čime se obavlja njena oksidacija i stvaranje askorbil radikala ( $A^{\cdot}$ ) koji se zove i semihidroksiaskorbinskom kiselinom (32). Kao rezultat ovog procesa, smanjena je koncentracija slobodnih radikala. Takođe je pokazano da askorbinska kiselina dovodi do vazodilatacije u koronarnim i brahijalnim arterijama. Prvu kliničku primenu askorbinske kiseline kod CI-AKI su objavili Spargias i sar. (124). U studiji je randomizovano 231 pacijenata koji su primali ili 3g askorbinske kiseline u obliku tableta ili placebo i to najmanje 2h pre planirane kontrastne procedure, a potom po 2g askorbinske kiseline ili placebo uveče i sledećeg jutra posle procedure. Incidenca CI-AKI je bila manja u askorbinskoj grupi (9%) u odnosu na 20% pacijenata u kontrolnoj grupi. Od te prve kliničke primene, sprovedene su brojne RCT studije (125,126). Grupna analiza svih ovih studija je pokazala da su pacijenti koji su dobijali askorbinsku kiselinu imali za 33% manji rizik za nastanak CI-AKI u odnosu na one koji su dobijali placebo ili alternativni farmakološki tretman (127). I pored svega, primena askorbinske kiseline nije zvanično odobrena od strane komiteta za bezbednu primenu kontrastnih agenasa (11).

#### 1.4.2.3. Statini

Pored svoje uloge u snižavanju holesterola, statini poseduju plejotropne efekte koji uključuju povećanje endotelijalne produkcije NO (32) kao i antiinflamatorne i antioksidativne efekte. Pokazano je da statini mogu uticati na renalnu hipoperfuziju koja se dešava posle primene kontrasta i to putem smanjenja angiotenzinskih receptora i smanjenja sinteze endotelina (32). Zbog ovih svojih karakteristika, statini poseduju potencijal da se koriste kao nefroprotektivni agensi u sprečavanju CI-AKI. Grupna analiza velikog broja studija je pokazala da je kratkotrajna primena visokih doza statina udružena sa značajnim smanjenjem rizika za nastanak CI-AKI (128).

#### 1.4.2.4. Teofilin

Poznato je da je adenzin uključen u proces vazokonstrikcije kao mehanizma dejstva kontrasnih sredstava (32), te je stoga upotreba njegovog antagonista logična (129). Teofilin i aminofilin su često korišteni u proceni protektivnog dejstva na nastanak kontrastne nefropatije. Meta analiza velikog broja studija je pokazala da teofilin značajno redukuje rizik za nastanak AKI (RR: 0.48; 95% CI: 0.26-0.89;  $p = 0,02$ ). Postoji i umerena heterogenost ( $I^2 = 45\%$ ), što podvlači oprez u tumačenju ovih nalaza (130). Dalje, bolesnici sa bazično smanjenom bubrežnom funkcijom nisu pokazali nikakav benefit od primene teofilina. Stoga su neophodne velike RCT sa velikim uzorkom da bi se evaluiralo relevantno klinički ishod ovakve primene.

#### 1.4.2.5. Ciljana bubrežna terapija

Jedna od predloženih teorija zbog kojih mnogi primenjeni lekovi ne uspevaju da zaštite bubrege od CI-AKI je ta daje moguće da sistemska primena lekova ne dostiže odgovarajući nivo u vaskulaturi bubrega koji bi bio dovoljno efikasan. Ovo je dovelo do ingeniozne ideje da se direktno infundira lek selektivno u bubrege putem renalnih arterija, a pod nazivom ciljane bubrežne terapije, „targeted renal therapy (TRT)“. Ovo bi omogućilo i redukciju eventualnih neželjenih efekata od sistemski primenjenih lekova (131). Fenoldopam kao dopaminski 1 antagonist ima vazodilatatornu ulogu i stoga potencijal da atenuira efekat kontrasta na nastanak kortikalne i medularne vazokonstrikcije. Premda nije bilo moguće demonstrirati njegovu efikasnost u smanjenju stope CI-AKI, bilo je primećeno da značajan broj pacijenata nije bio u mogućnosti da toleriše male doze fenoldopama zbog hipotenzije koju lek indukuje, a koja je sama po sebi faktor rizika za nastanak CI-AKI. Uz pomoć TRT, moglo bi se lokalno primeniti ovaj lek, a za šta je neophodna selektivna obostrana kateterizacija renalnih arterija. U pilot studiji kod pacijenata kojima je rađena endovasularna reparacija aneurizmer, korišten je infuzioni sistem (Flowmedica, Inc., Fremont, CA, USA) za selektivnu kateterizaciju obe renalne arterije putem brhijalnog pristupa. Nije bilo epizoda hipotenzije, tako da su svi bolesnici primili fenoldopam brzinom od  $0,4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  u vremenu dok je trajala reparacija aneurizme (131). Sigurnost primene fenoldopama u sklopu TRT je analizirana u retrospektivnoj analizi kod 285

pacijenata koji su bili deo “The Benefit system renal infusion therapy (Be-RITe)” registra. Incidenca AKI je bila manja za 71% od očekivane sa posebno značajnim benefitom kod bolesnika sa najvećim rizikom za nastanak CI-AKI (132). Prospektivne studije i RCT su neophodni u proceni stvarnog potencijala koju poseduje ova terapija.

## **2. CILJEVI RADA**

Planom istraživanja predviđeni su sledeći ciljevi:

1. Utvrditi razliku između gadolinijumskog i jodnog kontrasta u nastanku subkliničkog oštećenja bubrega iskazanog novim biomarkerima (NGAL i KIM)
2. Ispitati pojavu eventualnog kliničkog oštećenja bubrega (CI-AKI) u populaciji dece sa normalnom bubrežnom funkcijom posle primene gadolinijumskog i jodnog kontrasta
3. Ispitati eventualnu prediktivnost cistatina C i novih biomarkera u ranom otkrivanju CI-AKI
4. Odrediti značaj intravenske hidracije pre i posle primene kontrasta na nastanak bubrežnog oštećenja kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom
5. Razmotriti uticaj doze primenjenog kontrasta na nastanak oštećenja bubrega
6. Razmotriti uticaj istovremene primene antihipertenziva na nastanak oštećenja bubrega posle kontrastnih snimanja

### 3. MATERIJAL I METODI

#### 3.1. Ispitanici i dizajn studije

Naše prospektivno istraživanje je obavljeno kod 123 dece i adolescenata kod kojih su primenjene dve vrste kontrastnih snimanja u periodu od 1. januara 2013 godine do 31 decembra 2015 godine. Prva grupa (n=58) pacijenata sa acijanogenim urođenim srčanim manama je tokom angiografije primala nisko osmolarni, ne-jonski kontrast na bazi joda (iopromide, Ultravist® 370). Drugu grupu (n=65) su sačinjavali pacijenti sa suspektnim anomalijama urotrakta, bilo izvodnog sistema, bilo krvnih sudova bubrega kojima je rađena MR angiografija/urografija sa primenom gadolinijumskog kontrasta (gadopentetate dimeglumine, Magnevist®). Osnovne karakteristike primenjenih kontrastnih sredstava su prikazane u Tabeli 3. Kriterijumi za isključenje pacijenata iz studije su bili sledeći: deca mlađa od dve godine, CKD (deca sa procenjenim klirenskom kreatinina koji je ispod normalnih vrednosti za uzrast), prisustvo cijanoze, diabetes melitusa, udružena primena nefrotoksičnih lekova, aktuelna urinarna ili bilo koja druga infekcija. Niti jedan od ispitanika u grupi koja je primala jodni kontrast nije imao srčanu insuficijenciju. Takođe, ispitanici u grupi koja je dobijala gadolinijumski kontrast su imali anatomski normalan urinarni trakt ili blage fiziološke varijacije (blaga pijelokaliksna dilatacija, duplikacija, prosta cista), a bez prisutne organske opstrukcije koja je mogla da ima uticaja na bubrežnu funkciju. Stoga, naše ispitivanje je sprovedeno na dve homogene populacije pedijatrijskih pacijenata bez prisutnih drugih potencijalnih uticaja na bubrežnu funkciju, tako da je jedini očigledan renalni insult mogla biti primena kontrastnog sredstva. Procenjeni GFR (eGFR) smo računali prema formuli Schwartz-a i autora (133),  $eGFR (mL/min/1,73 m^2) = k \times \text{telesna težina} / SCr$ , pr čemu je telesna težina izražena u cm, sCr u  $\mu\text{mol/L}$ , a koeficijent k je 48,6 za decu uzrasta 2–12 godina kao I za devojčice starije od 12 godina, dok je vrednost k 61,9 za dečake starije od 13 godina. Svi ispitanici u prvoj grupi su primili iopromide (Ultravist® 370) u dozi koja je bila determinisana njihovom telesnom težinom kao i brojem i lokacijom kardiovaskularnih angiograma. Pacijenti u ovoj grupi su kratkotrajni hidrirani intravenski u dozi od oko 3ml/kg samo tokom trajanja procedure. Ispitanici u drugoj grupi su dozu gadopentetat dimeglumina (Magnevist®) primili intravensku u odnosu na njihovu telesnu težinu (0,1-0,2 mg/kg). Oni su intravenski hidrirani 1 sat pre procedure, kao i 3 sata posle primene



gadolinijumskog kontrasta. Kod svih ispitanika, tokom izvođenja studije nije bilo promene medikamenata koje su eventualno do tada uzimali. Tokom studije i neposredno pre, niti jedan od ispitanika nije primao teofilin, n acetil cistein, vitamin C, dopamin ili pak manitol. Na uključenju u studiju pacijentima su mereni osnovni antropometrijski podaci (telesna visina, telesna težina, BMI), krvni pritisak, zatim određivana kompletna krvna slika i sediment urina. Svakom pacijentu su uzimani uzorci urina pre snimanja (unutar 24h od snimanja, 0h), zatim posle 4, 24 i 48 sati od primenjenog kontrasta. Uzorci seruma su uzimani tri puta: pre snimanja, posle 24 i 48 sati od primenjene kontrastne procedure. Svi uzorci seruma i urina (za NGAL i KIM-1) su stizali u na sobnoj temperaturi u laboratoriju, a zatim centrifugirani unutar jedan sat od pristizanja (3000 obrtaja tokom 10 min); uzorci supernatanta su potom do analiziranja zamrzavani na  $-80^{\circ}\text{C}$ . Pored odložene analize ovih novih biomarkera svim pacijentima su pre snimanja, posle 24 i 48 sati iz uzetih uzoraka seruma i urina rađeni standardni biohemijski parametri. Ovu studiju je odobrio Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (br. 29/IV-4) i u skladu je sa Helsinškom deklaracijom. Pre uključenja ispitanika u studiju, dobijen je pristanak od roditelja ili staratelja dece ili od same dece starijeg uzrasta.

Tabela 3. Osnovni podaci o primenjenim kontrastnim sredstvima

Karakteristike	iopromide	gadopentetate dimeglumine Gd-DTPA
Fabrički naziv	Ultravist® 370	Magnevist®
Proizvođač	Bayar Pharma AG, Nemačka	Bayer Pharma AG, Nemačka
Koncentracija	768,86 mg/ml jod 370 mg/ml	469,01 mg/ml gadolinium 78,63mg/ml
Osmolalitet (mOsmol/kg vode) na 37° C	774	1960
Viskoznost (mPa.s) na 37° C	10	2,9
pH	6,5-8,0	6,5-8,0
Izlučivanje	Renalno (2% fekalno)	Renalno
Biološki polu-život	Distribucija 3 min Eliminacija 120 min	Distribucija 12 min Eliminacija 100 min

### 3.2. Merenje i preračunavanje standardnih serumskih i urinarnih parametara

Nivoi serumskog i urinarnog kreatinina su mereni unašoj hospitalnoj laboratoriji metodom modifikovane kinetičke Jaffe-ove reakcije na "Dimension RxLMax" autoanalizatoru (Siemens Healthcare GmbH, Nemačka). Na istom aparatu su standardnom metodom rađeni svi ostali biohemijski parametri (elektroliti, mokraćna kiselina, glukoza, albumini, proteini, osmolalitet seruma i urina, zatim lipidni status krvi). Dalje su u skladu sa standardnim formulama preračunavani: protein/kreatinin odnos (Upr/Ucr), albumin/kreatinin (Ua/Ucr) odnos iz porcije urina, ekskrecija urinarnih elektrolita takođe normalizovana u odnosu na izlučivanje kreatinina (kalcijum, mokraćna kiselina, magnezijum), zatim frakcione ekskrecije filtriranog natrijuma (FENa) i kalijuma (FEK), tubularna reapsorpcija fosfata (TRP) transtubularni koncentracioni gradijent kalijuma (TTKG).

### 3.3. Merenje biomarkera

Serumski cistatin C, sNGAL, uNGAL and uKIM-1 su mereni specijalizovanom humanom komercijalno dostupnom metodom enzimske imunoreakcije “enzyme-linked immunoassay” (ELISA) (R&D Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota), a prema preporukama proizvođača.

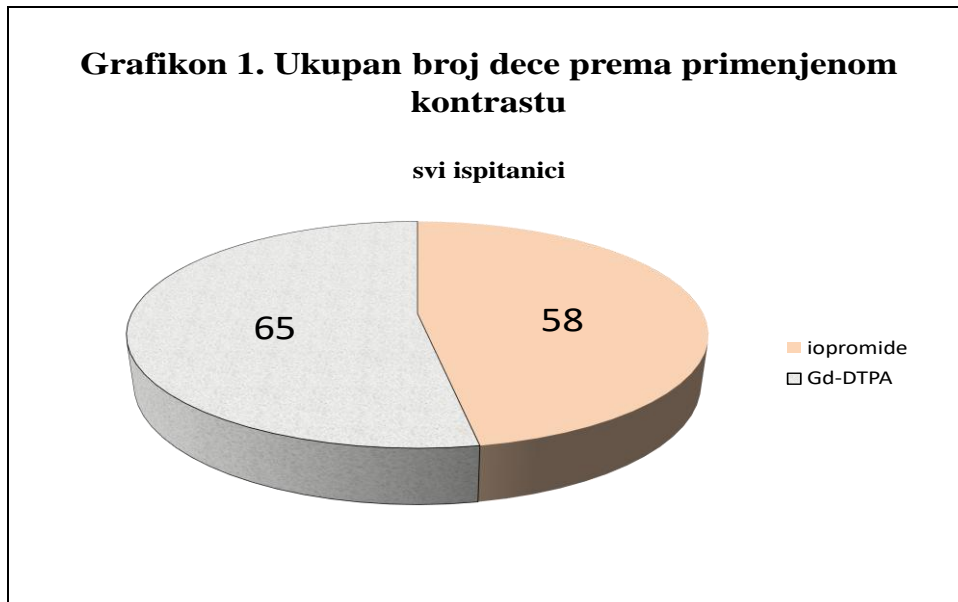
### 3.4. Statistička analiza

Deskriptivni statistički podaci za kontinuirane varijable su prikazani kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija. Neparametarski podaci su prikazani medijanom (“interquartile range-IQR”). Rezultati između dve grupe pacijenata su poređeni studentovim t testom za kvantitativne podatke, a Fišerovim egzaktnim testom za proporcije. ANOVA za ponovljena merenja je korišćena u svrhu analiziranja unutar grupnih promena kreatinina, eGFR, cistatina C, sNGAL, uNGAL, uKIM-1 kao i ekskrecija različitih elektrolita. Povezanost između standardnih i novih biomarkera je procenjena Pearsonovim koeficijentom korelacije. Za određivanje predikcije biomarkera u odnosu na nastanak CI-AKI obavljeno je pomoću logističke regresione analize. Za određivanje validnosti biomarkera I njihovih normalizovanih vrednosti 24 sata po ekspoziciji kontrastu konstruisane su ROC “Receiver-operating characteristic”krive i njihove AUC “curves and the area under the curve” vrednosti. Takođe je merena i senzitivnost i specifičnost ovih biomarkera u predikciji nastanka CI-AKI. Na bazi maksimalne senzitivnosti I specifičnosti je izabrana najbolja “cut off” vrednost ovih biomarkera. Izračunavanje snage studije I procene adekvatne veličine uzorka je urađena prema glavnim kriterijumima za dijagnozu AKI,tj. porastu serumskog kreatinina od najmanje 25% posle 48h od snimanja sa kontrastom. Iako je naš uzorak mali, snaga zaključivanja leži u činjenici da je populacija ispitanika homogena sa prospektivnim praćenjem i da je procenjenim uzorkom dostignuta pouzdanost procene od 80%. Celokupna statistička analiza je sprovedena uz pomoć statističkog paketa SPSS, verzija 23 za Windows., a vrednosti  $p < 0,05$  su smatrane statistički značajnim.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Bazične karakteristike ispitanika i demografski podaci

U ispitivanje je uključeno ukupno 123 dece i adolescenata od 2 do 18 godina koji su imali normalnu bubrežnu funkciju i koji su prema vrsti kontrasta koji su dobili bili podeljeni u dve grupe (Grafikon 1.).



Na grafikonu 2 je prikazana distribucija ispitanika u odnosu na vrstu primenjenog kontrasta i pol.

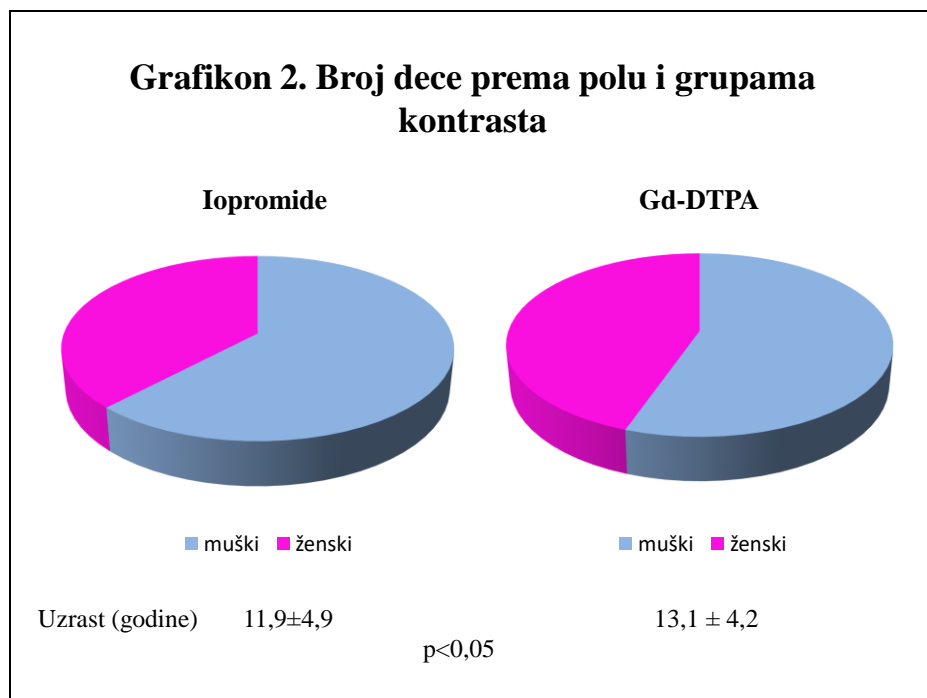


Tabela 4. Osnovne karakteristike bolesnika i njihovi biohemijski parametri na uključenju u studiju

Karakteristike ispitanika	Iopromide (n= 58) Srednja vrednost±SD/ Mediana (IQR)	Gd-DTPA (n=65) Srednja vrednost±SD /Mediana (IQR)	p
Uzrast (godine)	11,9 ± 4,9	13,1 ± 4,2	ns
Pol (ženski/muški)	22/36	29/36	ns
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	19,7 ± 4,2	20,6 ± 3,6	ns
ACEI/ARBs (no[%])	7 (12,1%)	11 (16,9%)	ns
Serumski kreatinin (μmol/l)	60,1 ± 18,3	66,5 ± 18,0	ns
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	135,05 ± 23,4	121,94 ± 26,4	ns
Cistatin C (ng/ml)	0,75 ± 0,19	0,76 ± 0,2	ns
Hemoglobin (g/dl)	14,5 ± 2,1	14,3 ± 1,5	ns
Glukoza našte (mmol/l)	5,0 ± 1,3	5,2 ± 0,7	ns
Albumini (g/dl)	41,6 ± 3,7	42,8 ± 3,3	<0,05
Trigliceridi (mmol/l)	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,7	ns
LDL (mmol/l)	2,5 ± 0,6	2,6 ± 0,7	ns
HDL (mmol/l)	1,4 ± 0,4	1,5 ± 0,4	ns
[Ua/Ucr] (mg/mmol)	1,2 (1,24)	1,48 (1,82)	ns
[Upr/Ucr] (mg/mg)	0,14 (0,09)	0,12 (0,12)	ns
sNGAL (ng/ml)	44,3 ± 18,6	49,2 ± 15,8	ns
uNGAL (ng/ml)	32,15 (180,9)	10,35 (88,5)	ns
uKIM-1 (pg/ml)	333,4 (217,4)	229,1 (245,5)	ns
uNGAL/Ucr (ng/mg)	82,06 (239,7)	16,37 (123,89)	ns
uKIM-1/Ucr (pg/mg)	278,73 (289,01)	270,34 (273,32)	ns
Zapremina kontrasta (ml)	104,4 ± 60,9	10,7 ± 4,3	<0,01
Doza kontrasta (ml/kg)	2,7±2,0	0,20±0,03	<0,01

Prosečan uzrast dece je bio 12,54±4,62 godina, i ukupno je bilo 72 muškog pola i 51 ženskog. Na uključenju u studiju, srednja vrednost jačine glomerulske filtracije svih ispitanika je bila 133,40±25,89 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, a serumskog kreatinina 63,52±18.30 μmol/l. Grupe se bile

homogene po demografskim podacima i biohemijskim parametarima izuzev blago sniženih albumina (bez kliničkog značaja) u grupi koja je primala jodni kontrast. Bazalni podaci o ispitanicima su prikazani u Tabeli 4. Postojala je značajna razlika među grupama po primeni sedacije i anestezije, puta aplikacije, kao količini primenjenog kontrasta, a što je i očekivano s obzirom na različite preporuke u doziranju.

## **4.2. Promene standardnih biomarkera bubrežne funkcije i cistatina C tokom studije**

### **4.2.1. Promene standardnih serumskih biomarkera i cistatina C**

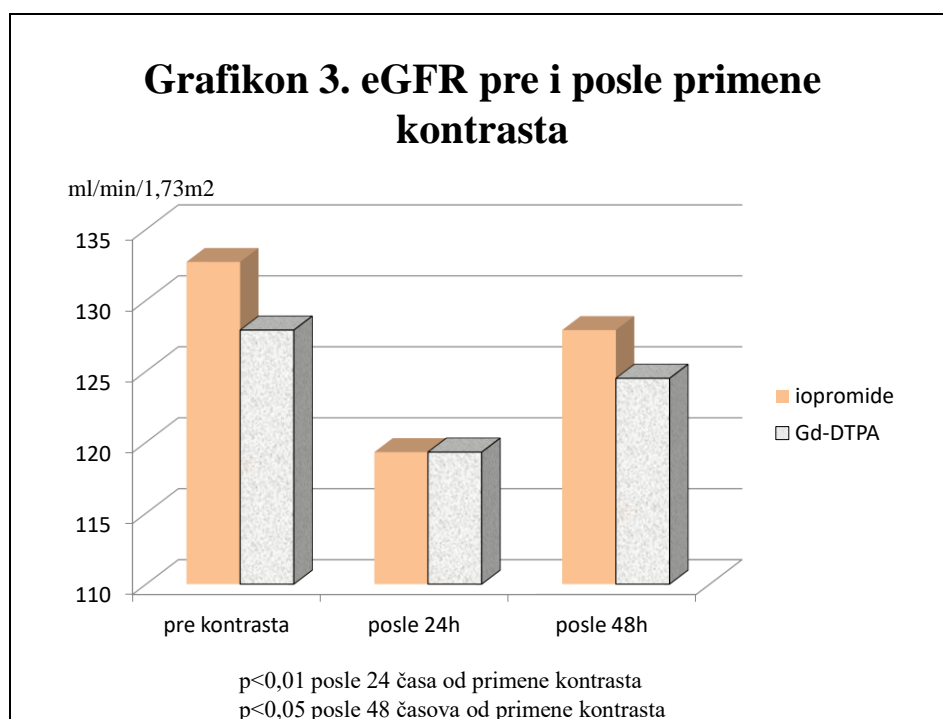
Pacijenti koji su primili iopromide (n=58) su imali izraženiji pad eGFR posle 24 h ( $\Delta$ GFR 10,77 (21,24) ml/min/1,73m<sup>2</sup>) u poređenju sa pacijentima koji su kao kontrastno sredstvo primili Gd-DTPA (n=65), ( $\Delta$ GFR 5,93 (21,23) ml/min/1,73m<sup>2</sup>). Međutim, ova razlika između grupa u padu eGFR nije bila statistički značajna, (P=0.29, Tabela 5).

Tabela 5. Promene parametara bubrežne funkcije po grupama posle primene jednog ili gadolinijumskog kontrasta

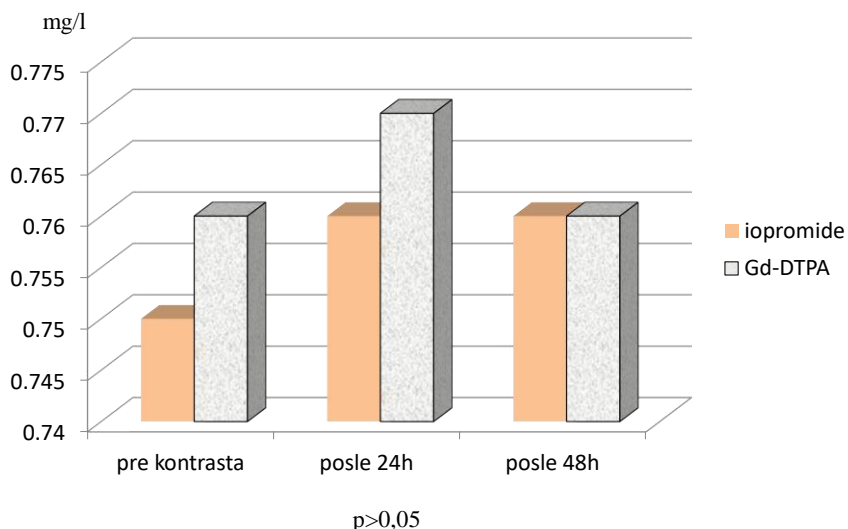
Parametar	Iopromide	Gd-DTPA	p
$\Delta$ [serumski kreatinin], $\mu\text{mol/l}$			
0-24h	-6,0(10,0)	-4,0(12,0)	ns
24-48h	-4,0(10,0)	1,0(10,25)	ns
0-48h	-2,0(7,0)	-3,0(13,0)	ns
$\Delta$ [Cistatin C], mg/l			
0-24h	0(0,13)	0(0,08)	ns
24-48h	0,005(0,08)	0(0,08)	ns
0-48h	0,02(0,12)	0(0,1)	ns
$\Delta$ [eGFR], ml/min/1.73m <sup>2</sup>			
0-24h	10,77(21,24)	5,93(21,23)	ns
24-48h	-7,44(18,49)	-2,89(18,37)	ns
0-48h	3,31(18,01)	6,09(25,98)	ns
$\Delta$ [sNGAL], ng/ml			
0-24h	-4,3(16,55)	-0,7(16,6)	ns
24-48h	5,15(16,93)	0,5(19,3)	ns
0-48h	4,8(18,8)	1,5(16,7)	ns
$\Delta$ [uNGAL], ng/ml			
0-4h	1,8(135,18)	1,1(37,8)	ns
4-24h	-5,9(192,93)	-1,5(26,95)	ns
0-24h	-4,3(16,55)	-0,7(16,6)	ns
24-48h	1,2(60,98)	0(24,6)	ns
0-48h	-1,4(75,8)	-0,8(64,6)	ns
$\Delta$ [uKIM-1], pg/ml			
0-4h	32,25(189,23)	-14,3(118,1)	ns
4-24h	-25,7(169,83)	-29,3(169,3)	ns
0-24h	-24,0 (151,3)	-32,1 (204,3)	0,012
24-48h	-0,25(179,78)	9,1(139,25)	ns
0-48h	34,5(210,45)	-50,9(200,7)	<0,01



Posle 48h, u grupi koja je primila iopromide, srednji eGFR se smanjio od  $135,05 \pm 23,4$  na  $130,36 \pm 22,17$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, (P=0,014). U istom vremenskom intervalu, u grupi koja je primila Gd-DTPA, eGFR se smanjio od  $131,94 \pm 26,44$  na  $126,50 \pm 22,87$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, (P=0,028). Opet nije bilo statistički značajne razlike među grupama primljenog kontrasta (Grafikon 3).

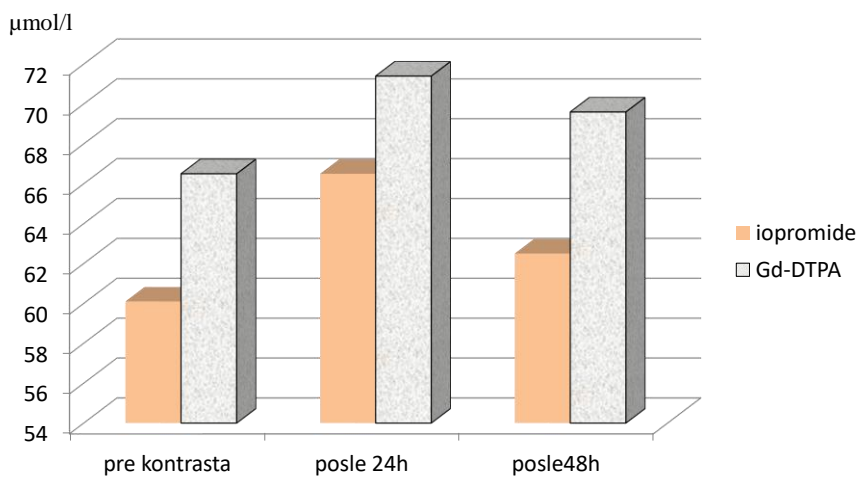


### Grafikon 4. Serumski cistatin C pre i posle primene kontrasta



Za razliku od cistatina C koji se nije menjao kroz vreme u obe grupe kontrasta (Grafikon 4.), zabeležen je značajan porast serumskog kreatinina u obe grupe. U grupi pacijenata koja je primala iopromide, posle 24h od ekspozicije kontrastu, serumski kreatinin je značajnije porastao u odnosu na grupu koja je primila Gd-DTPA ( $\Delta$ creatinine  $6,0 (10,0) \mu\text{mol/l}$ ,  $P= 0.03$ ;  $\Delta$ creatinine  $4,0 (12,0) \mu\text{mol/l}$ ,  $P=0,027$ ), (Tabela 5.). Ova razlika među grupama u procentu porasta serumskog kreatinina nije bila statistički značajna ( $P=0,41$ ). Posle 48 časova od primene kontrasta, serumski kreatinin je porastao sa  $60,1 \pm 18,3 \mu\text{mol/l}$  na  $62,5 \pm 17,4 \mu\text{mol/l}$  ( $P=0,03$ ), u grupi koja je primala jodni kontrast, dok je u grupi koja je dobijala Gd-DTPA ovaj porast bio sa  $66,5 \pm 18,0 \mu\text{mol/l}$  na  $69,6 \pm 18,7 \mu\text{mol/l}$  ( $P=0,027$ ), ali ponovo bez statistički značajne razlike među grupama (Grafikon 5).

**Grafikon 5. Serumski kreatinin pre i posle primene kontrasta**

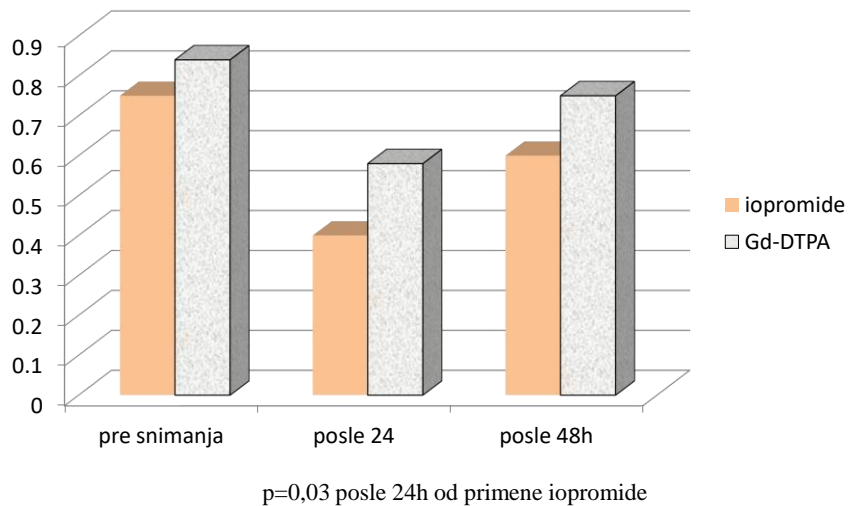


p<0,01 posle 24 časa od primene kontrasta  
p<0,05 posle 48 časova od primene kontrasta

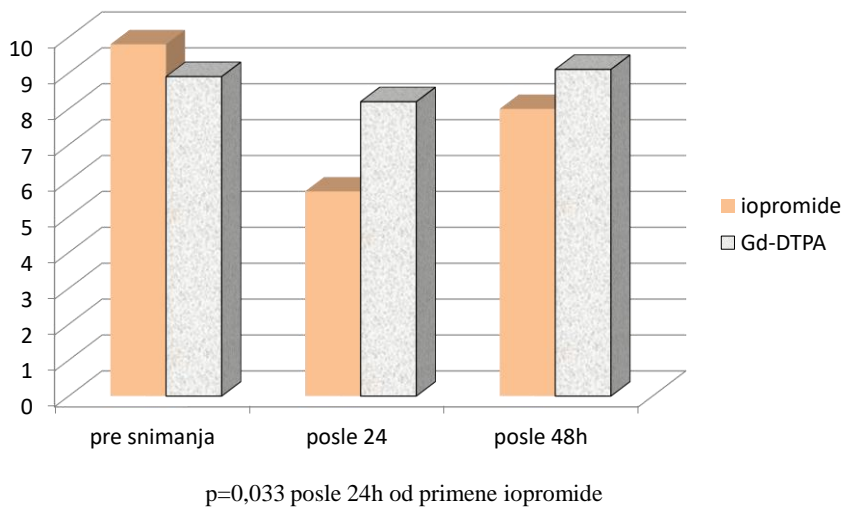
#### 4.2.2. Promene standardnih urinarnih parametara

Vrednosti  $FE_{Na}$  i  $FE_K$  su posle 24 časa od primene jednog kontrasta bile statistički značajno niže u odnosu na bazalne (Grafikon 6., Grafikon 7.).

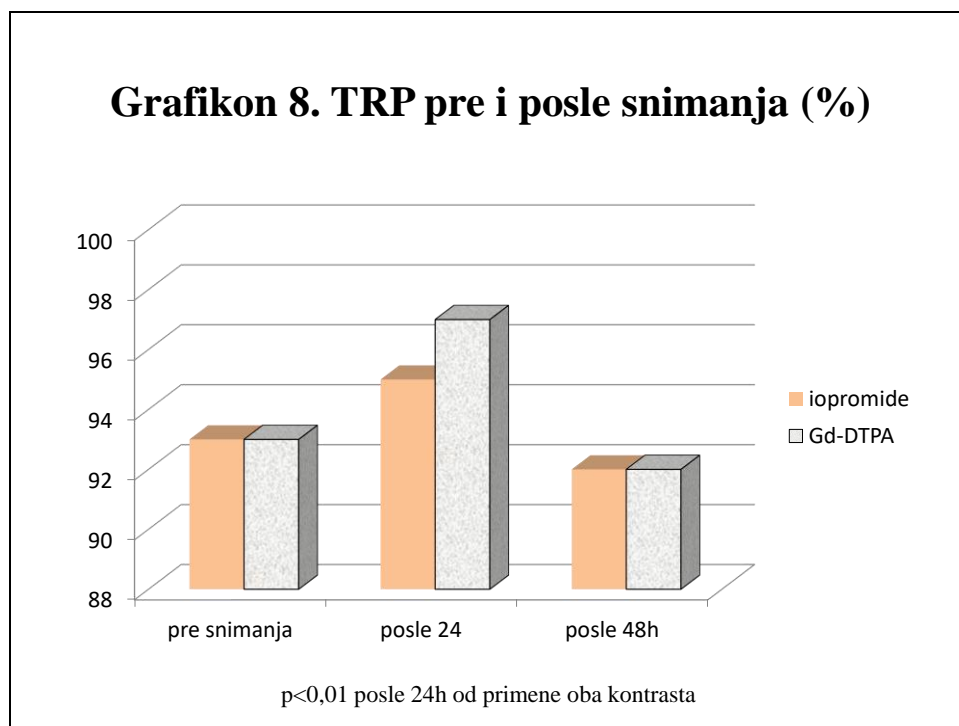
**Grafikon 6. FE<sub>Na</sub> pre i posle snimanja (%)**



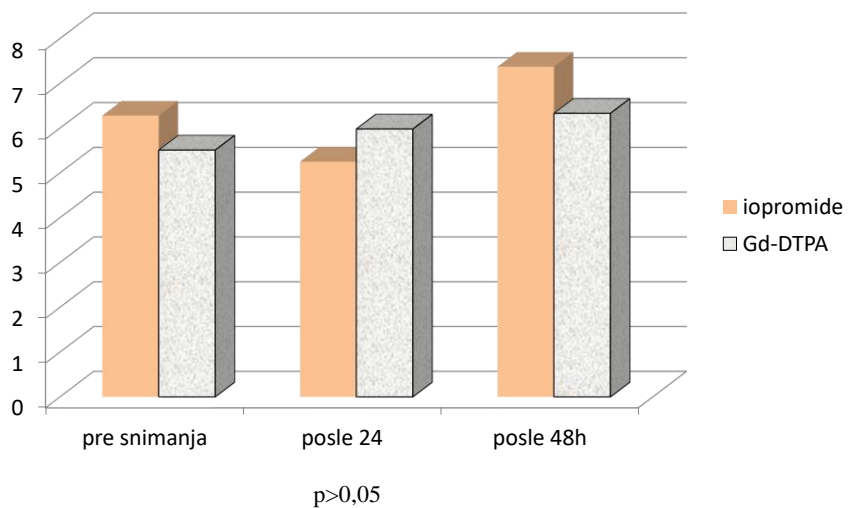
**Grafikon 7. FE<sub>K</sub> pre i posle snimanja (%)**



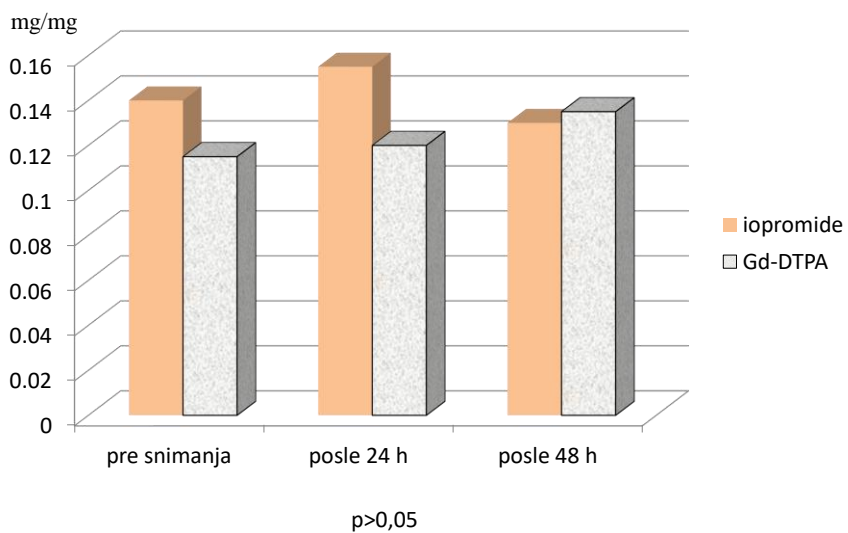
Vrednosti TRP su 24 časa od primene oba kontrasta bile statistički značajno više u odnosu na bazalne (Grafikon 8.). TTKG, Uprt/Ucr, Ua/Ucr, Uca/Ucr, Umg/Ucr, Uur/Ucr se nisu statistički značajnije menjali tokom studije (Grafikoni 9, 10, 11, 12, 13 i 14.).



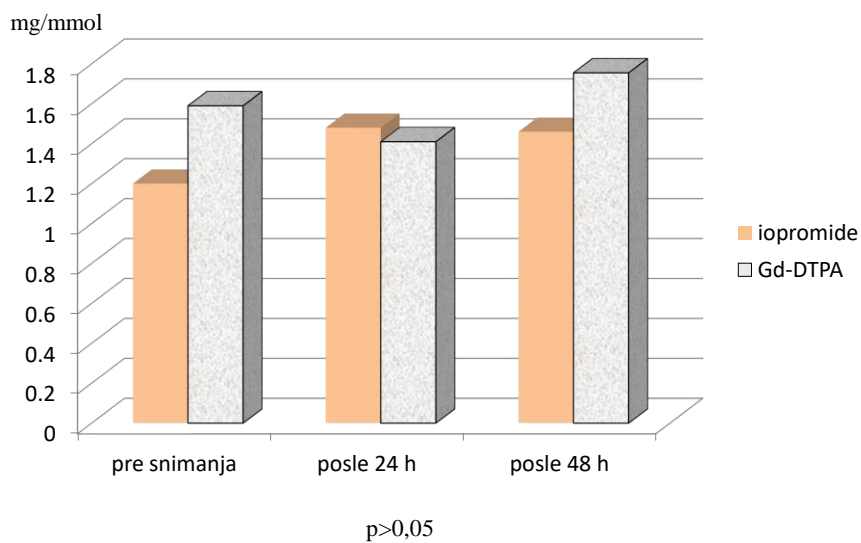
**Grafikon 9. TTKG pre i posle snimanja**



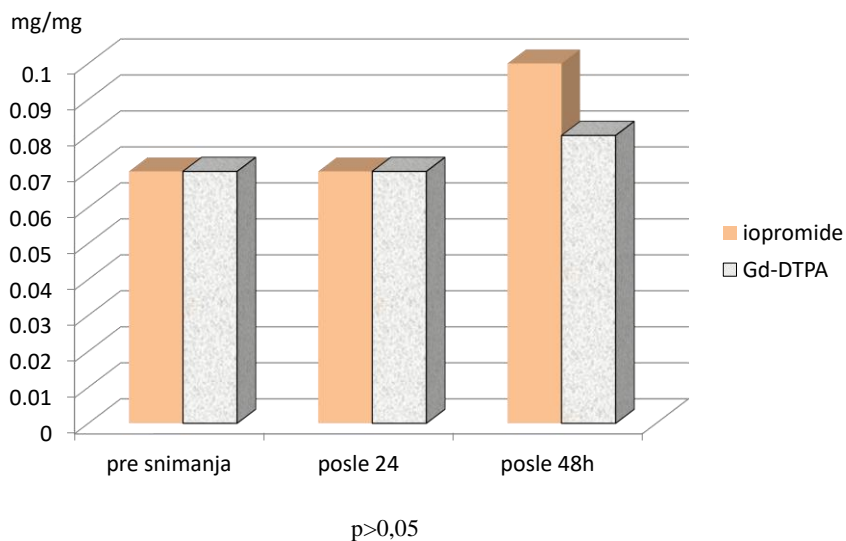
**Grafikon 10. PRT/Cru pre i posle primene kontrasta (mediane)**



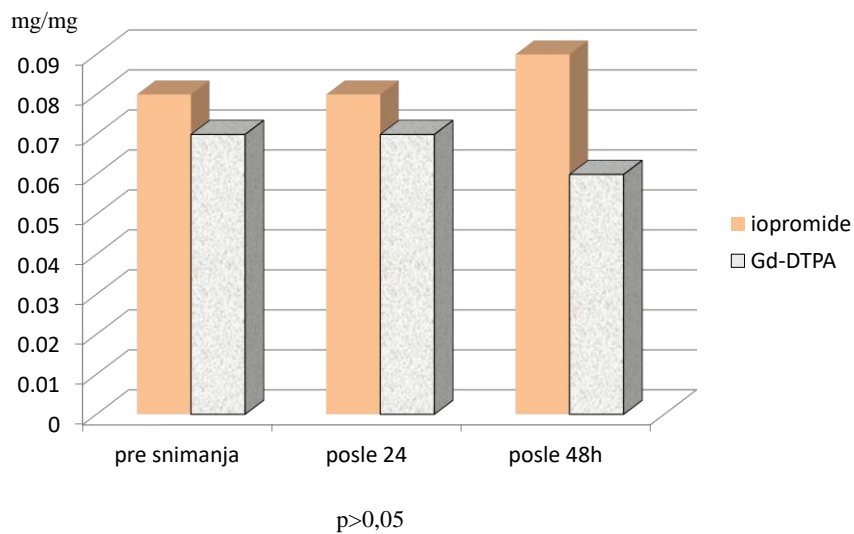
**Grafikon 11. MAU/Cru pre i posle snimanja (medijane)**



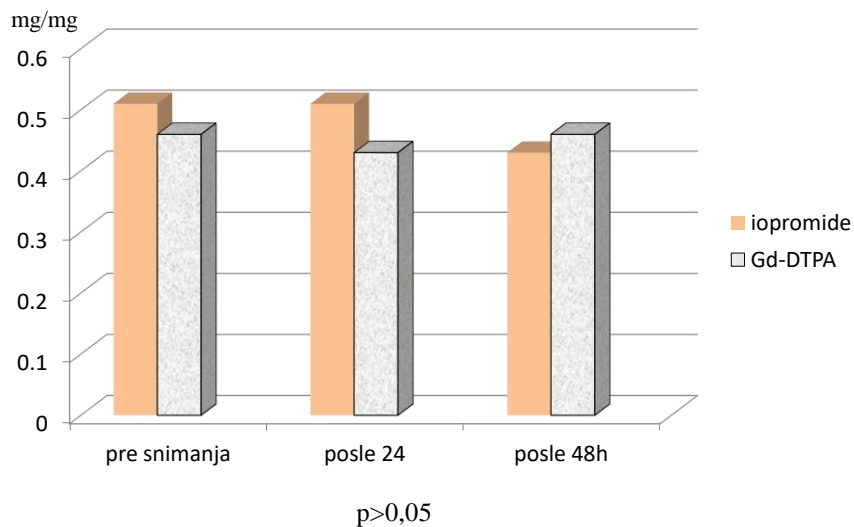
**Grafikon 12. Kalciurija/kreatinurija pre i posle snimanja (mg/mg)**



**Grafikon 13. Magneziurija/kreatinurija pre i  
posle snimanja (mg/mg)**

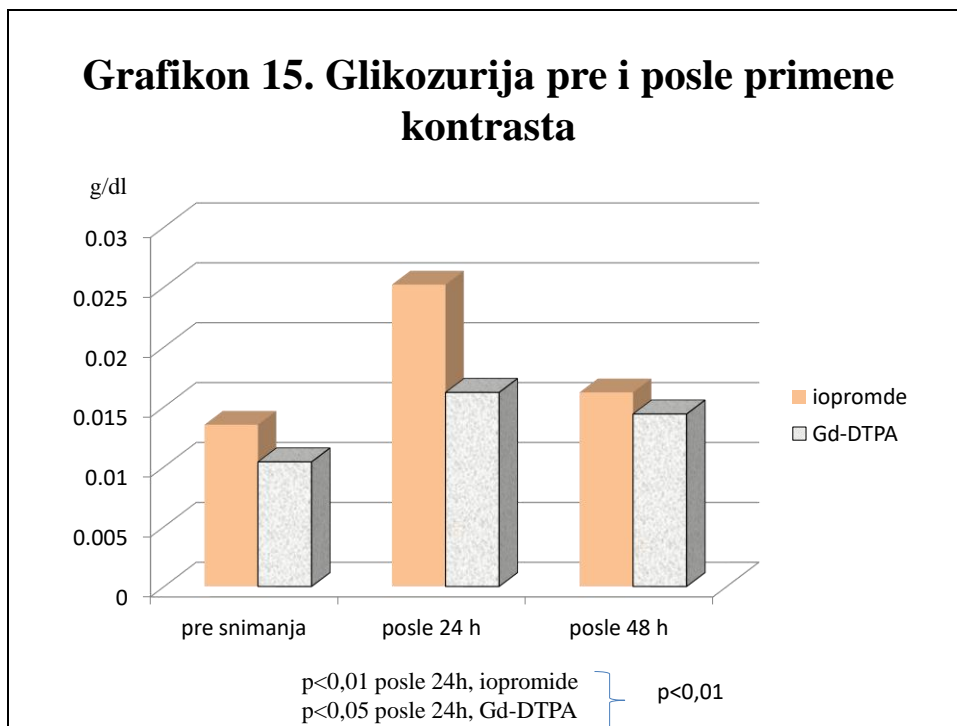


**Grafikon 14. Urikozurija/kreatinurija pre i  
posle snimanja (mg/mg)**





U obe grupe ispitanika je posle 24 sata od ekspozicije kontrastu zabeležen tranzitorni porast glikozurije (U Gd-DTPA grupi, od bazalnih 0,0104 (0,014) g/dl na 0,0162 (0,016) g/dl,  $p=0,016$ , Tabela 6; u iopromide grupi, od bazalnih 0,0135 (0,013) g/dl na 0,0252 (0,04) g/dl, Tabela 7,  $p<0,01$ ). Ovaj porast je bio statistički značajno viši u grupi dece kod koje je primenjen jodni kontrast ( $p<0,01$ , Grafikon 15.)



### 4.3. Promene novih biomarkera tokom studije

Promene u vrednostima serumskog kreatinina, cistatina C, serumskog NGAL-a, urinarnog NGAL-a i urinarnog KIM-1 posle kateterizacije srca/angiografije i MR snimanja su prikazane u zasebnim tabelama (Tabele 6 i 7.).

Tabela 6. Promene standardnih i novih biomarkera bubrežne funkcije u vremenu posle davanja gadolinijumskog kontrasta (Gd-DTPA)

Parametri	pre snimanja	4 časa posle snimanja	24 časa posle snimanja	48 časova posle snimanja	p
sKreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )	66,5 $\pm$ 18,0	NM	71,4 $\pm$ 19,3**	69,6 $\pm$ 18,7*	0,009
Cistatin C (mg/l)	0,76 $\pm$ 0,18	NM	0,77 $\pm$ 0,17	0,76 $\pm$ 0,15	ns
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	131,9 $\pm$ 26,4	NM	123,1 $\pm$ 23,2**	126,5 $\pm$ 22,8*	0,006
sNGAL (ng/ml)	49,2 $\pm$ 15,8	NM	51,7 $\pm$ 13,3	48,7 $\pm$ 16,2	ns
uNGAL (ng/ml)	10,4 (88,5)	9,7 (66,9)	8,7 (93,7)	10,7 (67,0)	ns
uKIM-1 (pg/ml)	229,1 (245,5)	224,3 (248,2)	336,8(185,5) **	327,1 (205,4) *	0,006
uNGAL/uCr (ng/mg)	16,4 (123,89)	NM	12,6 (178,54)	16,7 (99,23)	ns
uKIM-1/uCr (pg/mg)	230,3 (273,32)	NM	245,5 (204,61)	279,5 (293,9) *	0,007
uGlukoza (g/dl)	0,0104(0,014)	NM	0,0162(0,016) *	0,0144(0,011)	0,016

\* p<0.05 vs. 0h, \*\* p<0.01 vs. 0h;

Tabela 7. Promene standardnih parametara i novih biomarkera bubrežne funkcije u vremenu posle davanja jednog kontrasta (iopromide-a)

Parametri	Pre snimanja	4 časa posle snimanja	24 časa posle snimanja	48 čas. posle snimanja	p
sKreatinin (μmol/l)	60,1±18,3	nm	66,5±15,9**	62,5±17,4*	<0,01
Cistatin C (mg/l)	0,75±0,19	nm	0,76±0,15	0,76±0,14	ns
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	135,0±25,4	nm	121,5±22,6**	130,4±22,2*	<0,01
sNGAL (ng/ml)	44,3±18,6	nm	51,7±18,7*	47,1±15,4	0,032
uNGAL (ng/ml)	32,15(180,9)	7,85(84,8)	28,8(289,4)	29,7(201,9)	ns
uKIM-1 (pg/ml)	333,4(217,4)	240,2(237,5)	233,9(248,6)	282,7(222,5)	ns
uNGAL/uCr (ng/mg)	82,07(239,37)	nm	71,4(395,71)	38,42(317,0)	ns
uKIM-1/uCr (pg/mg)	278,83(289,01)	nm	202,22(299,59)	258,8(339,3)	ns
uGlukoza (g/dl)	0,0135(0,013)	nm	0,0252(0,04)**	0,0162(0,02)	<0,01

\* p<0.05 vs. 0 h; \*\* p<0.01 vs. 0h;

#### 4.3.1. Promene serumskog i urinarnog NGAL tokom studije

Bazalne vrednosti serumskog NGAL su u grupi jednog kontrasta bile 44,3±18,6 ng/ml, a 49,2±15,8 ng/ml u grupi ispitanika koj su primali Gd-DTPA (Tabela 6.). Posle 24 sata od primene kontrasta, serumski NGAL je imao veći porast u grupi koja je primala jodni kontrast i ovaj porast je i dostigao statističku značajnost, (iopromide: ΔsNGAL 4,3 (16,55) ng/ml,

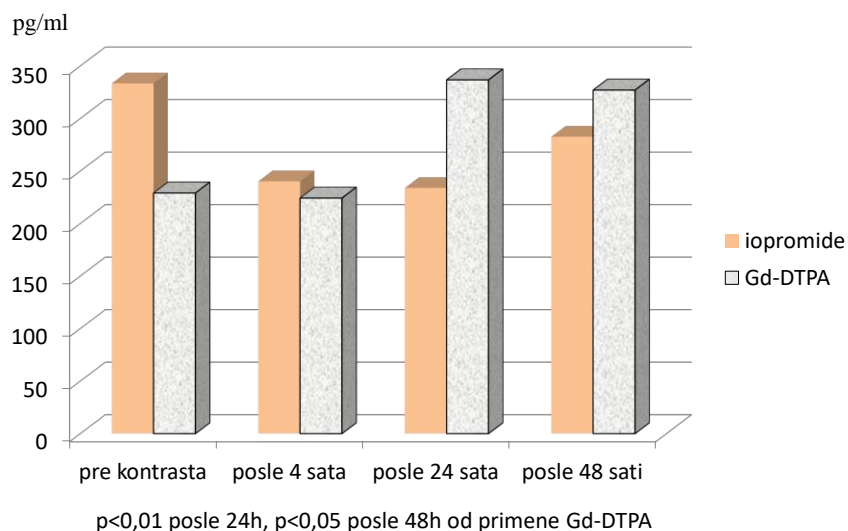
P=0,032; Gd-DTPA:  $\Delta$ sNGAL 0,7(16,6) ng/ml, P=0,783). Međutim, razlika između grupa u procentu porasta serumskog NGAL nije dostigla statističku značajnost (P=0,063, Tabela 5.). Takođe, i posle 48 sati, porast serumskog NGAL-a je opet bio veći u grupi koja je primila iopromide, ali ovog puta bez dostizanja statističke značajnosti (iopromide:  $\Delta$ sNGAL 4,8(18,8) ng/ml, P= 0,847; Gd-DTPA:  $\Delta$ sNGAL 1,5(16,7) ng/ml, P=0,668), Tabela 5. Kao što ni porast unutar grupa kontrasta nije bio statistički značajan, tako se niti međugrupni porast nije značajnije ststistički razlikovao (P=0,815).

Bazalna srednja vrednost urinarnog NGAL je u grupi ispitanika koji su dobijali jodni kontrast bila 32,15(180,9) ng/l, a u grupi koja je dobijala Gd-DTPA 10,35(88,5) ng/ml, (Tabele 6 i 7.). Posle 24 sata od primene kontrasta, kod ispitanika koji su dobili iopromide, zabeležen je veći porast uNGAL (4,3 (16,55) ng/ml, P=0.358?), u odnosu na ispitanike koji su dobili Gd-DTPA (0,7 (16,6) ng/ml, P=0.21?). Razlika među grupama u porastu uNGAL nije bila statistički značajna (P=0.447?), Tabela 5. Posle 48 sati, porast urinarnog NGAL-a je takođe bio nešto veći u grupi koja je dobijala iopromide (iopromide: 1,4 (75,8) ng/ml; Gd-DTPA: 0,8 (64,6), Tabela 5. Urinarni NGAL normalizovan u odnosu na ekskreciju kreatinina urinom uNGAL/uCr (ng/mg) je pokazao slične rezultate (Tabele 6 i 7.).

#### 4.3.2. Promene urinarnog KIM-1 tokom studije

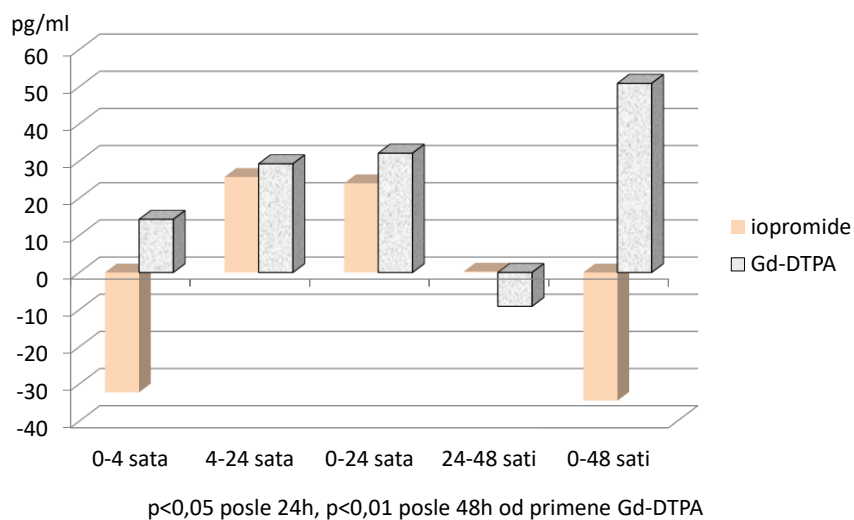
Bazalna vrednost urinarnog KIM-1 je bila 333,4 (217,4) pg/ml u grupi ispitanika koja je dobijala jodni kontrast (Tabela 7), dok je u grupi koja je primila Gd-DTPA iznosila 299,1 (245,5) pg/ml (Grafikon 16). Posle 48 sati od primene kontrasta, urinarni KIM-1 je porastao značajnije u grupi koja je primila Gd-DTPA (Gd-DTPA:  $\Delta$ uKIM-1 50,9 (200,7) pg/ml, P=0,015; iopromide:  $\Delta$ uKIM-1 34,5 (210,45) pg/ml, P=0,23, Tabela 5 ). Međugrupna razlika u procentu porasta uKIM-1 je takođe bila statistički značajna (P=0,012, Grafikon 16.).

**Grafikon 16. Urinarni KIM-1 pre i posle primene kontrasta**



Posle 48 sati od primene kontrasta razlika u promeni u KIM-1 od bazalnih vrednosti je posle davanja dva različita kontrasta bila visoko statistički značajna u korist gadolinijumskog kontrasta (Grafikon 17.).

**Grafikon 17. Δu KIM-1 u vremenu posle primene kontrasta**



#### **4.4 Korelacija serumskog i urinarnog NGAL i urinarnog KIM-1 sa standardnim renalnim markerima i drugim kliničkim pokazateljima**

Vrednosti urinarnog KIM-1 i standardnih markera bubrežne funkcije (serumskog kreatinina, eGFR) kao i cistatina C nisu pokazali postojanje značajne pozitivne korelacije niti u jednoj grupi ispitanika posle primenjenog kontrastnog sredstva.

Posle 24 i 48 sati od primene jodnog kontrasta, vrednosti urinarnog NGAL-a su pokazali značajnu pozitivnu korelaciju (posle 24 sata:  $r=0,447$ ,  $p=0,004$ ; posle 48 sati:  $r=0,359$ ,  $p=0,037$ ). Posle 24 sata od primene Gd-DTPA, serumski NGAL je bio u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa vrednostima serumskog kreatinina i cistatina C (serumski kreatinin:  $r=0,498$ ,  $p<0,001$ ; cistatin C:  $r=0,353$ ,  $p=0,008$ ).

Kada smo korelirali volumen primenjenog kontrasta jedina pozitivna korelacija je bila između gadolinijumskog kontrasta i porasta serumskog NGAL-a posle 24 sata od snimanja.

#### **4.5. Subklinička nefrotosičnost kontrastnih sredstava (CI-AKI)**

Posle 24 sata od ekspozicije kontrastu, serumski NGAL je pokazao veći porast u grupi ispitanika koji su primili jodni kontrast u odnosu na grupu koja je primila kontrast na bazi gadolinijuma, ali bez postojanja statističke značajnosti među grupama (Iopromide:  $\Delta s\text{NGAL}$  4,3 ng/ml (IQR 16,55); Gd-DTPA:  $\Delta s\text{NGAL}$  0,7 ng/ml (IQR 16,6),  $p=0,992$ , Tabela 5). U isto vreme, porast serumskog NGAL za  $\geq 25\%$  u odnosu na bazalne vrednosti je zabeležen kod 32,6% ispitanika koji su primili iopromide i kod 25,5% ispitanika koji su primili Gd-DTPA (Tabela 8.).

Tabela 8. Procenat dece po grupama kontrasta kod kojih je porast biomarkera bio veći od 25% u različitim vremenskim intervalima posle snimanja

Parametar	Iopromide	Gd-DTPA	p
serumski NGAL			
posle 24 h	32,6%	25,45%	ns
posle 48 h	51,72%	22,22%	ns
urinarni NGAL			
posle 4 h	30,76%	49,15%	
posle 24h	49,06%	45,61%	ns
posle 48 h	48,97%	38,09%	ns
urinarni KIM-1			
posle 4 h	25,92%	28,81%	
posle 24 h	33,96%	40,35%	ns
posle 48h	32,65%	40,35%	ns
urinarni NGAL/urinarni kreatinin			
posle 24 h	41,67%	38,46%	ns
posle 48 h	44,19%	41,67%	ns
urinarni KIM-1/urinarni kreatinin			
posle 24 h	34,09%	40,38%	ns
posle 48 h	37,21%	36,67%	ns

Srednji porast serumskog NGAL-a u ove dve subgrupe ispitanika je bio 62,23% u grupi koja je dobila jodni kontrast i 36,44% u grupi koja je primila Gd-DTPA ( $p=0,002$ , Tabela 9.). Posle 24 sata, u grupi koja je primila Gd-DTPA, urinarni KIM-1 je značajnije porastao u odnosu na grupu ispitanika koji su dobili jodni kontrast (Gd-DTPA:  $\Delta uKIM-1$  32,05 pg/ml (IQR 204,3),  $p=0,019$ ; iopromide:  $\Delta uKIM-1$  24,0 pg/ml (IQR 151,3),  $p=1,0$ ). Razlika među grupama kontrasta je dostigla statističku značajnost ( $p=0,012$ , Grafikon 17.).

Tabela 9. Srednji procenat porasta novih biomarkera u subgrupama dece kod kojih su biomarkeri porasli za više od 25% posle dve grupe kontrastnih snimanja

Parametar	Iopromide	Gd-DTPA	p
%			
serumski NGAL			
posle 24 h	62,24 (118,46)	36,44 (17,3)	0,002
posle 48 h	78,98 (155,42)	46,53 (41,9)	ns
urinarni NGAL			
posle 24h	176,34 (1005,1)	184,74 (1805,18)	ns
posle 48 h	99,95 (560,24)	208,58 (2048,68)	ns
urinarni KIM-1			
posle 24 h	67,24 (187,36)	149,44 (526,09)	ns
posle 48h	87,0 (401,56)	122,71 (283,23)	ns
urinarni NGAL/urinarni kreatinin			
posle 24 h	161,66 (911,2)	111,30 (1234,42)	ns
posle 48 h	101,35 (386,68)	215,01 (1287,14)	ns
urinarni KIM-1/urinarni kreatinin			
posle 24 h	121,74 (185,44)	77,96 (547,46)	ns
posle 48 h	144,98 (255,82)	155,23 (496,87)	ns

#### 4.6. Učestalost nastanka, kliničke karakteristike i rana dijagnoza CI-AKI

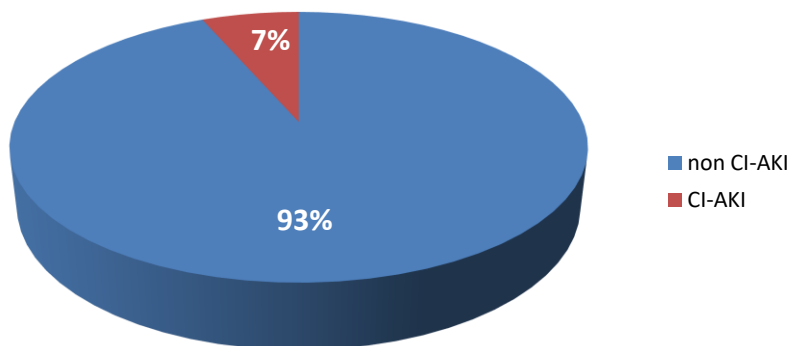
##### 4.6.1. CI-AKI – učestalost

Celokupna incidenca CI-AKI, definisana na osnovu novih kriterijuma koji uzimaju u obzir pad eGFR za više od >25%, ili porast serumskog kreatinina takođe za više od 25% (ili najmanje za 26,5  $\mu\text{mol/l}$ ) u odnosu na bazalne vrednosti unutar 48 sati od ekspozicije kontrastu u našoj grupi ispitanika je bila 6,5%, tj. CI-AKI je dijagnostikovana kod 8 od 123 ispitanika (Grafikon 18).



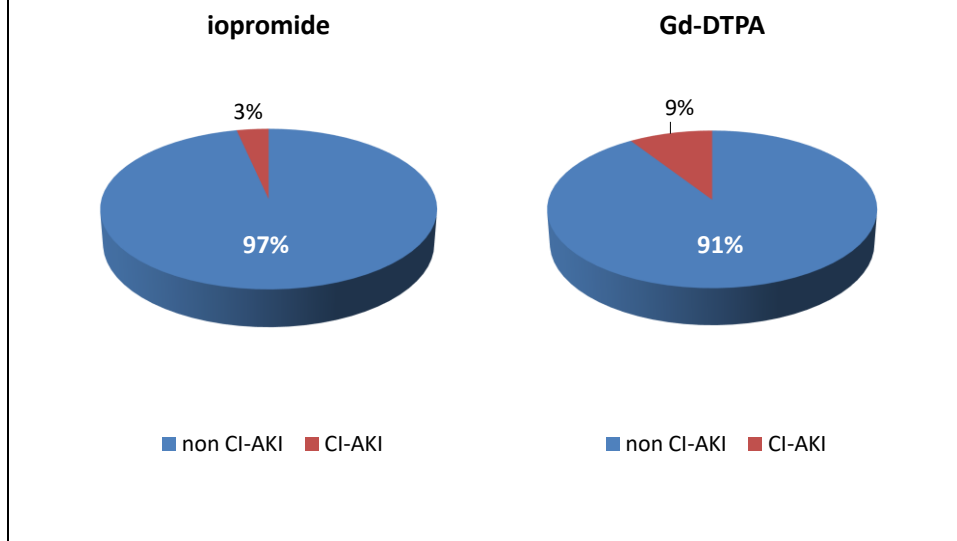
## Grafikon 18. CI-AKI

svi ispitanici =123



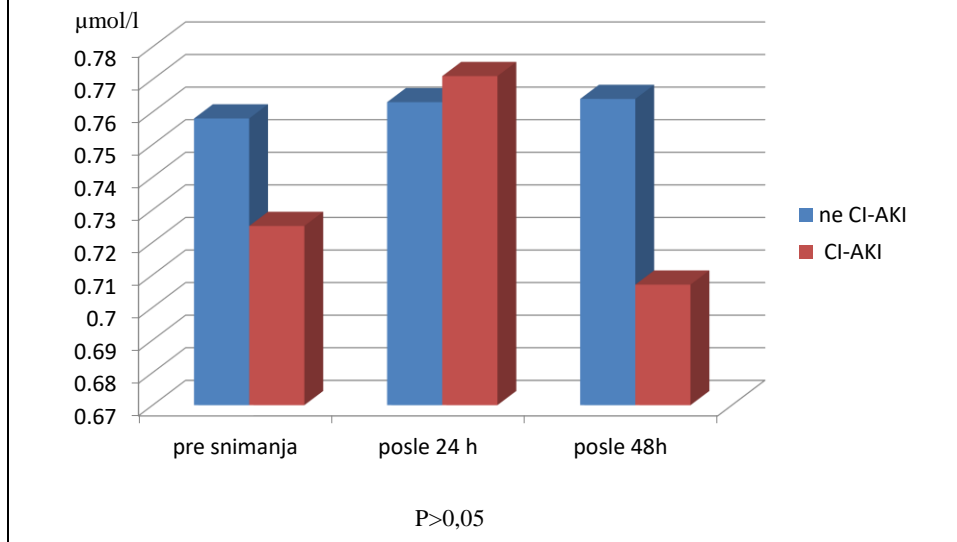
Svi pacijenti koje smo svrstali u grupu CI-AKI su kao kriterijum imali porast serumskog kreatinina za najmanje 25% posle 48 sati od ekspozicije kontrastu, dok su dva pacijenta imala i dodatni kriterijum pada eGFR za najmanje 25% (iz Gd-DTPA grupe). U grupi ispitanika koji su dobili jodni kontrast, dva (3,9%) su dijagnostikovani kao CI-AKI, a u grupi koja su primila Gd-DTPA bilo je šest ispitanika sa CI-AKI ili 9,7% ( $p=0,29$ , Grafikon 19.).

**Grafikon 19. CI-AKI prema grupama kontrasta**

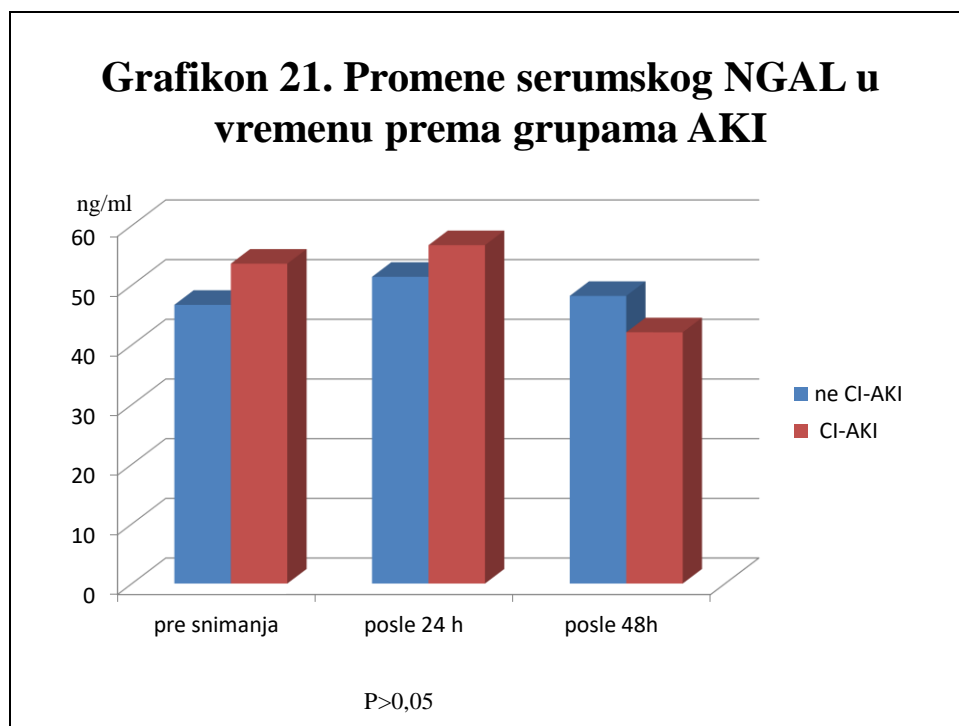


Dakle, incidenca CI-AKI je bila veća u grupi ispitanika koja je dobijala Gd-DTPA, ali ova razlika u našoj studiji nije dostigla statističku značajnost. Serumski cistatin C je posle 24 sata od primene kontrasta imao veći porast u grupi koja je razvila CI-AKI, ali ovaj porast nije bio statistički značajan (Grafikon 20.).

**Grafikon 20. Promene serumskog cistatina C u vremenu prema grupama AKI**

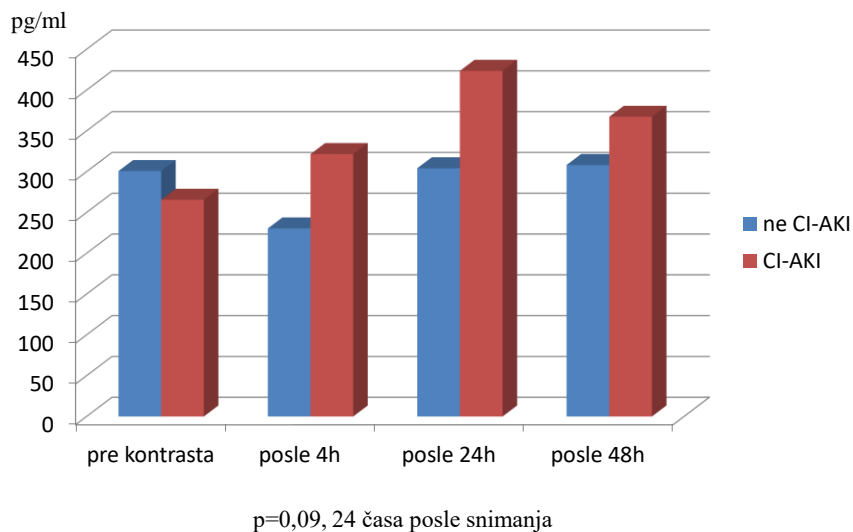


Također, sNGAL je u grupi pacijenata koji su razvili CI-AKI pokazao tranzitorni porast posle 24 sata od primene kontrasta, ali bez dostizanja statističke značajnosti (Grafikon 21.).



U grupi pacijenata koja je razvila CI-AKI, urinarni KIM-1 je statistički značajan porast zabeležio posle 24 sata od primene kontrasta (Grafikon 22.).

**Grafikon 22. Urinarni KIM-1 u vremenu prema nastanku AKI**



#### 4.6.2. Uticaj količine kontrasta, intravenske hidracije i primene ACEI/ARB na nastanak CI-AKI

Dva ispitanika sa CI-AKI u grupi jednog kontrastnog sredstva su primili nešto veću količinu kontrasta u odnosu na one koji u ovoj grupi nisu razvili CI-AKI (CI-AKI: 3,105 ml/kg; ne CI-AKI: 2,89±2,21 ml/kg),  $p>0,05$ ). U grupi ispitanika koji su dobijali kontrast na bazi gadolinijuma, nije bilo razlike u količini primenjenog kontrasta između onih koji su razvili CI-AKI i onih koji za to nisu imali kriterijum (CI-AKI: 0,19±0,01 ml/kg; ne CI-AKI: 0,21±0,02). Takođe, nije postojala razlika u dužini intravenske hidracije pre, tokom trajanja procedure, kao i posle ekspozicije kontrastu između ispitanika sa i bez dijagnostikovane CI-AKI (Tabela 10.). Učestalost primene ACEI/ARB i drugih antihipertenzivnih lekova je bila slična u obe grupe ispitanika (Tabela 10.).

Tabela 10. Bazalni demografski i laboratorijski parametri pre i posle snimanja u grupama dece koji sa i bez CI-AKI

Parametri	CI-AKI (n=8)	NE CI-AKI (n=115)	p
Uzrast (godine)	12,64 ± 5,98	12,78 ± 4,5	ns
Pol (ženski/muški)	2/6	44/61	ns
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	19,7 ± 4,25	20,27 ± 3,92	ns
Antihipertenzivi N(%)	2 (25%)	31 (26,96%)	ns
ACEI/ARB	2 (25%)	16 (15,3%)	ns
IVR pre kontrasta (sati)	2,0 (1,0)	2,0 (1,0)	ns
IVR tokom i posle primene kontrasta	3,0 (2,0)	3,0 (4,0)	ns
kontrast (iopromide/Gd-DTPA)	2/6	56/59	ns
Serumski kreatinin (μmol/l)			
Pre snimanja	46,13 ± 15,53	65,66 ± 17,86	0,003
24 časa posle snimanja	61,75 ± 15,61	70,25 ± 17,89	ns
48 časova posle snimanja	60,25 ± 21,31	67,0 ± 18,17	ns
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )			
Pre snimanja	172,98 ± 21,71	130,55 ± 24,53	<0,001
24 časa posle snimanja	126,11 ± 15,60	122,19 ± 23,55	ns
48 časova posle snimanja	133,13 ± 17,46	127,89±23,02	ns
CysC (mg/l)			
Pre snimanja	0,725 ± 0,107	0,758 ± 0,191	ns
24 časa posle snimanja	0,771 ± 0,123	0,763 ± 0,163	ns
48 časova posle snimanja	0,707 ± 0,085	0,764 ± 0,151	ns

#### 4.6.3. Rana dijagnoza CI-AKI i značaj ranih biomarkera

Uporednom analizom vrednosti cistatina C i novih biomarkera oštećenja bubrežne funkcije, pokazali smo da nije bilo statistički značajne razlike između grupe ispitanika koja je po standardnim parametrima razvila CI-AKI i grupe koja to nije (sa i bez CI-AKI), i to u vrednostima serumskog cistatina C, serumskog i urinarnog NGAL. Samo je porast urinarnog KIM-1 posle 24 sata od ekspozicije kontrastu bio značajno veći u grupi ispitanika sa dijagnostikovanom CI-AKI (CI-AKI: 367,3 (221,5) pg/ml; ne CI-AKI: 308,2 (192,1) pg/ml,  $p=0,009$ , Tabela 11.).

Tabela 11. Laboratorijski parametri (novi biomarkeri AKI) pre i posle snimanja u grupama dece koji sa i bez CI-AKI

Parametri	CI-AKI (n=8)	NE-CI-AKI (n=115)	p
<b>sNGAL (ng/ml)</b>			
Pre snimanja	53,6 ± 12,78	46,72 ± 17,35	ns
24 časa posle snimanja	56,76 ± 7,67	51,35 ± 16,81	ns
48 čas. posle snimanja	42,06 ± 6,75	48,22 ± 16,24	ns
<b>u NGAL (ng/ml)</b>			
Pre snimanja	71,45 (401,5)	17,75 (140,4)	ns
4 časa posle snimanja	7,45 (162,1)	8,25 (80,7)	ns
24 časa posle snimanja	35,7 (365,7)	15,05 (139,5)	ns
48 čas. posle snimanja	10,95 (10,8)	12,1 (118,4)	ns
<b>u KIM-1 (pg/ml)</b>			
Pre snimanja	265,55 (185,2)	300,85 (230,4)	ns
4 časa posle snimanja	321,65 (149,3)	230,5 (240,7)	ns
24 časa posle snimanja	423,6 (118,9)	304,15 (218,8)	0,09
48 čas. posle snimanja	367,3 (221,5)	308,2 (192,1)	ns
<b>u KIM-1/uCr (pg/mg)</b>			
Pre snimanja	482,01 (743,9)	270,34 (274,2)	ns
24 časa posle snimanja	282,98 (137,1)	219,47 (229,6)	ns
48 čas. posle snimanja	382,07 (991,6)	274,0 (313,7)	ns

S obzirom da različit stepen dilucije urina može značajno da utiče na rezultate, mi smo pored apsolutnih vrednosti urinarnih biomarkera koristili i vrednosti normalizovane u odnosu na istovremeno izlučivanje kreatinina (KIM-1/uCr i uNGAL/uCr).

Rezultati ROC analize za normalizovane vrednosti uKIM-1 su pokazale da je AUC uKIM-1/uCr posle 24 sata od ekspozicije kontrastu 0,757 (95% interval pouzdanosti [CI]:0,629-0,885; p=0,035). Posle 24 sata od ekspozicije kontrastu, vrednosti KIM-1/uCr za ranu detekciju CI-

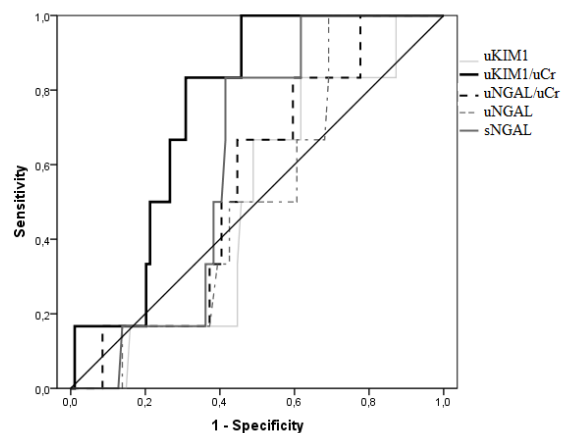
AKI veće od 214 pg/mg su pokazale senzitivnost od 83,3 % i specifičnost od 54,2% (Tabela 12., Grafikon 23).

Tabela 12. ROC analiza dijagnostičke pouzdanosti biomarkera u ranoj detekciji CI-AKI

Parametar	AUC (95% CI)	p	Cut off	Senzitivnost (95% CI)	Specifičnost (95% CI)
sNGAL (ng/ml)	0.613 (0.473-0.754)	0.353	55.4	83.3	55.4
uNGAL (ng/ml)	0.512 (0.335-0.688)	0.925	5.25	83.3	30.8
uNGAL/uCr (ng/mg)	0.553 (0.367-0.739)	0.663	7.03	66.7	40.4
uKIM-1 (pg/ml)	0.495 (0.306-0.683)	0.965	241	83.3	38.2
uKIM-1/uCr (pg/mg)	0.757 (0.629-0.885)	0.035	214	83.3	54.2



### Grafikon 23. ROC krive ranih biomarkera u predikciji nastanka CI-AKI 24 časa posle primene kontrasta



U isto vreme, AUC vrednosti serumskog i urinarnog NGAL-a, uNGAL/uCr i apsolutnih vrednosti urinarnog KIM-1 su bile značajno niže i nisu pokazale statističku značajnost u predikciji nastanka CI-AKI (Tabela 10).

## 5. DISKUSIJA

Akutno oštećenje bubrežne funkcije izazvano primenom jodnih kontrasta („radiocontrast media-induced acute kidney injury“, CI-AKI) je do sada dobro opisano i predstavlja čestu pojava kod osoba koje poseduju određene faktore rizika. Engleski termin koji je uobičajen u literaturi CI-AKI, ranije poznat pod imenom „CIN“ ili nefropatije indukovane kontrastom, predstavlja kompleksan sindrom akutno nastale deteriorijacije bubrežne funkcije koji se razvija posle infuzije kontrastnog sredstva na bazi joda. Podaci u literaturi o prevalenci CI-AKI su veoma različiti i opisuju se prevalenca od 0 do 50% (4,86). Ovako velika razlika u prevalenci ima brojne uzroke poput: razlike u starosnoj dobi, udruženim bolestima, tipovima medicinskih procedura, vrstama, volumenu i putevima ubrizgavanja kontrastnog sredstva, a zatim i što je možda najvažnije, kriterijumima po kojima se definiše CI-AKI. Do sada, među najbolje opisanim faktorima rizika za nastanak CI-AKI spadaju: intra-arterijalna primena kontrasta, jonska visoko-osmolarna sredstva, hronična bolest bubrega (CKD) i diabetes melitus (65). Od svih ovih nabrojanih faktora, pogotovo osmolalitet kontrastnog sredstva igra značajnu ulogu u nastanku CI-AKI. Stoga, da bi se prevenirao nastanak CI-AKI, mnogo je poželjnija primena nisko-osmolarnih kontrasta zbog njihovog ubrzanog klirensa u odnosu na visoko-osmolarna (65, 134). U našoj studiji smo u grupi pacijenata kod kojih je primenjivan jodni kontrast davali nisko-osmolarni kontrast čije su osnovne fizičko-hemijske i biološke karakteristike prikazane u Tabeli 3. Do sada nije u potpunosti jasan patofiziološki mehanizam nastanka CI-AKI. Međutim, smatra se da je ovaj mehanizam udružen sa pojavom vazokonstriktornih efekata kontrasta na bubrežni protok krvi, koji nastaje zbog povećanog influksa kalcijuma, oslobađanja endotelina, poremećene produkcije NO, a zatim i direktne tubulske toksičnosti kontrastnog sredstva. Pored brojnih starih definicija CIN, poslednjih godina se koristi definicija CI-AKI koja podrazumeva porast kreatinina od preko 25% u odnosu na bazalne vrednosti ili apsolutni porast za 0,5 mg/dl (44,2 $\mu$ mol/l) koja se dešva unutar 48 sati od primene kontrasta (135). U našoj studiji, pacijenti u prvoj grupi (n=58) su dobijali nejonsko nisko-osmolarno kontrastno sredstvo – iopromide (koncentracija joda 370 mg/ml) u srednjoj dozi od 2,7 ml/kg tt. Postoje različiti izveštaji o tome da li količina primenjenog kontrasta determiniše nastanak CI-AKI. Manje prospektivne studije nisu potvrdile ovu udruženost (88) dok su velike retrospektivne analize baza podataka potvrdile udruženost količine kontrasta i rizika za nastanak AKI (89). Postavljen je limit u količini

primljenog kontrasta od maksimalno 300 ml (5 ml/kg podeljen sa serumskim kreatininom u mg/dl) koji je značajan prediktivni faktor za nastanak CI-AKI (90). Dakle, u našoj studiji srednja količina primenjenog kontrasta je bila daleko u ovom sigurnom limitu. Takođe niti jedan uključeni ispitanik nije imao dijabetes, tako da je ispitivana populacija bila sa najmanje rizika za razvoj CI-AKI. Prema najnovijoj definiciji CI-AKI, u ovoj grupi 2 pacijenta su razvila CI-AKI. Jodni kontrast je u većini slučajeva primenjivan intra-arterijski (44,8%), intravenski kod 27,6% pacijenata, a kod preostalih je primenjivana kombinacija arterijskog i venskog davanja. Postoji jasan konsenzus da je rizik od nastanka CI-AKI znatno niži kod intravenske u odnosu na intraarterijsku primenu kontrasta (11). Kod dva pacijenata iz naše prve grupe koji su posle primene jodnog kontrasta razvili CI-AKI, niti jedan nije primao kontrast isključivo intraarterijski. Kod jednog je kontrast primenjen intravenskim putem, a kod drugog kombinovano. Dakle, iako je reč o malim brojkama, nismo pokazali da postoji razlika u incidenci CI-AKI kada je put aplikacije kontrasta u pitanju. Ovo je u skladu sa nalazom Karlsberg-a i saradnika koji su poredili intravensku i intraarterijsku primenu jodnog kontrasta kod 264 bolesnika kojima su sukcesivno odrađene dve procedure: prvo CT snimanje, i potom posle 3-14 dana angiografija aortofemoralnih arterija (87). Autori nisu pronašli razliku u incidenci CI-AKI između ove dve grupe snimanja (7,6% posle intravenske primene iodixanola i 8,7% posle angiografije i intrarterijske primene iodixanola). Zaključili su da intravenska primena jodnog kontrasta može da bude podjednako nefrotoksična kao i intraarterijska. Oni su takođe zaključili da je većina intraarterijskih injekcija uglavnom intravenska za bubrege, obzirom da kontrast mora da prođe venski sistem dok stigne do bubrega ( npr., karotidni, celijačni, distalni aortni, aortofemoralni „imaging“). Nedavna meta analiza 11 randomizovanih kontrolisanih studija (RCT) koja je uključila 2210 pacijenata kojima je kontrast ubrizgavan intraarterijski i 7 RCT sa 919 pacijenata kojima je kontrast ubrizgavan intravenski je pokazala da intraarterijska primena iodixanola (IOCM) značajno smanjuje rizik za nastanak CI-AKI ( $p=0,01$ ) u poređenju sa pulom LCOM (136). Takođe nije pokazan statistički značajan benefit u intravenskoj aplikaciji kada je nastanak CI-AKI u pitanju ( $p = 0,27$ ). Ova meta analiza je potvrdila veći značaj tipa kontrastnog sredstva u odnosu na njegov put aplikacije. Postoje različiti izveštaji o tome da li ili ne količina primenjenog kontrasta determiniše nastanak CI-AKI. Manje prospektivne studije nisu potvrdile ovu udruženost (88) dok su velike retrospektivne analize baza podataka potvrdile udruženost količine kontrasta i rizika za nastanak AKI (89).

Doza kontrasta je kod oba pacijenta u našem ispitivanju koji su razvili CI-AKI posle primene iopromide-a iznosila 3,1 ml/kg tt, što je bilo za nijansu više od grupnog proseka. S obzirom da su svega dva pacijenta razvili CI-AKI, nismo mogli da donesemo bilo kakav validan statistički zaključak. Postavlja se važno pitanje, da li ima neke razlike u bezbednosti primene ovih kontrasta koji pripadaju istoj grupi prema osmolalnosti, poput razlika koje postoje među nisko- i visoko-osmolarnim kontrastima. Ajami i sar. su poredili incidencu CI-AKI između dve grupe nejonskih nisko-osmolarnih kontrasta (iopromide i iohexol) kod 80 pacijenata mlađih od 18 godina kojima je rađena angiografija srca. Pokazali su da je incidenca CI-AKI zavisila jedino od doze, a ne od vrste primenjenog kontrasta. (137). Zo'o i sar., su poredili incidencu CI-AKI kod dece koja su prilikom kompjuterske tomografije (CT) primala intravenski, ili nisko-osmolarni kontrast (iobitridol) ili izo-osmolarni (iodixanol). U studiju je bilo uključeno 146 dece sa normalnom bubržnom funkcijom. Autori su pokazali da je bezbednost oba kontrasta zadovoljavajuća i da nema značajne razlike u incidenci CI-AKI kod primene ove dve vrste kontrasta kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom (138).

Obzirom da kontrasti na bazi gadolinijuma (GBCM) imaju veoma slične karakteristike kao i jodni, posebno hiperosmolarnost i klirens ovisan o glomerulskoj filtraciji, briga o nefrotoksičnosti i ovih preparata nije u potpunosti zanemarljiva. Međutim, GBCM imaju značajno nižu viskoznost i koriste se u značajno manjoj zapremini u odnosu na jodne (4 do 11 puta), čineći ih na taj način potencijalno manje nefrotoksičnim (95). Studije na različitim animalnim modelima koje su ispitivale bezbednost primene GBCM su koristile veoma veliki raspon doza (0,6 to 3,0 mmol/kg). U poređenju sa humanim dozama, ove doze primenjivane kod životinja su se kretale od velikih (0,6 to 1,0 mmol/kg) do masivnih (1,0 to 3,0 mmol/kg), (105). Zabeležena su minimalna povećanja ureje i kreatinina kao i blagi porasti urinarnih tubulskih enzima kod eksponiranih životinja. Pojava nefrotoksičnosti je zabeležena prilikom primene velikih doza (>1,0mmol/kg). Histopatološki pregled je pokazao vakuolizaciju i nekrozu tubulskih ćelija bubrežnog korteksa. U trećoj fazi velike kliničke studije, 1171 pacijent je primio 0,1 mmol/kg visoko-osmolarnog (1960 mOsm/L)/nisko viskoznog (2.9mPa•S) gadopentetata (139). Pacijenti su grupisani u tri grupe prema vrednosti serumskog kreatinina (<1,3, 1,3 to 1.4, or >1,4 mg/dl) i merene su promene u serumskom kreatininu posle 24h od ekspozicije kontrastu. Nije bilo značajne promene među ovim grupama. Odvojeno su evaluirane dve male grupe visokog rizika: sa GFR od 20 do 40 ml /min (n=10 pacijenata) i sa GFR ispod 20 ml/min (n=5

pacijenata). Kod pacijenata u ove dve grupe je petog dana došlo do srednjeg porasta serumskog kreatinina za 0,25 mg/dl. Arsenault i sar., (140) su ispitivali 90 od 136 pacijenata sa srednjom vrednosti serumskog kreatinina od 2,5 mg/dl koji su primili 0,1 mmol/kg gadopentetata. Trećeg dana autori nisu zabeležili promenu serumskog kreatinina (2,5 → 2.3 mg/dl), ukazujući na odsustvo nefrotoksičnosti helata gadolinijuma primenjenog u maloj dozi. U našoj studiji smo u drugoj grupi pacijenata primenili isti kontrast u istoj prosečnoj dozi kao i prethodno navedeni autori i pokazali da je srednji kreatinin od početnih  $66,5 \pm 18$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, porastao na  $69,6 \pm 18,7$ , sa razlikom koja je bila statistički značajna,  $p=0,027$ , Tabela 6. Moguće da ovaj neočekivani porast u grupi dece sa normalnom bubrežnom funkcijom, potiče od činjenice da smo mi kreatinin merili posle 48h, a ne posle 72h. Od ukupno 65 pacijenata koji su primili Gd-DTPA, njih 6 je prema novim kriterijumima razvilo CI-AKI. Nije bilo razlike u volumenu primenjenog kontrasta između grupe koje je razvila CI-AKI u odnosu na grupu koja nije razvila posle davanja Gd-DTPA. Kao što je pomenuto, za humanu upotrebu, neophodno je da se gadolinijum veže sa ligandom, tj. helira kako bi mu se redukovala toksičnost. Iz rezultata animalnih studija, poznato je da je novonastali helat gadolinijuma 100 puta manje toksičan (95). Gd-DTPA koji je primenjivan u našoj studiji je linearni helat gadolinijuma koji slabije vezuje toksični jon gadolinijuma, zatim koji ima 6,9 puta veću osmolalnost u odnosu na plazmu. Moguće da je to jedan od razloga što je čak 6 od 65 ispitanika u grupi koja je primala Gd-DTPA razvilo nefrotoksičnost.

Kontrasti na bazi gadolinijuma se generalno smatraju mnogo manje nefrotoksičnim u odnosu na preparate joda. U studiji od 64 pacijenata sa CKD (bazalni serumski kreatinin  $2,0 \pm 1,4$  mg/dl), svi pacijenti su u dva odvojena vremena primali i GBCM i ICM, služeći tako kao sopstvena kontrola (141). Stopa nastanka CI-AKI je definisana porastom serumskog kreatinina za 0,5 mg/dl i komparirana je između dve različite kontrasne ekspozicije. Doza GBCM primenjena u studiji se kretala između 0,2 i 0,4 mmol/kg telesne težine. Niti jedan pacijent nije razvio nefrotoksičnost u poređenju sa 17% pacijenata koji su primali jodni kontrast. U našoj studiji, prosečan porast serumskog kreatinina posle 24h od aplikacije kontrasta je bio veći u grupi koja je dobijala iopromide, premda nije bilo statističke značajnosti, ( $p=0,41$ ). Međutim, posle 48h, prosečan porast serumskog kreatinina, ali opet bez statističke značajnosti ( $p=0,792$ ) je bio u grupi dece koja su dobijala Gd-DTPA. Prema ovim najnovijim kriterijumima, CI-AKI smo definisali kao porast SCR za 25% u odnosu na bazalni 48h posle primene kontrasta ili pak pad u GFR u istoj

vremenskoj tački. Pokazali smo da je dvoje od 58-oro ili 3,4% dece koja su primila ICM i šestoro od 65-oro ili 9,2% dece koji su primili GBCM razvili CI-AKI (Grafikon 19), ali bez statističke značajnosti među grupama kontrasta. Ovo je naravno u grupi dece sa normalnom bubrežnom funkcijom veoma visok procenat, pogotovo neočekivano visok u grupi koja je primala gadolinijum. Reč je verovatno o tome što su primenjeni najnoviji, tj. najstrožiji kriterijumi za dijagnostiku AKI. Međutim, ovo je slično izveštaju Duan a i sar., doduše u populaciji starijih ispitanika, takođe sa normalnom bubrežnom funkcijom. Oni su pokazali da je 8 od 60 (13,3%) pacijenata posle kontrastnog snimanja na MR razvilo CI-AKI (142). Verovatno ovaj jedan insult neće imati značaja za dalju bubrežnu funkciju i predstavlja prolazni poremećaj, ali treba da imamo na umu, da je ovo najmlađa populacija koju tek čeka sticanje faktora rizika poput diabetesa melitusa tip II kao globalne epidemije, zatim ateroskleroze, a kod manjeg broja i hronične bolesti bubrega. Uz veliku verovatnoću da će ova grupa u budućnosti imati još aplikacija raznih kontrasta, a u svetlu prethodno navedenih faktora rizika, jasno se nameće bojazan da svaki novi insult može povećati verovatnoću hronične bolesti bubrega. Obzirom da su samo dva pacijenta koja su primila iopromid imala kriterijum za dijagnozu CI-AKI, naši rezultati potvrđuju ranija zapažanja da nisko-osmolarni, nejonski kontrasti za intravaskularnu primenu, poput iopromida retko dovode do AKI. Slične rezultate je prikazao Hwang i sar., u kohorti od 26 dece sa urođenim srčanim manama kojima je rađena kateterizacija srca. U ovoj grupi, CI-AKI nije zabeležena niti kod jednog pacijenta (143). Lichosik i sar., takođe nisu zabeležili slučajeve klasične CIN u grupi dece sa normalnom ili lako narušenom bubrežnom funkcijom koja su primala intravenski iohexol prilikom radioloških ispitivanja (144). Khatami i sar., (145) su koristili iste kriterijume sa CI-AKI kao i mi i pronašli su da je CI-AKI zabeležena kod 5,8% pacijenata ako je definisana isključivo porastom serumskog kreatinina za 0,3 mg/dl, a da je njena incidenca mnogo veća ako se kao kriterijum koristi porast serumskog kreatinina za 25% u odnosu na bazalnu vrednost. Ukoliko se primeni ovaj drugi kriterijum za definiciju CI-AKI, u tom slučaju incidenca iznosi čak 25%. Obzirom da su autori ispitivali pacijente sa normalnom bubrežnom funkcijom, kao što je to rađeno i u našoj studiji, smatrali su da je incidenca CI-AKI prema relativnom porastu serumskog kreatinina iznenađujuće visoka. Iz ovoga razloga, autori su kao moguće objašnjenje ove široke varijacije u incidenci CI-AKI, čak naveli i pojam „hospital-induced nephropathy“ ili nefropatije nastale tokom hospitalizacije. Naime, pokazano je da značajne promene serumskog kreatinina mogu da se pojave iz dana u dan

hospitalizacije i kod pacijenata koji nisu eksponiranim kontrastnim agensima. Interesantno da je u zavisnosti od definicije CI-AKI moguća i varijacija od 5-10%, pa čak i u pacijenata koji nisu primili kontrast (146). Ovakvo objašnjenje ne može da se odnosi na naše pacijente, pogotovo u drugoj grupi koji su snimanje radili kao vanbolnički pacijenti sa kratkotrajnim boravkom u bolnici od nekoliko časova tokom kojih im je rađeno samo snimanje i kratkotrajno primenjivana infuzija kristaloida. Kod pacijenata iz prve grupe koji su dobili jodni kontrast hospitalizacija je mogla da bude faktor porasta serumskog kreatinina zbog najverovatnije slabijeg unosa tečnosti. Interesantno je da su u velikoj retrospektivnoj studiji (100), analizirani podaci o vrednosti kreatinina, kalcijuma i magnezijuma svih pacijenata između septembra 1993. i avgusta 2004 godine, i to pre kontrastnih snimanja i dan posle. Primenjivane su dve vrste kontrasta na bazi gadolinijuma (gadodiamid ili Gd-DTPA), a takođe su u analizu uključeni i pacijenti koji su u određenom vremenskom intervalu, ali unutar 6 meseci, odvojeno primali i jodni kontrast. Nivo serumskog kreatinina kod 2788 ispitivanja sa primenom gadolinijuma kod pacijenata sa normalnom bubrežnom funkcijom nije znatno porastao sledećeg dana. U poređenju sa tim nalazom, SCr je porastao sa 1,21mg/dl (107 $\mu$ mol/l) na 1,28 mg/dl (113  $\mu$ mol/l) posle primene jodnog kontrasta i zabeleženo je 20% slučajeva CI-AKI ili 2,6%,  $P < 0,01$ . U 254 ispitivanja kod pacijenata sa CKD, zabeležen je čak prolazan pad SCr posle primene Gd-DTPA (pre snimanja SCr vs posle Gd-DTPA, 3,62 mg/dl [320 $\mu$ mol/l] vs. 3,49 mg/dl [309 $\mu$ mol/l];  $p = 0,01$ ). Stoga su autori zaključili da su GBCM sigurni u primeni kod MR i da ne dovode do nefrotoksičnosti. Međutim ova studija je iako velika, retrospektivna i kao kriterijum za nastanak CI-AKI je uzimala ranije kriterijume koji su podrazumevali bar duplo veći porast serumskog kreatinina, tako da su po sadašnjim kriterijumima mnogi pacijenti i propušteni a da su imali CI-AKI. Međutim, Oguz i sar. (147) nisu zabeležili AKI čak ni primenom novih ranih biomarkera kod pacijenata visokog rizika za AKI koji su primali gadobutrol kao kontrast tokom MR snimanja. Međutim, u animalnim modelima, Elmståhl i sar., su pokazali da su histopatološke promene na modelu ishemijskog bubrega kod svinja uzrokovane gadolinijumom slične onim koje prouzrokuju jodni kontrasti i da nisu zavisne od primenjene doze (148). Dalje su isti autori čak pokazali da je jodni kontrast (iohexol) manje nefrotoksičan u odnosu na gadolinijumske helate (gadopentetat i gadodiamid) u eksperimentalnim uslovima bubrega svinje podvrgnutih ishemiji (149). U humanoj populaciji, rane studije su pokazale da su GBCM relativno bezbedne molekule kod zdravih ljudi (99,100) kao i kod bolesnika sa CKD (97,103,104). Ipak, kvalitet

ovih studija je loš i podaci o nefrotoksičnosti GBCM su konfliktni (150,151, 152). Mnoge studije nisu uspele da pokažu jasne faktore rizika (151,152). Takođe tip i doza primenjenog gadolinijumskog kontrasta u ovim studijama nisu homogeni. GBCM se klasifikuju u četiri glavne kategorije prema svojoj biohemijskoj strukturi i električnom naboju. Različite osobine ovih helata imaju određene implikacije na mogući nastanak nefrotoksičnosti i rizik od oslobađanja slobodnog jona gadolinijuma ( $Gd^{3+}$ ) iz svog helata (105); stoga različiti tipovi GBCM, poseduju različiti toksični potencijal. Na primer, u nekim studijama je pokazano da je gadodiamide zbog svojih fizikohemijskih karakteristika toksičniji od drugih, ali druge studije to nisu potvrdile (153). Dok je inicijalno smatrano da su GBCM sigurna alternativa ICM kod bolesnika sa CKD, mnoge kliničke studije i prikazi slučajeva nastanka AKI posle primene gadolinijumskih helata su zabeleženi u literaturi, pogotovo kod starijih osoba. Takođe, sve veća „off-label“ primena GBCM u visokim dozama (npr. prilikom CT angiografije i digitalne subtraktione angiografije) ponovo je navela istraživače da razmišljaju od bezbedonosnom profilu ovih lekova, pogotovo kod pacijenta sa hroničnom bolesti bubrega (94). U jednoj kasnijoj studiji, autori su poredili pacijente sa CKD i klirensom kreatinina manjim od  $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  koju su uz intravensku hidraciju i oralni n acetyl-cistein primali kombinaciju gadodiamida i jodnog kontrasta (n= 90) ili samo jodni kontrast (n=79) tokom kateterizacije srca (154). CI-AKI su definisali kao porast SCr za  $0.5 \text{ mg/dl}$  [ $44\mu\text{mol/l}$ ]. Iako je u grupi koja je primala gadodiamide bilo manje jodnog kontrasta od druge grupe, nije bilo razlike u incidenci CI-AKI između grupa. Premda, smrtni ishod kod 8 pacijenata i potreba za započinjanjem dijalize kod 7 pacijenata, javili su se samo u grupi koja je primala gadolinijumski helat. Diabetes melitus je bio jedini nezavisni prediktor nastanka AKI. Autori su zaključili da incidenca CI-AKI nije bila manja kod pacijenata koji imaju visoki rizik za AKI i koji su umesto čistog jodnog kontrasta primili kombinaciju joda i Gd helata. U literaturi postoji više prikaza slučajeva bolesnika sa CKD kod kojih je posle primene GBCM u dozi od  $0,10\text{-}0,44 \text{ mmol/l}$  došlo do akutnog popuštanja bubrežne funkcije (106-108). Takođe je i prospektivna randomizovana kontrolisana studija a malim uzorkom pokazala da gadobutrol nema prednost u odnosu na jodni kontrasta (iohexol) prilikom izvođenja angiografije kod pacijenata sa teško narušenom bubrežnom funkcijom (109). Na osnovu nalaza ove male studije, zaključak je da se helati gadolinijuma koriste sa velikom pažnjom kao alternativno kontrasno sredstvo prilikom DSA kod pacijenata sa značajno narušenom bubrežnom funkcijom. Ove podatke su potvrdili Nyman i sar. (110),, ukazujući na činjenicu da su helati



gadolinijuma zahvaljujući svojim fizikohemijskim svojstvima i u količini neophodnoj za prikaz zadovoljavajućih angiograma (uopšteno preko 0,3-0,4 mmol/kg telesne težine) ipak jako nefrotoksični. Mi smo u drugoj grupi pacijenata sa normalnom bubrežnom funkcijom davali linearni, jonski gadolinijumski (gadopentetat dimeglumin) kontrast u izuzetno maloj dozi, na donjoj granici preporučenih, sa srednjom dozom od 0,2 ml (0,1 mmol)/kg telesne težine. Dakle, imali smo grupu pacijenata u kojoj se najmanje očekuje CI-AKI i stoga nam je bilo zanimljivo da detaljno ispitamo bubrežnu funkciju i da utvrdimo šta se eventualno krije ispod ledenog brega, tj. da li dolazi do izvesnih oštećenja koja ostaju neprepoznata i zanemarena.

Adekvatna hidracija pacijenata koji idu na kontrastna snimanja je preporučena još pre više od 40 godina (32). Tako Komitet za bezbednu primenu kontrastnih sredstava (11) preporučuje hidraciju u trajanju od najmanje 6h pre i posle snimanja. Uobičajena brzina infuzije koja se primenjuje je 1 ml/kg/h (32). Ovaj režim je nepraktičan za vanbolničke pacijente. U našoj studiji smo stoga ispitanicima koji su vanbolnički primala Gd-DTPA davali 0,45% NaCl u dozi od 2-3 ml/kg/h 1 do 2 sata pre snimanja i 3h posle snimanja. Grupa ispitanika koja je podvrgnuta angiografskim ispitivanjima sa jodnim kontrastom je uglavnom hidrirana tokom intervencije brzinom od 3 ml/h. Nije bilo razlike u primenjenom režimu hidracije između ispitanika koji su razvili CI-AKI u odnosu na one koji nisu, niti u dužini pre, niti tokom i posle snimanja (Tabela 10). Primena antihipertenziva, a posebno ACEI i ARB koji iako imaju renoprotektivno dejstvo, mogu istovremeno i pogoršati bubrežnu hipoperfuziju posle primene kontrasta. Stoga je njihova primena u konetkstu kontrastne nefropatije nedovoljno jasna. U našem radu nije bilo značajne razlike među grupama ispitanika kod kojih je došlo do razvoja CI-AKI u odnosu na grupu kod koje se nije razvila CI-AKI u odnosu na procenat primene antihipertenziva, kao i ACEI/ili ARB, Tabela 10. U grupi kod koje je došlo do razvoja CI-AKI je kod 25% ispitanika primenjivana antihipertenzivna terapija, a u grupi kod koje nije došlo do razvoja CI-AKI kod 26,96%,  $p>0,05$ ). Nešto veći procenat ispitanika (25%) je primao ACEI/ili ARB u grupi koja je razvila CI-AKI, u odnosu na 15,3% u grupi kod koje nije došlo do razvoja CI-AKI. Međutim ova razlika u primeni ACEI i ili ARB nije dosegla statističku značajnost. Ovi nalazi su u skladu sa istraživanjima Alharazy-ja i sar. koji su u grupi adultnih pacijenata sa CKD posle koronarografije pokazali da primena ACEI nije imala uticaj na nastanak CI-AKI (155).

U mnogim dosadašnjim studijama o proceni nefrotoksičnosti kontrasta na bazi gadolinijuma je korišten serumski kreatinin (150,151,152). Nažalost, dobro je poznato da je on loš i kasni marker

nastanka AKI. Stvaranje kreatinina u organizmu je veoma varijabilno i zavisi od načina ishrane, mišićne mase, pola i rase. Dalja ograničenja serumske koncentracije kreatinina da prikaže promene u GFR se nalazi u činjenici da kompenzatorna hipertrofija i hiperfiltracija neoštećenih glomerula u slučaju progresivnog gubitka glomerula omogućava da vrednosti kako GFR-a tako i SCr ne odražavaju trenutno strukturalno oštećenje u bubrezima. S obzirom da su tubuli bubrega skoro uvek oštećeni tokom CI-AKI, promene u SCr i GFR ne ukazuju na tubulsko (strukturalno) oštećenje već pre na kasno funkcionalno. Do sada su sprovedene mnoge studije o promenama u koncentraciji urinarnih enzima i koncentraciji markera funkcije bubrežnih tubula ili glomerula u serumu posle primene kontrastnih sredstava. Devedesetih godina prošlog veka, posebna pažnja je bila usmerena ka uticaju kontrastnih sredstava na supstance poput: urinarne N-acetil- $\beta$ -D-glukozaminidaze (NAG),  $\gamma$ -glutamil transferaze (156), alkalne fosfataze i ekskretovanih urinarnih proteina poput  $\beta$ 2-mikroglobulina ili albuminurije (157). U poslednjoj dekadi, pojavio se određeni broj novih biomarkera bubrežnog oštećenja kao što su molekul bubrežnog oštećenja-1, “ the kidney injury molecule-1“ (KIM-1), NGAL, i cistatin C koji omogućavaju raniju i specifičniju detekciju CI-AKI (9,37,41). Kliničke validacione studije su pokazale da je dodatni značaj ovih novih biomarkera u odnosu na standardno merenje serumskog kreatinina, ne samo u mogućnosti rane dijagnoze AKI, nego i u otkrivanju strukturalnih oštećenja čak i onda kada bubrežna disfunkcija ili porast serumskog kreatinina nikada i ne postane manifestan (7,14). Činjenica da AKI nije klinički manifestna prema klasičnim kriterijumima, ne znači nedvosmisleno da je bubreg ostao neoštećen (7). Takođe, pokazano je da oštećenje bubrežnih tubula bez porasta serumskog kreatinina može biti udruženo sa lošim ishodom po bubreg, tako da je ovo stanje nazvano subkliničkom AKI (158). Pored konvencionalnih biomarkera, mi smo u našem radu koristili i specifičnije i rane markere za nastanak AKI (Cistatin C, sNGAL, uNGAL, and uKIM-1) kako bismo otkrili eventualno subkliničko strukturalno oštećenje bubrega tokom izvođenja naše studije. Obavili smo i analizu pre i postkontrastnih vrednosti serumskih i urinarnih elektrolita, glikozurije i urinarnih proteina i mikroalbumina. U literaturi je opisan urikozurični efekat visko osmolarnih kontrastnih sredstava koji se primenjuju prilikom holecistografije, iz čega proizilazi i mogućnost tubulske precipitacije kao faktora koji dodatno doprinosi tubulskoj toksičnosti (32). U jednoj maloj seriji bolesnika zabeležena je korelacija između vremenske ekskrecije kontrasta i smanjenja serumskih urata uz istovremeno povećanje urikozurije. Raniji radovi su opisivali značajne urikozurije posle primene pre svega visoko

osmolarnih kontrasta na bazi joda kada je dolazilo i do razvoja prave uratne nefropatije (159). Tokom naše studije, nije zabeleženo povećanje urikozurije niti u jednoj grupi kontrastnih snimanja (Grafikon 14.). Takođe, nismo zabeležili značajne promene u kalciuriji, magneziuriji, TTKG posle primene obe vrste kontrasta (Grafikoni 12., 13., 9.). U grupi dece kod kojih je primenjen jodni kontrast, zabeleženo je prolazno (samo posle 24 časa), ali statistički značajno smanjenje natriureze u vidu smanjenja FENa (Grafikon 6.) što je u skladu sa nekim ranijim nalazima (65). Premda u literaturi ima i suprotnih podataka i o povećanju natriureze posle primene jodnih kontrastnih sredstava (68). U grupi dece koja su kao kontrast dobijala Gd-DTPA posle 48h je zabeležen blagi porast proteinurije i mikroalbuminurije u odnosu na bazalne vrednosti (bez statističke značajnosti, Grafikoni 10 i 11.). Levin i saradnici su pokazali da kontrastna sredstva mogu dovesti do pogoršanja albuminurije, a da NAC kao potencijalni nefroprotektivni agens sa antioksidativnim delovanjem može da dovede do njenog smanjenja (160). Pogoršanje albuminurije zbog razvoja CI-AKI je opisano kod pacijenata kojima je rađena endovaskularna reparacija aortne aneurizme (19). U obe grupe naših pacijenata, a izraženije u grupi koja je dobijala jodni kontrast, zabeležena je, posle 24 sata od snimanja, pojava značajne tranzitorne glikozurije (Tabele 6 i 7., Grafikon 15).

Cistatin C (Cys C) je mnogo pouzdaniji parametar za procenu GFR od serumskog kreatinina kod pacijenata sa CKD (22). Dalje, na njegov nivo u plazmi ne utiče mišićna masa tako da je znatno superiorniji marker bubrežne funkcije kod bolesnika sa značajnim gubicima mišićne mase (23). Za razliku od serumskog kreatinina, pored mišićne mase, ni pol nema uticaja na njegove vrednosti, premda pojedini lekovi ili stanja mogu imati nezavisan uticaj na koncentraciju cistatina C (kortikosteroidi i bolesti štitaste žlezde), (23). S obzirom da je cistatin C bolji marker GFR, rezonski je pretpostaviti da će promena njegove vrednosti bolje zabeležiti i promene GFR-tokom AKI. Nekoliko studija (24,26,27) je koristilo akutne promene cistatina C za definiciju AKI na sličan način kao što se AKI definiše promenom serumskog kreatinina. Međutim, ove promene cistatina C u definiciji AKI nisu značajno evaluirane u velikim studijama. Pokazano je da bi cistatin C mogao da bude mnogo senzitivniji marker od serumskog kreatinina u slučaju nastanka CI-AKI kod odraslih. Međutim, u našoj studiji kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom, posle primene bilo kog od dva kontrasta nismo detektovali niti posle 24h, niti posle 48h značajne promene u serumskoj koncentraciji cistatina C (Tabele 6 i 7.). Ovaj nalaz je u suprotnosti sa adultnim studijama posle koronarnih angiografija, doduše kod pacijenata sa CKD,

gde se cistatin C pokazao kao senzitivniji i raniji marker za nastanak CI-AKI od serumskog kreatinina i promene GFR (161,162).

Među brojnim novim molekulima u ranoj dijagnostici AKI, NGAL je isplivao na površinu kao molekul koji najviše obećava (31,45,47). Mnoge kliničke studije su pratile značajne inicijalne eksperimentalne observacije. U prospektivnoj studiji kod 71 deteta koje je bilo na kardio-pulmonalnom bajpasu (CPB), plazmatski i urinarni NGAL su značajno porasli već unutar 2h od intervencije kod pacijenata koji su razvili AKI (definisanoj kao porast u serumskom kreatininu od najmanje 50% u odnosu na bazalne vrednosti). U ovoj grupi pacijenata sa CI-AKI kojih je bilo 28% od ukupnog broja, dijagnozu AKI je bilo moguće posaviti na osnovu porasta serumskog kreatinina posle 1-3 dana (47). U studiji Benett-a i sar. kod kojih je 51% dece od 196 razvilo AKI posle kardiohirurške intervencije, 2h posle operacije urinarni NGAL je u ovoj grupi bio prosečno 15 puta veći u odnosu na pacijente koji nisu razvili AKI, a posle 4-6 sati čak i 25 puta većih koncentracija (AUC 0.95; senzitivnost 82%, specifičnost 90%) (41). Pomenute publikacije su takođe pokazale značajnu povezanost između koncentracije NGAL-a u serumu i urinu sa težinom i tokom AKI, trajanjem hospitalizacije, porebom za dijalizom i incidencom mortaliteta (41). Korisnost urinarnog NGAL-a kao markera AKI je pokazana i u studiji koja je obuhvatila 140 dece sa popuštanjem bubrežne funkcije u jedinici intenzivne nege (55).

Toksično oštećenje bubrega posle primene kontrasta je drugi primer, gde je zabeležena povećana sinteza i ekskrecija NGAL. Bachorzewska-Gajewska i sar., su pokazali da serumski NGAL značajno raste posle 2-4 sata, a urinarni 4-8 sati posle koronarografije. Takođe je pokazana veza između NGAL i drugih parametara bubrežne funkcije kao što su Cys C, GFR i SCr. Na osnovu svega ovoga, autori su došli do zaključka da NGAL može biti koristan marker u ranoj dijagnozi AKI kod pacijenata posle koronarne angiografije (163). Haase i sar., su sprovedli meta-analizu 19 studija z 8 zemalja koja je uključila 2538 pacijenata, od kojih je 487 ili 19,2% razvilo AKI, a kod kojih je NGAL evaluiran kao rani marker nastanka AKI. Jedan od faktora rizika za AKI je bila i intravaskularna primena kontrasta. Analiza je ukazala na prognostički i dijagnostički značaj NGAL u evaluaciji akutnog oštećenja bubrega posle primene kontrastnog sredstva (10). „Neutrophil gelatinase-associated lipocalin“ kao potencijalni marker nastanka CI-AKI je izučavan i u pedijatrijskoj populaciji. Hirsch i sar., su 2007. godine bili prvi autori koji su izučavajući koncentracije NGAL u serumu i u urinu dece kojima je rađena kontrastna kateterizacija srca pokazali da ovaj biomarker može biti signifikantan prediktor u nastanku AKI.

U prospektivnoj studiji koja je obuhvatila 91 dete između 0 i 18 godina sa urođenom srčanom manom, i urinarni i serumski NGAL izmereni unutar 2h od elektivne kateterizacije srca su bili dobri prediktivni faktori nastanka CI-AKI, (54). Akutno oštećenje bubrega posle primene kontrasta (definisano od strane autora kao porast serumskog kreatinina za najmanje od 50% u odnosu na bazalnu vrednost) je bilo dijagnostikovano kod 11 pacijenata unutar 4-24h od intervencije dok je porast urinarne koncentracije NGAL zabeležena već unutar 2 sata od intervencije. Autori su pokazali da je za „cut-off“ vrednost NGAL-a od 100  $\mu\text{g/l}$  posle 2h od procedure, AUC ROC krive za predikciju kontrastne nefropatije iznosio 0,92 za urinarni i 0,91 za plazmatski NGAL. Ovaj nalaz je ukazivao na izvanredan dijagnostički značaj NGAL. U citiranoj studiji, autori su pokazali na bazi multivarijantne analize da su koncentracije i urinarnog i plazmatskog NGAL-a posle 2h nezavisni prediktivni faktori nastanka AKI. Prednost upotrebe urinarnog u odnosu na serumski NGAL je u tome da urinarni odražava lokalna dešavanja u bubregu i da predstavlja neinvazivnu metodu. Tong i sar. su istražujući u bazama „MEDLINE“ i „EMBASE“ radove koji su evaluirali dijagnostički značaj plazmatskog i urinarnog NGAL-a u predikciji nastanka CI-AKI zaključili da urinarni ima veći dijagnostički značaj (164). U našoj studiji, nije došlo do porasta NGAL unutar 4h od ekspozicije bilo kojem od dva ispitivana kontrastna sredstva (Tabele 6 i 7.). Pretpostavljamo da je ova razlika u odnosu na literaturne podake u grupi dece koja su primala ICM proistekla iz činjenice da smo imali veoma malo pacijenata sa definitivnom CI-AKI (svega dva) i da smo koristili nisko-osmolarni, ne-jonski jodni kontrast u maloj dozi i da nismo imali pacijenata sa cijanogenim srčanim manama, u poređenju sa prethodnim studijama (54). Stoga, možemo pretpostaviti poput Hwang-a i sar. (140), da NGAL, posebno urinarni NGAL, ima neka ograničenja u dijagnostici subkliničke AKI nastale posle primene kontrasta kod dece. Iz prethodnih radova, posle CPB, nađeno je da je urinarni NGAL veoma senzitivni marker ishemijske AKI i da njegov nivo korelira sa trajanjem renalne ishemije. Dodatno, urinarni NGAL je povišen i posle jednog dana od primene cisplatina u modelu mišje nefrotoksičnosti, sugerišući njegovu kasniju senzitivnost u drugim modelima tubulskog oštećenja (45). Ovo takođe može da objašnjenje za naše rezultate obzirom da pacijenti nisu bili na kardio-pulmonalnom bajpasu (CPB), i da je stoga ishemija kao trigger sinteze NGAL-a isključena, dok urinarni NGAL kao marker direktne tubulske toksičnosti ne pokazuje ranu senzitivnost. Takođe, Alharazi i sar., u studiji koja je obuhvatila 100 pacijenata sa CKD kojima je rađena koronarna angiografija, našli su potpuno suprotno prethodnim studijama

(155), da se serumski NGAL ne menja kod njihovih pacijenata četvrtog sata od snimanja. Autori su pretpostavili da je razlog tome primena standardnog rehidracionog protokola uz profilaksu peroralnim NAC-om. Intravenska rehidracija 1 sat pre i 3 sata posle snimanja primenjena kod većine naših pacijenata u Gd-DTPA grupi, mogla bi biti objašnjenje zašto je urinarni NGAL kod naših pacijenata posle 4 sata od primene kontrasta čak i niži u odnosu na bazalne vrednosti. U našoj studiji, 24h posle ekspozicije kontrastu, urinarni NGAL je imao veći porast u grupi koja je dobila iopromide u odnosu na Gd-DTPA ( $\Delta$ uNGAL 4,3 (IQR 16,55) ng/ml,  $P=0.358$ ;  $\Delta$ uNGAL 0,7 (IQR 16,6) ng/ml,  $p=0.21$ , Tabela 5.), ali bez statističke značajnosti među grupama. Varijabilno izlučivanje kreatinina urinom može značajno da utiče na urinarni NGAL. Da bi se minimizirao ovaj uticaj urinarne koncentracije kreatinina, u studiji smo koristili i apsolutnu, tj. nenormalizovanu vrednost NGAL-a kao i njegovu normalizovanu vrednost u odnosu na kreatinin, ali se rezultati nisu značajno razlikovali. Posle 24h od primene Gd-DTPA, serumski NGAL je bio u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa serumskim kreatininom i cistatinom C, ( $r=0.498$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.353$ ,  $p=0.008$ ). Ovi nalazi su u saglasnosti sa rezultatima drugih studija ali posle primene kontrasta na bazi joda (54).

Brojne ranije studije su CIN okarakterisale prema porastu SCr ili smanjenu eGFR sa veoma različitim kriterijumima, a nama daju za pravo da merenjem NGAL i drugih novih biomarkera kod dece koja su podvrgnuta kontrastnim snimanjima tragamo za subkliničkom nefrotoksičnošću. U suprotnosti sa SCr koji raste tek u slučaju gubitka preko 50% bubrežne funkcije i na koji utiču hemodinamski preranalni uzroci, povišen NGAL je rezultat unutrašnjeg oštećenja samog bubrega (37). Merenje urinarnog NGAL najverovatnije više reflektuje lokalna dešavanja i oštećenja u bubregu, po prirodi je neinvazivan i ne zahteva česta uzimanja krvi i držanje venskih linija kod kritičnih bolesnika. U uzorcima urina uglavnom i nema proteina koji interferiraju sa merenjem NGAL (41). Sa druge strane, merenje serumskog NGAL je veoma korisno kod anuričnih bolesnika i ne zahteva korekciju prema koncentraciji kreatinina kao što je to slučaj za urinarni uzorak. Nastanak subkliničke nefrotoksičnosti može, pogotovo posle više snimanja i ako ostane neprepoznat dovesti potencijalno i do funkcionalnog oštećenja bubrega. Do danas, pojam subkliničke nefrotoksičnosti nije jasno definisan. Akrawinthawong K. i sar. su subkliničku nefrotoksičnost definisali dvostrukim ili pak većim porastom NGAL-a, i pokazali su da pored 12,7% pacijenata sa CKD koji razvije standardne kriterijume za CI-AKI, njih dodatnih 11,1% razvije subkliničku nefrotoksičnost posle koronarne angiografije (165). U našoj studiji smo

zabeležili porast i serumskog i urinarnog NGAL-a 24 sata posle primene oba kontrasta, ali je samo statističku značajnost dostigao porast serumskog NGAL-a posle primene jodnog kontrasta ( $p=0.032$ , Tabela 7.). Takođe je u studiji Oğuz-a i sar., pokazano da je u populaciji adultnih visoko rizičnih pacijenata za nastanak AKI, nivo serumskog NGAL-a u kombinaciji sa drugim novim biomarkerima poput NAG (N-acetyl-Glucosaminidase) i cistatina C sličan posle primene gadopentetate dimeglumine-a tokom MR snimanja kao u grupi kod koje nije primenjen kontrast tokom MR (147). Autori su pokazali da nije bilo neželjenih efekata u vidu porasta ranih markera oštećenja bubrega posle primene magnetnog polja uz i bez istovremenog davanja gadopentetate dimeglumine-a (0,2 mmol/kg). Posle 48h od primene jodnog kontrasta srednja vrednost serumskog NGAL-a je i dalje veća u odnosu na bazalnu, ali bez statističke značajnosti. Nijedna od ove dve analize NGAL, u serumu i urinu nije pokazala statistički prediktivnu vrednost za CI-AKI. Značaj NGAL-a u proceni bubrežne funkcije nažalost ima i neka ograničenja. Na koncentraciju NGAL utiču uzrast, pol, inflamacija i bolesti koje dovode do jetrene disfunkcije (45). U fiziološkim uslovima, NGAL je takođe prisutan u maloj koncentraciji i u drugim organima poput pluća, traheje, želuca, creva koji mogu da limitiraju njegovu specifičnost kao markera bubrežnog oštećenja. Slično Khatami-ju i koaturima (145), mi smo pokušali da suptilne strukturne promene u bubregu (subkliničke) posle primene kontrastnih sredstava, izrazimo pomoću porasta novih biomarkera za 25 procenata u odnosu na bazalne vrednosti. Serumski NGAL je posle 24 sata od primene kontrasta porastao za 25% u 32,6% pacijenata posle primene jodnog kontrasta (iopromide) i u 25,45% pacijenata posle primene kontrasta na bazi gadolinijuma (Gd-DTPA), Tabela 8. Prosečan porast u ove dve subgrupe pacijenata je bio statistički značajno veći u grupi koja je primila iopomide i iznosio je 62,23%, za razliku od grupe koja je primila Gd-DTPA gde je iznosio 36,44% ( $p=0,002$ , Tabela 9.). Međutim, u grupi koja je primila gadolinijumski kontrast postojala je pozitivna korelacija između volumena datog kontrasta i porasta serumskog NGAL-a posle 24 sata od primene kontrasta.

KIM-1, predstavlja transmembranski glikoprotein tip I od 104 kDa koji je minimalno ekspimiran u normalnom bubregu, dok njegova ekspresija raste prominentno u proksimalnom tubulu posle ishemijskog ili toksičnog oštećenja (166). Ukoliko dođe do oštećenja tubula bubrega, pod dejstvom proteolitičkih enzima se odvaja ekstracelularni deo KIM-1 molekule i na taj način dolazi do njene sekrecije u urin (59). Kod kritično bolesnih pacijenata sa raznim tipovima tubulske nekroze, porast urinarnog KIM-1 molekula je usko povezan sa mortalitetom i

potrebom za otpočinjanjem terapije zamene bubrežne funkcije (62). Mi smo pokazali da je ekskrecija KIM-1, 24 i 48 sati značajno veća u odnosu na bazalne vrednosti u grupi dece koja su dobijala gadolinijumski kontrast za razlike od grupe koja je tokom angiografije dobijala jodni kontrast (Grafikon 16.). Ova razlika između grupa je bila statistički signifikantna posle 48h ( $\Delta$ uKIM-1 34,5 (IQR 210,45) pg/ml;  $\Delta$ uKIM-1 50,9 (IQR 200,7) pg/ml,  $P=0.0.12$ , Tabela 5.). U suprotnosti sa ranijim izveštajima, u našoj studiji smo pokazali da uKIM-1 posle primene jodnog kontrasta ima čak vremenom blagu tendencu smanjenja. Slično, ali u manjoj grupi dece sa urođenim srčanim manama su pokazali Hwang i sar. (143) da najveći nivo urinarni KIM-1 doseže tek posle 48h od izvođenja procedure. Hwang i sar. su pokazali da bi urinarni L-FABP mogao biti najkorisniji biomarker u otkrivanju subkliničke nefrotoksičnosti uzrokovane primenom kontrasta pre kardiohirurške intervencije (urinarni KIM-1 i NGAL nisu pokazali značajnu i konzistentnu promenu posle procedure).

U slučaju nastanka bubrežnog oštećenja, urinarni KIM-1 je „scavenger“ receptor na epitelnim ćelijama bubrega koji konvertuje normalnu ćeliju proksimalnog tubula u fagocita. Ekspresija KIM-1 je nimerljiva u normalnim ćelijama proksimalnog tubula, ali je značajno povećana u slučaju oštećenja, odnosno dediferencijacije. Visoko je eksprimirana u apikalnoj domeni ćelije odakle se iseca velika ektodomena i kao stabilna komponenta se ekskretuje u urinu. Nije opisano da se KIM-1 može eksprimirati u bilo kom drugom organu a potom pojaviti u urinu. Pokazano je u velikom broju prekliničkih studija sa različitim inzultima poput toksina i primene kontrasta da je KIM-1 mnogo senzitivniji marker bubrežnog oštećenja u odnosu na ureju i kreatinin. Han i sar. su takođe opisali da je urinarni KIM-1 12h posle kardiohirurške intervencije prediktivni faktor nastanka AKI kod dece (61). U studiji Akdeniz i sar., uKIM-1 se pokazao kao koristan marker za ranu dijagnozu CI-AKI u grupi od 3200 pacijenata posle koronarne angiografije. U ovoj studiji je urinarni KIM-1 kod pacijenata sa CI-AKI signifikantno porastao u odnosu na bazalne vrednosti posle 6h od intervencije ( $p<0,01$ , mediana bazalne vrednosti 0,27 do 0.7 mg/dl), (167). U našoj studiji smo pokazali ga je ekskrecija urinarnog KIM-1, 24 sata posle primene helata gadolinijuma bila statistički značajno veća u grupi koja je razvila CI-AKI u odnosu na grupu koja nije (Tabela 11.). ROC analiza (Tabela 12., Grafikon 23.) je pokazala da je normalizovani uKIM-1 posle 24 sata od primene kontrasta bolji prediktor nastanka CI-AKI od drugih biomarkera (AUC 0,757, cut off 214 pg/mg, senzitivnost 83.3%, specifičnost 54.2%,  $p=0,035$ ). Takođe, u studiji Duan-a i sar., logističkom regresionom analizom je pokazano da su



urinarni KIM-1 i IL-16 24 sata posle injekcije gadolinijuma nezavisni prediktivni markeri za nastanak CI-AKI (142). Značajan porast u KIM-1 i normalizovanog uKIM posle 24 i 48 časova u našoj populaciji pacijenata posle primene GBCM, kao i njegov prediktivni značaj za nastanak CI-AKI kao neinvazivnog markera, je interesantan nalaz koji zahteva dalja istraživanja na većem uzorku dece. Ove mogućnosti merenja novih biomarkera mogu otvoriti nova vrata kako u dijagnozi AKI tako i u izučavanju raznih preventivnih i terapijskih strategija. Podaci koji se odnose na farmakološku prevenciju AKI, poput primene n-acetil-cisteina, infuzije bikarbonata, furosemida (168), probukola (169), trebalo bi da se evaluiraju u svetlu ovih najnovijih saznanja o porastu novih biomarkera. Kombinacija dva ili tri biomarkera u poređenju sa merenjem individualnih markera, pojačava senzitivnost rane detekcije AKI (61). Na dijagnozu subkliničke AKI može danas lako da se posumnja zahvaljujući merenju dostupnih markera tubulskog oštećenja. Ovi testovi su vrlo pouzdani i poseduju visoku senzitivnost i specifičnost (63). Sekvencionalna merenja biomarkera mogu biti dalje u pomoći da se odredi trend bubrežnog insulta, da li je bio prolazan ili pak još uvek perzistira. Ovo može probiti nove granice u dijagnozi kako AKI, tako i njenih posledica, a samim tim i u izučavanjima preventivnih i terapijskih strategija. Literaturni podaci koji se odnose na protektivne mere nastanka CI-AKI kao što su primena većeg volumena tečnosti, izo-osmolarnih kontrasta, N-acetilcisteina i/ili infuzije sa bikarbonatima kao i preventivnih ekstrakorporalnih terapijskih mera, trebalo bi da se pažljivo evaluiraju u svetlu ovih novih kriterijuma. Sve ove mere prevencije su nam dale dosta sugestivnih podataka u pojedinim studijama, a takođe, je i kao krajnji ishod efikasnosti ovih izučavanih mera, bio serumski kreatinin što jednostavno rečeno, nije dovoljno. U našoj studiji, niti u jednoj grupi pacijenta dužina primene intravenske rehidracije pre i posle snimanja nije imala uticaja na porast kako konvencionalnih parametara bubrežne funkcije, tako i novih biomarkera (Cystatin C, sNGAL, uNGAL, uKIM-1). Takođe je poznato da kontrasti ispoljavaju dozno zavisnu toksičnost i du su preporoke EULAR da se da što manja količina kontrasta da bi se dobila dovoljno oštra i informativna slika. U našem radu su pacijenti u obe grupe dobijali relativno niske doze kontrasta, a samo je za Gd-DTPA postojala pozitivna korelacija sa primenjenom zapreminom kontrasta i porastom serumskog NGAL posle 24h od primene kontrasta. Ronco i sar. (7), snažno sugerišu da definicija CI-AKI treba da bude modifikovana uključivši pojam subkliničke AKI kao stvarne komponente kontrastom indukovano oštećenja bubrega. Stoga bi trebalo da se novi biomarkeri tubulskog oštećenja inkorporiraju u

dijagnostičke kriterijume poput RIFLE ili KDIGO (Table 2), a potom da se koriste u narednim istraživanjima. Kada se pojavi subkliničko oštećenje bubrega (porast markera oštećenja, ali bez promene serumskog kreatinina) posle primene kontrasta, trebalo bi da se smatra subkliničkim CI-AKI. U skladu sa ovim, neophodne su nove prospektivne, randomizovane studije o primeni različitih strategija prevencije CI-AKI koje prate i porast novih biomarkera kao senzitivnijih parametara strukturnih oštećenja bubrega koje mogu ostati ispod vrha ledenog brega. Chien i sar. su pokazali da su septička stanja faktori rizika za nastanak AKI posle primene helata gadolinijuma (170). U našoj studiji, svi pacijenti su bili zdravi bez znakova akutne ili hronične infekcije sa CRP-om unutar normalnog opsega.

U literaturi, ne mogu da se nađu podaci o istraživanju subkliničke CI-AKI u populaciji dece sa normalnom bubrežnom funkcijom koja su primali dva različita kontrastna sredstva (iz grupe jodnih i gadolinijumskih kontrasta). Prema tome, u ovom radu smo analizirali promene serumskog i urinarnog NGAL-a i urinarnog KIM-1 kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom koja su primala iopromide ili Gd-DTPA.

Na kraju, ako sumiramo naše nalaze, u grupi od 58 pacijenata kojima je rađena elektivna kateterizacija srca ili renalna angiografija, 24 i 48 časova posle aplikacije iopromida nije došlo do statistički značajnog porasta novih urinarnih biomarkera (NGAL i uKIM-1). Kada je reč o serumskom NGAL-u statistički značajan porast ovog biomarkera je zabeležen posle 24 sata od primene iopromida. CI-AKI je razvilo svega dva ili 3,4% od 58 pacijenata. U grupi od 65 pacijenata koji su tokom MR snimanja primili Gd-DTPA, nije zabeležen statistički značajan porast posle snimanja niti serumskog niti urinarnog NGAL-a. Međutim, u ovoj grupi pacijenata je zabeležen statistički značajan porast urinarnog KIM-1, i to 24 i 48 sati posle primene kontrasta. CI-AKI je razvilo šestoro od 65 pacijenata ili 9,2%. Slično je zabeleženo u studiji koja je obuhvatila 60 starijih pacijenata kojima je tokom MR snimanja aplikovan gadolinijumski kontrast. U ovoj grupi pacijenata je 13,3% ili osmoro razvilo CI-AKI. A logistička regresiona analiza je pokazala da su u KIM-1 i IL-18 posle 24h od primene kontrasta prediktori nastanka CI-AKI (142). U našem radu je normalzovani uKIM-1 pokazao najbolju prediktivnost za nastanak CI-AKI posle primene oba kontrasta. Neophodne su dalje analize na mnogo većoj grupi pedijatrijskih pacijenta da nam pokažu da li su gadolinijumska kontrastna sredstva zaista mnogo sigurnija od jodnih, čak i kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom. Glavno ograničenje ove studije je mali uzorak ispitivane populacije.

U ranijim izveštajima o primeni novih biomarkera u detekciji AKI, mogu se uvideti razlike u rezultatima u odnosu na različite kliničke situacije poput kardiohirurških intervencija, kontrastne nefrotoksičnosti, sepse, transplantacije bubrega i raznih drugih stanja (41). Premda precizan mehanizam ovih razlika u promenama biomarkera u raznim kliničkim situacijama nije dovoljno razjašnjen, sugerise se da bi trebalo raditi na istraživanjima da se za određenu kliničku situaciju pronađe specifični biomarker nastanka AKI kako bi se na taj način optimizirala rana detekcija i terapija novonastale AKI.

## 6. ZAKLJUČCI

U skladu sa postavljenim ciljevima istraživanja, a na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

1. Primena jednog i gadolinijumskog kontrastnog sredstva kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom nije dovela do izrazitog (najmanje dvostrukog) porasta novih biomarkera, ali je porast urinarnog KIM-1 bio statistički značajan posle primene gadolinijumskog helata
2. CI-AKI, prema najnovijim i do sada najoštrijim kriterijumima, je bio zastupljen čak i kod većeg broja pacijenata posle primene gadolinijumskog helata, ali bez statističke značajnosti.
3. Normalizovani urinarni KIM-1 može da bude rani prediktivni faktor za nastanak oštećenja bubrega posle intravenske primene kontrasta kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom
4. Primena intravenske rehidracije pre, tokom i posle kontrastnog snimanja nije imala uticaj na nastanak bubrežnog oštećenja niti je bila u korelaciji sa porastom biomarkera NGAL i KIM-1 posle primene kontrasta
5. Doza primenjenog kontrasta nema uticaj na nastanak oštećenja bubrežne funkcije iako je kod primene gadolinijumskog helata prisutna pozitivna korelacija između volumena datog kontrasta i porasta serumskog NGAL posle 24 sata
6. Primena antihipertenzivne terapije a posebno ACEI/ARB kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom koja se podvrgavaju kontrastnim snimanjima u uobičajenoj dozi nema uticaj na nastanak oštećenja bubrega

## 7. LITERATURA

1. Bartels Brun GC, gammeltoft A, Gjřrup PA. Acute anuria following intravenous pyelography in patient with myelomatosis. *Acta Med Scand* 1954;150:297-302
2. McCullough PA, Sandberg KR. Epidemiology of contrast-induced nephropathy. *Rev Cardiovascular Med* 2003; 4:S3-S9.
3. Goldfarb S, McCullough PA, McDermott J, Gay SB. Contrast-induced acute kidney injury: speciality-specific protocols for interventional radiology, diagnostic computed tomography, radiology, and interventional cardiology. *Mayo Clin Proc.* 2009; 84:170-179.
4. McCullough PA, Adam A, Becker CR et al. CIN Consensus Working Panel. Epidemiology and Prognostic Implications of Contrast-Induced Nephropathy. *Am J Cardiol* 2006;98:5K-13K
5. Stolker JM, McCullough PA, Rao S et al. Pre-procedural glucose levels and the risk for contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing coronary angiography. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1433-1440
6. Hui-Stickle s, Brewer ED, Goldstein SI. Pediatric ARF epidemiology of a tertiary care center from 1999-2001. *Am J kidney Dis.* 2005;45:96-101.
7. Ronco C, Stacul F, McCullough PA. Subclinical acute kidney injury (AKI) due to iodine-based contrast media. *Eur Radiol* 2013;23:319-323
8. Murphy SW, Barret BJ, Parfrey PS. Contrast nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:177-182
9. Devarajan P. Emerging biomarkers of acute kidney injury. *Contrib Nephrol* 2007;156:203-212
10. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. NGAL Meta-analysis Investigator Group. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: A systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009;54:1012-1024
11. Stacul F, van der Molen AJ, Reimer P, Webb JA, Thomsen HS, Morcos SK, Almén T, Aspelin P, Bellin MF, Clement O, Heinz-Peer G. Contrast Media Safety Committee of

- European Society of Urogenital Radiology. Contrast induced nephropathy: updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *Eur Radiol.* 2011;21(12):2527-2541
12. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute Dialysis Quality Initiative workgroup: Acute renal failure: definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs. The Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004;8:R204-R212
  13. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Wasburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with Acute Kidney Injury. *Kidney Int.* 2007; 71:1028–1035
  14. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Mollitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A. Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11:31
  15. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute Kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3365-3370
  16. Kellum JA, Lameire N, KDIGO AKI Guideline Work Group . Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Crit Care* 2013;17:204
  17. NICE. Chronic kidney disease- Early identification and management of chronic kidney disease in adults in primary and secondary care. 2008 <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/12069/42119/42119.pdf>,2008
  18. Levin A, Pate GE, Shalansky S et al. N-acetylcysteine reduces urinary albumin excretion following contrast administration: evidence of biological effect. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(9):2520-2524
  19. Moore NN, Lapsley M, Norden AG et al. Does N-acetylcysteine prevent contrast-induced nephropathy during endovascular AA repair? A randomized controlled pilot study. *J Endovasc Ther* 2006;13(5):660-666
  20. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O, et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J.* 1990;268:287–94.
  21. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992;38:S20–7.

22. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. *Kidney Int.*2012;82(4):445-453
23. Le Bricon TL, Leblanc I, Benlakehal M, Gay-Bellile C, Erlich D, Boudaoud S. Evaluation of renal function in intensive care: Plasma cystatin C vs creatinine and derived glomerular filtration rate estimates. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43:953-957
24. Briguori C, Viconti G, Rivera NV, et al. Cystatin C and contrast-induced acute kidney injury. *Circulation.* 2010;121(19):2117-2122
25. Ebru AE, Kilic A, Korkmaz FS, et al. Is cystatin C superior to creatinine in the early diagnosis of contrast induced nephropathy? a potential new biomarker for an old complication. *J Postgrad Med.* 2014;60(2):135-140
26. Ricci Z, Luciano R, Favia I, et al. High-dose fenoldopam reduces postoperative neutrophil gelatinase-associated lipocaline and cystatin C levels in pediatric cardiac surgery. *Crit Care.*2011;15(3):R160
27. Zapitteli m, Greenberg JH, Coca SG, Krawczeski KD, Li S, Thiessen-Philbrook HR et al and TRIBE-AKI. *JAMA Pediatr.*2015;169(6):583-591
28. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 2004;66:1115-1122
29. Ataei N, Bazargani B, Ameli S, Madani A, Javadilarijani F, Moghtaderi M et al. Early detection of acute kidney injury by serum cystatin C in critically ill children. *Pediatr Nephrol.* 2014;29:133-138
30. Villa P, Jiménez M, Soriano MC, Manzanares J, Casasnovas P. Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care.*2005;R139-143
31. Delanaye P, Lambermont B, Chapelle JP, Gielen J, Gerard P, Rorive G. Plasmatic cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in intensive care units. *Intensive Care Med.*2004;30:980-983
32. Sadat U. Radiographic Contrast-Media-Induced Acute Kidney Injury: Pathophysiology and Prophylactic Strategies. *ISRN Radiology.*2013;Article ID 496438, 21 pages.doi:10.5402/2013/496438

33. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D et al., “Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement,” *Kidney Int.* 2004;65(4):1416–1421
34. Zhang Z, B. Lu, X. Sheng, and N. Jin, “Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis,” *Am J Kidney Dis.* 2011;58(3):356–365
35. Paragas N, Qiu A, Zhang Q et al. The NGAL reporter mouse detects the response of the kidney to injury in real time. *Nat Med* 2011;17:216-222
36. Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A et al. The outcome of neutrophil gelatinase – associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1752-1761
37. Nickolas TL, Schimdt-Ott KM, Canetta P et al. Diagnostic and Prognostic Stratification in the Emergency Department Using Urinary Biomarkers of Nephron Damage. A Multicenter Prospective Cohort Study. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59:246-255
38. Murugan R, Kellum JA. Acute kidney injury: what’s the prognosis? *Nat Rev Nephrol* 2011;7:209-217
39. McCullough PA, Shaw AD, Haase M et al. Diagnosis of acute kidney injury using functional and injury biomarkers: workgroup statements from the tenth acute dialysis quality initiative consensus conference. *Contrib Nephrol* 2013;182:13-29
40. Ronco C, Cruz D, Noland BW. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Curve and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Extended-Range Assay: a new biomarker approach in the early diagnosis of acute kidney injury and cardio-renal syndrome *Seminars in nephrology* 2012; Vol 32:pp121-128
41. Bennet M, Dent CL, Ma Q et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin j Am Soc Nephrol* 2008;3:665-673.
42. Briguori C, Quintavalle C, Donnarumma E and Condorelli G. Novel biomarkers for Contrast-Induced acute kidney injury. *BioMed Res Int* 2014; 2014: 568738. doi: 10.1155/2014/568738. Epub 2014 May 29.
43. Akerstrom B, Flower DR, Salier JP. Lipocalins: unity in diversity. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482:1-8



44. Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 1997;45:17-23
45. Mishra J, Ma Q, Prada A et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:2534-2543
46. Schmidt-Ott KM, Mori K, Kalandadze A et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15:442-449
47. Mishra J, Dent C, Tarabishi R et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231-1238
48. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N et al. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell* 2002;10:1033-1043
49. Soni SS, Cruz D, Bobek I, Chionh CY, Nalesso F, Lentini P et al. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol* 2010;42:141-150
50. Martenssen J, Xu S, Bell M, Marting CR, and Venge P. Immunoassays distinguishing between HNL/NGAL, released in urine from kidney epithelial cells and neutrophils. *Clin Chim Acta* 2012;413(19-20):1661-1667
51. Tomonaga Y, Szucs T, Ambühl P, Nock S, Rish M, and Rish L. Insights in urinary NGAL obtained in a primary care setting. *Clin Chim Acta* 2012;413(7-8):733-739
52. Dent CL, MA Q, Dastrala S et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care* 2007;11:R127
53. Ronco C. NGAL: an emerging biomarker of acute kidney injury. *Int J Artif Organs* 2008;31:199-200.
54. Hirsch R , Dent C, Pfriem H, Allen J, Beekman III RH, Ma Q et al. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* 2007;22:2089-2095

55. Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care Med* 2007;11:R84
56. Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med* 2008;36:1297-1303
57. Zhang Z, Cai CX. Kidney injury molecule-1 (KIM-1) mediates renal epithelial cell repair via ERK MAPK signaling pathway. *Mol Cell Biochem* 2016;416:109-116
58. Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. *J Clin Invest* 2008; 118:1657-1668
59. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R and Bonventre J. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002;62:237-244
60. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:3265-3268
61. Han WK, Waikar SS, Johnson A et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int* 2008;73:863-869
62. Liangos o, Perianayagam MC, Vaidya VS et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:904-912
63. Vaidya VS, Waiker SS, Ferguson MA et al. Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin Trans Sci* 2008;1:200-208).
64. Quader MA, Sawmiller CJ, Sumpio BE. Radio contrast agents: History and evolution. In: Chang JB, Olsen ER, Prasad K, Sumpio BE, eds. *Textbook of Angiology*, ed. Springer New York, 2000 :775-783
65. Tumlin J, Stacul F, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N and McCullough PA, CIN Consensus Working Panel. Pathophysiology of Contrast-Induced Nephropathy. *Am J Cardiol* 2006;98[suppl]:14K-20K
66. Barrett BJ and Carlisle EJ. Metaanalysis of the relative nephrotoxicity of high- and low-osmolality iodinated contrast media. *Radiology*.1993;188(1):171-178

67. Jost G, Lenhard DC, Sieber MA, Lengsfeld P, Hütter J, Pietsch H. Changes of renal water diffusion coefficient after application of iodinated contrast agents: effect of viscosity. *Invest Radiol* 2011;46(12):796-800
68. Rauch D, Drescher P, Perreira FJ, Knes Jm, Will JA, Madsen PO. Comparison of iodinated contrast media-induced renal vasoconstriction in human, rabbit, dog and pig arteries. *Invest Radiol* 1997;32:1103-1108
69. Morris TW, Katzberg RW, Fischer HW. A comparison of the hemodynamic responses to metrizamide and meglumine/sodium diatrizoate in canine renal angiography. *Invest Radiol* 1978;13:74-78
70. Bakris GL, Burnett JC Jr. A role of calcium in radiocontrast-induced reductions in renal hemodynamics. *Kidney Int* 1985;27:465-468
71. Nygren A. Contrast media and regional renal blood flow: a study of the effects of ionic and non-ionic monomeric contrast media in the rat. *Acta Radiol Suppl* 1992;378(pt 3):123-135
72. Pallone TL, Zhang Z and Rhinehart K. Physiology of the renal medullary microcirculation. *Am J Physiol* 2003;284(2):F253-F266
73. Heyman N, Rosen S, Khamaisi M, Idée J and Rosenberger C. Reactive oxygen species and the pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy. *Invest Radiol* 2010;45(4):188-195
74. Song J, Wang X, Xu X et al. The effect of non-ionic contrast medium on the hemorheology in vitro and in vivo. *Clin Hemorheol Microcircul* 2012;
75. Heyman SN, Goldfarb M, Shina A, Karmeli F, Rosen S. N-acetylcysteine ameliorates renal microcirculation: studies in rats. *Kidney Int* 2003;63:634-641
76. Sandhu C, Newman DJ, Morgan R, Belli AM, Oliveira D. The role of oxygen free radicals in contrast induced nephrotoxicity. *Acad Radiol* 2002;9:S436-S437
77. Fiaccadori E, Maggiore U, Rotelli C, Giacosa R, Lombardi M, Sagripanti S, Buratti S, Ardissino D, Cabassi A. Plasma and urinary free 3-nitrotyrosine following cardiac angiography procedures with non-ionic radiocontrast media. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1803-1807
78. Drager LF, Andrade L, Barros de Toledo JF, Laurindo FRM, Machado Cesar LA, Seguro AC. Renal effects of N-acetylcysteine in patients at risk for contrast nephropathy:

- decrease in oxidant stress-mediated renal tubular injury. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1803-1807
79. Erley CM, Duda SH, Schlepckow S, Koehler J, Huppert PE, Strohmaier WL, Bohle A, Risler T, Osswald H. Adenosine antagonist theophylline prevents the reduction of glomerular filtration rate after contrast media application. *Kidney Int* 1994;45:1425-1431
  80. Russo D, Minutolo R, Cianciaruso B, Memoli B, Conte G, De Nicola L. Early effects of contrast media on renal hemodynamics and tubular function in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:1451-1458
  81. Gruskin AB, Auerbach VH, Black IFS. Intrarenal blood flow in children with normal kidneys and congenital heart disease: changes attributable to angiography. *Pediatr Res* 1974;8:561-572
  82. Weisberg LS, Kurnik PB, Kurnik BR. Radiocontrast-induced nephropathy in humans: role of renal vasoconstriction. *Kidney Int* 1992;41:1408-1415
  83. Gruskin AB, Oetliker OH, Wolfish NM, Gootman NL, Bernstein J, Edelmann CM Jr. effects of angiography on renal function and histology in infants and piglets. *J Pediatr* 1970;76:41-48
  84. Katzberg RW and Lamba R. Contrast-induced nephropathy after intravenous administration: fact or fiction? *Radiol Clin North Am.* 2009;47(5):789-800
  85. Gruberg L, Mintz GS, Mehran R et al. The prognostic implications of further renal function deterioration within 48 h of interventional coronary procedures in patients with preexistent chronic renal insufficiency. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(5):1542-1548
  86. Gami AS, Garovic VD. Contrast nephropathy after coronary angiography. *Mayo Clin Proc* 2004;79:211-219
  87. Karlsberg RP, Dohad SY, and Sheng R. Contrast medium induced acute kidney injury: comparison of intravenous and intraarterial administration of iodinated contrast medium. *J Vasc Interv Radiol* 2011;22(8):1159-1165
  88. Mason RA, Arbeit RA, and Giron F. Renal dysfunction after arteriography. *J Am Med Assoc.* 1985;253(7):1001-1004

89. Freeman RV, O'Donnell M, Share D et al. Nephropathy requiring dialysis after percutaneous coronary intervention and critical role of an adjusted contrast dose. *Am J Cardiol* 2002;90(10):1068-1073
90. Cigarroa RG, Lange RA, Williams RH, and Hills LD. Dosing of contrast material to prevent contrast nephropathy in patients with renal disease. *Am J Med.* 86(6):649-652
91. Sherwin PE, Cambron R, Johnson JA, and Pierro JA. Contrast dose-to creatinine clearance ratio as a potential indicator of risk for radiocontrast induced nephropathy: correlation of D/CrCL with area under the contrast concentration-time curve using iodixanol. *Invest Radiol* 2005;40(9):598-603
92. Laskey WK, Jenkins C, Selzer F et al. Volume-to-creatinine clearance ratio. A pharmacokinetically based risk factor for prediction of early creatinine increase after percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2007;50(7):584-590
93. Nyman U, Björk J, Aspelin P, and Marenzi G. Contrast medium dose-to-GFR ratio : a measure of systemic exposure to predict contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention. *Acta Radiol* 2008;49(6):658-667
94. Singer RM. A review of gadolinium-based contrast agents in magnetic resonance imaging. [www.cewebsource.com](http://www.cewebsource.com) August 15,2012,p:1-10
95. Penfield JG, Reilly RF Jr. What nephrologists need to know about gadolinium? *Nat Clin Pract Nephrol.*2007;3:654-668
96. Ledneva E, Karie S, Launay-Vacher V, Janus N, Deray G. Renal safety of gadolinium-based contrast media in patients with chronic renal insufficiency. *Radiology* 2009;250(3):618-628
97. Swan SK, Lambrect LJ, Townsend R, et al. Safety and pharmacokinetic profile of gadobenate dimeglumine in subjects with renal impairment. *Invest Radiol* 1999;34(7):443-448
98. Joffie P, Thomsen HS, Meusel M. Pharmacokinetics of gadodiamide injection in patients with severe renal insufficiency and patients undergoing hemodialysis or continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Acad Radiol* 1998;5(7):491-502

99. Li A, Wong SC, Wong MK, Lee CM, Au Yeung MC. Acute adverse reactions to magnetic resonance contrast media-gadolinium chelates. *Br J Radiol* 2006;79(941):368-371
100. Zhang HL, Ersoy H, Prince ML. Effects of gadopentetate dimeglumine and gadodiamide on serum calcium, magnesium, and creatinine measurements. *J Magn Reson Imaging* 2006;23(3):383-387
101. Hoffmann U, Fischereider M, Reil A, Fischer M, Link J, Krämer BK. Renal effects of gadopentetate dimeglumine in patients with normal and impaired renal function. *Eur J Med Res* 2005;10(4):149-154
102. Haustein J, Niendorf HP, Krestin G, et al. Renal tolerance of gadolinium-DTPA/dimeglumine in patients with chronic renal failure. *Invest Radiol* 1992;27(2):153-156
103. Spinosa DJ, Angle JF, Hagspiel KD, Kern JA, Hartwell GD, Matsumoto AH. Lower extremity arteriography with use of iodinated contrast material or gadodiamide to supplement CO<sub>2</sub> angiography in patients with renal insufficiency. *J Vasc Interv Radiol* 2000;11(1):35-43
104. Tombach B, Bremer C, Reimer P, et al. Renal tolerance of a neutral gadolinium chelate (gadobutrol) in patients with chronic renal failure: results of a randomized study. *Radiology* 2001;218(3):651-657
105. Perazella M. Current status of gadolinium toxicity in patients with kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:461-469
106. Akgun H, Gonlusen G, Cartwright J Jr, Suki WN, Truong LD. Are gadolinium-based contrast media nephrotoxic? a renal biopsy study. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130(9):1354-1357
107. Thomsen HS. Gadolinium-based contrast media may be nephrotoxic even at approved doses. *Eur Radiol* 2004;14(9):1654-1656
108. Gemery J, Idelson B, Reid S et al. Acute renal failure after arteriography with gadolinium-based contrast agent. *AJR Am J Roentgenol* 1998;171(5):1277-1278

109. Erley CM, Bader BD, Berger ED. Gadolinium-based contrast media compared with iodinated media for digital subtraction angiography in azotemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:2526-2531
110. Nyman U, Elmståhl B, Leander P, Nilsson M, Golman K, Almén T. Are gadolinium-based contrast media really safer than iodinated media for digital subtraction angiography in patients with azotemia? *Radiology* 2002;223(2):175-180
111. Cowper SE. Gadolinium-is it to blame? *J Cutan Pathol.* 2008;35:520-522
112. Cowper SE, Su LD, Bhawan J, Robin HS, LeBoit PE. Nephrogenic fibrosing dermopathy. *Am J Dermatopathol.* 2001;23:383-393
113. Grobner T. Gadolinium-a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis? *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21:1104-1108
114. Swaminathan S, Shah MV. New insights into nephrogenic systemic fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:2636-2643
115. Penfield JG, Reilly RF Jr. What nephrologists need to know about gadolinium. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2007;3:654-668
116. Dussol B, Morange S, Loundoun A, Auquier P, and Berland Y. A randomized trial of saline hydration to prevent contrast nephropathy in chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(8):2120-2126
117. Wróbel W, Sinikiewiz W, Gordon M, and Woźniak-Wiśniewska A. Oral versus intravenous hydration and renal function in diabetic patients undergoing percutaneous coronary interventions. *Kardiol Pol* 2010;68(9):1015-1020
118. Merten GJ, Burgess WP, Gray LV et al. Prevention of contrast-induced nephropathy with sodium bicarbonate, a randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 2004;291(19):2328-2334
119. Navaneethan SD, Singh S, Appasamy S, Wing RE, and Sehgal AR. Sodium bicarbonate therapy for prevention of contrast-induced nephropathy: a systemic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009;53(4):617-627

120. Hoste EAJ, De Waele JJ, Gevaert SA, Uchino S, and Kellum JA. Sodium bicarbonate for prevention of contrast-induced acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25(3):747-758
121. Tepel M, Van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, and Zidek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *New Engl J Med* 2000;343(3): 180-184
122. Gonzales DA, Norsworthy KJ, Kern SJ et al. A meta-analysis of N-acetylcysteine in contrast induced nephrotoxicity: unsupervised clustering to resolve heterogeneity. *BMC Med* 2007;5:32
123. ACT-Trial-Investigators. Acetylcysteine for prevention of renal outcomes in patients undergoing coronary and peripheral vascular angiography: main results from the randomized Acetylcysteine for Contrast-induced nephropathy Trial (ACT). *Circulation*. 2011;124(11):1250-1259
124. Spargias K, Alexopoulos E, Kyrzopoulos S et al. Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. *Circulation* 2004;110(18):2837-2842
125. Jo S, Koo B, Park J et al. N-acetylcysteine versus ascorbic acid for prevention contrast-induced nephropathy in patients with renal insufficiency undergoing coronary angiography. NASPI study- a prospective randomized controlled trial. *Am Heart J* 2009;157(3):576-583
126. Albabtain MA, Almasoud A, Alshurafah H, Almari H and Tamim H. Efficacy of ascorbic acid, N-acetylcysteine, or combination of both on top of saline hydration versus saline hydration alone on prevention of contrast-induced nephropathy: a prospective randomized study. *J Interv Cardiol* 2013;26(1):90-96
127. Sadat U, Usman A, Gillard JH, and Boyle JR. Does ascorbic acid protect against contrast induced-acute kidney injury in a patients undergoing coronary angiography- a systemic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62(23): 2167-2175
128. Li Y, Liu Y, Fu L, Mei C, and Dai B. Efficacy of short-term high-dose statin in preventing contrast-induced nephropathy: a meta-analysis of seven randomized coltrolled trials. *PloS ONE*. 2012;7(4):Article ID e34450



129. Erley CM, Heyne N, Burgert K, Langanke J, Risler T, and Osswald H. Prevention of radiocontrast-induced nephropathy by adenosine antagonists in rats with chronic nitric oxide deficiency. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(7):1125-1132
130. Dai B, Liu Y, Fu L, Li Y, Zhang J, Mei C. Effect of theophylline on prevention of contrast-induced acute kidney injury: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis.* 2012 Sep;60(3):360-70. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.02.332
131. Allie DE, Lirtzman MD, Wyatt CH et al. Targeted renal therapy and contrast-induced nephropathy during endovascular abdominal aortic aneurysm repair: results of a feasibility pilot trial. *J Endovasc Ther* 2007;14(4):520-527
132. Weisz G, Filby SJ, Cohen MG, Allie DE, Weinstock BS, Kyriazis D et al. Safety and performance of targeted renal therapy: the Be-RITe! Registry. *J Endovasc Ther.* 2009 Feb;16(1):1-12. doi: 10.1583/08-2515.1
133. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987;34:571-590
134. Lenhard DC, Pietsch H, Sieber MA, Ernst R, Lengsfeld P, Ellinghaus P, Jost G. The osmolality of nonionic, iodinated contrast agents as an important factor for renal safety. *Invest Radiol* 2012;47:503-510
135. Finn WF. The clinical and renal consequences of contrast-induced nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:i2-10
136. Dong M, Jiao Z, Liu T, Guo F, and Li G. Effect of administration route on the renal safety of contrast agents: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Nephrol* 2012;25(3):290-301
137. Ajami G, Derakhshan A, Amoozgar H et al. Risk of nephropathy after consumption of nonionic contrast media by children undergoing cardiac angiography: a prospective study. *Pediatr Cardiol* 2010; 31: 668-673

138. Zo'o M, Hoermann M, Balassy F, et al. Renal safety in pediatric imaging: randomized, double-blinded phase IV clinical trial of iobtridol 300 versus iodixanol 270 in multidetector CT. *Pediatr Radiol* 2011; 41:1393-1400
139. Niendorf HP, Alhassan A, Haustein J, Clauss W, Cornelius I: Safety and risk of gadolinium-DTPA: Extended clinical experience after more than 5,000,000 applications. *Adv MRI Contrast* 1993;2:12-19
140. Arsenault TM, King BF, Marsh JW Jr, Goodman JA, Weaver AL, Wood CP, Ehman RL. Systemic gadolinium toxicity in patients with renal insufficiency and renal failure. Retrospective analysis of an initial experience. *Mayo Clin Proc* 1996;71:1150-1154
141. Prince MR, Arnoldus C, Friscoli JK. Nephrotoxicity of high-dose gadolinium compared with iodinated contrast. *J Magn Reson Imaging* 1996;6:162-166
142. Duan SB, Liu GL, Yu ZQ, Pan P. Urinary KIM-1, IL-18 and Cys-c as early predictive biomarkers in gadolinium-based contrast-induced nephropathy in the elderly patients. *Clin Nephrol* 2013;80(5):349-354
143. Hwang YJ, Hyun MC, Choi BS, Cho MH. Acute kidney injury after using contrast during cardiac catheterization in children with heart disease. *J Korean Med Sci* 2014;29:1102-1107
144. Lichosik M, Jung A, Jobs K, Mierzejewska A, Zdanowski R, Kalicki B. Interleukin 18 and neutrophil-gelatinase associated lipocalin in assessment of the risk of contrast-induced nephropathy in children. *Cent Eur J Immunol* 2015;40(4):447-453
145. Khatami MR, Sabbagh RP, Nikravan N, et al. The role of neutrophil-gelatinase-associated lipocalin in early diagnosis of contrast nephropathy. *Indian J Nephrol* 2015; 25(5):292-296
146. Baumgarten DA, Ellis JH. Contrast-induced nephropathy: Contrast material not required? *AJR Am J Roentgenol* 2008;191:383-386

147. Oguz GE, Kiykim A, Turgutalp K et al. Lack of nephrotoxicity of gadopentetate dimeglumine-enhanced non-vascular MRI and MRI without contrast agent in patients at high-risk for acute kidney injury. *Med Sci Monit* 2013;19:942-948
148. Elmståhl B, Leander P, Grant D, Doughty RW, Chai CM, Björk J, Almén T, Nyman U. Histomorphological changes after renal X-ray arteriography using iodine and gadolinium contrast media in an ischemic porcine model. *Acta Radiol.* 2007;48(10):1109-19
149. Elmståhl B, Nyman U, Leander P et al. Gadolinium contrast media are more nephrotoxic than iodine media. The importance of osmolality in direct renal artery injections. *Eur Radiol* 2006;16:2712-2720
150. Sam AD, Morash MD, Collins J, Song GG, Chen R, Pereles FS. Safety of gadolinium contrast angiography in patients with chronic renal insufficiency. *J Vasc Surg* 2003; 38:313-318
151. Ergün I, Keven K, Uruç I, et al. The safety of gadolinium in patients with stage 3 and 4 renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(3):697-700
152. Briguori C, Colombo A, Airoidi F et l. Gadolinium-based contrast agents and nephrotoxicity in patients undergoing coronary artery procedures. *Catheter Cardiovasc Interv* 2006;67:175-180
153. Trivedi H, Raman L, Benjamin H, Batwara R. Lack of nephrotoxicity of gadodiamide in unselected hospitalized patients. *Postgrad Med* 2009;121:166-170
154. Reed PS, Dixon SR, Boura JA, O'Neill WW, Kahn JK. Comparison of the usefulness of gadodiamide and iodine mixture versus iodinated contrast alone for prevention of contrast-induced nephropathy in patients with chronic kidney disease undergoing coronary angiography. *Am J Cardiol* 2007;100(7):1090-1093
155. Alharazy SM, Kong N, Saidin R, Gafor AH, Maskon O, Mohd M, Zakaria SZ. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C are early biomarkers of contrast-induced nephropathy after coronary angiography in patients with chronic kidney disease. *Angiology.* 2014;65(5):436-42. doi: 10.1177/0003319713483918

156. Uozumi J, Nakamura M, Tokuda N, Koikawa Y. An evaluation of the nephrotic effects of nonionic low osmolality contrast media using urinary enzymes. *Int Urol Nephrol* 1993; 31:769-776
157. Jakobsen JA, Kolbenstvedt AN, Berg KJ. Renal effects of iopentol and iohexol after intravenous injection *Acta Radiol* 1991; 32:320-324
158. Ronco C, Kellum JA, Haase M. Subclinical AKI is still AKI. *Crit Care*. 2012;16(3):313. doi: 10.1186/cc11240
159. Obialo CI, Hagerty DT. Acute uric acid nephropathy following angiography and coronary artery bypass surgery. *Nephron* 1992;62:123-124
160. Levin A, Pate GE, Shalansky S et al. N-acetylcysteine reduces urinary albumin excretion following contrast administration: evidence of biological effect. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(9):2520-2524
161. Briguori C, Viconti G, Rivera NV, et al. Cystatin C and contrast-induced acute kidney injury. *Circulation*. 2010;121(19):2117-2122
162. Ebru AE, Kilic A, Korkmaz FS, et al. Is cystatin C superior to creatinine in the early diagnosis of contrast induced nephropathy? a potential new biomarker for an old complication. *J Postgrad Med*. 2014;60(2):135-140
163. Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E et al. Neutrophil-gelatinase associated lipocalin (NGAL) correlations with cystatin C, serum creatinine and eGFR in patients with normal serum creatinine undergoing coronary angiography. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 23:295-296
164. Tong J, Li H, Zhang H, Luo Z, Huang Y, Huang J, He F, Fu J. Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin in the Prediction of Contrast-induced Nephropathy: A Systemic Review and Meta-analysis. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2015;66(3):239-45. doi: 10.1097/FJC.0000000000000268
165. Akrawinthewong K, Ricci J, Cannon L, et al. Subclinical and clinical contrast-induced acute kidney injury: data from novel blood marker for determining the risk of developing contrast-induced nephropathy (ENCINO), a prospective study. *Ren Fail* 2015;37(2):187-191

166. Al Ismaili Z, Palijan A, Zapitelli M. Biomarkers of acute kidney injury in children: discovery, evaluation, and clinical application. *Pediatr Nephrol* 2011;26:29-40
167. Akdeniz D, Celik HT, Kazanci F, et al. Is kidney injury molecule-1 a valuable tool for the early diagnosis of contrast-induced nephropathy? *J Invest Med* 2015;63(8):930-934
168. Duan N, Zhao J, Li Z et al. Furosemide with Saline Hydration for Prevention of Contrast-Induced Nephropathy in Patients undergoing Coronary Angiography: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trial. *Med Sci Monit* 2015;21:292-297
169. Wang N, Wei R, Li Q et al. Renal Protective Effect of Probucol in Rats with Contrast-Induced Nephropathy and its Underlying Mechanism. *Med Sci Monit* 2015;21:2886-2892
170. Chien CC, Wang HY, Wang JJ et al. Risk of acute kidney injury after exposure to gadolinium- based contrast in patients with renal impairment. *Ren Fail* 2011;33:758-764

## SPISAK SKRAĆENICA

ACEI/ARB	Inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima/blokatori receptora angiotenzina
AKIN	“Acute Kidney Injury Network”
ARF	“Acute Renal Failure”
AUC	„Area under curve“
BMI	„Body mass index“, indeks telesne mase
CI-AKI	„Contrast induced-acute kidney injury“, oštećenje bubrega posle kontrasta
CIN	„Contrast induced nephropathy“
CKD	“Chronic Kidney Disease”
CPB	„Cardio-pulmonary bypass“
CT	kompjuterizovana tomografija
CysC	Cistatin C
DGF	“Delayed graft function”, odložena funkcija grafta
DSA	Digitalna subtrakciona angiografija
DVR	“Descending vasa recta”
eGFR	„Estimated glomerular filtration rate“, procenjena jačina glomerulske filtracije
ELISA	Enzim imunotest
ERK MAPK	"Extracellular signal-regulated kinases", “Mitogen-activated protein kinases”
ESUR	“European Society of Urogenital Radiology”
FE <sub>K</sub>	Frakciona ekskrecija kalijuma
FE <sub>Na</sub>	Frakciona ekskrecija natrijuma
GBCM	„ Gadolinium based contrast media“, kontrasti na bazi gadolinijuma
Gd-DTPA	“ Gadolinium - diethylenetriamine penta-acetic acid”

GST	“alpha glutathione S-transferase”
HAVCR	„Hepatitis A virus cellular receptor“
HGF	“ Hepatocyte growth factor”
HCOM	“High osmolarity contrast media”
HUS	Hemolitičko uremijski sindrom
HDL	„High density lipoproteins“
ICM	„Iodinated contrast media“
IOCM	“Isoosmolar Contrast Media”
IQR	„Interquartile range“
KIM-1	„Kidney injury molecule-1“
LCOM	„Low Osmolality Contrast Media”, niskoosmolarni kontrasti
LDL	„Low density lipoproteins“
L-FABP	“Liver-type fatty acid binding protein”
MR	Magnetna rezonanca
NAG	“N- acetyl- beta-D-glucosaminidase”
NGAL	„Neutrophil gelatinase associated lipocalin“
NO	azot monoksid
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
NSF	Nefrogena sistemska fibroza
PiGST	“Pi alpha glutathione S-transferase”
pRIFLE	“pediatric Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage Renal D”
RCC	“Renal Cell Carcinoma”
RIFLE	“Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage Renal Disease”

ROS	“Reactive oxygen species”
SCr	Serumski kreatinin
SD	Standardna devijacija
SIRS	“Systemic inflammatory response syndrome”
sNGAL	Serumski „Neutrophil gelatinase associated lipocalin“
TIM-1	„T cell immunoglobulin and mucin protein“
TRP	Transtubulska reapsorpcija fosfata
TRT	“Targeting renal therapy”
TTKG	Transtubulski gradijent kalijuma
Ua/Ucr	Albumini urina/kreatinin urina
Uca/Ucr	Kalcijum urina/kreatinin urina
uKIM-1	Urinarni „Kidney injury molecule-1“
Umg/Ucr	Magnezijum urina/kreatinin urina
uNGAL	Urinarni „Neutrophil gelatinase associated lipocalin“
Upr/Ucr	Proteini urina/kreatinin urina
Uur/Ucr	Urati urina/kreatinin urina



## **BIOGRAFIJA AUTORA**

Dr Brankica Spasojević-Dimitrijeva je rođena 14.01.1971. godine u Banjaluci. Medicinski fakultet u Banjaluci je završila 1995. godine sa srednjom ocenom 9,06. Od marta 1996. godine do oktobra 1999. godine je bila zaposlena u DZ Čelinac u Republici Srpskoj gde je pod pokroviteljstvom Svetske zdravstvene organizacije pohađala šestomesečni kurs iz porodične medicine. Od avgusta 2000. godine je stalno zaposlena u Univerzitetskoj dečjoj klinici u Beogradu. Specijalistički ispit iz pedijatrije je položila 2003. godine sa odličnim uspehom. Od 2003. godine radi na odeljenju hemodijalize i tansplantacije bubrega u okviru službi nefrologije Univerzitetske dečje klinike u Beogradu. Stručno usavršavanje iz oblasti transplantacije bubrega kod dece obavila je u Torinu 2004. godine u trajanju od mesec dana.

Magistarsku tezu pod nazivom „Ožiljne promene na bubrezima kod dece sa urinarnm infekcijama“ odbranila je 2008. godine. Rad iz uže specijalizacije iz nefrologije pod nazivom „Primena hormona rasta kod dece sa zastojem u rastu i bubrežnim bolestima“ odbranila je 2011. godine. Izabrana je u zvanje kliničkog asistenta za predmet pedijatrija na Medicinskom fakultetu u Beogradu 2011. godine.

Autor je i koautor u preko 100 stručnih radova od kojih su 33 rada publikovana u celini u međunarodnim i domaćim časopisima, a ostali radovi su štampani kao izvodi u publikacijama inostranih i domaćih kongresa.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Brankica Spasojević-Dimitrijeva

broj upisa \_\_\_\_\_

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Poređenje subkliničke nefrotoksičnosti izazvane gadolinijumom i jednim kontrastnim sedstvom kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 15.06.2017.

Brankica Spasojević-Dimitrijeva

Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Brankica Spasojević-Dimitrijeva

Broj upisa \_\_\_\_\_

Studijski program \_\_\_\_\_

Naslov rada „Poređenje subkliničke nefrotoksičnosti izazvane gadolinijumom i jodnim kontrastnim sedstvom kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom“

Mentor prof.dr Mirjana Kostić

Potpisani Brankica Spasojević-Dimitrijeva

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 15.06.2017.

Brankica Spasojević-Dimitrijeva

### Prilog 3.

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Poređenje subkliničke nefrotoksičnosti izazvane gadolinijumom i jodnim kontrastnim sedstvom kod dece sa normalnom bubrežnom funkcijom“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 15.06.2017.

*Branislav Spasovljević - Branislav*