

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Anna Musielak

Ocena wczesnych markerów uszkodzenia nerek u dzieci z wrodzoną wadą serca

**ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA
W DZIEDZINIE NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O ZDROWIU
W DYSCYPLINIE NAUKI MEDYCZNE**



**Klinika Nefrologii Dziecięcej i Nadciśnienia Tętniczego
Instytut Pediatrii
Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Promotor: prof. dr hab. med. Jacek Zachwieja

Poznań 2021

PODZIĘKOWANIA

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania

Prof. dr hab.n.med. Jackowi Zachwieji

za okazaną pomoc i cierpliwość, poświęcony czas oraz motywację do dalszego rozwoju naukowego,

Kolegom z Kliniki Nefrologii Dziecięcej i Nadciśnienia Tętniczego

oraz Kliniki Kardiologii Dziecięcej

Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

za serdeczną atmosferę i nieocenioną pomoc,

a także Rodzinie

za okazane wsparcie i wyrozumiałość

SPIS SKRÓTÓW UŻYWANYCH W PRACY

Ang	angiotensynogen (ang. angiotensynogen)
uAng	angiotensynogen w moczu (ang. urine angiotensynogen)
AKI	ostre uszkodzenie nerek (ang. acute kidney injury)
Ang II	angiotensyna II
ARF	ostra niewydolność nerek (ang. acute renal failure)
ASD	ubytek przegrody międzyprzedsionkowej (ang. atrium septal defect)
AVSD	wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (ang. atrioventricular septal defect)
CatL	katepsyna L obecna w moczu (ang. cathepsine L in urine)
CoA	koarktacja aorty (ang. aortic coarctation)
sCr	stężenie kreatyniny w surowicy (ang. serum creatinine)
CRS	zespół sercowo-nerkowy (ang. cardiorenal syndrome)
ESKD	schyłkowa niewydolność nerek (ang. end stage kidney disease)
eGFR	przeszacowanie kłębuszkowe oznaczone metodą Schwartz'a (ang. estimated glomerulofiltration rate)
HLHS	zespół hipoplazji lewego serca (ang. hypoplastic left heart syndrome)
IAA	przerwanie ciągłości łuku aorty (ang. interrupted aortic arch)
KIM-1	cząsteczka uszkodzenia nerek, (ang. kidney injury molecule)
LVEF	frakcja wyrzutowa lewej komory (ang. left ventricular ejection fraction)
sNGAL	lipokaina obojętnochłonna związana z żelatynazą obecna w surowicy (ang. neutrophile gelatinase-associated lipocaine in serum)
uNGAL	lipokaina obojętnochłonna związana z żelatynazą obecna w moczu (ang. neutrophile gelatinase-associated lipocaine in urine)
PChN	przewlekła choroba nerek
PDA	przetrwwały przewód tętniczy (ang. patent truncus arteriosus)
PS	zwężenie drogi odpływu prawej komory (ang. pulmonary stenosis)
RAA	renina- angiotensyna – aldosteron
SF	frakcja skracania (ang. shortening fraction)
SV	serce jednokomorowe (ang. singular ventricle)
TA	zarośnięcie zastawki trójdzielnej (ang. tricuspid atresia)
TAC	wspólny pień tętniczy (ang. truncus arteriosus communis)
TAPVC	całkowity nieprawidłowy spływ żył płucnych (ang. total anomalous pulmonary venous connection_
TGA	przełożenie wielkich naczyń (ang. transposition of the great arteries)
ToF	tetralogia Fallota (ang. Tetralogy of Fallot)
VSD	ubytek przegrody międzykomorowej (ang. ventricular septal defect)

Spis treści

1	WSTĘP	6
1.1	ZESPÓŁ SERCOWO-NERKOWY	6
1.1.1	<i>Zespół sercowo-nerkowy typu 1</i>	8
1.1.2	<i>Zespół sercowo-nerkowy typu 2</i>	11
1.2	PROGRESJA AKI DO PCHN	14
1.3	MARKERY USZKODZENIA NEREK	15
1.3.1	<i>Kreatynina i mocznik</i>	15
1.3.2	<i>NGAL</i>	15
1.3.3	<i>KIM-1</i>	17
1.3.4	<i>Katepsyna L</i>	17
1.3.5	<i>Beta-2-mikroglobulina</i>	18
1.3.6	<i>Angiotensynogen</i>	18
1.4	PODSUMOWANIE	19
2	CEL PRACY	21
3	HIPOTEZY BADAWCZE	22
4	MATERIAŁ I METODYKA	23
4.1	CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ	23
4.2	METODY	25
4.2.1	<i>Dotychczasowe markery uszkodzenia nerek</i>	25
4.2.2	<i>Markery wczesnego uszkodzenia nerek</i>	25
4.2.3	<i>Badanie echokardiograficzne</i>	26
4.2.4	<i>Analiza statystyczna</i>	26
5	WYNIKI	27
5.1	PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW USZKODZENIA NEREK W GRUPIE BADANEJ I KONTROLNEJ	27
5.2	OCENA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY BADANYMI MARKERAMI A WYBRANYMI PARAMETRAMI W GRUPIE BADANEJ	29
5.2.1	<i>Frakcja wyrzutowa lewej komory</i>	29
5.2.2	<i>Frakcja skracania</i>	29
5.2.3	<i>Stężenie mleczanów</i>	29
5.2.4	<i>eGFR</i>	30
5.3	PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH PACJENTÓW Z WADĄ PRZECIEKOWĄ Z DESATURACJĄ KRWI (POGRUPA 1), WADĄ PRZECIEKOWĄ BEZ DESATURACJI KRWI (PODGRUPA 2) I WADĄ BEZ PRZECIEKU (PODGRUPA 3) ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ	30
5.3.1	<i>Podgrupa 1 a grupa kontrolna</i>	30
5.3.2	<i>Podgrupa 2 a grupa kontrolna</i>	32
5.3.3	<i>Podgrupa 3 a grupa kontrolnej</i>	33
5.3.4	<i>Analiza stężenia markerów między podgrupami 1-3</i>	35
5.4	OCENA ZALEŻNOŚCI STĘŻEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH PACJENTÓW Z SINICZĄ, PÓŻNOSINICZĄ I NIESINICZĄ WADĄ SERCA	37
5.4.1	<i>Frakcja wyrzutowa lewej komory</i>	37
5.4.2	<i>Frakcja skracania</i>	38
5.4.3	<i>Stężenie mleczanów</i>	38

5.4.4	<i>eGFR</i>	39
5.5	PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH CHORYCH LECZONYCH ZACHOWAWCZO (PODGRUPA I) I OPERACYJNIE (PODGRUPA II) ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ	39
5.5.1	<i>Podgrupa I a grupa kontrolna</i>	40
5.5.2	<i>Podgrupa II a grupa kontrolna</i>	40
5.5.3	<i>Analiza stężeń markerów między podgrupą I a II</i>	41
5.6	OCENA ZALEŻNOŚCI STĘŻEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH PACJENTÓW LECZONYCH ZACHOWAWCZO I OPERACYJNIE A WYBRANYMI PARAMETRAMI	42
5.6.1	<i>Frakcja wyrzutowa lewej komory</i>	42
5.6.2	<i>Frakcja skracania</i>	42
5.6.3	<i>Mleczany w surowicy</i>	43
5.6.4	<i>eGFR</i>	43
5.7	PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH CHORYCH Z FRAKCJĄ SKRACANIA >35% (PODGRUPA A) I <35% (PODGRUPA B) ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ	44
5.7.1	<i>Podgrupa A a grupa kontrolna</i>	45
5.7.2	<i>Podgrupa B a grupa kontrolna</i>	45
5.7.3	<i>Podgrupa A a podgrupa B</i>	46
6	DYSKUSJA.....	48
7	WNIOSKI:.....	59
8	STRESZCZENIE	60
9	ABSTRACT	61
10	SPIS TABEL	62
11	SPIS RYCIN.....	63
12	PIŚMIENNICTWO	65

1 WSTĘP

1.1 ZESPÓŁ SERCOWO-NERKOWY

Od wielu lat zainteresowanie nefrologów obejmuje nie tylko ocenę czynności nerek w przebiegu pierwotnych chorób nerek, ale również współwystępowanie zaburzeń w innych układach i narządach. Analogicznie, w przebiegu wielu chorób pozanerkowych obserwujemy postępujące uszkodzenie nerek, które pogarsza pierwotne rokowanie i jest przyczyną ostrej lub przewlekłej niewydolności nerek wymagającej leczenia nerkozastępczego. Dotyczy to w szczególności chorób i wad serca. Zespół sercowo-nerkowy (CRS, cardiorenal syndrome) jest szerokim pojęciem określającym współzależność funkcji serca i nerek. Zespół ten podzielono na pięć podtypów, zależnie od patofizjologii, czasu oraz dominującego uszkodzenia. Typ 1 i 3 klasyfikuje ostre uszkodzenie, odpowiednio serca i nerek, które wtórnie przekłada się na dysfunkcję drugiego narządu. Typ 2 i 4 natomiast, kładzie nacisk na chorobę przewlekłą, taką jak np. zastoinowa niewydolność serca czy przewlekła choroba nerek. Ostatni, typ 5, reprezentuje uszkodzenia serca i nerek, które powstało na skutek wystąpienia choroby systemowej. Podstawowym kryterium umożliwiającym rozpoznanie zespołu sercowo-nerkowego jest założenie, że dany narząd, serce lub nerka, funkcjonowałby prawidłowo, jeżeli nie doszłoby do niewydolności drugiego. Wzajemne uszkodzenie jest procesem wieloczynnikowym, jego patofizjologia nie została w pełni poznana. Biorą w nim udział czynniki genetyczne, środowiskowe (w tym toksyny), leki, czynniki hemodynamiczne, mediatory humoralne, układ współczulny, hormonalny oraz immunologiczny [1]. Niezależnie od mechanizmu powstania uszkodzenia, wystąpienie CRS u pacjenta z pierwotnie dysfunkcją wyłącznie jednego narządu pogarsza jego rokowanie. Poszczególne podtypy zespołu sercowo-nerkowego wraz z przykładową etiologią są przedstawione w tabeli 1. [1,2]

TABELA 1. PODTYPY ZESPOŁU SERCOWO-NERKOWEGO ORAZ ICH PRZYKŁADOWA ETIOLOGIA.

Typ CRS	Opis	Przykład / Etiologia
CRS typ 1	Nagłe pogorszenie funkcji serca powodujące uszkodzenie nerek	• wstrząs kardiogeny • ostra zdekompensowana skurczowa niewydolność serca • ostra niewydolność zastawek • zabiegi tj. cewnikowanie serca • operacje kardiochirurgiczne
CRS typ 2	Przewlekła choroba serca prowadząca do przewlekłej choroby nerek	• przewlekłe zapalenie • wrodzona wada serca • długotrwała aktywacja układu RAA (renina-angiotensyna-aldosteron) i układu współczulnego • przewlekła hipoperfuzja
CRS typ 3	Nagłe pogorszenie funkcji nerek prowadzące do dysfunkcji układu krążenia np. niewydolności serca, arytmii	• mocznica powodująca zaburzenie kurczliwości mięśnia sercowego • hiperkaliemia • przewodnienie • nefropatia kontrastowa
CRS typ 4	Przewlekła niewydolność nerek prowadząca do upośledzenia funkcji serca	• przewlekła choroba nerek na podłożu np. kłębuszkowego zapalenia nerek, prowadząca do przerostu lewej komory • choroby naczyń
CRS typ 5	Ostra lub przewlekła choroba systemowa prowadząca do uszkodzenia funkcji serca i nerek	• cukrzyca, amyloidozą, posocznica, zapalenie naczyń itd.

Na rozwój CRS może mieć również wpływ tzw. programowanie wewnątrzmaciczne. Hipoteza ta zakłada wpływ różnych czynników na nieprawidłowy rozwój płodu, który sprzyjać może w przyszłości występowanie chorób, głównie z grupy tzw. chorób cywilizacyjnych, takich jak: nadciśnienie tętnicze, otyłość, insulinooporność czy dyslipidemia. Programowanie wewnątrzmaciczne zakłada występowanie powyższych patologii na skutek m.in. niedożywienia płodu i niskiej masy urodzeniowej. Czynniki te mogą prowadzić do zmniejszonej liczby nefronów. Dodatkowo opisywana jest wzmożona odpowiedź skurczowa i rozkurczowa naczyń krwionośnych u dzieci urodzonych przez mamy z zaburzeniami odżywienia (zarówno niedożywienie jak i nadwaga). W przypadku wystąpienia u matki w czasie ciąży stresu oksydacyjnego, hiperglikemii, nadmiaru glikokortykosteroidów

czy wolnych kwasów tłuszczowych, stanu zapalnego, wzmożonej aktywności układu RAA, w przyszłości u dziecka rozwinąć może się nadciśnienie tętnicze, strukturalne uszkodzenie nerek czy serca, zmiany w zakresie miokardium i naczyń [3]. Są to dodatkowe czynniki ryzyka, które mogą odegrać rolę w nasileniu zmian patogenetycznych rozpoczętych przez inny czynnik sprawczy.

Częstość występowania zespołu sercowo nerkowego nie jest dokładnie poznana. Wynika to głównie z braku ujednolicenia definicji [4]. Szacuje się, że u 20-57% pacjentów z przewlekłą chorobą serca występuje uszkodzenie nerek. To bardzo dużo. Natomiast w przypadku pacjentów z ostrą, zdekompensowaną niewydolnością serca ta liczba wzrasta nawet do 30–67% [1,2]. Jest to również obserwowane w przypadku pacjentów pediatrycznych [5]. Liczba pacjentów, u których w przebiegu dysfunkcji układu krążenia doszło do uszkodzenia nerek niemego klinicznie nie jest znana. Zespół sercowo-nerkowy typu 3, do którego należy również nefropatia pokontrastowa (CIN), opisano u 1 do 40% pacjentów poddanych zabiegowi z zastosowaniem kontrastu [6]. W przypadku zespołu sercowo-nerkowego typu 4, 80% pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek wymagających hemodializ ma zdiagnozowaną chorobę układu krążenia [7]. U 39,4% niewydolność serca była przyczyną zgonu [8].

Obecnie istotnym problemem, którego rozwiązania poszukuje wielu badaczy, jest stworzenie narzędzia, które umożliwi rozpoznanie zachodzącego procesu uszkodzenia na wczesnym jego etapie. Pozwoli to na wyszczególnienie poszczególnych grup zwiększonego ryzyka. Dokładne zrozumienie zachodzących patomechanizmów być może pozwoli na opracowanie metod zapobiegania i/lub leczenia zespołu sercowo-nerkowego w przyszłości.

1.1.1 Zespół sercowo-nerkowy typu 1

Jako przyczyny wystąpienia zespołu sercowo-nerkowego typu I podaje się najczęściej nagłą dekompensację niewydolności serca, epizod niedokrwienności, zabieg kardiochirurgiczny oraz zabiegi cewnikowania serca. Ze względu na złożoność interakcji w tej jednostce chorobowej można ją podzielić na 4 podtypy: wystąpienie pierwszorazowej niewydolności serca powodujące pierwszorazowe uszkodzenie nerek, wystąpienie pierwszorazowej niewydolności serca powodujące zaostrzenie przewlekłej choroby nerek, zaostrzenie przewlekłej choroby serca powodujące pierwszorazowe uszkodzenie nerek oraz zaostrzenie przewlekłej choroby serca powodujące zaostrzenie przewlekłej choroby nerek [9]. Wystąpienie zespołu sercowo-nerkowego typu 1 znacznie zwiększa śmiertelność. Stanowi niezależny

czynnik ryzyka wystąpienia zgonu w przeciągu pierwszego roku od wystąpienia ostrej niewydolności serca [10]. Wczesne rozpoznanie oraz leczenie są podstawowymi czynnikami zmniejszającymi śmiertelność, zapobiegającymi ponownym hospitalizacjom oraz redukującymi koszty opieki zdrowotnej [9]. Trudności z rozpoznaniem CRS wynikają z okna czasowego między faktycznym uszkodzeniem komórek a stwierdzeniem odchyleń laboratoryjnych w zakresie rutynowo wykonywanych badań. Ponadto przebieg schorzenia jest trudny do określenia, ze względu na różnorodność czynników etiologicznych oraz nasilenia odchyleń, w tym głównie frakcji wyrzutowej lewej komory [11]. Jednocześnie pogorszenie rokowania nie wynika wyłącznie z wystąpienia ostrego uszkodzenia nerek, ale również z aktywacji ścieżek sygnałowych nasilających odpowiedź immunologiczną w obrębie układu naczyniowego, wtórnie pogarszając funkcję układu krążenia [12]. Dokładne poznanie patomechanizmu uszkodzenia komórek może w przyszłości przyczynić się do powstania celowanego leczenia, które zmniejszy zachorowalność i konieczność dializoterapii.

Nagłe pogorszenie funkcji serca często prowadzi do zmniejszenia rzutu, co powoduje spadek perfuzji nerkowej, wzrost oporu naczyniowego i w konsekwencji obniżenie filtracji kłębuszkowej (eGFR). Jeżeli dochodzi do spadku frakcji wyrzutowej lewej komory serca i spadku rzutu serca, uruchamiają się mechanizmy kompensacyjne, takie jak aktywacja układu RAA, układu współczulnego, wydzielanie lokalnych mediatorów w celu zapewnienia prawidłowej wewnątrznaczyniowej objętości płynów [13]. W przypadku hipoperfuzji nerek wynikającej ze zmniejszonego rzutu serca dochodzi do dodatkowej aktywacji układu RAA. Poprzez zwiększenie retencji sodu oraz skurcz tętniczek odprowadzających następuje regulacja objętości krwi krążącej oraz ciśnienia tętniczego. Wskutek powyższego dochodzi do hiperwolemii, co powoduje nasilenie niewydolności serca oraz tzw. remodeling w obrębie mięśnia sercowego. Obniżenie aktywności układu RAA stanowi podstawę długoterminowego leczenia pacjentów z niewydolnością serca. Oprócz negatywnego wpływu na mięsień sercowy, angiotensyna II prowadzi do zwiększenia włóknienia w nerkach poprzez aktywację fibroblastów i rozplem macierzy zewnątrzkomórkowej [14].

Istotnym czynnikiem mającym wpływ na tzw. cross-talk między narządami takimi i jak nerka i serce jest układ współczulny. Jego nadmierna aktywacja odgrywa znaczącą rolę w procesie uszkodzenia w ramach CRS [15]. Pobudzenie receptorów alfa-1-adrenergicznych powodując skurcz tętniczek odprowadzających prowadzi do zwiększenia frakcji filtracyjnej

[16]. Natomiast poprzez receptory beta-1-adrenergiczne w aparacie przykłębuszkowym powoduje uwolnienie reniny i zwiększenie aktywacji układu RAA.

Aktywacja układu hormonalnego w przypadku uszkodzenia serca powoduje wzrost stężenia kortyzolu oraz wazopresyny w surowicy krwi. Wazopresyna poprzez stymulowanie receptorów V1a i V2 powoduje wzrost resorpcji wody, co prowadzi do hiponatremii. Klinicznymi konsekwencjami tych zmian jest retencja wody i sodu [17].

Podstawowymi lekami stosowanymi w przypadku stwierdzenia hiperwolemii są diuretyki pętlowe. W konsekwencji występuje obniżenie objętości krwi krążącej oraz hemokoncentracja. Prowadzi to do zwiększenia ładunku sodowego w cewce dystalnej powodując zwiększone uwalnianie adenozyiny z aparatu przykłębuszkowego. Prowadzi to do zwiększonej resorpcji sodu w cewce proksymalnej i skurczu tętniczek doprowadzających powodując obniżenie eGFR [18,19]. Jednakże krótkotrwałe obniżenie funkcji filtracyjnej w przebiegu stosowania diuretyków jest odwracalne i pacjenci z niewydolnością serca, u których stosowano agresywną terapię lekową, nie mieli obniżonej funkcji nerek w ocenie po 60 dniach [20]. Szeroko stosowanymi lekami u pacjentów z chorobami serca i nerek są również inhibitory enzymu konwertującego (ACE-I). Ich mechanizm działania polega na poszerzeniu tętniczek odprowadzających co prowadzi do obniżenia eGFR. W związku z tym u pacjentów stosujących lek z w/w grupy zakłada się możliwy wzrost stężenia kreatyniny w surowicy o ok. 30%. Długoterminowe stosowanie tych leków ma działanie nefroprotekcyjne, ze względu na obniżenie ciśnienia krwi w kłębuszku nerkowym oraz hamowanie włóknienia stymulowanego przez angiotensynę [21,22].

Ostre uszkodzenie nerek (AKI) jest stanem, w którym na skutek nagłej dysfunkcji nerek dochodzi do zaburzeń elektrolitowych i gospodarki kwasowo-zasadowej oraz nieprawidłowego bilansu płynowego [23]. Jego wystąpienie stanowi niezależny czynnik ryzyka zgonu wśród pacjentów pediatrycznych [5]. Wielu badaczy podkreśla, że AKI u dzieci jest często wtórne do innych schorzeń oraz stosowanego leczenia i nie wynika niejednokrotnie z choroby nerek [24]. Wczesne rozpoznanie AKI może być kluczowe i pozwoli na poprawę wyników leczenia pacjentów. W grupie pacjentów pediatrycznych, AKI może być rozpoznawana na podstawie kryteriów pRIFLE (tabela 2) [25]. Zakładają one trzy stopnie uszkodzenia nerek oraz dwa etapy skutków odległych. Kryteria te bazują na stężeniu kreatyniny w surowicy, której wzrost jest niestety opóźniony w stosunku do momentu uszkodzenia nerek. Drugim parametrem branym pod uwagę w tej klasyfikacji jest wielkość diurezy.

TABELA 2. KRYTERIA PRIFLE

Stopień AKI	eGFR	Wydalanie moczu
1- RISK	Spadek eGFR o >25%	<0,5 ml/kg/h > 8h
2 - INJURY	Spadek eGFR o >50%	<0,5 ml/kg/h >16h
3 - FAILURE	Spadek eGFR o >75% lub eGFR <35 ml/min/1.73m ²	<0,3 ml/kg/h > 24h lub anuria > 12h
4 - LOSS	Utrzymujące się cechy ARF > 4 tygodni	
5 - ESKD	Schyłkowa niewydolność nerek >3 miesięcy	

Trudnością diagnostyczną w codziennej praktyce medycznej jest często brak wyjściowego stężenia kreatyniny u pacjentów bez objawów choroby nerek, stąd niemożliwe okazuje się określenie jego wzrostu. Obecnie poszukuje się optymalnego narzędzia oceny AKI, które niwelowałoby ograniczenia obecnej metody. Przez ostatnie dekady poszukuje się markera umożliwiającego rozpoznanie AKI bez znajomości wcześniejszych wyników oraz nie wymagającego dłuższej obserwacji w czasie. W przypadku pacjentów pediatrycznych stwierdzono przydatność uNGAL, KIM-1, L-FABP, IGFBP7, uAng, TIMP-2, microRNAs oraz beta-2-mikroglobuliny jako czynników prognostycznych wystąpienia AKI [26,27].

AKI jest często występującą jednostką chorobową. W badaniu przeprowadzonym przez Sutherland i współpr. AKI rozpoznano wśród 37–51% pacjentów pediatrycznych hospitalizowanych z różnych przyczyn, w tym przebywających na oddziale intensywnej opieki medycznej. Połowa przypadków była klasyfikowana na pierwszym etapie uszkodzenia nerek o łagodnym przebiegu [28]. U pacjentów z wadą serca ryzyko wystąpienia ostrego uszkodzenia nerek po zabiegu kardiochirurgicznym waha się między 1-30% [29]. Wystąpienie uszkodzenia nerek wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu w tej grupie o 15-30% [30]. Uszkodzenie nerek często jest procesem odwracalnym. U 46% z tych pacjentów pediatrycznych dochodzi do wczesnej poprawy w przeciągu 48 godzin. Jest to obserwowane najczęściej w przypadku pacjentów na etapie R w skali pRIFLE. W przypadku konieczności zastosowania terapii nerkozastępczej wczesny powrót pełnej funkcji nerek występuje tylko u 4,5% pacjentów [31].

1.1.2 Zespół sercowo-nerkowy typu 2

Zespół sercowo-nerkowy typu 2 zakłada wystąpienie przewlekłej choroby nerek na podłożu przewlekłej choroby układu krążenia. Zgodnie z definicją do przewlekłej choroby nerek mogą doprowadzić zaburzenia takie jak przewlekła niewydolność serca, migotanie

przedsionków, wrodzona wada serca, kardiomiopatia czy przewlekła choroba niedokrwienna. W przypadku pacjentów pediatrycznych najczęściej ten typ CRS obserwuje się w przebiegu wrodzonej wady serca. W przypadku pacjentów dorosłych niewydolność nerek jest opisywana jako jedna z najczęściej współistniejących chorób z niewydolnością serca [18]. Mechanizm odpowiedzialny za rozwój przewlekłej choroby nerek w przebiegu chorób serca nie jest w pełni poznany. Zakłada się, że głównym czynnikiem jest przewlekła hipoperfuzja wynikająca z zaburzonego przepływu krwi przez nerki. Jednakże w poszczególnych badaniach nie udowodniono korelacji frakcji wyrzutowej i obniżenia eGFR [32]. Ponieważ niedokrwienie wynikające z obniżonego systemowego ciśnienia tętniczego krwi, nie stanowi wyłącznej przyczyny wystąpienia przewlekłej choroby nerek, poszukuje się innych patomechanizmów. Możliwą przyczyną upośledzenia funkcji nerek są zaburzenia neurohormonalne. Podkreśla się znaczenie zwiększonego uwalniania wazokonstryktorów tj. epinefryny, angiotensyny i endoteliny oraz zwiększoną wrażliwość i/lub uwalnianie czynników rozkurczających naczynia (peptydy natriuretyczne, NO) [33].

Na modelu mysim badano m.in. wpływ niewydolności serca bez upośledzonej frakcji wyrzutowej na uszkodzenie nerek. U myszy indukowano mierne nadciśnienie tętnicze, przekrwienie płuc oraz obniżoną tolerancję wysiłku. Poprzez zwiększoną aktywność ekspresji genów TGF-beta, kolagenu I i kolagenu III potwierdzono obecność procesu włóknienia w obrębie nerek. Dodatkowo wykazano rolę transformacji mezenchymalno-epitelialnej (EndMT) jako mediatora tego procesu. Mogą być to kolejne ścieżki współodpowiedzialne za występowanie CRS. U pacjentów z chorobą serca z podwyższonym ciśnieniem tętniczym obserwuje się szybszą utratę funkcji filtracyjnej nerek w stosunku do grupy pacjentów bez nadciśnienia tętniczego. Jednym z powodów jest mniejsza liczba nefronów, która może wynikać z uszkodzenia kłębuszków [34]. Tak jak w przypadku CRS typu 1, jedną z kluczowych ról w zmianach patofizjologicznych odgrywa układ współczulny. Jego aktywacja poprawia rzut serca poprzez przyspieszenie rytmu serca, zwiększa retencję sodu i wody poprzez uwalnianie reniny i nasila skurcz naczyń obwodowych. W czasie utrzymywania się takiego stanu pojawia się nadciśnienie tętnicze, hipertrofia mięśnia sercowego oraz zaburzenia filtracji [35]. Wzajemne oddziaływanie między sercem a nerkami, w dużej mierze opiera się również na retencji wody i sodu na skutek upośledzonej perfuzji nerkowej. Do pogłębienia uszkodzenia narządów przyczynia się układ RAA. W odpowiedzi na zachodzące zmiany następuje uwalnianie reniny, głównie w obrębie warstwy korowej, w której to w przypadku chorób serca,

upośledzenie perfuzji nerkowej jest największe [36]. Ten układ pozwala na prawidłową perfuzję bardziej wrażliwego na niedokrwienie rdzenia nerek kosztem innych regionów, w tym warstwy zewnętrznej kory, gdzie znajdują się w głównej mierze cewki proksymalne. W tym mechanizmie, aktywacja układu RAA powoduje aktywację procesów wewnątrznerkowych prowadzących do włóknienia cewek, aktywacji układu współczulnego oraz obniżenie eGFR [15].

Definicja przewlekłej choroby nerek zakłada długotrwałe obniżenie eGFR poniżej normy. Najprostszym wzorem, szeroko stosowanym w pediatrii, w celu obliczenia eGFR jest zmodyfikowany wzór Schwartza. W celu dokonania obliczeń wymagana jest znajomość wzrostu pacjenta oraz stężenia kreatyniny w surowicy. Jednakże wielkość tego parametru jest zależna od wielu czynników tj. płeć, wiek, rasa, masa mięśniowa i dieta. W przypadku niskiej masy mięśniowej u dzieci jej wynik może być fałszywie zaniżony. Dobowy klirens kreatyniny, obliczany na podstawie stężenia kreatyniny i mocznika w surowicy i moczu jest dokładniejszy, jednakże w grupie najmłodszych dzieci trudny do wykonania ze względu na konieczność cewnikowania pęcherza moczowego w celu wykonania dobowej zbiórki moczu. Najlepszą metodą oznaczenia eGFR jest klirens inuliny. Jest to marker swobodnie filtrowany, bez dodatkowej sekrecji i resorpcji cewkowej. Jednakże metoda jest czasochłonna i kosztowna co ogranicza jej stosowanie w codziennej praktyce.

Na podstawie eGFR klasyfikujemy pacjentów do poszczególnej grupy przewlekłej choroby nerek (PChN) zgodnie z tabelą 3.

TABELA 3. STADIA PRZEWLEKLEJ CHOROBY NEREK

Stadium	opis	eGFR (ml/min/1.73m ²)
1	Uszkodzenie nerek z prawidłowym eGFR	>90
2	Uszkodzenie nerek z nieznacznie obniżonym eGFR	60 – 89
3	eGFR obniżone w stopniu średnim	30 – 59
4	Znacznie obniżony eGFR	15 – 29
5	Schyłkowa niewydolność nerek	<15 / pacjent dializowany

Uszkodzenie nerek w przebiegu wrodzonej wady serca jest obserwowane u pacjentów dorosłych. W długoletnich obserwacjach >50% badanych spełniało kryteria przewlekłej choroby nerek, 41% pozostawało na 3, a 9% na 4 etapie PChN. Stopień uszkodzenia nerek korelował z ciężkością czy złożonością wady serca. Jednakże również u pacjentów z „prostą” wadą stwierdzano upośledzenie funkcji filtracyjnej [6]. Powyższe wyniki badań są oparte na klasycznych markerach uszkodzenia nerek, których wzrost jest opóźniony w stosunku do faktycznego początku AKI a w konsekwencji do początku PChN. Uszkodzenie cewek nerkowych, stwierdzone na podstawie wczesnych markerów ich uszkodzenia, jest stwierdzane u dzieci z wrodzoną wadą serca (zarówno siniczą jak i niesiniczą) przed wystąpieniem standardowych odchyleń w badaniach laboratoryjnych, takich jak podwyższone stężenie kreatyniny w surowicy czy białkomocz [37]. Nefropatię stwierdza się u 30–50% pacjentów z siniczą wadą serca. W tej grupie obserwuje się wystąpienie mikroalbuminurii, której ryzyko zwiększa wydłużony czas do momentu korekty wady podstawowej [38].

1.2 PROGRESJA AKI DO PCHN

Niezależnie od czynnika powodującego uszkodzenie nerek, AKI może prowadzić do PChN. Wiadomo, że jest to proces wieloczynnikowy obejmujący w szczególności komórki cewek nerkowych, fibroblasty oraz komórki układu immunologicznego. W badaniach na modelu zwierzęcym Szeto dowiódł, że ostre uszkodzenie nerek indukuje włóknienie zarówno kłębuszków jak i macierzy międzykomórkowej zależne od cytokin, nawet po kilku miesiącach od momentu wystąpienia AKI. Kolejnym etapem w tym procesie było trwałe uszkodzenie pętli naczyniowych oraz podocytów. Jednocześnie obserwowano utratę funkcji mitochondriów, co spowodowało niedokrwiennie uszkodzenie komórek, w tym cewek nerkowych [39]. Po uszkodzeniu komórek cewek dochodzi do ich atrofii. Kolejnym etapem

jest uruchomienie szeregu ścieżek sygnałowych powodujących interakcję między endoteliem naczyń okołocewkowych i fibroblastami, co prowadzi do ich proliferacji i włóknienia. Lokalnie występujący stres oksydacyjny uniemożliwia prawidłową regenerację komórek cewek nerkowych [40,41]. Zaburzony metabolizm aerobowy powoduje kumulację kwasów tłuszczowych, przejście w stan redoks oraz włóknienie [42]. Ponadto czynniki takie jak choroby dodatkowe, styl życia czy leki mogą znacząco wpłynąć na rozwój choroby. Postęp PChN jest niezależny od nasilenia objawów klinicznych AKI. Pomimo szeroko zakrojonych badań dotyczących patomechanizmu PChN, nadal nie ma wypracowanych terapii zapobiegających jego wystąpieniu [43,44]. Bydash podsumował badania dotyczące progresji AKI do PChN. Wykazano, że niezależnie od przyczyny wystąpienia AKI, pacjenci ci są w grupie ryzyka wystąpienia przewlekłej choroby nerek. U pacjentów z wrodzoną wadą serca, u których doszło do rozwoju AKI również obserwuje się utrzymywanie uszkodzenia cewek nerkowych [45].

1.3 MARKERY USZKODZENIA NEREK

1.3.1 Kreatynina i mocznik

Kreatynina jest związkiem organicznym o masie molowej 113,12 g/mol. Powstaje z nieenzymatycznego rozpadu fosforanu kreatyny, którego głównym magazynem są mięśnie [46]. Stąd też stężenie kreatyniny w moczu jest ściśle zależne od masy mięśniowej. W przypadku dzieci o niskiej masie mięśniowej, jak również w przypadku pacjentów w krytycznie ciężkim stanie z postępującym ubytkiem masy mięśniowej wynikającej z unieruchomienia, stężenie kreatyniny może być fałszywie zaniżone [47]. Ponadto nieprawidłowa funkcja wątroby, podeszły wiek czy unieruchomienie również wpływają na obniżenie stężenia kreatyniny w surowicy. Podkreśla się, że raczej nie jednorazowy pomiar, ale stabilny wzrost stężenia kreatyniny w czasie jest odzwierciedleniem utraty funkcji nerek [46]. Utrudnieniem przy wykorzystaniu tej metody jest często brak znajomości wyjściowego stężenia kreatyniny w surowicy pacjenta. Ponadto wykorzystanie tego parametru jest ograniczone ze względu na jej opóźniony wzrost w stosunku do zaistniałego uszkodzenia [48,49]. Przyjmuje się, że stężenie kreatyniny w surowicy jest wyznacznikiem uszkodzenia nerek w przypadku spadku filtracji kłębuszkowej o ponad 50% [50]. Oznacza to, że wzrost stężenia kreatyniny określa utratę funkcji nerek, a nie ich strukturalne uszkodzenie [51].

1.3.2 NGAL

NGAL – lipokaina obojętnochłonna związana z żelatynazą (NGAL – neutrophil gelatinase- associated lipocalin) stanowi najbardziej obiecujący marker w diagnostyce ostrego

uszkodzenia nerek. Jest to białko o masie cząsteczkowej 25kDa, złożone z 178 aminokwasów. Należy do grupy lipokalin. Jej ekspresja zachodzi głównie w obrębie neutrofili oraz komórek epitelialnych. Niewielka ilość jest wydzielana w obrębie komórek macicy, prostaty, ślinianek, płuc, tchawicy, żołądka, okrężnicy [52]. Narządem o najwyższej ekspresji NGAL są nerki. W ich obrębie do ekspresji NGAL zachodzi głównie w cewkach proksymalnych [53,54,55]. W przypadku osób zdrowych stężenie NGAL w surowicy nie jest podwyższone [56]. Wzrost NGAL obserwuje się już po dwóch godzinach od uszkodzenia nerek, osiągając swoją wartość maksymalną po 12-24h, w zależności od ciężkości uszkodzenia. W przypadku regeneracji cewek nerkowych stężenie uNGAL obniża się po około 5 dniach [41,55,57]. NGAL jest filtrowana w kłębuszku nerkowym i resorbowana w cewce proksymalnej. Jej fizjologiczna rola polega na ograniczeniu uszkodzenia komórek cewek nerkowych poprzez hamowanie apoptozy i stymulację prawidłowej proliferacji. Odgrywa rolę w transporcie jonów żelaza poprzez wiązanie sideroforów (białek transportujących jony żelazowe). Może zwiększyć transport żelaza do komórek przez co nasila działanie oksygenazy-1 hemu, która reguluje homeostazę komórkową [58,59]. Na tym ma polegać renoprotekcyjne działanie NGAL. Na modelu mysim potwierdzono obniżenie liczby komórek poddanych apoptozie oraz zwiększenie proliferacji komórek cewek proksymalnych po podaniu NGAL przed wystąpieniem niedokrwienia [60]. Rola NGAL jako markera ostrego uszkodzenia nerek została potwierdzona w wielu badaniach. Wzrost jej stężenia potwierdzono w przypadku różnych grup pacjentów, między innymi po zabiegach kardiochirurgicznych przeprowadzanych w krążeniu pozaustrojowym [41], po wykonaniu procedur z użyciem środka kontrastującego [61] czy w oddziałach intensywnej opieki medycznej [62]. Stężenie NGAL można oznaczać zarówno w surowicy krwi jak i w moczu. Pobieranie próbki moczu jest mniej inwazyjne, jednakże uzyskanie materiału do badań może być utrudnione u pacjentów z oligurią [63]. W moczu NGAL jest wydalone jako białko odporne na działanie proteaz [64]. W nerce zdrowej dochodzi do jej resorpcji w cewce bliższej. Obecność w moczu wynika z zwiększonego przesączania kłębuszkowego, braku wchłaniania zwrotnego w cewce proksymalnej lub ze wzmożonej syntezy w cewce dystalnej. W badaniu przeprowadzonym przez Nickolas TL i współpr. oceniono stężenie uNGAL wśród pacjentów zgłaszających się na oddział ratunkowy. U pacjentów, u których stwierdzono AKI na podstawie kryteriów RIFLE, stężenie uNGAL było istotnie statystycznie wyższe. Stanowiło również czynnik prognostyczny konieczności przeprowadzenia konsultacji nefrologicznej, wykonania zabiegu nerkozastępczego i leczenia na oddziale intensywnej opieki medycznej. Jest również czynnikiem różnicującym strukturalne uszkodzenie nerek od zaburzeń

funkcji wynikającej ze spadku perfuzji z przyczyn hemodynamicznych. Stężenie uNGAL utrzymuje się podwyższone w przypadku utrzymujących się wykładników upośledzonej funkcji nerek [65]. Zakłada się, że podwyższone stężenie tego markera u pacjentów pediatrycznych z cukrzycą typu 1 jest czynnikiem prognostycznym wystąpienia przewlekłej choroby nerek przed wystąpieniem cech nefropatii cukrzycowej [66].

1.3.3 KIM-1

KIM-1 – cząsteczka uszkodzenia nerek (ang. kidney injury molecule-1) jest glikoproteiną błonową o masie 38,7 kDa [67]. Występuje w trakcie procesów regeneracyjnych komórek kanalików proksymalnych oraz przyspiesza fagocytozę sąsiednich komórek ulegających apoptozie. Nie występuje w prawidłowych komórkach nerkowych [68]. Wzrost KIM-1 jest obserwowany w ciągu 24 godzin od ich uszkodzenia [69]. Wyższe stężenie tego markera jest oznaczane w przypadku ostrego uszkodzenia w stosunku do uszkodzenia przewlekłego [70]. Jest czynnikiem rokowniczym dotyczącym progresji nie tylko uszkodzenia cewek nerkowych, ale również choroby serca. W badaniu przeprowadzonym przez Brankovic w grupie pacjentów dorosłych, stwierdzono, że podwyższone stężenie KIM-1 utrzymuje się i wzrasta w przypadku stabilnej, przewlekłej choroby serca. Ponadto jest czynnikiem rokowniczym dotyczącym dekompensacji choroby podstawowej, konieczności rehospitalizacji, zgonu z powodu chorób krążenia czy konieczności transplantacji serca [71,72]. Szereg badań dowodzi, że KIM-1 jest markerem uszkodzenia nerek po zabiegach w krążeniu pozaustrojowym oraz po cewnikowaniu serca [69]. Jego stężenie oznaczone w okresie pooperacyjnym pozwala na określenie ryzyka zgonu w ciągu 3 lat od wykonania zabiegu u pacjentów, u których nie stwierdzono klinicznych cech AKI [73]. Obniżenie stężenia KIM-1 w moczu jest obserwowane w przypadku zastosowania leczenia hipotensyjnego, w tym diety niskosodowej. Koreluje również ze spadkiem białkomoczu [74]. KIM-1 jest również używany w badaniach klinicznych dotyczących nefrotoksyczności leków [75].

1.3.4 Katepsyna L

Katepsyna L jest białkiem enzymatycznym o masie 30 kDa należącym do grupy lizosomalnych proteaz cysteiny. Katepsyna L jest chemokiną dla neutrofili, limfocytów T oraz monocytów. Potęguje uwalnianie cytokin, fagocytozę oraz adhezję monocytów do endotelium, przez co jest m.in. odpowiedzialna za wewnątrzkomórkową degradację białek. [76,77]. Katepsyna L jest również opisywana jako jeden z czynników powodujących stan zapalny w obrębie nerek oraz uszkodzenie naczyń [78]. Może również brać udział w aktywacji

prohormonów, prezentacji antygeny oraz przebudowie kości [79]. Na modelu mysim wykazano, że katepsyna L jest czynnikiem indukującym uszkodzenie podocytów [80]. Zmniejszenie jej ekspresji powoduje redukcję stopnia uszkodzenia nerek, ograniczenie aktywacji makrofagów oraz minimalizację uwalniania cytokin prozapalnych [81]. Wykazano również jej związek z prawidłową funkcją wypustek stopowatych podocytów. Zwiększoną ekspresję stwierdzano w materiale biopsyjnym nerki własnej pacjentów z submikroskopowym zapaleniem nerek oraz nefropatią cukrzycową [80]. W badaniu przeprowadzonym przez Cocchiaro wykazano, że podwyższone stężenie katepsyny L występuje w cewkach proksymalnych nerek po uszkodzeniu przez leki nefrotoksyczne oraz w przebiegu niedokrwienia. Oba mechanizmy prowadzą to do nasilonej apoptozy i wtórnie do obniżenia funkcji nerek [82]. U pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu 2 stwierdzono, że katepsyna L jest czynnikiem prognostycznym wystąpienia albuminurii [83].

1.3.5 Beta-2-mikroglobulina

Beta-2-mikroglobulina jest nieglikolizowanym polipeptydem o masie 11,8 kDa, który jest obecny we wszystkich komórkach jądrowych [84]. Jej stężenie nie jest zależne od wieku, płci ani od masy mięśniowej [85,86]. Jako białko o niskiej masie cząsteczkowej jest uwalniane do krwioobiegu w stałej częstotliwości, następnie filtrowane w kłębuszku nerkowym i całkowicie resorbowane w cewkach nerkowych. Podwyższone stężenie beta-2-mikroglobuliny obserwowano u pacjentów, u których następnie rozpoznano ostre uszkodzenie nerek w stopniu pRIFLE-I [26]. Stężenie beta-2-mikroglobuliny jest czynnikiem rokowniczym dotyczącym wystąpienia AKI u dzieci, jak również niekorzystnych skutków odległych schyłkowej niewydolności nerek, utraty nerki przeszczepionej czy chorób układu krążenia [87,88,89]. Wśród pacjentów pediatrycznych stężenie beta-2-mikroglobuliny stanowi samodzielny wykładnik uszkodzenia nerek niezależny od czynnika etiologicznego. Podwyższone stężenie tego markera utrzymuje się również w przypadku nieprawidłowego remodelingu po toksycznym uszkodzeniu [45].

1.3.6 Angiotensynogen

Angiotensynogen jest białkiem o długości 453 aminokwasów, które stanowi substrat w układzie RAA. Produkowany jest przez komórki wątroby oraz nerek. Pod wpływem reniny, enzymu uwalnianego przez komórki ziarniste aparatu przykłębuszkowego zlokalizowanego w otoczeniu ściany tętniczki doprowadzającej kłębuszka nerkowego, dochodzi do przemiany angiotensynogenu w angiotensynę I. W kolejnym etapie angiotensyna I jest przekształcana

przez enzym ACE (enzym konwertujący angiotensynę) do angiotensyny II (AngII). AngII jest czynnikiem aktywnym układu RAA. Powoduje skurcz naczyń, pobudza wydzielanie aldosteronu przez nadnercza, przez co pośrednio powoduje retencję sodu. Do aktywacji układu RAA dochodzi podczas hipowolemii i jego głównym działaniem jest zapobieganie skutkom hipotensji. AngII w obrębie nerek powoduje obkurczenie tętniczek nerkowych, głównie odprowadzającej. Prowadzi to do wzrostu ciśnienia wewnątrzklębuszkowego i podtrzymanie filtracji klębuszkowej [90]. Poza działaniem systemowym, AngII ma również działanie parakrynnie. Rola lokalnie produkowanej AngII nie jest w pełni poznana. Występuje ona w obrębie serca, ścian naczyń, mózgu, kory nadnerczy i nerek. Poza właściwościami wpływającymi na parametry hemodynamiczne, posiada funkcję mediatora zapalnego i poprzez produkcję chemokin, aktywuje komórki układu immunologicznego, zwiększa ekspresję cytokin takich jak TNF czy TGF-beta oraz działa jako czynnik proliferacyjny [91,92]. Jej wzmożona aktywność prowadzi do przerostu komórek mezangium i nabłonka cewek nerkowych [93]. Na modelu mysim opisano, że zwiększona ekspresja angiotensynogenu, aktywującego układ RAA, prowadzi do postępującego uszkodzenia nerek. Potwierdzono, że angiotensynogen występujący w moczu jest odzwierciedleniem jego lokalnego stężenia w obrębie cewek nerkowych [94]. Wewnątrznerkowa zwiększona ekspresja angiotensynogenu została opisana w przypadku występowania ostrego uszkodzenia cewek nerkowych, co może potwierdzać udział RAA w AKI [95]. W przypadku pacjentów z AKI po zabiegu kardiochirurgicznym, stężenie angiotensynogenu w moczu było czynnikiem rokowniczym konieczności zastosowania leczenia nerkozastępczego [96]. Ponadto w przypadku AKI stwierdzono podwyższone stężenie angiotensynogenu, nie tylko w zakresie cewki proksymalnej, ale również dystalnej, co korelowało z podwyższonym stężeniem angiotensynogenu w moczu. Jednocześnie nie obserwowano zmian w stężeniu angiotensynogenu w surowicy krwi. Ponadto przy nasileniu uszkodzenia cewek nerkowych jego stężenie wzrastało. Może to potwierdzać wpływ lokalnie działającego układu RAA na rozwinięcie AKI [95].

1.4 PODSUMOWANIE

Zespół sercowo-nerkowy często występuje u pacjentów pediatrycznych. Patomechanizm tej jednostki chorobowej jest złożony i nie do końca poznany. Przyczyną uszkodzenia nerek w przebiegu CRS może być niedokrwienie, czynniki hemodynamiczne, humoralne czy enzymatyczne. Uszkodzenie nerek może mieć charakter objawowy lub też przebiegający

w sposób niemy klinicznie. Ze względu na ograniczenia wynikające z obecnie stosowanych wytycznych, część pacjentów pozostaje niezdiagnozowanych. Konieczne jest poszukiwanie nowych substancji, które w sposób czuły i swoisty różnicuje grupy pacjentów będących w grupie ryzyka wystąpienia uszkodzenia nerek.

W niniejszej pracy podjęto próbę oceny sześciu markerów, których podwyższone stężenie w surowicy i/lub moczu mogłoby świadczyć o wystąpieniu zespołu sercowo-nerkowego u pacjentów pediatrycznych z wrodzoną wadą serca. Znalezienie takich wskaźników pozwoliłoby na przybliżenie patofizjologicznych aspektów zespołu sercowo-nerkowego, a także opracowanie zaleceń dotyczących profilaktyki i nowych metod leczenia.

2 CEL PRACY

Celem pracy jest ocena funkcji nerek i wystąpienia zespołu sercowo-nerkowego u dzieci z wadami serca za pomocą nowych markerów wczesnego uszkodzenia nerek oznaczanych w moczu i/lub surowicy krwi

Cele szczegółowe:

- Ocena wczesnego uszkodzenia nerek u dzieci z wadą serca na podstawie markerów:
 - lipokainy obojętnochłonnej związanej z żelatynazą (NGAL) w surowicy i w moczu
 - katepsyny L w moczu
 - cząsteczki uszkodzenia nerek (KIM-1) w moczu
 - beta-2-mikroglobuliny w moczu
 - angiotensynogenu w moczu
- Próba określenia czynników predysponujących do uszkodzenia nerek u pacjentów z wadą serca, takich jak:
 - rodzaj wady
 - sposób leczenia
 - wybrane parametry hemodynamiczne

3 HIPOTEZY BADAWCZE

- U dzieci z wadą serca obecne jest zwiększone stężenie wczesnych markerów uszkodzenia nerek
- U dzieci z wadą serca występuje uszkodzenie nerek definowane jako podwyższone stężenie wczesnych markerów uszkodzenia nerek.
- Uszkodzenie nerek występuje u dzieci z wadą serca niezależnie od jej typu.
- Uszkodzenie nerek występuje u dzieci z wadą serca niezależnie do sposobu leczenia.
- Uszkodzenie nerek jest niezależne od wybranych parametrów hemodynamicznych.

4 MATERIAŁ I METODYKA

4.1 CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ

Badaniem objęto 80 dzieci z rozpoznaną wrodzoną wadą serca leczonych w Klinice Kardiologii i Nefrologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (obecnie Klinika Kardiologii Dziecięcej i Klinika Nefrologii Dziecięcej i Nadciśnienia Tętniczego). Grupę stanowiło 32 dziewczynek i 48 chłopców w wieku od 1 do 205 tygodni (średnia wieku 51 tygodni).

Na podstawie badania podmiotowego, przedmiotowego oraz wyników badań biochemicznych nie stwierdzono u pacjentów chorób infekcyjnych, wad wrodzonych innych niż wada serca, chorób układu moczowego ani innych nieprawidłowości mogących wpłynąć na wyniki badania. Kryterium wykluczającym z badania było również wcześniactwo oraz niska masa urodzeniowa. Krew i mocz do analizy były pobierane podczas wykonywania planowanych badań. W części przypadków nie przeprowadzono wszystkich oznaczeń ze względu na zbyt małą objętość uzyskanego moczu lub krwi. Materiału do badań nie pobierano ponownie, mając na uwadze dobro dzieci. U pacjentów obliczono eGFR na podstawie zmodyfikowanego wzoru Schwartz'a. U wszystkich dzieci wartość eGFR była w normie dla wieku. U dzieci z wrodzoną wadą serca było wykonane badanie echokardiograficzne. Wczesne uszkodzenie nerek rozpoznawano, gdy stwierdzano wyższe stężenie co najmniej jednego z badanych markerów w stosunku do grupy kontrolnej.

Badaną grupę podzielono na trzy podgrupy:

- Wady serca przeciekowe z desaturacją krwi tj. tetralogia Fallota (ToF), przełożenie wielkich naczyń (TGA), zarośnięcie zastawki trójdzielnej (TA), wspólny pień tętniczy (TAC), całkowity nieprawidłowy spływ żył płucnych (TAPVC), anomalia Ebsteina, zespół hipoplazji lewego serca (HLHS); n=19, podgrupa 1
- Wady serca przeciekowe bez desaturacji krwi tj. przetrwały przewód tętniczy (PDA), ubytek przegrody międzykomorowej (VSD), ubytek przegrody międzyprzedsionkowej (ASD), wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVSD); n= 41; podgrupa 2
- Wady serca bez przecieku między układami tj. koarktacja aorty (CoA), izolowane zwężenie tętnicy płucnej, wrodzone zwężenie lewego ujścia tętniczego, wrodzona niedomykalność zastawki dwudzielnej, wady zastawki aortalnej; n=20; podgrupa 3;

W obrębie podgrupy 1 znalazło się 19 pacjentów co stanowiło 23,75% pacjentów a rozkład na poszczególne jednostki chorobowe przedstawiał się następująco: ToF (12), TGA (6), HLHS (1). Do grupy 2 zakwalifikowano 41 pacjentów (53,75%) z następującymi rozpoznaniem: VSD (18), ASD (8), AVSD (8), ASD/VSD (4), PDA (3). Do podgrupy 3 włączono 20 (22,5%) pacjentów z: CoA (6), wadą zastawkową (12), izolowanym zwężeniem tętnicy płucnej (1), wrodzoną anomalią naczyń wieńcowych (1).

Badaną grupę podzielono również ze względu na sposób leczenia: w grupie I znaleźli się pacjenci pozostający pod obserwacją, nie kwalifikujący się do zabiegu (leczenie zachowawcze), w grupie II pacjenci po zabiegu kardiochirurgicznym (pobranie krwi następowało po czasie co najmniej 7 dni od zabiegu). Grupę badaną podzielono również na podgrupy po ocenie wybranych parametrów hemodynamicznych w badaniu ECHO serca. Podgrupy wydzielono ze względu na frakcję skracania (podgrupa A SF>35%, podgrupa B SF<35%).

TABELA 4. PODSTAWOWE DANE CHARAKTERYZUJĄCE GRUPĘ BADANĄ I KONTROLNĄ

Parametr	Grupa badana		Grupa kontrolna		Poziom istotności
Liczba badanych	80		40		nd
Płeć (K/M)	32/48		18/22		>0,05
	średnia±SD	mediana	średnia±SD	mediana	
Wiek w chwili badania (tyg)	52±52	32	30±29	18	<0,05
Rodzaj wady (s/ns/ps)	19/41/20		nd		
Metoda terapii (z/o)	36/44		nd		
Frakcja skracania (<35%/>35%)	14/64		nd		

nd – nie dotyczy; SD – odchylenie standardowe; s – wada sinicza, ns – wada niesinicza, ps – wada późnosinicza; z – leczenie zachowawcze, o – leczenie operacyjne

Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych dzieci hospitalizowanych w ramach Kliniki Kardiologii i Nefrologii Dziecięcej, kierowanych na badania z powodu podejrzenia chorób układu krążenia czy układu moczowego, u których ostatecznie w/w zaburzeń nie potwierdzono.

Opiekunowie pacjentów zakwalifikowanych do grupy kontrolnej oraz badanej wyrazili zgodę na pobranie materiału. Badanie zostało przeprowadzone za zgodą Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, nr uchwały 675/17 z dnia 22.06.2017r.

4.2 METODY

4.2.1 Dotychczasowe markery uszkodzenia nerek

4.2.1.1 Oznaczenie kreatyniny

Oznaczenie kreatyniny ze świeżo heparynizowanego osocza dokonywano w Laboratorium Analitycznym (Analizator Konelab™/SeriaT).

Zasada metody: oznaczenie enzymatyczne, pomiar fotometryczny przy długości fali 540nm. Kreatynina jest przekształcana do sarkozyny przy pomocy kreatyninazy i kreatynaza. Sarkozyna jest następnie przekształcana w glicynę, formaldehyd i nadtlenek wodoru w obecności tlenu i oksydazy sarkozyny. Uwolniony nadtlenek wodoru reaguje z 4-aminofenazonem i HTIB, tworząc chromogen chinonoiminowy reakcji katalizowanej przez peroksydazę. Intensywność koloru jest wprost proporcjonalna do stężenia obecnej kreatyniny.

4.2.1.2 Obliczanie eGFR:

Do obliczania eGFR (ml/min/1,73m²) użyto wzoru opracowanego przez GJ Schwartz, którego równanie przedstawia się następująco:

$$eGFR = \frac{\text{wzrost (cm)} \times 0,413}{sCr \left(\frac{mg}{dl} \right)}$$

4.2.2 Markery wczesnego uszkodzenia nerek

Oznaczenia markerów wczesnego uszkodzenia nerek we krwi i w moczu przeprowadzano w Pracowni Immunonefrologii Kliniki Kardiologii i Nefrologii Dziecięcej. Krew i mocz były po pobraniu odwirowane w wirówce (MLW T52) z prędkością 1000 obrotów/minutę przez 10 min, następnie przechowywane w temp. -72°C. W dniu wykonywania oznaczeń materiał rozmrażano w temperaturze pokojowej.

Zasada metody: Wszystkie markery (NGAL, katepsyna L, KIM-1, angiotensynogen, beta-2-mikroglobulina) zostały oznaczone za pomocą metody „sandwich” ELISA. Jest to immunoenzymatyczny test podwójnego wiązania, w którym wykorzystano dwa przeciwciała monoklonalne rozpoznające różne determinanty w tej samej cząsteczce. Jest to test stosowany do oznaczania antygenów zawartych w próbkach materiałów biologicznych.

Do przeprowadzenia testu użyto płuczki automatycznej ETI-System, mikropipet EPPENDORF, minishaker MS1 IKA, czytnika mikropłytek BIO-TEK oraz programu

do odczytu i ilościowej analizy GEN-5. Wykorzystano następujące zestawy w celu oznaczenia poszczególnych markerów: NGAL - Human Lipocalin-2/NGAL Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, USA), KIM-1 – Human TIM-1/KIM-1/HAVCR Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, USA), katepsyna L - Cathepsin L Platinum ELISA 96 tests (eBioscience Inc., USA), angiotensynogen - ELISA Kit FOR Angiotensinogen (Wuhan EIAab Science, ChRL), beta-2-mikroglobulina - Beta-2-Microglobulin (Demeditec, Niemcy). Oznaczenia przeprowadzono zgodnie z zaleceniami producenta. Poszczególne etapy opisano szczegółowo poniżej.

Pierwszym etapem wykonania testu było dodanie próbki moczu lub krwi potencjalnie zawierającej poszukiwany antygen (biomarker) do studzienek opłaszczonych specyficznym przeciwciałem monoklonalnym. Na tym etapie dochodziło do związania antygenu z danym przeciwciałem. Następnie, po dodaniu odczynnika zawierającego przeciwciała wyznakowane enzymem, powstawał kompleks immunoenzymatyczny składający się z antygenu znajdującego się między znakowanym przeciwciałem a nieoznakowanym, związanym z powierzchnią studzienki. Trzecim etapem jest dodanie chromogenu specyficznego dla danego enzymu, którym wyznakowane jest dodane w drugim etapie przeciwciało. Daje to barwny związek będący widocznym produktem zachodzącej reakcji enzymatycznej. Po czasie określonym przez producenta dodawano kwas siarkowy przerywając tym samym reakcję. Ostatnim etapem jest odczyt intensywności zabarwienia przy użyciu spektrofotometrycznego czytnika mikropłytek.

4.2.3 Badanie echokardiograficzne

Badanie echokardiograficzne przeprowadzono zgodnie z rekomendacjami Sekcji Echokardiograficznej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Badanie wykonywano przy użyciu aparatu: Vivid E9, GE Vingmed Ultrasound AS, Norway. Ocenę EF i SF dokonywano w badaniu dwuwymiarowym (2D).

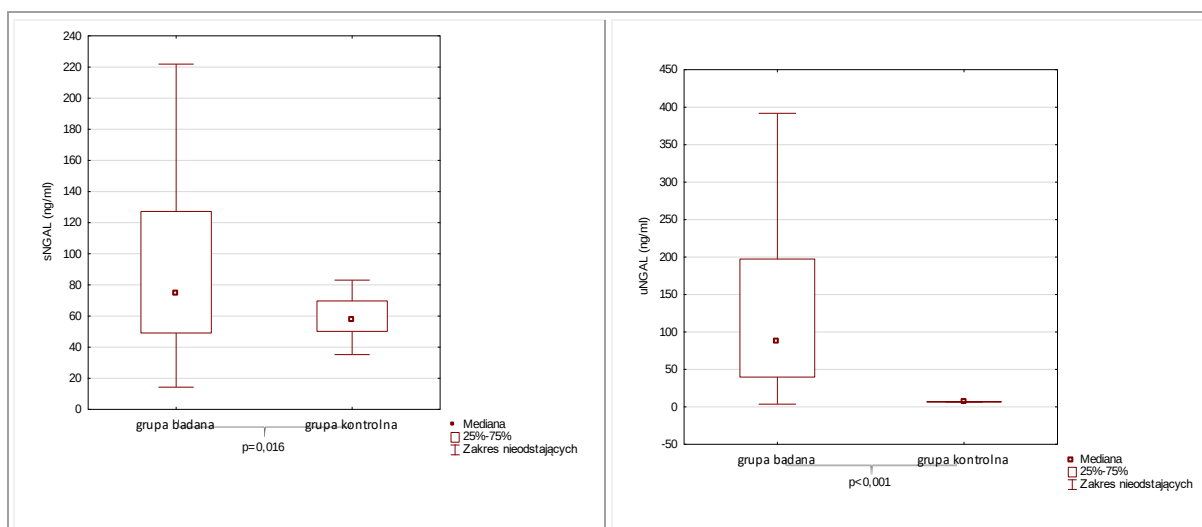
4.2.4 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 13 firmy StatSoft (licencja Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu). Do analizy badanych parametrów w obrębie grup i podgrup użyto testu nieparametrycznego Manna-Whitney'a oraz Kruskalla-Wallisa z korektą Bonferroniego. Natomiast do analizy zależności między danymi parametrami zastosowano współczynnik korelacji Spearmana. Za różnice statystycznie istotne uznano wartości funkcji testowej przy poziomie istotności $p < 0.05$.

5 WYNIKI

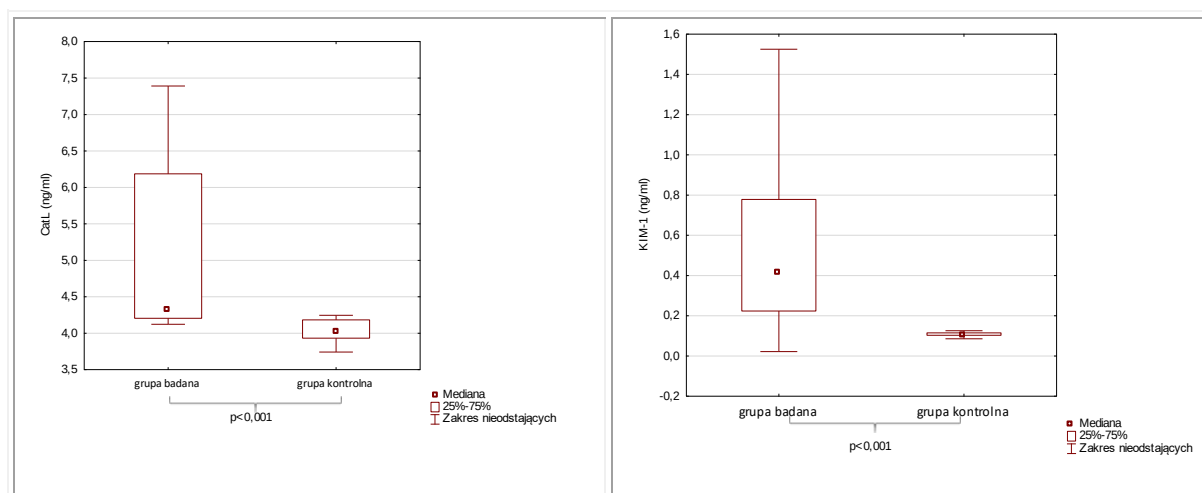
5.1 PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW USZKODZENIA NEREK W GRUPIE BADANEJ I KONTROLNEJ

U dzieci z wrodzoną wadą serca w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono większe stężenie sNGAL oraz uNGAL; (sNGAL $89,21 \pm 55,67$ vs $59,18 \pm 12,97$ ng/ml, $p=0,016$), (uNGAL : $121,34 \pm 102,69$ vs $6,86 \pm 0,19$ ng/ml, $p < 0,001$) (Rycina 1).



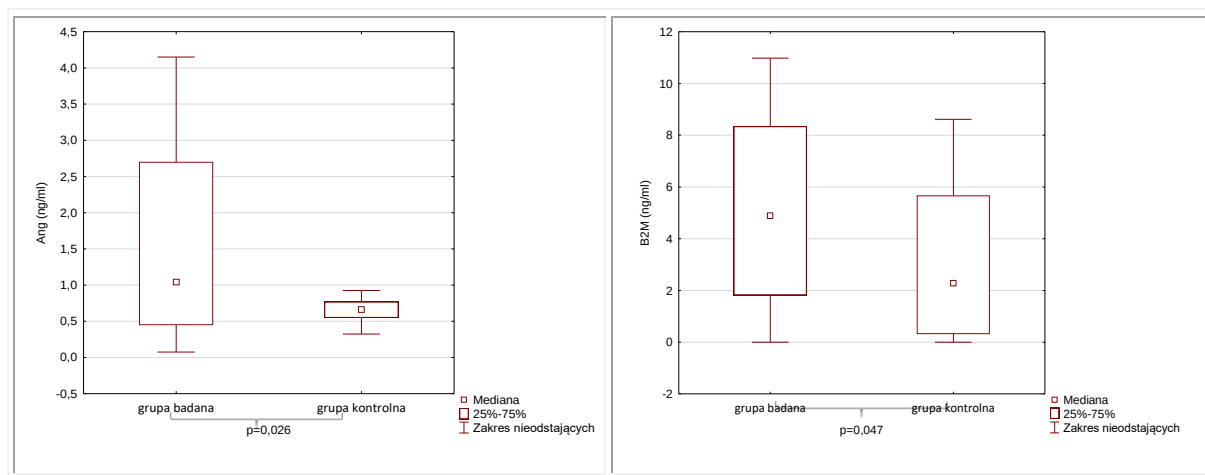
RYCINA 1. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY sNGAL I uNGAL POMIĘDZY GRUPĄ BADANĄ I KONTROLNĄ

Stężenia katapsyny L i KIM-1 były większe u dzieci z wadą serca; (katapsyna L: $5,63 \pm 2,98$ vs $4,05 \pm 0,15$, $p < 0,001$), (KIM-1: $0,76 \pm 1,03$ vs $0,12 \pm 0,06$, $p < 0,001$) (Rycina 2).



RYCINA 2. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY CatL I KIM-1 POMIĘDZY GRUPĄ BADANĄ I KONTROLNĄ

Stężenia beta-2-mikroglobuliny i angiotensynogenu były istotnie większe w grupie badanej niż kontrolnej; (B2M: $5,09 \pm 3,52$ vs $3,18 \pm 2,68$ $p=0,047$); (uANG: $2,29 \pm 3,42$ vs $0,72 \pm 0,49$, $p=0,026$;) (Rycina 3). Zbiorcze wyniki podano w tabeli nr 5.



RYCINA 3. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY uANG I B2M POMIĘDZY GRUPĄ BADANĄ I KONTROLNĄ

TABELA 5. ANALIZA WARTOŚCI MARKERÓW W GRUPIE BADANEJ I KONTROLNEJ

Parametr	Grupa badana, n=80		Grupa kontrolna, n=40		Poziom istotności
	Średnia ±SD	Mediana (Q1-Q3)	Średnia ±SD	Mediana (Q1-Q3)	
sNGAL(ng/ml)	89,22 ± 55,67	72,17 (49,06-121,96)	59,18 ± 12,97	57,64 (50,19–69,67)	P =0,016
uNGAL(ng/ml)	121,34 ± 102,69	86,22 (39,78-185,76)	6,86 ± 0,19	6,86 (6,78–6,94)	P <0,001
Katepsyna L (ng/ml)	5,63 ± 2,98	4,33 (4,21 – 5,29)	4,05 ± 0,15	4,01 (3,93 – 4,18)	P <0,001
Beta2- mikroglobulina (ng/ml)	5,09 ± 3,52	4,89 (1,82 – 8,35)	3,18 ± 2,68	2,27 (0,31 – 5,68)	P = 0,047
KIM-1 (ng/ml)	0,76 ± 1,03	0,42 (0,22 – 0,78)	0,12 ± 0,06	0,11 (0,10 – 0,12)	P<0,001
uANG (ng/ml)	2,29 ± 3,42	1,02 (0,45 – 2,47)	0,72 ± 0,49	0,66 (0,55 – 0,77)	P=0,026

5.2 OCENA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY BADANYMI MARKERAMI A WYBRANYMI PARAMETRAMI W GRUPIE BADANEJ

5.2.1 Frakcja wyrzutowa lewej komory

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,09$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,11$), katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=0,16$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,19$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,27$) oraz beta - 2- mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,11$) a frakcją wyrzutową lewej komory.

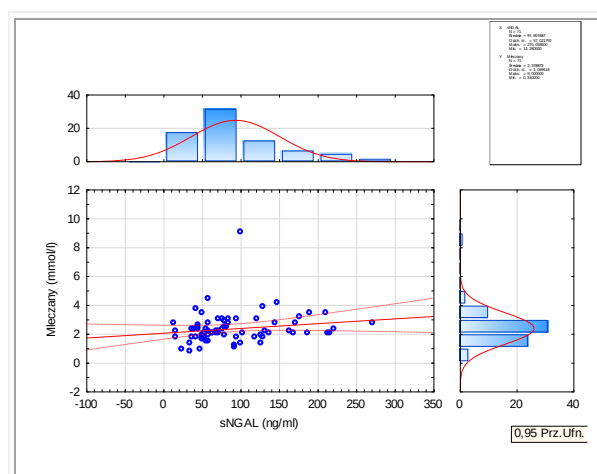
5.2.2 Frakcja skracania

W badanej grupie nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między frakcją skracania serca a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,04$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,10$), katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=0,08$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,20$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,11$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,17$).

5.2.3 Stężenie mleczanów

Stwierdzono dodatnią zależność między stężeniem mleczanów a sNGAL ($p<0,05$, $\rho=0,26$). Wynik przedstawiono na rycinie 4. Nie stwierdzono zależności między stężeniem mleczanów oraz uNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,10$). Zależności nie stwierdzono również między stężeniem mleczanów a stężeniem katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,22$), KIM - 1 ($p>0,05$,

rho=0,02), angiotensynogenu ($p>0,05$, rho=-0,26) oraz beta - 2- mikroglobuliny ($p>0,05$, $r = - 0,16$).



RYCINA 4. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ZALEŻNOŚCI MIĘDZY STĘŻENIEM MLECZANÓW A SNGAL W GRUPIE BADANEJ

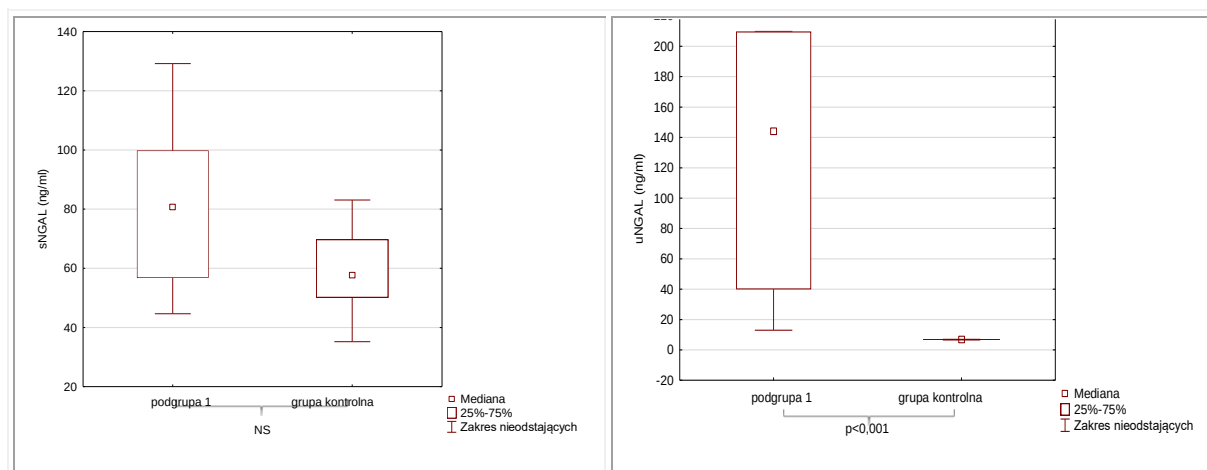
5.2.4 eGFR

Analizie poddano zależność między eGFR pacjentów oraz poszczególnymi markerami. Stwierdzono istotną statystycznie zależność między stężeniem katepsyny L a eGFR ($p<0,05$, rho= 0,14). Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między eGFR a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, rho=-0,21) oraz uNGAL ($p>0,05$, rho=-0,10). Również zależności nie stwierdzono między stężeniem eGFR a KIM-1 ($p>0,05$, rho=0,07) oraz angiotensynogenem ($p>0,05$, rho=0,00). Odnotowano istotną statystycznie ujemną zależność między eGFR a stężeniem beta-2-mikroglobuliny ($p<0,05$, rho=-0,39).

5.3 PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH PACJENTÓW Z WADĄ PRZECIEKOWĄ Z DESATURACJĄ KRWI (POGRUPA 1), WADĄ PRZECIEKOWĄ BEZ DESATURACJI KRWI (PODGRUPA 2) I WADĄ BEZ PRZECIEKU (PODGRUPA 3) ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ

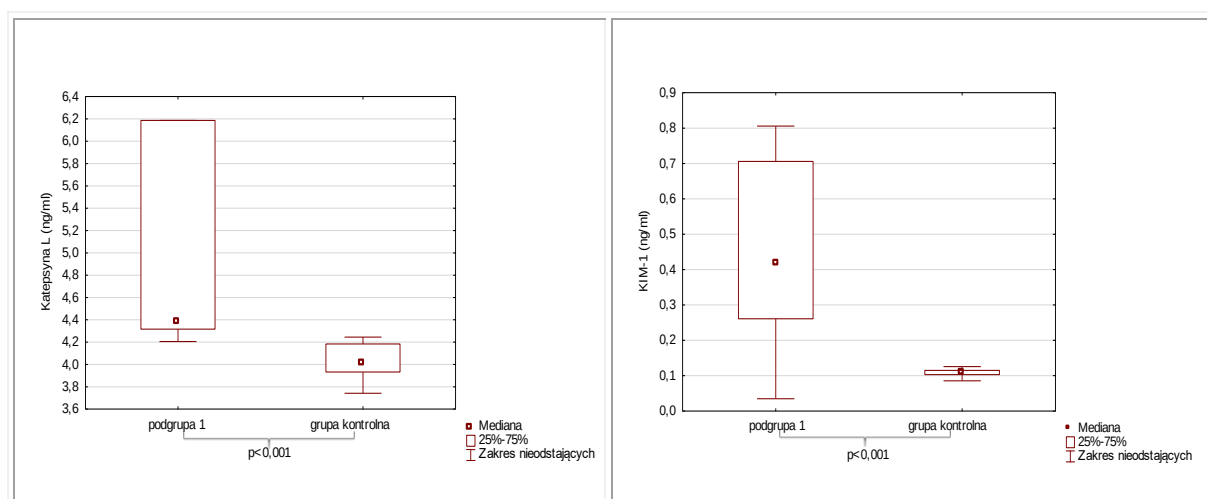
5.3.1 Podgrupa 1 a grupa kontrolna

Wykazano, że w podgrupie 1 w porównaniu do grupy kontrolnej występuje istotne statystycznie większe stężenie uNGAL, stężenie sNGAL jest natomiast statystycznie nieistotne; (sNGAL: $103,92 \pm 59,18$ vs $59,18 \pm 12,97$, $p = 0,06$), (uNGAL: $123,55 \pm 79,29$ vs. $6,86 \pm 0,19$, $p<0,001$), wyniki przedstawiono graficznie na rycinie 5.



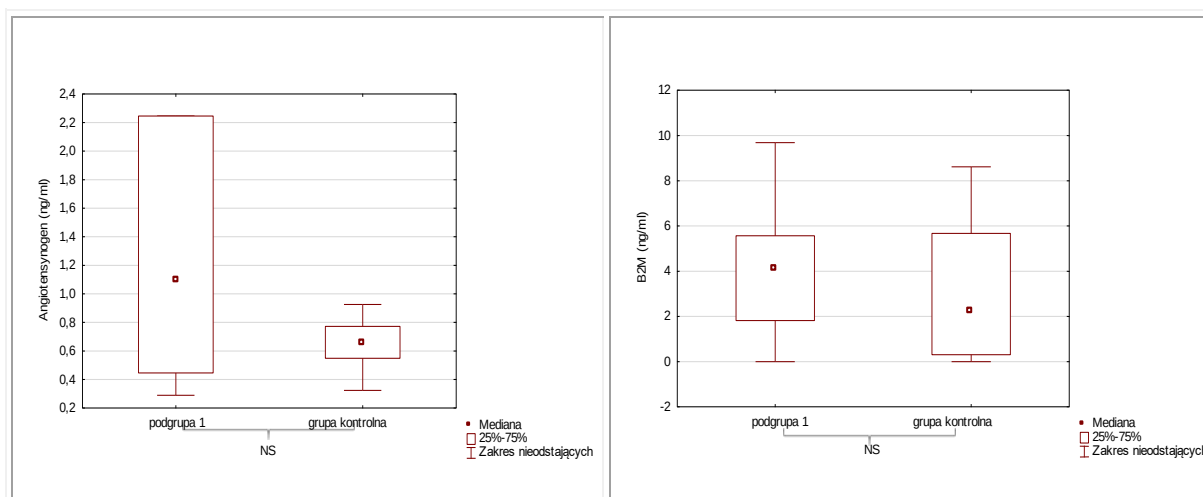
RYCINA 5. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ sNGAL I uNGAL POMIĘDZY PODGRUPĄ 1 I GRUPĄ KONTROLNĄ

W podgrupie 1 w porównaniu do grupy kontrolnej występuje istotnie statystycznie większe stężenie stężenia Katepsyny L i KIM-1; (CatL: $5,49 \pm 1,20$ vs. $4,04 \pm 0,15$, $p < 0,001$), (KIM-1: $0,66 \pm 0,70$ vs. $0,12 \pm 0,06$, $p < 0,001$), (rycina 6).



RYCINA 6. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ KATEPSYNY L I KIM-1 POMIĘDZY PODGRUPĄ 1 I GRUPĄ KONTROLNĄ

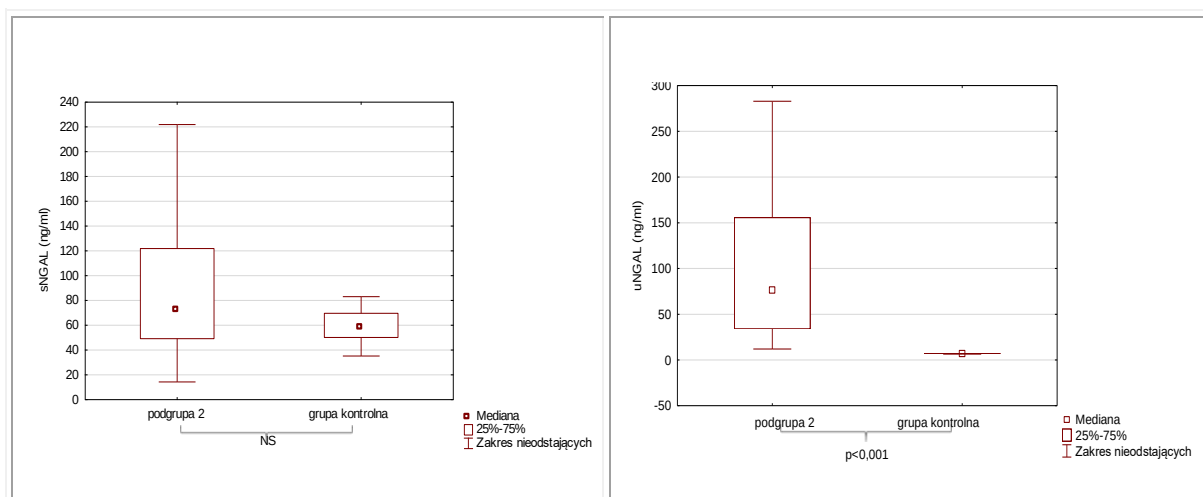
Po analizie statystycznej nie wykazano istotnego statystycznie wyniku w zakresie stężenia beta - 2 – mikroglobuliny oraz angiotensynogenu w podgrupie 1 w stosunku do grupy kontrolnej; (B2M: $4,00 \pm 2,67$ vs $3,17 \pm 2,68$, $p = 0,54$), (uAng: $4,43 \pm 6,74$ vs $0,72 \pm 0,49$, $p = 0,33$), (rycina 7).



RYCINA 7. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ uAng I B2M POMIĘDZY PODGRUPĄ 1 I GRUPĄ KONTROLNĄ

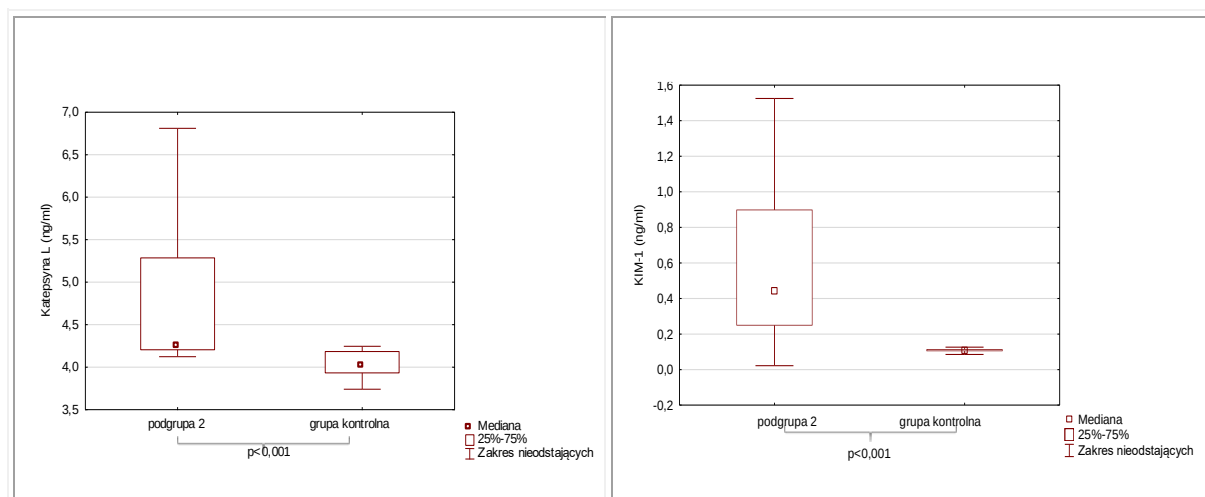
5.3.2 Podgrupa 2 a grupa kontrolna

W podgrupie 2 w porównaniu do grupy kontrolnej występuje istotnie statystycznie wyższe stężenie uNGAL, stężenie sNGAL jest natomiast statystycznie nieistotne; (sNGAL: $88,97 \pm 55,24$ vs $59,18 \pm 12,97$, $p=0,25$), (uNGAL: $113,05 \pm 100,48$ vs $6,86 \pm 0,19$, $p<0,001$). Wynik przedstawiono na rycinie 8.



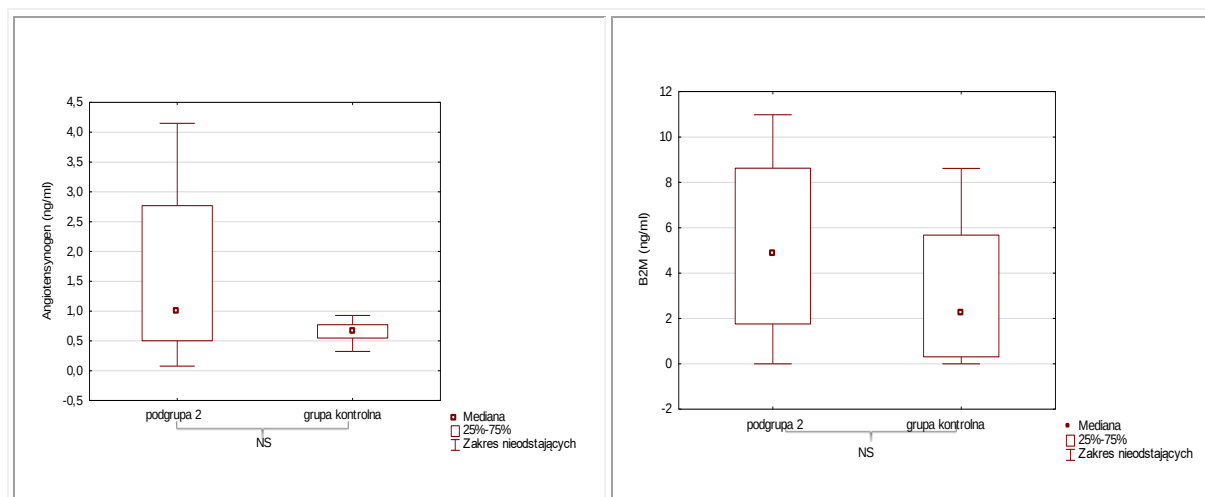
RYCINA 8. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ sNGAL I uNGAL POMIĘDZY PODGRUPĄ 2 I GRUPĄ KONTROLNĄ

Istotnie statystycznie większe stężenie uzyskano w zakresie stężenia katepsyny L i KIM-1; (CatL: $5,81 \pm 0,93$ vs $4,05 \pm 0,15$, $p<0,001$), (KIM-1: $0,73 \pm 0,93$ vs $0,12 \pm 0,06$, $p<0,001$). Wynik przedstawiono na rycinie 9.



RYCINA 9. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ CtpL I KIM-1 POMIĘDZY PODGRUPĄ 2 I GRUPĄ KONTROLNĄ

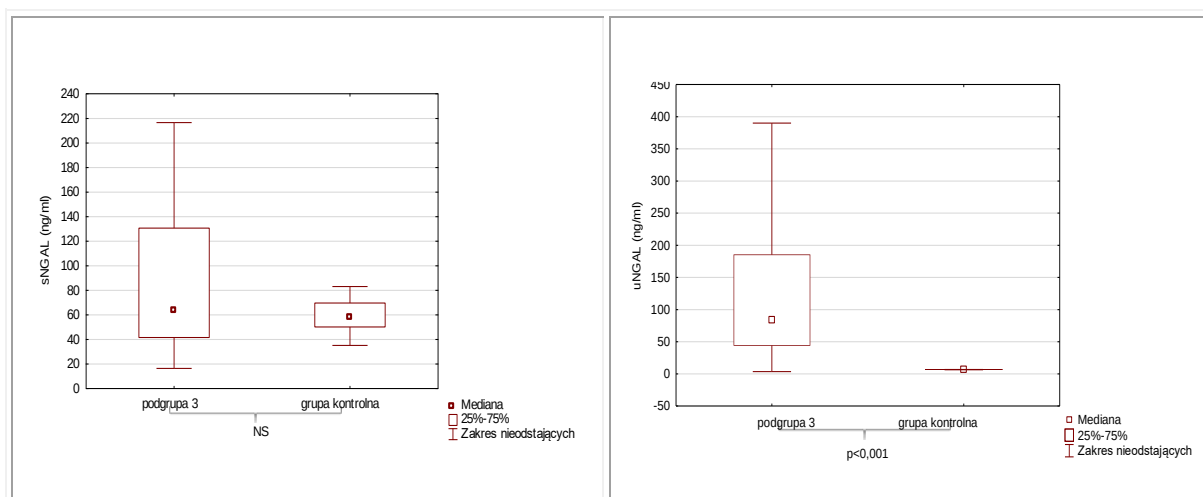
Po analizie statystycznej stężenia beta-2-mikroglobuliny oraz angiotensynogenu nie wykazano istotnej statystycznie różnicy stężeń markerów między badanymi podgrupami pacjentów ($B2M: 5,12 \pm 3,56$ vs $3,18 \pm 2,68$, $p=0,46$), ($uAng: 2,47 \pm 3,67$ vs $0,72 \pm 0,49$, $p=0,19$). Wynik przedstawiono na rycinie 10.



RYCINA 10. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ uAng i B2M POMIĘDZY PODGRUPĄ 2 I GRUPĄ KONTROLNĄ

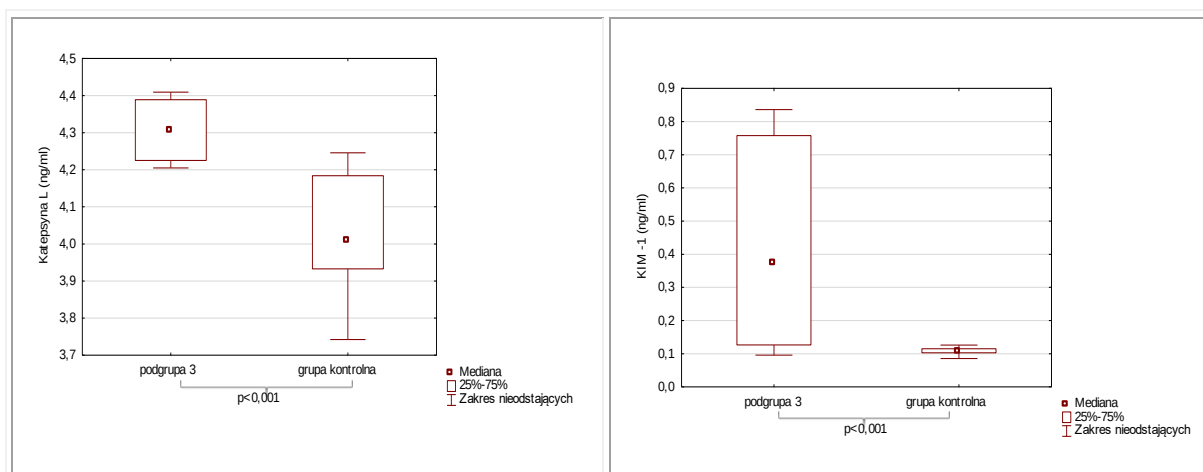
5.3.3 Podgrupa 3 a grupa kontrolnej

W podgrupie 3 w porównaniu do grupy kontrolnej występuje istotnie statystycznie większe stężenie uNGAL ($138,00 \pm 129,01$ vs $6,86 \pm 0,19$, $p < 0,001$). Nie stwierdzono istotnie statystycznej różnicy w zakresie stężenia sNGAL ($86,92 \pm 58,98$ vs $59,18 \pm 12,97$, $p=0,92$). Wynik przedstawiono na rycinie 11.



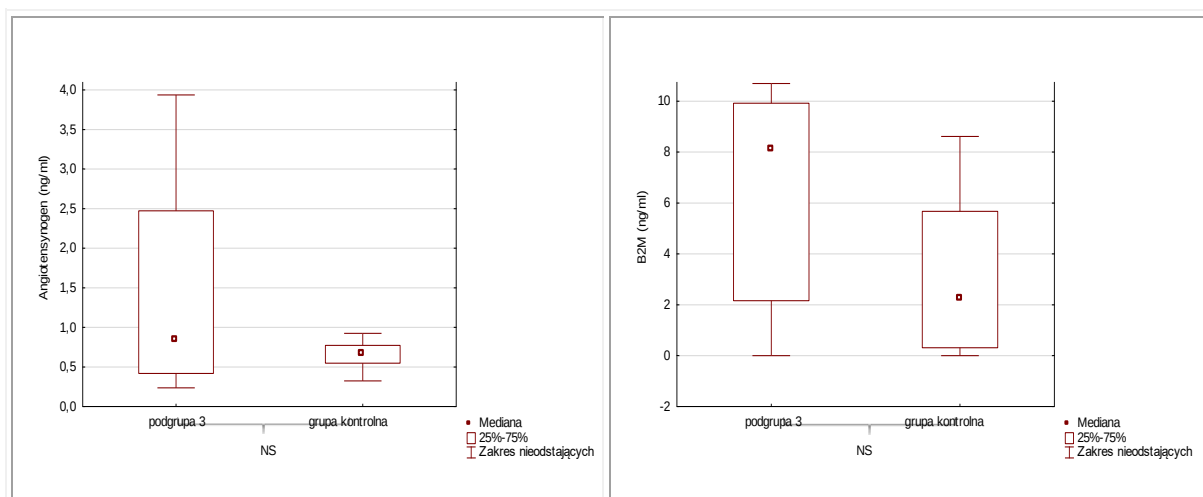
RYCINA 11. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ sNGAL I uNGAL POMIĘDZY PODGRUPĄ 3 I GRUPĄ KONTROLNĄ

Stwierdzono istotnie statystycznie większe stężenie w zakresie stężenia Katepsyny L oraz KIM-1; (CatL: $5,36 \pm 3,37$ vs $4,05 \pm 0,15$, $p < 0,001$), (KIM-1: $0,97 \pm 1,52$ vs $0,12 \pm 0,06$, $p < 0,001$). Wynik przedstawiono na rycinie 12.



RYCINA 12. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ KATEPSYNY L I KIM-1 POMIĘDZY PODGRUPĄ 3 I GRUPĄ KONTROLNĄ

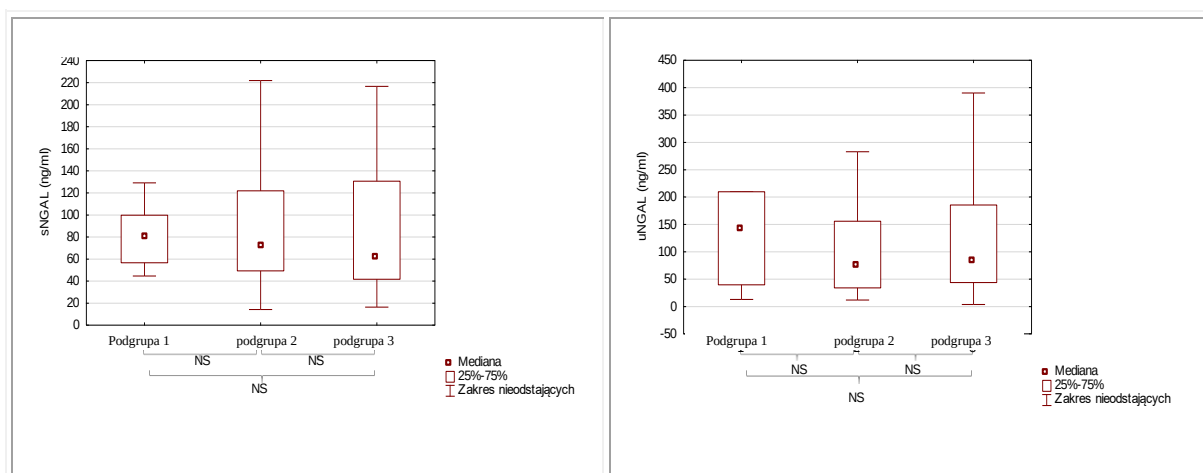
Nie stwierdzono istotnie statystycznej różnicy w zakresie stężenia angiotensynogenu oraz beta-2-mikroglobuliny w stosunku do grupy kontrolnej; (uAng: $1,39 \pm 1,34$ vs. $0,72 \pm 0,49$, $p = 0,359$), (B2M: $6,38 \pm 4,15$ vs $3,18 \pm 2,768$ $p = 0,15$); (rycina 13).



RYCINA 13. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ ANG I B2M POMIĘDZY PODGRUPĄ 3 I GRUPĄ KONTROLNĄ

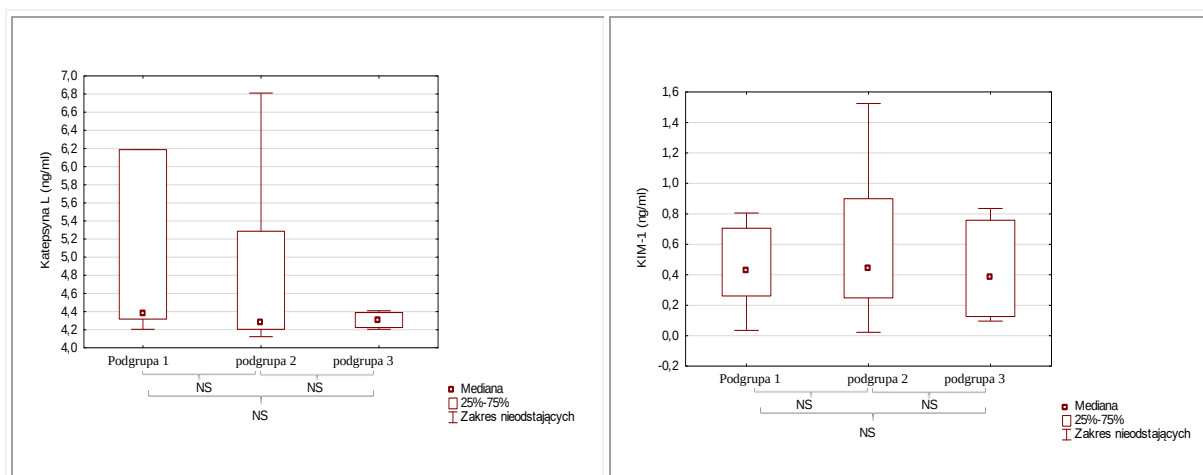
5.3.4 Analiza stężenia markerów między podgrupami 1-3

Nie stwierdzono istotnego statystycznie wyniku w zakresie stężenia sNGAL między podgrupą 1 a 2 ($p=0,619$), podgrupą 1 a 3 ($p=0,494$) oraz podgrupą 2 a 3 ($p=0,709$). Nie stwierdzono również istotnej statystycznie różnicy w zakresie stężenia uNGAL między podgrupą 1 a 2 ($p=0,438$), podgrupą 1 a 3 ($p=0,987$) oraz podgrupą 2 a 3 ($p=0,434$). Powyższe wyniki przedstawiono graficznie na rycinie 14.



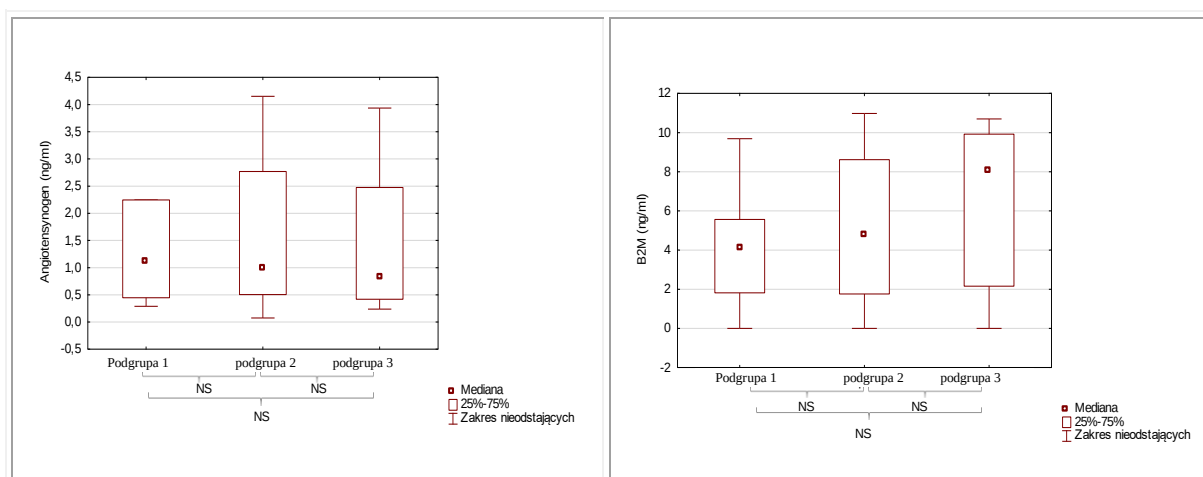
RYCINA 14. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ sNGAL I uNGAL POMIĘDZY PODGRUPAMI 1-3

Tak jak w przypadku powyżej opisywanych markerów w zakresie Katepsyny L nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między podgrupą 1 a 2 ($p=0,401$), podgrupą 1 a 3 ($p=0,246$) oraz podgrupą 2 a 3 ($p=0,983$). Nie stwierdzono również istotnej statystycznie różnicy w zakresie KIM-1 między podgrupą 1 a 2 ($p=0,983$), podgrupą 1 a 3 ($p=0,733$) oraz podgrupą 2 a 3 ($p=0,559$). Wynik przedstawiono graficznie na rycinie 15.



RYCINA 15. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE ANALIZY STĘŻEŃ KATEPSYNY L I KIM-1 POMIĘDZY PODGRUPAMI 1-3

W zakresie stężenia angiotensynogenu nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między podgrupami 1 a 2 ($p=0,978$), 1 a 3 ($p=0,565$) oraz 2 a 3 ($p=0,624$). W zakresie stężenia beta-2-mikroglobuliny nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między podgrupami 1 a 2 ($p=0,430$), 1 a 3 ($p=0,124$) oraz 2 a 3 ($p=0,438$). Wyniki przedstawiono na rycinie 16.



RYCINA 16. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE RÓŻNIC STĘŻEŃ uAng i B2M POMIĘDZY PODGRUPAMI 1-3

Analiza stężeń między poszczególnymi podgrupami jest przedstawiona w tabeli nr 6.

TABELA 6. PORÓWNANIE WYBRANYCH PARAMETRÓW W OBRĘBIE GRUPY BADANEJ ORAZ MIĘDZY GRUPĄ BADANĄ I KONTROLNĄ W ZALEŻNOŚCI OD TYPU WADY SERCA

Parametr	wada przeciekowa z desaturacją krwi n=19	wada przeciekowa bez desaturacji krwi n=41	wada bez przecieku n=20	Grupa kontrolna n=40
sNGAL (ng/ml)	NS			NS
średnia ± SD	103,92 ± 59,18	88,97 ± 55,24	86,92 ± 58,98	59,18 ± 12,97
mediana (Q1-Q3)	82,56 (56,75-117,40)	71,95 (49,26-121,96)	70,16 (42,50-133,92)	57,64 (50,19-69,67)
	NS	NS	NS	
uNGAL (ng/ml)	p<0,001			p<0,001
średnia ± SD	123,55 ± 79,29	113,05 ± 100,48	138,00 ± 129,01	6,86 ± 0,19
mediana (Q1-Q3)	143,96 (39,78-209,84)	76,52 (34,04-155,82)	86,84 (43,92-209,84)	6,86 (6,78-6,94)
	NS	NS	NS	
Katepsyna L (ng/ml)	p<0,001			p<0,001
średnia ± SD	5,49 ± 1,20	5,81 ± 0,93	5,36 ± 3,37	4,05 ± 0,15
mediana (Q1-Q3)	4,37 (4,32 – 6,19)	4,38 (4,21-6,81)	4,32 (4,23-4,41)	4,01 (3,93-4,18)
	NS	NS	NS	
KIM-1 (ng/ml)	p<0,001			p<0,001
średnia ± SD	0,66 ± 0,70	0,73 ± 0,93	0,97 ± 1,52	0,12 ± 0,06
mediana (Q1-Q3)	0,42 (0,26-0,71)	0,44 (0,25-0,9)	0,38 (0,13-0,76)	0,11 (0,10-0,12)
	NS	NS	NS	
angiotensynogen (ng/ml)	NS			NS
średnia ± SD	4,43 ± 6,74	2,47 ± 3,67	1,39 ± 1,34	0,72 ± 0,49
mediana (Q1-Q3)	1,23 (0,50-6,88)	0,99 (0,50-2,77)	0,84 (0,42-2,47)	0,66 (0,55-0,77)
	NS	NS	NS	
Beta-2-mikroglobulina (ng/ml)	NS			NS
średnia ± SD	4,00 ± 2,67	5,12 ± 3,56	6,38 ± 4,15	3,18 ± 2,68
mediana (Q1-Q3)	4,11 (1,82-5,57)	4,81 (1,76-8,62)	8,08 (2,16-9,92)	2,27 (0,31-5,68)
	NS	NS	NS	

5.4 OCENA ZALEŻNOŚCI STĘŻEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH PACJENTÓW Z SINICZĄ, PÓŻNOSINICZĄ I NIESINICZĄ WADĄ SERCA

5.4.1 Frakcja wyrzutowa lewej komory.

W podgrupie 1 nie stwierdzono istotnej zależności między czynnością skurczową lewej komory a stężeniem sNGAL ($p > 0,05$, $\rho = -0,40$), uNGAL ($p > 0,05$, $\rho = 0,27$), katepsyny L ($p > 0,05$, $\rho = -0,10$), KIM-1 ($p > 0,05$, $\rho = -0,12$), angiotensynogenu ($p > 0,05$, $\rho = 0,31$) oraz mikroglobuliny ($p > 0,05$, $\rho = -0,03$). Również nie stwierdzono istotnej zależności między

czynnością skurczową lewej komory a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,02$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,20$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,19$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=-0,01$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,21$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $r=-0,12$) w podgrupie 2. Taki sam wynik analizy uzyskano w podgrupie 3. Nie stwierdzono istotnej zależności między czynnością skurczową lewej komory a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,07$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,31$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=0,60$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,47$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,59$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,25$).

5.4.2 Frakcja skracania

Istotnej statystycznie zależności nie stwierdzono między frakcją skracania serca a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,08$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,24$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=0,65$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,33$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=0,08$) oraz mikroglobuliny ($p>0,18$, $\rho=0,11$). Również istotnej statystycznie zależności nie stwierdzono między frakcją skracania serca a stężeniem a sNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,12$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,24$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,21$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,03$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=0,01$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,14$) w podgrupie 2. W podgrupie 3 również istotnej statystycznie zależności nie stwierdzono między frakcją skracania serca a stężeniem a sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,08$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,17$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,40$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,57$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,42$). Istotną statystycznie dodatnią zależność stwierdzono w zakresie stężenia Katepsyny L w moczu a frakcją skracania serca ($p<0,05$, $\rho=0,75$).

5.4.3 Stężenie mleczanów

W poszczególnych podgrupach nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem mleczanów a stężeniem markerów. W podgrupie 1 nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem mleczanów a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,02$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,22$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,60$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=-0,24$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,38$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,33$).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem mleczanów a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,26$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,07$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,03$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,14$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,27$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,22$) w podgrupie 2.

W podgrupie 3 nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem mleczanów a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,47$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=0,20$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,41$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,08$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,49$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,25$).

5.4.4 eGFR

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między eGFR a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,00$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,10$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=-0,02$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=-0,18$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,189$) oraz mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,30$) w podgrupie 1.

W podgrupie 2 stwierdzono istotną statystycznie ujemną zależność między stężeniem sNGAL a eGFR ($p<0,05$, $\rho=-0,38$) oraz beta-2-mikroglobuliną a eGFR ($p<0,05$, $\rho=-0,43$). Dodatnią zależność istotną statystycznie stwierdzono między stężeniem Katepsyny L a eGFR ($p<0,05$, $\rho=0,47$). Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między eGFR a stężeniem uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,15$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,11$) oraz angiotensynogenem ($p>0,05$, $\rho=0,03$).

W podgrupie 3 nie stwierdzono również istotnej statystycznie zależności między eGFR a stężeniem sNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,15$), uNGAL ($p>0,05$, $\rho=-0,04$), Katepsyny L ($p>0,05$, $\rho=0,45$), KIM-1 ($p>0,05$, $\rho=0,40$), angiotensynogenu ($p>0,05$, $\rho=-0,11$) i beta - 2 - mikroglobuliny ($p>0,05$, $\rho=-0,37$).

5.5 PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH CHORYCH LECZONYCH ZACHOWAWCZO (PODGRUPA I) I OPERACYJNIE (PODGRUPA II) ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ

Grupę badaną podzielono ze względu na dotychczasowe leczenie na grupę pacjentów nie wymagających (podgrupa I) oraz wymagających zabiegu operacyjnego (podgrupa II). Do podgrupy I zakwalifikowano 36 pacjentów, natomiast do podgrupy II 44 pacjentów. Wyniki przedstawiono w tabeli 7 oraz na rycinie 18.

TABELA 7. PORÓWNANIE WYBRANYCH PARAMETRÓW W OBREBIE GRUPY BADANEJ ORAZ MIĘDZY GRUPĄ BADANĄ I KONTROLNĄ W ZALEŻNOŚCI OD TYPU LECZENIA.

Parametr	Leczenie zachowawcze, n=45;	leczenie operacyjne, n=35;	Grupa kontrolna, n=40
sNGAL (ng/ml)	NS		
średnia ± SD	91,38±56,26	87,46±55,78	59,18±12,97
mediana (Q1-Q3)	74,77 (49,84-140,73)	75,01 (46,02-114,68)	57,64 (50,19-69,67)
uNGAL (ng/ml)	p<0,001		
średnia ± SD	127,73 ± 93,68	116,01 ± 110,49	6,86 ± 0,19
mediana (Q1-Q3)	92,18 (49,16-209,84)	81,24 (34,04-180,36)	6,86 (6,78-6,94)
Katepsyna L (ng/ml)	p<0,001		
średnia ± SD	4,30 ± 0,25	6,65 ± 3,68	4,05 ± 0,15
mediana (Q1-Q3)	4,24 (4,21-4,33)	4,88 (4,32-7,39)	4,01 (3,93-4,18)
KIM-1 (ng/ml)	p<0,001		
średnia ± SD	0,83 ± 0,76	0,70 ± 1,22	0,12 ± 0,06
mediana (Q1-Q3)	0,67 (0,36-0,91)	0,37 (0,17-0,55)	0,11 (0,10-0,12)
angiotensynogen (ng/ml)	NS		
średnia ± SD	2,48 ± 3,74	2,12 ± 3,18	0,72 ± 0,49
mediana (Q1-Q3)	1,08 (0,49-2,25)	0,89 (0,36-3,06)	0,66 (0,55-0,77)
B2M (ng/ml)	0,008		
średnia ± SD	6,09 ± 3,78	4,34 ± 3,17	3,18 ± 2,68
mediana (Q1-Q3)	6,63 (1,82-9,69)	3,85 (1,85-6,34)	2,27 (0,31-5,68)

5.5.1 Podgrupa I a grupa kontrolna

U dzieci z wrodzoną wadą serca leczonych zachowawczo w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono istotnie statystyczne większe stężenie uNGAL, katepsyny L, KIM-1, beta-2-mikroglobuliny; (uNGAL: 127,73 ± 102,69 vs 6,86 ± 0,19 ng/ml, $p < 0,001$), (CatL: 4,30 ± 0,25 vs 4,05 ± 0,15, $p < 0,001$), (KIM-1: 0,83 ± 0,76 vs 0,12 ± 0,06, $p < 0,001$), (B2M: 6,09 ± 3,78 vs 3,18 ± 2,68 $p = 0,009$). Nie stwierdzono statystycznej istotności w zakresie stężenia sNGAL oraz angiotensynogenu między analizowanymi podgrupami; (sNGAL: 91,37 ± 56,26 vs 59,18 ± 12,97 ng/ml, $p = 0,07$), (uAng: 2,48 ± 3,74 vs 0,72 ± 0,49, $p = 0,06$).

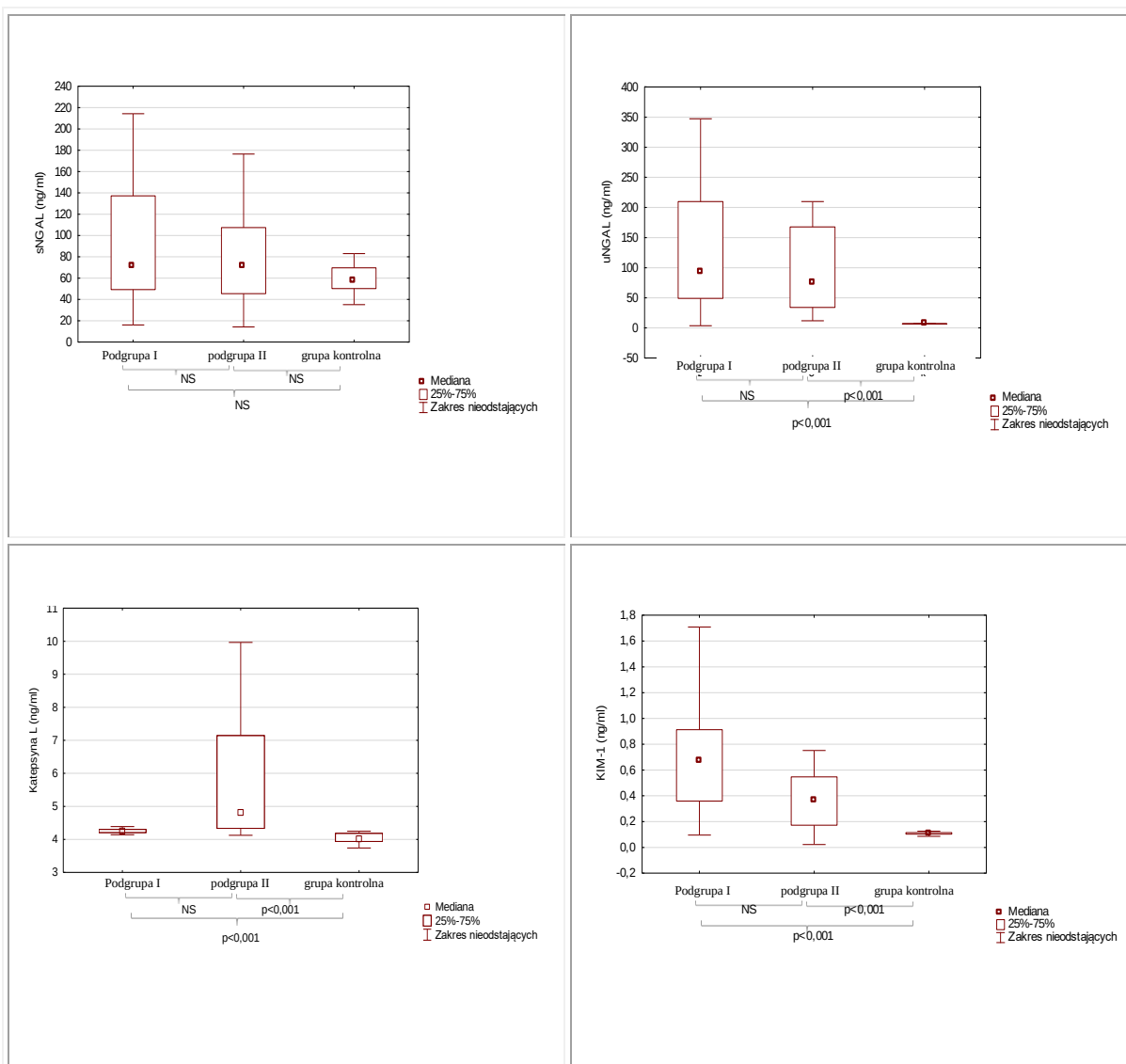
5.5.2 Podgrupa II a grupa kontrolna

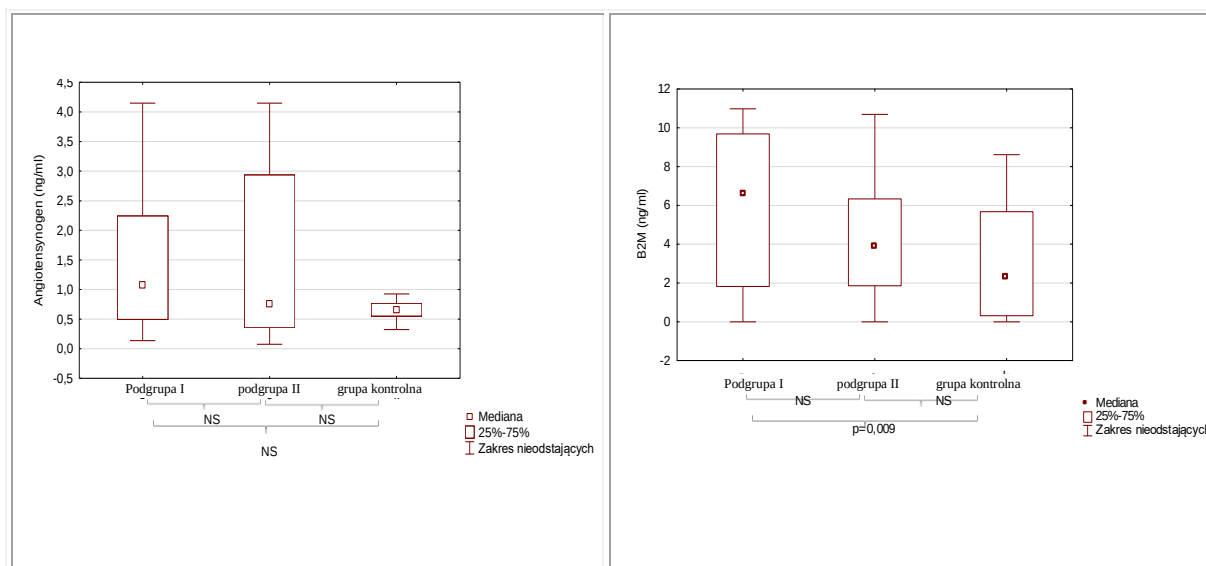
U dzieci z wrodzoną wadą serca leczonych operacyjnie w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono istotnie statystyczne wyższe stężenie uNGAL, katepsyny L oraz KIM-1; (uNGAL: 116,01 ± 110,49 vs 6,86 ± 0,19 ng/ml, $p < 0,001$), (CatL: 6,65 ± 3,68 vs 4,05 ± 0,15, $p < 0,001$), (KIM-1: 0,70 ± 1,22 vs 0,12 ± 0,06, $p < 0,001$). Nie stwierdzono istotnej

statystycznie różnicy w zakresie stężenia beta-2-mikroglobuliny, angiotensynogenu oraz sNGAL między w/w grupami; (B2M: $4,34 \pm 3,17$ vs $3,18 \pm 2,68$, $p=0,83$), (uAng: $2,12 \pm 3,18$ vs $0,72 \pm 0,49$, $p=0,28$), sNGAL ($87,46 \pm 55,78$ vs $59,18 \pm 12,97$ ng/ml, $p=0,08$).

5.5.3 Analiza stężeń markerów między podgrupą I a II

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między stężeniem sNGAL, uNGAL, katepsyny L, KIM-1, beta-2-mikroglobuliny oraz angiotensynogenu w podgrupie I i podgrupie II; (sNGAL: $91,37 \pm 56,26$ vs $87,46 \pm 55,78$, $p=0,82$), (uNGAL: $127,72 \pm 93,68$ vs $116,01 \pm 110,49$, $p=0,22$), (CatL: $4,30 \pm 0,25$ vs $6,65 \pm 3,68$, $p=0,31$), (KIM-1: $0,83 \pm 0,76$ vs $0,70 \pm 1,22$, $p=0,39$), (uAng: $2,48 \pm 3,74$ vs $2,12 \pm 3,18$, $p=0,575$), (B2M: $6,09 \pm 3,78$ vs $4,34 \pm 3,17$, $p=0,113$).





RYCINA 17. PORÓWNANIE sNGAL, uNGAL, KATEPSYNY L, KIM-1, ANG I B2M W GRUPACH I, II ORAZ GRUPIE KONTROLNEJ

5.6 OCENA ZALEŻNOŚCI STĘŻEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH PACJENTÓW LEZONYCH ZACHOWAWCZO I OPERACYJNIE A WYBRANYMI PARAMETRAMI

5.6.1 Frakcja wyrzutowa lewej komory

W podgrupie I nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między czynnością skurczową a stężeniem sNGAL ($\rho=-0,09$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=0,12$, $p>0,05$), katepsyny L ($\rho=0,00$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=-0,04$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=-0,38$, $p>0,05$) oraz beta – 2 - mikroglobuliny ($\rho=-0,07$, $p>0,05$).

W podgrupie II nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między LVEF a stężeniem sNGAL ($\rho=-0,11$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=-0,33$, $p>0,05$), katepsyny L ($\rho=0,17$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=0,04$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=-0,23$, $p>0,05$) oraz beta – 2 - mikroglobuliny ($\rho=-0,14$, $p>0,05$).

5.6.2 Frakcja skracania

W podgrupie I nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między SF a stężeniem sNGAL ($\rho=0,15$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=0,08$, $p>0,05$), katepsyny L ($\rho=-0,06$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=0,41$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=-0,01$, $p>0,05$) oraz beta – 2 - mikroglobuliny ($\rho=-0,18$, $p>0,05$).

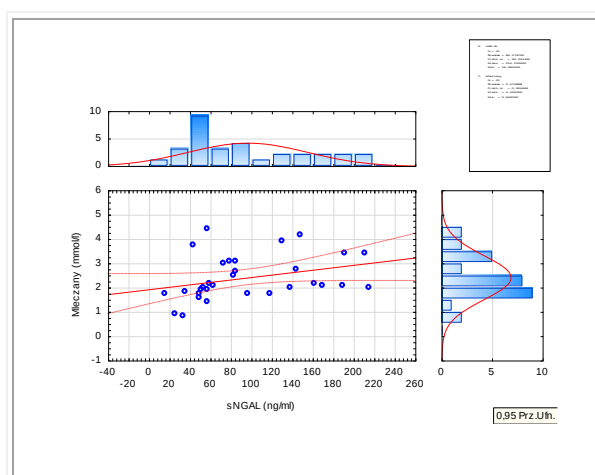
W podgrupie II Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między SF a stężeniem sNGAL ($\rho=-0,05$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=-0,22$, $p>0,05$), katepsyny L ($\rho=0,13$, $p>0,05$),

KIM-1 ($\rho=0,05$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=-0,21$, $p>0,05$) oraz beta – 2 - mikroglobuliny ($\rho=-0,06$, $p>0,05$).

5.6.3 Mleczany w surowicy

W podgrupie I stwierdzono istotną statystycznie dodatnią zależność między stężeniem mleczanów a sNGAL ($\rho=0,32$, $p<0,05$). Istotnej statystycznie zależności nie stwierdzono między stężeniem uNGAL a stężeniem mleczanów ($\rho=0,35$, $p>0,05$). Podobnej zależności nie stwierdzono w zakresie stężenia mleczanów a Katepsyny L ($\rho=-0,35$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=-0,12$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=-0,18$, $p>0,05$) i beta2 mikroglobuliny ($\rho=-0,09$, $p>0,05$).

W podgrupie II nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem mleczanów w surowicy a sNGAL ($\rho=0,057$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=-0,15$, $p>0,05$), Katepsyny L ($\rho=0,16$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=0,05$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho = -0,27$, $p>0,05$) i beta - 2 - mikroglobuliny ($\rho=-0,33$, $p>0,05$).



RYCINA 18. ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY STĘŻENIEM sNGAL A MLECZANAMI W PODGRUPIE I

5.6.4 eGFR

W podgrupie I nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między eGFR a stężeniem sNGAL ($\rho=-0,31$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=-0,02$, $p>0,05$), Katepsyny L ($\rho=0,34$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=0,21$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=0,19$, $p>0,05$) oraz beta – 2 - mikroglobuliny ($\rho=-0,15$, $p>0,05$).

W podgrupie II Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między eGFR a stężeniem sNGAL ($\rho=-0,13$, $p>0,05$), uNGAL ($\rho=-0,07$, $p>0,05$), Katepsyny L ($\rho=0,09$, $p>0,05$), KIM-1 ($\rho=0,10$, $p>0,05$), angiotensynogenu ($\rho=-0,11$, $p>0,05$). Ujemną istotnie

statystyczną zależność stwierdzono między eGFR a stężeniem beta – 2 - mikroglobuliny w moczu ($\rho = -0,51$, $p < 0,05$).

5.7 PORÓWNANIE WYNIKÓW OZNACZEŃ MARKERÓW W POSZCZEGÓLNYCH PODGRUPACH CHORYCH Z FRAKCJĄ SKRACANIA $>35\%$ (PODGRUPA A) I $<35\%$ (PODGRUPA B) ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ

Grupę badaną podzielono na podgrupy po ocenie wybranych parametrów hemodynamicznych w badaniu ECHO serca. Podgrupy wydzielono ze względu na frakcję skracania (podgrupa A SF $>35\%$, podgrupa B SF $<35\%$). Wyniki przedstawiono w tabeli 8 oraz na rycinie 19.

TABELA 8. PORÓWNANIE WYBRANYCH PARAMETRÓW W OBREBIE GRUPY BADANEJ ORAZ MIĘDZY GRUPĄ BADANĄ I KONTROLNĄ W ZALEŻNOŚCI OD FRAKCJI SKRACANIA

Parametr	Frakcja skracania >35%, n=56;	Frakcja skracania <35%, n=14;	Grupa kontrolna, n=40;
sNGAL (ng/ml)	NS		
średnia ± SD	86,94 ± 49,66	99,85 ± 68,11	59,18 ± 12,97
mediana (Q1-Q3)	74,98 (49,84-104,45)	95,54 (44,98-190,40)	57,63 (50,19-69,67)
uNGAL (ng/ml)	p<0,01		
średnia ± SD	117,01 ± 94,10	115,15 ± 117,90	6,86 ± 0,19
mediana (Q1-Q3)	132,51 (39,22-209,84)	72,98 (43,50 – 165,80)	6,86 (6,51-7,35)
Katepsyna L (ng/ml)	p<0,01		
średnia ± SD	6,16 ± 3,54	5,20 ± 2,04	4,04 ± 0,15
mediana (Q1-Q3)	4,51 (4,24-7,14)	4,23 (4,21-5,29)	4,01 (3,93-4,18)
KIM-1 (ng/ml)	p<0,01		
średnia ± SD	0,88 ± 1,16	0,32 ± 0,21	0,12 ± 0,06
mediana (Q1-Q3)	0,44 (0,30-0,87)	0,23 (0,17-0,41)	0,11 (0,10-0,12)
uAng (ng/ml)	NS		
średnia ± SD	2,13 ± 3,29	2,84 ± 4,09	0,72 ± 0,49
mediana (Q1-Q3)	0,92 (0,42-2,84)	1,12 (0,97-3,94)	0,66 (0,55-0,77)
B2M (ng/ml)	NS		
średnia ± SD	4,54 ± 3,40	6,47 ± 4,29	3,18 ± 2,68
mediana (Q1-Q3)	4,11 (1,72-7,82)	7,54 (3,20-9,87)	2,27 (0,31-5,68)

5.7.1 Podgrupa A a grupa kontrolna

Stwierdzono istotnie statystycznie większe stężenie markerów wczesnego uszkodzenia nerek w podgrupie A w stosunku do grupy kontrolnej w zakresie uNGAL, katepsyny L oraz KIM-1; (uNGAL: 117,01 ± 94,10 vs 6,86 ± 0,19, p<0,01), (CatL: 6,16 ± 3,54 vs 4,04 ± 0,15 p<0,01), (KIM-1: 0,88 ± 1,16 vs 0,12 ± 0,06 p<0,01). Natomiast różnica stężeń angiotensynogenu, beta-2-mikroglobuliny oraz sNGAL w tych podgrupach nie była statystycznie istotna; (uAng: 2,13 ± 3,29 vs 0,72 ± 0,49, p=0,26), (B2M: 4,54 ± 3,40 vs 3,18 ± 2,68, p=0,19), (sNGAL: 86,94 ± 49,66 vs 59,18 ± 12,97, p=0,05).

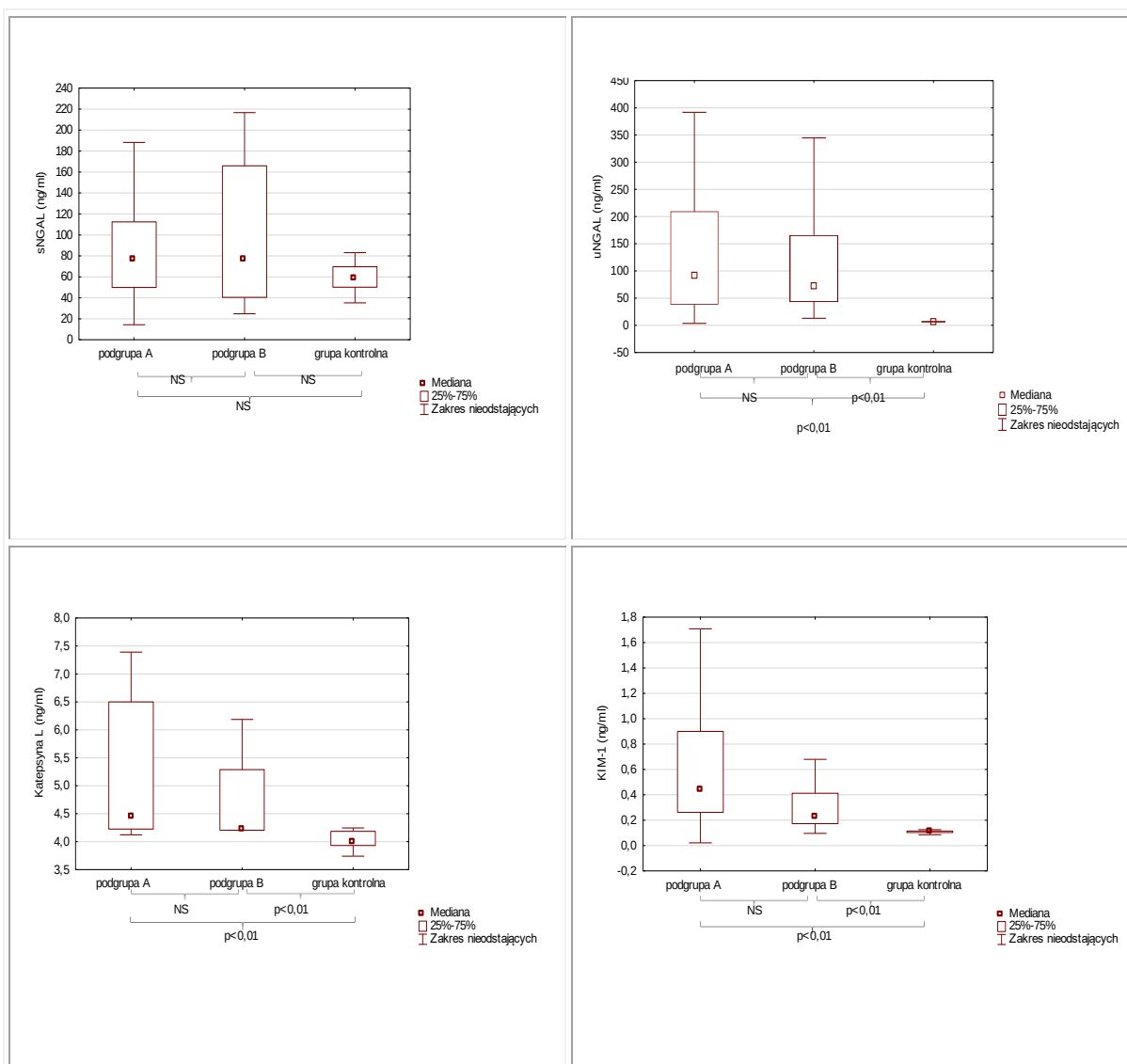
5.7.2 Podgrupa B a grupa kontrolna

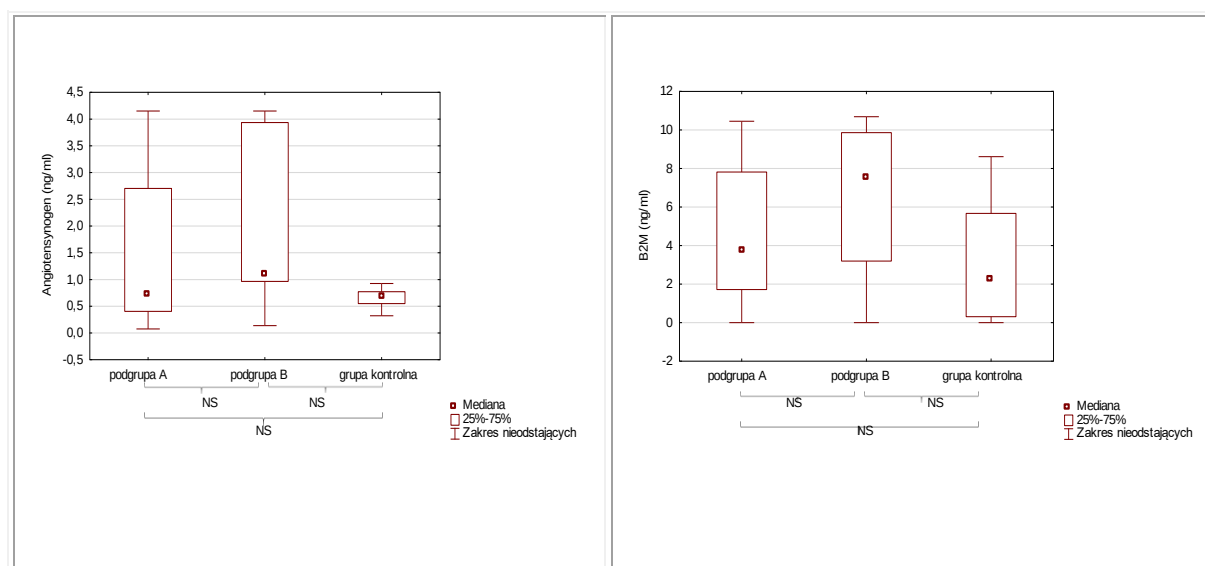
Stwierdzono istotnie statystycznie większe stężenie markerów wczesnego uszkodzenia nerek w podgrupie B w stosunku do grupy kontrolnej w zakresie uNGAL, katepsyny L oraz KIM-1; (uNGAL: 115,15 ± 117,90 vs 6,86 ± 0,19, p<0,01), (CatL: 5,20 ± 2,04 vs 6,86 ± 0,19,

$p < 0,01$), (KIM-1: $0,32 \pm 0,21$ vs $0,12 \pm 0,06$, $p < 0,01$). Natomiast różnica stężeń sNGAL, beta-2-mikroglobuliny oraz angiotensynogenu w tych podgrupach nie była statystycznie istotna; (sNGAL: $99,85 \pm 68,11$ vs $59,18 \pm 12,97$, $p = 0,28$); (B2M: $6,47 \pm 4,29$ vs $3,18 \pm 2,68$, $p = 0,12$), (uAng: $2,84 \pm 4,09$ vs $0,72 \pm 0,49$, $p = 0,26$).

5.7.3 Podgrupa A a podgrupa B

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między stężeniem markerów wczesnego uszkodzenia nerek między podgrupami A i B w zakresie badanych markerów; (sNGAL: $86,94 \pm 49,66$ vs $99,85 \pm 68,11$, $p = 0,28$), (uNGAL: $117,01 \pm 94,10$ vs $115,15 \pm 117,90$, $p = 0,77$), (CatL: $6,16 \pm 3,54$ vs $5,20 \pm 2,04$, $p = 0,41$), (KIM-1: $0,88 \pm 1,16$ vs $0,32 \pm 0,21$, $p = 0,05$), (uAng: $2,13 \pm 3,29$ vs $2,84 \pm 4,09$, $p = 0,22$), (B2M: $4,54 \pm 3,40$ vs $6,47 \pm 4,29$, $p = 0,22$).





RYCINA 19. ANALIZA STĘŻEŃ SNGAL, UNGAL, KATEPSYNY L, KIM-1, ANG I B2M W GRUPACH A, B ORAZ GRUPIE KONTROLNEJ

6 DYSKUSJA

Wrodzona wada serca jest to powstała w życiu płodowym strukturalna nieprawidłowość budowy i/lub zmiana położenia serca oraz dużych naczyń w obrębie klatki piersiowej. Jest to najczęstsza wada wrodzona i druga co do częstości przyczyna zgonu niemowląt w Polsce. Rozwój wady serca u płodu ma charakter wieloczynnikowy. Wpływ na nieprawidłową embriogenezę w tym zakresie mają: podłoże genetyczne oraz czynniki teratogenne, w tym środowiskowe, infekcyjne i toksykologiczne. Jednak w większości przypadków (70-90%) przyczyna pozostaje nieznana. Wada serca może być prosta lub złożona. Jednym z częstszych podziałów jest obecność lub brak ośrodkowej sinicy, przewodozależność oraz charakter przepływu płucnego – prawidłowy, zwiększony lub zmniejszony. Podziały te mają charakter uproszczony, nie oddają w pełni szczegółów morfologicznych, hemodynamicznych i naturalnego przebiegu wady. W części przypadków przy braku leczenia wady pierwotnie niesinicznej dochodzi do rozwinięcia sinicy ośrodkowej tj. np. VSD. Część nieprawidłowości jest rozpoznawana w okresie prenatalnym, co pozwala na szybkie wdrożenie odpowiedniego leczenia [97]. W krajach rozwiniętych u 50% pacjentów wada serca jest rozpoznawana do ukończenia pierwszego tygodnia życia noworodka. Rozwój echokardiografii płodowej pozwala na wczesne, między 16-22 tygodniem ciąży, rozpoznanie wady serca płodu. Czułość badań prenatalnych w dużej mierze zależy od wiedzy i doświadczenia badającego, wieku ciążowego, położenia płodu i rodzaju wady. Obecnie podejmuje się również próby wewnątrzmacicznej korekty wady [98]. Po urodzeniu, szczególne znaczenie ma rozpoznanie wady przewodozależnej, która wymaga włączenia PGE1 (Prostin), w celu utrzymania drożności przewodu Bottala. W niniejszym badaniu wybrano podział wad ze względu na utlenowanie krwi.

Podstawową metodą diagnostyczną wrodzonej wady serca jest echokardiografia. Jak wspomniano powyżej rozpoznanie może być postawione w okresie prenatalnym. Pozwala to na zaplanowanie porodu w ośrodku przygotowanym na opiekę specjalistyczną nad dzieckiem z wadą serca. W przypadku wad wrodzonych w badaniu EKG nie obserwuje się często charakterystycznych odchyleń. W zależności od typu wady może wystąpić przerost komór serca, odchylenie od osi czy zaburzenia w zakresie załamków czy poszczególnych odstępów. Na zdjęciu RTG klatki piersiowej w przypadku poszczególnych wad obserwuje się charakterystyczny obraz sylwetki serca. Typowy dla TAPVC jest obraz przypominający „bałwanka śnieżnego”. Mogą być również widoczne cechy zastoju żylnego w płucach.

W okresie noworodkowym (po 24h) wykonuje się próbę pulsoksymetryczną oceniającą saturację krwi na prawej ręce i prawej stopie. Różnica $>3\%$ świadczy o możliwym wystąpieniu wady serca. Często rozstrzygającym badaniem kwalifikującym do danej metody leczenia jest diagnostyczne cewnikowanie serca [97, 99].

W warunkach fizjologicznych przez krwioobieg systemowy (tzw. duży) oraz płucny (tzw. mały) w ciągu minuty przepływa taka sama objętość krwi. Obieg mały jest odpowiedzialny za utlenowanie krwi napływającej do prawego przedsionka z żył systemowych. Natomiast obieg duży odpowiada za dystrybucję utlenowanej krwi do naczyń systemowych. Nie dochodzi do mieszania się krwi między krwioobiegami. W przypadku wad przeciekowych z desaturacją krwi dochodzi do nieprawidłowego połączenia między jamami serca lub naczyniami i zaburzonego przepływu krwi, co powoduje obecność odtlenowanej hemoglobiny w krążeniu systemowym. Do najczęstszych tego typu wad wrodzonych należą: TGA (8% wad), HLHS (2,7%), TAC (2,4% wad), IAA (przerwanie ciągłości łuku aorty – 1,5% wad), SV (serce jednokomorowe), TAVPC (0,6% wad), anomalia Ebsteina (0,03%), ToF (10%), PA, TA [97]. Objawy kliniczne sinicy występują w przypadku wzrostu stężenia hemoglobiny odtlenowanej przekraczający 5g/100ml krwi (50g/l). Obserwujemy u pacjenta sine zabarwienie powłok ciała i błon śluzowych. Wyróżniamy sinicę obwodową, w której objawy zlokalizowane są w głównie obrębie kończyn. W przypadku sinicy centralnej dochodzi do zmian w obrębie warg oraz śluzówek jamy ustnej (Szczeklik A, 2006). Mimo wspólnej klasyfikacji poszczególne wady serca mają różne nasilenie objawów klinicznych, rokowanie oraz leczenie. Jak wspomniano powyżej często kluczowym elementem determinującym przeżycie noworodka w przypadku przewodozależnych wad przeciekowych z desaturacją krwi jest utrzymanie drożności przewodu tętniczego. Stąd u pacjentów z podejrzeniem tego typu wady przeciwwskazana jest tlenoterapia. W celu poprawy stanu ogólnego pacjenta wykonuje się zabieg Rashkinda, czyli artriaseptostomię balonową uniezależniającą wadę od drożności przewodu tętniczego [100]. Ma to szczególne znaczenie w przypadku TGA bez VSD oraz HLHS.

Objawami wady serca może być sinica centralna lub obwodowa, ale także kliniczne objawy niewydolności serca tj. brak przyrostu masy ciała, zwiększona męczliwość, potliwość, powiększenie wątroby, duszność, skąpomocz lub bezmocz z powodu obniżonej perfuzji nerkowej.

Ze względu na morfologicznie zróżnicowanie wad powodujących sinicę leczenie jest często dobierane indywidualnie, zależnie od stanu klinicznego oraz warunków anatomicznych

pacjenta. W części przypadków jak np. zabieg Jatene'a (arterial switch) korygujący TGA czy leczenie kardiochirurgiczne TAC pozwala na przywrócenie anatomicznej budowy serca czy naczyń [101, 102]. Natomiast w przypadku HLHS czy atrezji zastawki trójdzielnej, leczenie ma charakter paliatywny, kilkietapowy. Mimo postępu w kardiochirurgii dziecięcej są to wady obciążone dużym ryzykiem zgonu na poszczególnych etapach leczenia [103]. Leczenie kardiochirurgiczne wad serca jest związane z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego. Przyjmuje się, że po zabiegu u 9,6 – 64,6% pacjentów wystąpi ostre uszkodzenie nerek [104]. Sinicza wada serca jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia AKI [105].

Rokowanie pacjenta po pełnej korekcie wady z przywróceniem anatomicznej budowy serca jest dość dobre. U części pacjentów obserwuje się zwężenie w miejscu nowych połączeń naczyń oraz zaburzenia rytmu i przewodzenia. W przypadku zabiegów o charakterze paliatywnym obserwuje się skrócenie przeżycia pacjentów. Brak korekty wady może zakończyć się zgonem. W przypadku całkowitego nieprawidłowego spływu żylnego w przypadku braku korekty wady do 3 miesiąca życia obserwuje się 50% śmiertelność. Część wad, jak np. anomalia Ebsteina charakteryzuje się różnym nasileniem w zależności od stopnia uszkodzenia. Może prowadzić do ciężkiej niewydolności serca, ale również może przyjąć postać poronną, bezobjawową. W tym przypadku leczenie jest indywidualnie rozpatrywane [106]. Najczęstszą z przeciekowych wad wrodzonych z desaturacją krwi jest tetralogia Fallota (10% wszystkich wad serca). Cechuje się dekstropozycją aorty, zwężenie tętnicy płucnej, ubytek przegrody międzykomorowej oraz przerost prawej komory. Głównym objawem jest sinica ośrodkowa. Nieleczona prowadzi do zgonu 90% pacjentów przed ukończeniem 25 rż. W miarę możliwości odtwarza się anatomiczną budowę serca. [97]

Wady przeciekowe bez desaturacji krwi stanowią grupę wad, w których początkowo występuje przeciek lewo-prawy nie wpływający na stężenie utlenowanej hemoglobiny w krążeniu systemowym. Na skutek obciążenia mięśnia prawej komory serca dochodzi do jego przerostu oraz do podwyższonego ciśnienia w łożysku naczyń płucnych. Powoduje to wtórnie zmianę gradientu ciśnień i odwrócenie przecieku na prawo-lewy oraz wystąpienie sinicy. Do tych wad zaliczamy wady przeciekowe tj. ASD, VSD oraz AVSD. Przy postawionym wcześniej rozpoznaniu pacjenci pozostają pod stałą opieką kardiologa, wada jest operowana przed wystąpieniem zaburzeń pod postacią sinicy.[97]

Ubytki międzyprzedsionkowe stanowią 10% ogółu wrodzonych wad serca. Wyróżniamy 4 podtypy zależnie od lokalizacji w obrębie przegrody międzyprzedsionkowej. Wielkość przecieku zależy od rozmiaru ubytku, oporu płucnego, ciśnień w przedsionkach oraz podatności komór serca. Objawy zależne są od stosunku przepływu płucnego do systemowego. Jeżeli wynosi >2 może rozwinąć się objawowa niewydolność serca. ASD o wielkości poniżej 3 mm oraz 80% ubytków wielkości 3-8 mm zamykają się spontanicznie do 2 roku życia. Pozostałe są leczone metodą przezskórną lub klasycznym zabiegiem kardiochirurgicznym [97].

VSD jest najczęstszą wrodzoną wadą serca, stanowi 40% wszystkich wad. Wyróżniamy kilka podtypów zależnie od umiejscowienia otworu. Objawy kliniczne zależne są również jak w przypadku ASD o stosunku przepływu płucnego do systemowego (Q_p/Q_s). Większość małych okołobłoniastych i mięśniowych VSD ulega samoistnemu zamknięciu do 2 roku życia. W pozostałych przypadkach dobór leczenia (zamknięcie metodą Amplatza lub wykonanie zabiegu kardiochirurgicznego) jest zależny od umiejscowienia VSD. Czas wprowadzenia leczenia zależy od występujących u pacjenta objawów oraz wyników badań. W przypadku wykonywania cewnikowania serca u pacjenta może wystąpić nefropatia pokontrastowa [107]. Podwyższone stężenie sNGAL i uNGAL u dzieci z wrodzoną wadą serca po 2h od wykonania procedury było czynnikiem rokowniczym wystąpienia CIN [61].

AVSD stanowi 5% wad serca. Jest to najczęstsza wada serca współistniejąca z zespołem Down'a. Wiąże się z występowaniem wspólnej zastawki przedsionkowo-komorowej. Objawy i przebieg choroby jest zależny od typu AVSD oraz dominacji lewej lub prawej komory serca. Leczenie jest konieczne do 1 roku życia ze względu na ryzyko utrwalonego nadciśnienia płucnego. Wybór leczenia jest zależny od morfologii wady. Może być to jednoetapowa rekonstrukcja układu anatomicznego lub zabieg wieloetapowy zakończony zmodyfikowaną metodą Fontana [97]. Najczęstszymi powikłaniami są przecieki resztkowe, odwarstwienie łąty, zaburzeniami rytmu i przewodzenia, z blokiem całkowitym włącznie. Część pacjentów wymaga reoperacji [108].

Wady serca bez przecieku stanowią grupę wad powodujących zaburzenia hemodynamiczne, ale bez zjawiska mieszania się krwi między krwioobiegiem płucnym a systemowym. Najczęstszą wadą w tej grupie jest koarktacja aorty. Objawy zwężenia cieśni aorty są zależne od jej miejsca i stopnia. Charakterystyczną cechą jest szmer późnoskurczowy w okolicy międzyłopatkowej oraz różnica w ocenie tętna i ciśnienia na kończynach górnych i dolnych.

Leczenie jest oparte na plastyce cieśni z wykorzystaniem homograftu, łąty z goreteksu lub usunięciu zwężenia i połączeniu aorty metodą „koniec do końca”. W przypadku tej wady istnieje ryzyko nawrotu choroby [97]. U pacjentów dochodzi do niedokrwienia nerek wynikającego z upośledzonego przepływu krwi poniżej miejsca zwężenia. Mimo leczenia może rozwinąć się nadciśnienie tętnicze [109].

Ze względu na postęp w dziedzinach kardiologii inwazyjnej oraz kardiochirurgii zwiększa się rokowanie dotyczące przeżycia pacjentów z wadą serca. Obserwuje się obecnie coraz większą populację dorosłych pacjentów z wadą serca. Jak dotąd nie stwierdzono, czy remodelling komórek mięśnia sercowego występuje wyłącznie w przypadku wad sinicznych, czy też również w tych, które w swoim początkowym stadium przebiegają bez sinicy. Oddziaływanie lokalnego uszkodzenia kardiomiocytów i ich przebudowy na odległe narządy tj. nerki czy ośrodkowy układ nerwowy pozostaje tematem wielu badań naukowych [110].

Obecnie w medycynie, niezależnie od specjalności, kładzie się duży nacisk na profilaktykę oraz wczesne wykrywanie chorób. Wczesne włączenie leczenia najczęściej ma znaczenie nie tylko w aspekcie wyników terapii, ale również w zapobieganiu wystąpienia powikłań, niejednokrotnie zagrażających życiu czy też pogarszających komfort i skracających przeżycie pacjenta. W przypadku chorób nerek ma to szczególne znaczenie, gdyż niejednokrotnie rozpoznanie niewydolności nerek jest stawiane na etapie V przewlekłej choroby nerek. Pacjentowi z tak późnym rozpoznaniem często nie jesteśmy w stanie zaproponować innego leczenia niż dializoterapia i przygotowanie do transplantacji narządu. W tej grupie pacjentów obserwowane są, poza toksemią mocznicową, kwasicą metaboliczną czy anemią wynikającą z niedoboru erytropoetyny, nieprawidłowości wynikające z zaburzonej gospodarki wapniowo-fosforanowej. W przypadku pacjentów pediatrycznych na etapie wzrastania powoduje to często nieodwracalne zaburzenia metabolizmu kostnego powodując niskorosłość i krzywicę. Wspomniane wcześniej opóźnione rozpoznanie choroby, jest spowodowane brakiem objawów PChN lub ze względu na to, że łagodne lub niecharakterystyczne objawy ze strony pacjenta są często bagatelizowane lub interpretowane niewłaściwie. Stąd też szczególne znaczenie ma wytypowanie grup ryzyka wystąpienia przewlekłej choroby nerek i wczesne jego rozpoznanie. Pacjenci pozostający w takiej grupie wymagają okresowej kontroli nefrologicznej, co przyspiesza rozpoznanie tej jednostki chorobowej. Dzięki wczesnemu rozpoznaniu choroby możliwe jest włączenie leczenia polegającego przede wszystkim na usunięciu przyczyn, zatrzymaniu postępu choroby,

cofnięciu jej objawów i zapobieganiu wystąpieniu powikłań. Pozwala to często na odroczenie konieczności wprowadzenia pacjenta w program dializ i przesunięcie w czasie transplantacji nerki. W przypadku przewlekłej choroby nerek w ogólnej praktyce lekarskiej bazuje się przede wszystkim na ocenie stężenia kreatyniny w surowicy i wyliczanej na tej podstawie filtracji kłębuszkowej. W przypadku pacjentów pediatrycznych od 1976r. bazujemy na wzorze Schwartza z jego późniejszą modyfikacją w 2009r.. Stężenie kreatyniny jednakże jest zależne od czynników pozanerkowych tj. m.in. masa mięśniowa, dieta, przyjmowane leki itd. Ponadto jej wzrost jest opóźniony w stosunku do momentu uszkodzenia nerek. Stąd też przez ostatnie dekady poszukuje się wczesnych markerów uszkodzenia nerek, które powinny wcześniej definiować stan funkcji filtracyjnej nerek. Idealny biomarker powinien być czuły i swoisty, niezależny od innych czynników, łatwy w oznaczeniu i interpretacji oraz dostępny cenowo. W ostatnich latach duże nadzieje pokłada się w oznaczeniu stężenia takich substancji jak NGAL, KIM-1, katepsyna L, angiotensynogen oraz beta-2-mikroglobulina. Dotychczas prowadzone badania nie dały jednoznacznej odpowiedzi, który z markerów, ocenianych osobno czy też razem, jest najlepszy w ocenie ryzyka rozwoju choroby nerek czy oceny leczenia.

W 2008r. grupa robocza Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) zorganizowała konferencję konsensusu dotyczącą zespołów sercowo-nerkowych (CRS). Dane z badań obserwacyjnych i klinicznych wykazały, że ostra i/lub przewlekła choroba serca może przyczyniać się i/lub przyspieszać pogorszenie czynności nerek i odwrotnie. Różne podtypy CRS charakteryzują się patofizjologicznymi interakcjami serce-nerki, które mimo podobieństw mają również cechy różniące jeżeli chodzi o predyspozycje, czynniki ryzyka, historię naturalną, leczenie i wyniki [111]. Patofizjologia zespołów sercowo-nerkowych nie jest w pełni poznana. Pojawia się coraz więcej doniesień dotyczących oceny biomarkerów wczesnego uszkodzenia nerek w tych zespołach. W literaturze medycznej dostępne są też doniesienia potwierdzające wartość podwyższonego stężenia biomarkerów jako czynników rokowniczych przeżycia pacjentów [112]. Ponadto badanie biomarkerów wczesnego uszkodzenia nerek pozwala na określenie grup pacjentów, u których możliwe jest wystąpienie uszkodzenia nerek wskutek leczenia lekami potencjalnie nefrotoksycznymi czy też na skutek używania kontrastu do badań obrazowych. Coraz większa liczba autorów podkreśla konieczność zdefiniowania nowych markerów, które określą uszkodzenie nerek szybciej niż standardowo stosowane obecnie stężenie kreatyniny w surowicy [113]. Wystąpienie uszkodzenia nerek prowadzi do często do rozwoju przewlekłej a nawet schyłkowej niewydolności nerek. Prawdopodobieństwo

zwiększa się w przypadku powtarzających się epizodów AKI, co wiąże się z kumulacyjnym uszkodzeniem cewek nerkowych i utratą funkcji nefronu w przebiegu m.in. włóknienia [114 - 117]. W przypadku dzieci po zabiegach kardiochirurgicznych stwierdzono występowanie nadciśnienia lub przewlekłej choroby nerek po 5 latach od zabiegu. Co ciekawe, nie było to zależne od tego czy w okresie okołoperacyjnym występowały objawy ostrego uszkodzenia nerek czy też nie. W tej grupie pacjentów markery wczesnego uszkodzenia nerek nie były wtedy jednak oceniane [118]. Mechanizm uszkodzenia nerek w przebiegu chorób serca nie jest dokładnie poznany. Oprócz czynników hemodynamicznych mogących wpływać na stopień ukrwienia nerek podkreśla się również rolę nadmiernej aktywacji układu RAA u pacjentów z chorobami serca [119-121]. Jego pobudzenie powoduje wazokonstrykcję naczyń, co może doprowadzić do niedokrwienia cewek nerkowych i w konsekwencji do ich martwicy. Dodatkowym czynnikiem może być przewlekły stan zapalny powodujący toksyczne uszkodzenie komórek epitelialnych cewek nerkowych [120]. Ponadto hipoperfuzja, uszkodzenie naczyń, wazokonstryktory tj. epinefryna i endotelina, aktywacja układu współczulnego, tlenek azotu czy wolne rodniki mogą brać udział w wieloczynnikowym procesie powodującym uszkodzenie nerek [119-124].

W niniejszej pracy podjęto próbę oceny stężenia biomarkerów obecnych w moczu i/lub we krwi mogących świadczyć o wczesnym uszkodzeniu nerek u dzieci z wadą serca, czyli pacjentów zagrożonych wystąpieniem zespołu sercowo-nerkowego typu II. Grupę badaną stanowili pacjenci mający prawidłową funkcję nerek stwierdzaną na podstawie eGFR (wyliczonego wg wzoru Schwartza). W związku z tym, nie spełniali kryteriów ostrej i przewlekłej choroby nerek. Ponadto nie występowały inne czynniki, które mogłyby powodować uszkodzenie nerek tj. infekcje, wady wrodzone układu moczowego, wady chromosomalne, choroby układu endokrynnego. Ograniczeniem badania jest mała liczebność grupy badanej oraz jej niejednorodność w zakresie typu wady. Ponadto brak standaryzacji czasu między pobraniem materiału od badań do wykonania zabiegu kardiochirurgicznego.

Przeprowadzone badania wykazały istotnie wyższe stężenie wszystkich badanych markerów wczesnego uszkodzenia nerek. Potwierdzono tym samym, cechy wczesnego uszkodzenia nerek u pacjentów z wrodzoną wadą serca.

Podobne obserwacje i wyniki są dostępne w literaturze. W początkowej fazie badań nad wczesnymi markerami uszkodzenia nerek najbardziej obiecującym wydawał się NGAL, oceniany zarówno w moczu jak i w surowicy. W okresie kilkunastu lat powstało wiele

publikacji odnoszących się to tego markera, potwierdzających jak i zaprzeczających jego przydatności w procesie rozpoznawania uszkodzenia nerek. W przypadku naszej grupy badanej średnie stężenie sNGAL przewyższało znacząco stężenie sNGAL stwierdzone w grupie kontrolnej. Dalsza analiza wyników pacjentów z różnymi typami wad serca przyniosła ciekawe wnioski. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy po podziale na grupy ze względu na typ wady serca. W grupie badanej przeanalizowano korelację stężenia sNGAL w stosunku do stężenia mleczanów i stwierdzono dodatnią zależność między tymi parametrami. To, w naszej opinii może stanowić ciąg zdarzeń patogenetycznych, bowiem mleczany odzwierciedlają stopień hipoksemii, co u pacjentów z wadą serca może określać zbyt niski rzut serca w stosunku do zapotrzebowania [125]. Wynik ten jest zgodny z badaniami Sarafidis jak i Pejovic dotyczącymi niedotlenionych niemowląt, u których stwierdzono znacznie podwyższone stężenie sNGAL, niezależnie czy spełniały kryteria AKI czy też nie [126,127]. Zależność sNGAL od innych chorób przebiegających z hipokseміą potwierdzają też badania DiNardo dotyczące pacjentów z sepsą, u których marker ten był nieprawidłowy niezależnie od objawów AKI [128]. Wyniki przedstawione w tej pracy są zgodne z doniesieniami, które kwestionują rolę sNGAL jako samodzielnego markera wczesnego uszkodzenia nerek, plasując go w miejscu białek ostrej fazy. Jednakże część badaczy uzyskała odmienne rezultaty, wskazując w grupie krytycznie chorych niemowląt sNGAL jako czynnik rokowniczy wystąpienia uszkodzenia nerek niezależnie od wystąpienia stanu septycznego [129].

W niniejszym badaniu wykazano wyższe stężenie uNGAL w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej. Według literatury uNGAL w przeciwieństwie do sNGAL nie jest zależny od współwystępowania stanu septycznego. Stanowi czynnik prognostyczny wystąpienia uszkodzenia nerek [128]. Na podstawie doniesień stężenie uNGAL było wyższe u pacjentów z posocznicą, ale jego wartość prognostyczna progresji uszkodzenia nerek była lepsza w przypadku AKI u pacjentów bez objawów septycznych [130]. uNGAL jest również czynnikiem rokowniczym wystąpienia nefropatii pokontrastowej, a jego podwyższone stężenie przed wykonaniem procedury zwiększa śmiertelność [131]. Wyniki obecnych badań wskazują, że szczególną ostrożność należałoby zachować u pacjentów z wadą serca w zakresie oceny funkcji nerek, szczególnie u tych u których planowany jest zabieg operacyjny stanowiący dodatkowe ryzyko niedotlenienia i uszkodzenia nerek.

W przeprowadzonej analizie wykazano wyższe stężenie KIM-1 w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej i różnice te obserwowano niezależnie od podziału na grupy.

W badaniach na modelu zwierzęcym stwierdzono, że podwyższone stężenie KIM-1 stanowi czynnik prognostyczny wystąpienia objawów nefrotoksyczności po podaniu cysplatyny, gentamycyny i wankomycyny [132]. Obserwowany wzrost stężenia KIM-1 był niezależny od stopnia hipoksemii. Odnosząc się do wartości prognostycznej stężenia KIM-1 jako czynnika ryzyka wystąpienia i/lub progresji uszkodzenia nerek zdania badaczy są podzielone. W części badań opisuje się jej mniejsze znaczenie KIM-1 niż NGAL (zarówno w surowicy jak i w moczu) [128]. Coraz więcej ostatnich doniesień potwierdza jednak duże znaczenie oznaczania KIM-1 [133]. Na przykład, u pacjentów dorosłych po przezskórnych interwencjach wieńcowych (PCI) stwierdzano podwyższone stężenie KIM-1, które odzwierciedlało ostre pokontrastowe uszkodzenie nerek [134]. W badaniu Jungbauer wśród pacjentów z niewydolnością serca z frakcją wyrzutową poniżej 35% stwierdzono podwyższone stężenie KIM-1. Wykazano, że progresja choroby serca jest zależna nie tylko od stanu układu krążenia, ale także od postępu niewydolności nerek [112]. W obecnych badaniach nie stwierdzono zależności między KIM-1 a frakcją wyrzutową serca. Potwierdzeniem wpływu nieprawidłowej funkcji serca na nerki może być doniesienie Kompa dotyczące wzrostu KIM-1 po niedokrwieniu mięśnia sercowego. Badanie przeprowadzono na modelu zwierzęcym. Wykazano znaczny wzrost KIM-1 bezpośrednio po uszkodzeniu mięśnia sercowego, adekwatnie do mechanizmu CRS typu I. Po okresowym spadku KIM-1 obserwowano nadal podwyższone wartości sugerujące rozwinięcie CRS typu II [135]. Podsumowując, wyniki oznaczeń KIM-1 wskazują również, podobnie jak analiza NGAL, na wczesne, subkliniczne cechy uszkodzenia nerek u dzieci z wadami serca.

Rola kolejnego badanego markera - katepsyny L jako wczesnego markera uszkodzenia nerek nie jest w pełni poznana. W obecnym badaniu zdecydowano się na pomiar stężenia tego markera ze względu na doniesienia wskazujące, że w modelu zwierzęcym katepsyna L jest samodzielnym czynnikiem ryzyka progresji niewydolności nerek w przypadku występowania nefropatii cukrzycowej. Działanie katepsyny L opiera się m.in. na uszkodzeniu białek kluczowych dla utrzymania prawidłowego cytoszkieletu podocytów [136]. Badania wykonane na modelu zwierzęcym potwierdzono w grupie pacjentów pediatrycznych z cukrzycą typu 1 [137]. W niniejszym badaniu stwierdzono podwyższenie stężenia tego markera w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej. Stężenie było niezależne od funkcji skurczowej lewej komory. Jednakże stwierdzono dodatnią zależność między tym markerem a eGFR. Można wysnuć wniosek, że wzrost stężenia katepsyny L ma związek z hiperfiltracją, która wg wielu

badaczy może być pierwszym sygnałem wystąpienia przewlekłej choroby nerek [138,139]. Stężenie katepsyny L oceniał również Cao u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, a jej stężenie korelowało z nasileniem białkomoczu [140].

W grupie badanej stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie beta-2-mikroglobuliny. Jednocześnie wykazano ujemną korelację między stężeniem powyższego biomarkera a filtracją kłębuszkową, co wskazuje na beta-2-mikroglobulinę jako markera upośledzonej filtracji kłębuszkowej. Wyniki są spójne z doniesieniami, dotyczącymi pacjentów pediatrycznych, u których stężenie beta-2-mikroglobuliny lepiej wskazywało korelowało z upośledzoną filtracją kłębuszkową niż kreatynina w surowicy [87]. Podwyższone stężenie beta 2-mikroglobuliny jest również niezależnym czynnikiem rokowniczym wystąpienia nefropatii pokontrastowej oraz zwiększonej śmiertelności [131].

Układ renina – angiotensynogen – aldosteron stanowi jedną z kluczowych ról utrzymania równowagi hemodynamicznej i interakcji nerka-serce. Zachwianie homeostazy może wynikać z choroby serca [141]. Na modelu zwierzęcym aktywacja nerkowa układu RAA, jest pierwszą odpowiedzią na hipoperfuzję. Ponadto jest czynnikiem wpływającym na postęp uszkodzenia nerek [142,143]. Odzwierciedleniem stężenia angiotensynogenu pochodzenia nerkowego, podstawowego substratu układu RAA, jest jego stężenie w moczu [144]. W badaniu przeprowadzonym przez Xiaobing Yang stwierdzono wyższe stężenie angiotensynogenu w podgrupie pacjentów z niewydolnością serca, u których wystąpiły kliniczne objawy niewydolności nerek. Stwierdzono utrzymywanie się podwyższonego stężenia angiotensynogenu w grupie pacjentów z rozpoznaniem AKI. Ponadto stężenie było istotnie wyższe w przypadku pacjentów z rozpoznaną przewlekłą chorobą nerek. Potwierdzono również, że poziom stężenia angiotensynogenu w moczu jest czynnikiem rokowniczym dotyczącym progresji AKI do przewlekłej choroby nerek oraz zwiększonej śmiertelności. Na jego stężenie nie miało wpływu leczenie diuretykami oraz inhibitorami konwertazy angiotensyny [145]. W analizowanej grupie stwierdzono podwyższone stężenie angiotensynogenu w stosunku do grupy kontrolnej. Po podziale na podgrupy ze względu na typ wady serca czy metodę leczenia nie uzyskano statystycznej istotności.

Niezależnie od sposobu leczenia w przypadku analizowanej grupy pacjentów nie stwierdzono istotnej różnicy stężeń markerów między podgrupami. Również w zakresie KIM-1 w podgrupach pacjentów leczonych zachowawczo i operacyjnie. Wyższej wartości spodziewano się w grupie pacjentów po leczeniu kardiochirurgicznym. Byłoby to zgodne

z wynikami przedstawionymi przez Belayev, gdzie stwierdzono większe ryzyko utrzymywania się uszkodzenia nerek zależne od stopnia ciężkości AKI oraz od narażenia na powtarzające się czynniki ryzyka [114,115].

Jak wspomniano wcześniej w grupie pacjentów z niewydolnością serca stwierdzono podwyższone stężenie markera wczesnego uszkodzenia nerek jakim jest KIM-1 [112]. Wynik analizy jest zgodny z przytaczanym badaniem, poza podwyższonym stężeniem uNGAL, które w przypadku badanej podgrupy również było statystycznie istotne. Różnica stężeń biomarkerów w podgrupach wydzielonych na podstawie frakcji skracania była nieistotna statystycznie, co może potwierdzać wpływ innych czynników niż upośledzona funkcja hemodynamiczna serca na uszkodzenie nerek.

U pacjentów z wrodzoną wadą serca, niezależnie od typu wady czy metody leczenia, występuje podwyższone stężenie markerów wczesnego uszkodzenia nerek. Pytanie czy w przyszłości w tej grupie pacjentów może rozwinąć się przewlekła choroba nerek pozostaje obecnie bez jednoznacznej odpowiedzi. Nie jest również oczywistym czy powinni oni pozostawać pod opieką nefrologa i w miarę możliwości unikać czynników nefrotoksycznych tj. m.in. niektórych leków czy środków kontrastowych. AKI jest procesem postępującym, u którego podłoża leży czynnik uszkadzający nerki. W określonych grupach ryzyka dochodzi do progresji choroby do przewlekłej choroby nerek z upośledzoną funkcją tego narządu. Dotychczas przeprowadzone badania wskazują na zwiększone ryzyko wystąpienia PChN u pacjentów z wywiadem w kierunku uszkodzenia nerek w wywiadzie. Wymagane są jeszcze dalsze badania nad markerami, które być może pozwolą na zmianę definicji AKI czy PChN. Pozostaje jeszcze wiele do zbadania w tej dziedzinie. Wielu autorów podkreśla, że jeden marker może nie wystarczyć, aby określić ryzyko wystąpienia i progresji uszkodzenia nerek [146]. Oznaczanie kreatyniny zastąpić może jednoczesna ocena grupy kilku markerów.

7 WNIOSKI:

1. U dzieci z wrodzoną wadą serca występuje wczesne uszkodzenie nerek definiowane jako podwyższone stężenie uNGAL, KIM-1 oraz CatL.
2. Uszkodzenie nerek u dzieci z wadą serca w oparciu o uNGAL, KIM-1 oraz CatL występuje niezależnie od typu wady oraz stosowanego leczenia chirurgicznego.
3. Wystąpienie wczesnego uszkodzenia nerek jest niezależne od frakcji wyrzutowej lewej komory.

8 STRESZCZENIE

Zespół sercowo-nerkowy jest wynikiem wzajemnego oddziaływania serca i nerek. Uszkodzenie jednego narządu powoduje wtórnie uszkodzenie drugiego. Patogeneza tych współzależności nie jest do końca poznana. W przypadku pacjentów pediatrycznych do rozwinięcia tego zespołu dochodzi najczęściej u pacjentów z wrodzoną wadą serca. Zespół sercowo-nerkowy typu I rozwija się po zabiegach kardiochirurgicznych w krążeniu pozaustrojowym. Typ II jest wtórny do wrodzonej wady serca.

Celem badania była ocena uszkodzenia nerek u dzieci z wrodzoną wadą serca za pomocą markerów wczesnego uszkodzenia nerek oznaczanych w surowicy krwi i/lub w moczu. Do substancji tych należą sNGAL, uNGAL, CatL, uANG, KIM-1 oraz B2M. Przeanalizowano również powiązania w/w markerów z wielkością przesączania kłębuszkowego (eGFR) oraz parametrami charakteryzującymi badaną grupę pacjentów (typ wady serca, sposób leczenia, wybrane wartości hemodynamiczne). Badaniem objęto 80 dzieci (32 dziewczynek i 48 chłopców) z rozpoznaną wadą serca w wieku od 1 do 205 tygodni. U wszystkich pacjentów wykluczono PChN, jak również inne choroby mogące wpłynąć na wynik badania. Grupę badaną stanowiło 40 zdrowych dzieci w zbliżonym przedziale wiekowym.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono u dzieci z wadą serca istotnie wyższe stężenia wszystkich badanych markerów. Jednocześnie filtracja kłębuszkowa oznaczana na podstawie wzoru Schwartz'a pozostawała w normie wiekowej. Stężenia markerów były niezależne od frakcji wyrzutowej lewej komory oraz frakcji skracania. Stężenie sNGAL korelowało z wartością mleczanów w surowicy, czego nie obserwowano w przypadku pozostałych markerów. Po podziale pacjentów na podgrupy stwierdzono, że niezależnie od typu wady oraz sposobu leczenia występują podwyższone stężenia uNGAL, KIM-1 oraz CatL.

Na podstawie przeprowadzonych badań wyciągnięto następujące wnioski: 1. U dzieci z wrodzoną wadą serca występuje wczesne uszkodzenie nerek definiowane jako wzrost stężenia uNGAL, KIM-1 oraz CatL. 2. Uszkodzenie nerek u dzieci z wadą serca w oparciu o uNGAL, KIM-1 oraz CatL występuje niezależnie od typu wady oraz stosowanego leczenia. 3. Wystąpienie wczesnego uszkodzenia nerek jest niezależne od frakcji wyrzutowej lewej komory. 4. Rozpoznanie zespołu sercowo-nerkowego powinno stanowić sygnał alarmowy wskazujący na możliwość rozwinięcia pełnoobjawowej niewydolności nerek z koniecznością leczenia nerkozastępczego.

9 ABSTRACT

Cardiorenal syndrome encompasses a spectrum of disorders involving both the heart and kidneys in which acute or chronic dysfunction in 1 organ may induce acute or chronic dysfunction in the other organ. It represents the confluence of heart-kidney interactions across several interfaces. The underlying physiology of CRS is not well understood. In pediatric patients, this syndrome most often develops in patients with congenital heart disease. Cardiorenal syndrome type I develops after cardiac surgery with extracorporeal circulation. Type II is secondary to congenital heart disease.

The study aimed to evaluate early kidney damage in children with congenital heart disease using new markers of early kidney injury measured in blood serum and/or urine. These substances included sNGAL, uNGAL, CatL, uANG, KIM-1, and B2M. The statistical analysis was performed to describe the concentrations and relations between these markers and glomerular filtration rate (eGFR), selected hemodynamic parameters, type of heart disease, and treatment method. The study group consisted of 80 children (32 girls and 48 boys) with heart disease, aged 1 to 205 weeks. In all patients, CKD was excluded, as well as other diseases that could affect the test result. The healthy control group consisted of 40 children in a similar age range.

All tested markers were found to higher in children with a heart defect. Simultaneously, the glomerular filtration rate determined based on the Schwartz formula remained within the normal age values. Early markers of kidney injury were not correlated with left ventricular ejection fraction and shortening fraction. The concentration of sNGAL correlated with the serum lactate. Increased uNGAL, KIM-1, and CatL levels were not related to the type of defect and the treatment method.

Conclusions: 1. In children with congenital heart disease, early kidney damage is present, defined as a change in uNGAL, KIM-1, and CatL levels. 2. Kidney damage in children with heart disease based on uNGAL, KIM-1, and CatL occurs regardless of the type of congenital heart disease and applied treatment. 3. The occurrence of early kidney damage is independent of the left ventricular ejection fraction. 4. The diagnosis of CRS should be an alarm signal indicating the possibility of the development of renal failure with the potential necessity of renal replacement therapy.

10 SPIS TABEL

Tabela 1. Podtypy zespołu sercowo-nerkowego oraz ich przykładowa etiologia.	7
Tabela 2. Kryteria pRIFLE	11
Tabela 3. Stadia przewlekłej choroby nerek	14
Tabela 4. Podstawowe dane charakteryzujące grupę badaną i kontrolną.....	24
Tabela 5. Analiza wartości markerów w grupie badanej i kontrolnej	29
Tabela 6. Porównanie wybranych parametrów w obrębie grupy badanej oraz między grupą badaną i kontrolną w zależności od typu wady serca.....	37
Tabela 7. Porównanie wybranych parametrów w obrębie grupy badanej oraz między grupą badaną i kontrolną w zależności od typu leczenia.....	40
Tabela 8. Porównanie wybranych parametrów w obrębie grupy badanej oraz między grupą badaną i kontrolną w zależności od frakcji skracania	45

11 SPIS RYCIN

Rycina 1. Graficzne przedstawienie analizy sNGAL i uNGAL pomiędzy grupą badaną i kontrolną.....	27
Rycina 2. Graficzne przedstawienie analizy CatL i KIM-1 pomiędzy grupą badaną i kontrolną.....	27
Rycina 3. Graficzne przedstawienie analizy uANG i B2m pomiędzy grupą badaną i kontrolną	28
Rycina 4. Graficzne przedstawienie zależności między stężeniem mleczanów a sNGAL w grupie badanej	30
Rycina 5. Graficzne przedstawienie analizy stężeń sNGAL i uNGAL pomiędzy podgrupą 1 i grupą kontrolną.....	31
Rycina 6. Graficzne przedstawienie analizy stężeń Katepsyny L i KIM-1 pomiędzy podgrupą 1 i grupą kontrolną.....	31
Rycina 7. Graficzne przedstawienie analizy stężeń uAng i B2M pomiędzy podgrupą 1 i grupą kontrolną.....	32
Rycina 8. Graficzne przedstawienie analizy stężeń sNGAL i uNGAL pomiędzy podgrupą 2 i grupą kontrolną.....	32
Rycina 9. Graficzne przedstawienie analizy stężeń CtpL i KIM-1 pomiędzy podgrupą 2 i grupą kontrolną.....	33
Rycina 10. Graficzne przedstawienie analizy stężeń uAng i B2M pomiędzy podgrupą 2 i grupą kontrolną.....	33
Rycina 11. Graficzne przedstawienie analizy stężeń sNGAL i uNGAL pomiędzy podgrupą 3 i grupą kontrolną.....	34
Rycina 12. Graficzne przedstawienie analizy stężeń Katepsyny L i KIM-1 pomiędzy podgrupą 3 i grupą kontrolną.....	34
Rycina 13. Graficzne przedstawienie analizy stężeń ang i B2M pomiędzy podgrupą 3 i grupą kontrolną.....	35
Rycina 14. Graficzne przedstawienie analizy stężeń sNGAL i uNGAL pomiędzy podgrupami 1-3	35
Rycina 15. Graficzne przedstawienie analizy stężeń Katepsyny L i KIM-1 pomiędzy podgrupami 1-3	36
Rycina 16. Graficzne przedstawienie różnic stężeń uAng i B2M pomiędzy podgrupami 1-3	36
Rycina 17. Porównanie sNGAL, uNGAL, Katepsyny L, KIM-1, ANG i B2M w grupach I, II oraz grupie kontrolnej.....	42
Rycina 18. Zależność między stężeniem sNGAL a mleczanami w podgrupie I.....	43

Rycina 19. Analiza stężeń sNGAL, uNGAL, Katepsyny L, KIM-1, ANG i B2M w grupach A, B oraz grupie kontrolnej	47
---	----

12 PIŚMIENNICTWO

1. Ronco C., McCullough P., Anker S. et al. Eur Heart J 2010;31(6):703-711
2. Cole RT, Masoumi A, Triposkiadis F et al. Renal dysfunction in heart failure. Med Clin North Am. 2012;96(5):955-974
3. Nistala R., Hayden M.R, DeMarco V.G. et al. Prenatal Programming and Epigenetics in the Genesis of the Cardiorenal Syndrome, Cardiorenal Med 2011;1:243-254
4. Ronco C, Haapio M, House AA et al. Cardiorenal syndrome. J Am Coll Cardiol. 2008; 52(19):1527-1539.
5. Price JF, Mott AR, Dickerson HA et al. Worsening renal function in children hospitalized with decompensated heart failure: evidence for a pediatric cardiorenal syndrome? Pediatr Crit Care Med. 2008;(3):279-284.
6. Bagshaw SM, Cruz DN, Aspromonte N et al. Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Group. Epidemiology of cardio-renal syndromes: workgroup statements from the 7th ADQI Consensus Conference. Nephrol Dial Transplant. 2010;25(5):1406-1416.
7. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G et al. HEMO Study Group. Cardiac diseases in maintenance hemodialysis patients: results of the HEMO Study. Kidney Int. 2004;65(6):2380-2389.
8. Herzog CA. Dismal long-term survival of dialysis patients after acute myocardial infarction: can we alter the outcome? Nephrol Dial Transplant. 2002;17(1):7-10
9. Bouqueneau A, Krzesinski JM, Delanaye P, Cavalier E. Biomarkers and physiopathology in the cardiorenal syndrome. Clin Chim Acta. 2015;443:100-107.
10. McCullough PA. Cardiorenal syndromes: pathophysiology to prevention. Int J Nephrol. 2010;2011:762590.
11. Jose P. Skali H, Anavekar N et al. Increase in creatinine and cardiovascular risk in patients with systolic dysfunction after myocardial infarction. J Am Soc Nephrol 2006;17:2886–2891.
12. Berl T, Henrich W. Kidney-heart interactions: epidemiology, pathogenesis, and treatment. Clin J Am Soc Nephrol. 2006;1(1):8-18.
13. Anand IS. Cardiorenal syndrome: a cardiologist's perspective of pathophysiology. Clin J Am Soc Nephrol. 2013;8(10):1800-1807.
14. Mezzano SA, Ruiz-Ortega M, Egido J. Angiotensin II and renal fibrosis. Hypertension 2001;38:635–638

15. DiBona GF. Nervous kidney. Interaction between renal sympathetic nerves and the renin-angiotensin system in the control of renal function. *Hypertension* 2000; 36:1083–8
16. Bakris GL, Hart P, Ritz E. Beta blockers in the management of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006;70:1905–1913
17. Nohria A, Hasselblad V, Stebbins A, et al. Cardiorenal interactions *J Am Coll Cardiol*, 2008;51(13):1268–1274
18. Carubelli V, Metra M, Lombardi C, et al. Renal dysfunction in acute heart failure: epidemiology, mechanisms and assessment. *Heart Fail Rev* 2012;17:271–282
19. Almeshari K., Ahlstrom N.G., Capraro F.E., Wilcox C.S.(1993) A volume-independent component to postdiuretic sodium retention in humans. *J Am Soc Nephrol* 3:1878–1883
20. Felker GM, Lee KL, Bull DA, et al. Diuretic strategies in patients with acute decompensated heart failure. *N Engl J Med* 2011;364:797–805
21. Ruiz-Ortega M, Gonzalez S, Seron D, et al. ACE inhibition reduces proteinuria, glomerular lesions and extracellular matrix production in a normotensive rat model of immune complex nephritis. *Kidney Int* 1995;48:1778–1791
22. Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, et al. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int Suppl* 2002;82:S12–22.
23. McCaffrey, J., Coupes, B., Chaloner, C. et al. Towards a biomarker panel for the assessment of AKI in children receiving intensive care. *Pediatr Nephrol* 2015;30:1861–1871
24. Williams DM, Sreedhar SS, Mickell JJ, Chan JC Acute kidney failure: a pediatric experience over 20 years. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002;156:893–900
25. Bresolin N, Bianchini AP, Haas CA. Pediatric acute kidney injury assessed by pRIFLE as a prognostic factor in the intensive care unit. *Pediatr Nephrol*. 2013;28(3):485–492
26. Du, Y., Zappitelli, M., Mian, A. et al. Urinary biomarkers to detect acute kidney injury in the pediatric emergency center. *Pediatr Nephrol* 2011;26:267–274
27. Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(8):1074–1089
28. Sutherland SM, Byrnes JJ, Kothari M, Longhurst CA, Dutta S, Garcia P, Goldstein SL. AKI in hospitalized children: comparing the pRIFLE, AKIN, and KDIGO definitions. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(4):554–561.
29. Grayson AD, Khater M, Jackson M, Fox MA. Valvular heart operation is an independent risk factor for acute renal failure. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(6):1829–1835

30. Rosner MH, Okusa MD. Acute kidney injury associated with cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(1):19-32
31. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney Int*. 2007;71(10):1028-1035
32. Bhatia R.S., Tu J.V., Lee D.S., et al. Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study. *N Engl J Med* 2006;355:260–269
33. Liang KV, Williams AW, Greene EL, Redfield MM. Acute decompensated heart failure and the cardiorenal syndrome. *Crit Care Med*. 2008;36(1 Suppl):S75-88.
34. Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Engl J Med*. 2003;348(2):101-108.
35. DiBona G.F., Kopp U.C. Neural control of renal function *Physiol Rev*, 1997;77: 75-19
36. Itoh S, Carretero OA, Murray RD. Renin release from isolated afferent arterioles. *Kidney Int*. 1985;27(5):762-767
37. Agras PI, Derbent M, Ozcay F, et al. Effect of congenital heart disease on renal function in childhood. *Nephron Physiol*. 2005;99(1):p10-15
- 38 Hongsaewong N, Khamdee P, Silvilairat S, Chartapisak W. Prevalence and associated factors of renal dysfunction and proteinuria in cyanotic congenital heart disease. *Pediatr Nephrol*. 2018;33(3):493-501.
39. Szeto HH, Liu S, Soong Y, et al. Mitochondria protection after acute ischemia prevents prolonged upregulation of IL-1 β and IL-18 and arrests CKD. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:1437–1449
40. Venkatachalam MA, Weinberg JM, Kriz W, Bidani AK. Failed Tubule Recovery, AKI-CKD Transition, and Kidney Disease Progression. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(8):1765-1776
41. 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(9466):1231-1238
42. Kang HM, Ahn SH, Choi P et al. Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. *Nat Med* 2015;21:37–46
43. Sato Y, Takahashi M, Yanagita M. Pathophysiology of AKI to CKD progression. *Semin Nephrol*. 2020;40(2):206-215
44. de Seigneux S, Martin PY. Preventing the Progression of AKI to CKD: The Role of Mitochondria. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(5):1327-1329.
45. Barton KT, Kakajiwala A, Dietzen DJ, et al.. Using the newer Kidney Disease: Improving Global Outcomes criteria, beta-2-microglobulin levels associate with severity of acute kidney injury. *Clin Kidney J*. 2018;11(6):797-802.

46. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive Care Med.* 2004;30(1):33-37
47. Delanaye P, Lambermont B, Chapelle JP, et al. Plasmatic cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004;30(5):980-983.
48. Parikh CR, Puthumana J, Shlipak MG et al. Relationship of Kidney Injury Biomarkers with Long-Term Cardiovascular Outcomes after Cardiac Surgery. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(12):3699-3707.
49. Rosner MH, Bolton WK Renal function testing. *Am J Kidney Dis.* 2006;47(1):174-183.
50. Huber AR, Risch Recent developments in the evaluation of glomerular filtration rate: is there a place for beta-trace? *L Clin Chem.* 2005;51(8):1329-1330
51. Thongprayoon C, Cheungpasitporn W, Kashani K. Serum creatinine level, a surrogate of muscle mass, predicts mortality in critically ill patients. *J Thorac Dis* 2016;8:E305–311.
52. 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* 2007;11:R84.
53. Uttenenthal LO. NGAL: a marker molecule for the distressed kidney? *Clin Lab Int* 2005;29:39–41
54. Brisco MA, Testani JM. Novel renal biomarkers to assess cardiorenal syndrome. *Curr Heart Fail Rep.* 2014;11(4):485–499.
55. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2534–2543.
56. Charlton JR, Portilla D, Okusa MD. A basic science view of acute kidney injury biomarkers. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29:1301–1311
57. 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.
58. Schmidt-Ott KM, Mori K, Kalandadze A, Li JY, Paragas N, Nicholas T, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15:442–449.
59. Alam J..Heme oxygenase-1: function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. Choi AM1, *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1996;15(1):9-19
60. Mishra J, Mori K, Ma Q, et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:3073–3082.

61. Hirsch R, Dent C, Pfriem H, et al.. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol*. 2007;22(12):2089-2095
62. Makris K, Markou N, Evodia E, Dimopoulou E, Drakopoulos I, Ntetsika K, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as an early marker of acute kidney injury in critically ill multiple trauma patients. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:79–82
63. Hawkins, New Biomarkers of Acute Kidney Injury and the Cardio-renal Syndrome Robert M.D Korean J Lab Med. 2011;31(2):72-80.
64. McMahon GM, Waikar SS. Biomarkers in nephrology: Core Curriculum 2013. *Am J Kidney Dis*. 201;62(1):165-178.
65. Au V, Feit J, Barasch J, Sladen RN, Wagener G. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) distinguishes sustained from transient acute kidney injury after general surgery. *Kidney Int Rep* 2016;1:3–9
66. Zachwieja, J., Soltysiak, J., Fichna, P. et al. Normal-range albuminuria does not exclude nephropathy in diabetic children. *Pediatr Nephrol* 2010;25:1445–1451
67. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem* 1998;273:4135–4142
68. Bonventre JV, Yang L Kidney injury molecule-1. *Curr Opin Crit Care*. 2010;16(6):556-561
69. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S, Lee HT Clin Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol*. 2009;4(5):873-882.
70. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002;62:237–244.
71. Damman K, Van Veldhuisen DJ, Navis G, et al. Tubular damage in chronic systolic heart failure is associated with reduced survival independent of glomerular filtration rate *Heart*, 2010; 96(16):1297-1302
72. Brankovic M, Akkerhuis KM, van Boven N et al.. Patient-specific evolution of renal function in chronic heart failure patients dynamically predicts clinical outcome in the Bio-SHiFT study. *Kidney Int*. 2018;93(4):952-960.
73. Coca SG, Garg AX, Thiessen-Philbrook H, et al. Urinary biomarkers of AKI and mortality 3 years after cardiac surgery *J Am Soc Nephrol*, 2004;25(5):1063-1071
74. Waanders F, Vaidya VS, van Goor H, et al. Effect of renin-angiotensin-aldosterone system inhibition, dietary sodium restriction, and/or diuretics on urinary kidney injury molecule 1 excretion in nondiabetic proteinuric kidney disease: a post hoc analysis of a randomized controlled trial *Am J Kidney Dis*, 2009;53(1):16-25L;

75. Dieterle F, Sistare F, Goodsaid F, et al. Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMEA and Predictive Safety Testing Consortium. *Nat Biotechnol* 2010;28:455–462.
76. Xu X, Greenland J, Baluk P, Adams A, Bose O, McDonald DM, et al. Cathepsin L protects mice from mycoplasmal infection and is essential for airway lymphangiogenesis, *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013;49:437-444.
77. Zhang XL, Guo YF, Song ZX, Zhou M. Vitamin D prevents podocyte injury via regulation of macrophage M1/M2 phenotype in diabetic nephropathy rats. *Endocrinology* 2014;155:4939-4950.
78. Zarjou A, Agarwal A. Sepsis and acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:999-1006.
79. Turk V, Turk B, Guncar G et al. Lysosomal cathepsins: structure, role in antigen processing and presentation, and cancer. *Adv Enzyme Regul.* 2002;42:285–303
80. Sever et al. Proteolytic processing of dynamin by cytoplasmic cathepsin L is a mechanism for proteinuric kidney disease. *J Clin Invest.* 2007;117(8):2095–2104.
81. Yafang Hu, Liangqi Guo, Gao K and Zhang M Study on the Mechanism of Cathepsin L on the Activation of M1 Macrophages in Sepsis-induced Acute Renal Injury, *Indian J Pharm Sci* 2020;82:102-107
82. Cocchiario, P., Fox, C., Tregidgo, N. et al. Lysosomal protease cathepsin D; a new driver of apoptosis during acute kidney injury. *Sci Rep* 2016: :27112.
83. Brings S, Fleming T, Herzig S et al. Urinary cathepsin L is predictive of changes in albuminuria and correlates with glucosepane in patients with type 2 diabetes in a closed-cohort study. *J Diabetes Complications.* 2020;34(9):107648.
84. Berggård I, Bearn AG Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids *J Biol Chem.* 1968;243(15):4095-4103.
85. John GT, Fleming JJ, Talaulikar GS, Selvakumar R, et al Measurement of renal function in kidney donors using serum cystatin C and beta(2)-microglobulin. *Ann Clin Biochem.* 2003;40(6):656-658.
86. Jovanović D, Krstivojević P, Obradović I, et al Serum cystatin C and beta2-microglobulin as markers of glomerular filtration rate. *Ren Fail.* 2003;25(1):123-133.
87. Herrero-Morín JD, Málaga S, Fernández N, et al. Cystatin C and beta2-microglobulin: markers of glomerular filtration in critically ill children. *Crit Care.* 2007;11(3):R59.
88. Astor BC, Muth B, Kaufman DB, Pirsch JD, Michael Hofmann R, Djamali A. Serum β 2-microglobulin at discharge predicts mortality and graft loss following kidney transplantation. *Kidney Int.* 2013;84(4):810-817.
89. Astor BC, Shafi T, Hoogveen RC, et al. Novel markers of kidney function as predictors of ESRD, cardiovascular disease, and mortality in the general population. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(5):653-662.

90. Chawla T, Sharma D, Singh A. Role of the renin angiotensin system in diabetic nephropathy. *World J Diabetes*. 2010;15:141-145
91. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local reninangiotensin systems. *Physiol Rev*. 2006;86:747-803
92. Erdös EG. Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Am J Med*. 1976;60: 749-759.
93. Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Rupérez M i in. Renin-angiotensin system and renal damage: emerging data on angiotensin II as a proinflammatory mediator. *Contrib Nephrol* 2001;135:123-137.
94. Kobori H, Nishiyama A, Abe Y et al. Enhancement of intrarenal angiotensinogen in Dahl salt-sensitive rats on high salt diet. *Hypertension* 2003;41:592–559
95. Cao W, Jin L, Zhou Z et al. Overexpression of intrarenal Renin-Angiotensin system in human acute tubular necrosis. *Kidney Blood Press Res* 2016;41:746–756
96. Alge JL, Karakala N, Neely BA et al. Urinary angiotensinogen and risk of severe AKI. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:184–193
97. Pietrzyk JJ, Kwinta P, *Pediatrics*, tom2, 2018 str. 201-290
98. Freud L, Tworetzky W, Fetal interventions for congenital heart disease. *Current Opinion in Pediatrics*, 2016;28(2):156-162
99. Sun, R., Liu, M., Lu, L. et al. Congenital Heart Disease: Causes, Diagnosis, Symptoms, and Treatments. *Cell Biochem Biophys* 2015;72:857–860
100. Nevvazhay T, Chernogrivov A, Biryukov E, et al. Arterial switch in the first hours of life: no need for Rashkind septostomy? *Eur J Cardiothorac Surg*. 2012;42(3):520-523.
101. Luo, K., Zheng, J., Zhu, Z. et al. Outcomes of Right Ventricular Outflow Tract Reconstruction for Children with Persistent Truncus Arteriosus: A 10-Year Single-Center Experience. *Pediatr Cardiol* 2018;39:565–574
102. Wu SJ, Fan YF, Tan YH, Chen MR, Sun S, Chien CY, Li JY, Huang SC, Chiu IS. Staged surgical repair for infants with interrupted aortic arch. *Asian J Surg*. 2020;43(11):1074-1077.
103. Poh CL, d'Udekem Y. Life After Surviving Fontan Surgery: A Meta-Analysis of the Incidence and Predictors of Late Death. *Heart Lung Circ*. 2018;27(5):552-559.
- 104..Blinder JJ, Goldstein SL, Lee VV, et al. Congenital heart surgery in infants: effects of acute kidney injury on outcomes *Thorac Cardiovasc Surg*. 2012;143(2):368-374.
105. Amini S, Abbaspour H, Morovatdar N, et al. Risk Factors and Outcome of Acute Kidney Injury after Congenital Heart Surgery: A Prospective Observational Study. *Indian J Crit Care Med*. 2017;21(12):847-851.

106. Dearani JA, Mora BN, Nelson TJ, Haile DT, O'Leary PW. Ebstein anomaly review: what's now, what's next? *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2015;13(10):1101-1109.
107. Cronin, R.E. Contrast-induced nephropathy: pathogenesis and prevention. *Pediatr Nephrol* 2010;25:191–204
108. Ginde S, Lam J, Hill GD et al. Long-term outcomes after surgical repair of complete atrioventricular septal defect, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2015;150(2): 369-374
109. Prisant LM, Mawulawde K, Kapoor D, Joe C. Coarctation of the aorta: a secondary cause of hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2004;6(6):347-350, 352
110. Steven P. Miller, N Abnormal Brain Development in Newborns with Congenital Heart Disease; *Engl J Med* 2007;357:1928-1938
111. Cruz DN, Gheorghiade M, Palazzuoli A, et al. Epidemiology and outcome of the cardio-renal syndrome. *Heart Fail Rev.* 2011;16(6):531-542.
112. Jungbauer CG, Birner C, Jung B, Buchner S, Lubnow M, von Bary C, Endemann D, Banas B, Mack M, Böger CA, Riegger G, Luchner A. Kidney injury molecule-1 and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in chronic heart failure: possible biomarkers of cardiorenal syndrome. *Eur J Heart Fail.* 2011;13(10):1104-1110.
113. Goldstein SL. Kidney function assessment in the critically ill child: is it time to leave creatinine behind?. *Crit Care.* 2007;11(3):141
114. Belayev LY, Palevsky PM. The link between acute kidney injury and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014;23(2):149-154
115. Coca et al: Chronic kidney disease after acute kidney injury: A systematic review and meta-analysis. *Kidney Int* 2012;81: 442–448
116. Picken M, Long J, Williamson GA, Polichnowski AJ. Progression of Chronic Kidney Disease After Acute Kidney Injury: Role of Self-Perpetuating Versus Hemodynamic-Induced Fibrosis. *Hypertension.* 2016;68(4):921-928.
117. Kurzhausen, J.T., Dellepiane, S., Cantaluppi, V. et al. AKI: an increasingly recognized risk factor for CKD development and progression. *J Nephrol* 2020;33:1171–1187
118. Greenberg JH, Zappitelli M, Devarajan P, et al. Kidney Outcomes 5 Years After Pediatric Cardiac Surgery: The TRIBE-AKI Study. *JAMA Pediatr.* 2016;170(11):1071–1078.
119. Pokhrel N, Dhakal B, Arora RR. Cardiorenal syndrome: A literature review *Exp Clin Cardiol* 2008;13:165–170
120. Bongartz LG, Cramer MJ, Doevendans PA, Joles JA, Braam B. The severe cardiorenal syndrome: 'Guyton revisited' *Eur Heart J* 2005;26:11–17

121. Struthers AD, MacDonald TM. Review of aldosterone- and angiotensin II-induced target organ damage and prevention *Cardiovasc Res* 2004;61:663–670
122. Damman K, van Deursen VM, Navis G, et al. Increased central venous pressure is associated with impaired renal function and mortality in a broad spectrum of patients with cardiovascular disease *J Am Coll Cardiol* 2009;53:582–588
123. Ronco C, Maisel A. Volume overload and cardiorenal syndromes *Congest Heart Fail* 2010;16(1)S
124. Bock JS, Gottlieb SS. Cardiorenal syndrome: new perspectives *Circulation* 2010;121:2592–2600
125. Schumacher KR, Reichel RA, Vlasic JR, et al. Rate of increase in serum lactate level risk-stratifies infants after surgery for congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;148(2):589-595
126. Sarafidis, K., Tsepkentzi, E., Agakidou, E. et al. Serum and urine acute kidney injury biomarkers in asphyxiated neonates. *Pediatr Nephrol* 2012;27:1575–1582.
127. Pejović B, Erić-Marinković J, Pejović M, Kotur-Stevuljević J, Peco-Antić A. Detection of acute kidney injury in premature asphyxiated neonates by serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (sNGAL)--sensitivity and specificity of a potential new biomarker. *Biochem Med (Zagreb).* 2015;25(3):450-459
128. Di Nardo M, Ficarella A, Ricci Z et al.: Impact of Severe Sepsis on Serum and Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury in Critically Ill Children: An Observational Study. *Blood Purif* 2013;35:172-176
129. El-Farghali OG, El-Raggal NM, Mahmoud NH, Zaina GA. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a predictor of acute kidney injury in critically-ill neonates. *Pak J Biol Sci.* 2012;15(5):231-237.
130. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med.* 2010;36(3):452-461
131. Banda J, Duarte R, Dix-Peek T, Dickens C, Manga P, Naicker S. Biomarkers for Diagnosis and Prediction of Outcomes in Contrast-Induced Nephropathy. *Int J Nephrol.* 2020;8568139
132. Vaidya, V., Ozer, J., Dieterle, F. et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nat Biotechnol* 2010;28:478–485
133. Damman K, Masson S, Hillege HL et al. Tubular damage and worsening renal function in chronic heart failure. *JACC Heart Fail.* 2013;1(5):417–424.
134. Liao B, Nian W, Xi A, Zheng M. Evaluation of a Diagnostic Test of Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Urine KIM-1 in Contrast-Induced Nephropathy (CIN). *Med Sci Monit.* 2019;25:565-570.

135. Lekawanvijit S, Kompa AR, Zhang Y., et al., Myocardial infarction impairs renal function, induces renal interstitial fibrosis, and increases renal KIM-1 expression: implications for cardiorenal syndrome, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;302: H1884–H1893
136. Garsen M, Rops AL, Dijkman H, et al., Cathepsin L is crucial for the development of early experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2016;90(5):1012-1022
137. Sołtysiak J, Skowrońska B, Fichna P, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and Cathepsin L as early predictors of kidney dysfunction in children with type 1 diabetes *Endokrynologia Polska* 2014;65(6):479-484.
138. Oh SW, Yang JH, KIM-1 M-G, et al. Renal hyperfiltration as a risk factor for chronic kidney disease: A health checkup cohort study. *PLoS ONE* 2020;15(9):e0238177.
139. Helal I, Fick-Brosnahan GM, Reed-Gitomer B, Schrier RW. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Nephrol.* 2012; 8(5):293–300
140. Cao, Y., Liu, X., Li, Y. et al. Cathepsin L activity correlates with proteinuria in chronic kidney disease in humans. *Int Urol Nephrol* 2017;49:1409–1417
141. Velez JC: The importance of the intrarenal renin-angiotensin system. *Nat Clin Pract Nephrol* 2009;5:89–100
142. Graciano ML, Cavaglieri RC, Dellê H, et al.: Intrarenal renin-angiotensin system is upregulated in experimental model of progressive renal disease induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1805–1815
143. Rafiq K, Noma T, Fujisawa Y et al. Renal sympathetic denervation suppresses de novo podocyte injury and albuminuria in rats with aortic regurgitation. *Circulation* 2012;125:1402–1413
144. Kobori H, Harrison-Bernard LM, Navar LG: Urinary excretion of angiotensinogen reflects intrarenal angiotensinogen production. *Kidney Int* 2002;61:579–585
145. Yang X, Chen C, Tian J, Zha Y, Xiong Y, Sun Z, Chen P, Li J, Yang T, Ma C, Liu H, Wang X, Hou FF. Urinary Angiotensinogen Level Predicts AKI in Acute Decompensated Heart Failure: A Prospective, Two-Stage Study. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(8):2032-2041.
146. Arthur JM, Hill EG, Alge JL, et al.; SAKInet Investigators. Evaluation of 32 urine biomarkers to predict the progression of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int.* 2014;85(2):431-438.



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 605/11

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 1997, Nr 28, poz. 152); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych wymagań Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2005, Nr 57, poz. 500); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 4 listopada 2008r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. Nr 201, poz. 1247), kierując się Zasadami Prawidłowego Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: 16 czerwca 2011 r.

rozpatrzyła wniosek, który przedstawił Pan:

prof. dr hab. n. med. Jacek Zachwieja

w sprawie prowadzenia badań w

Klinice Kardiologii i Nefrologii Dziecięcej UM w Poznaniu

Główny badacz: lek. med. Anna Musielak

**Członkowie zespołu
badawczego:**

**prof. dr hab. n. med. Aldona Siwińska
dr n. med. Maria Lewandowska
lek. med. Katarzyna Lipkowska
lek. med. Oskar Jeremba**

Temat badań:

"Wczesne markery uszkodzenia nerek u dzieci z chorobami serca".

Komisja wyraża zgodę na prowadzenie badań

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
UNIwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Fredry 10
61-701 Poznań
tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax (+48 61) 854 61 07

potwierdza się zgodność
z oryginałem:

21.06.2011

Przewodniczący Komisji

Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

Podpisy członków Komisji Bioetycznej - Dotyczy Uchwały nr 605/M z dnia 16.06.2011r.

prof. dr hab. JANUSZ WIŚNIEWSKI

prof. dr hab. ROMAN SZULC

prof. dr hab. JANUSZ SZYMAŚ

prof. dr hab. WOJCIECH SŁUŻEWSKI

prof. dr hab. HENRYK WYSOCKI

dr hab. MACIEJ KRAWCZYŃSKI prof. UM

dr hab. ROBERT SPACZYŃSKI prof. UM

dr med. PIOTR TOMCZAK

prof. dr hab. PAWEŁ CHĘCIŃSKI

prof. dr hab. JANUSZ PALUSZAK

ks. prof. dr hab. JERZY TROSKA

dr hab. JERZY W. OCHMAŃSKI prof. UAM

dr farm. OLIMPIA KLIMASZEWSKA

BARBARA LIPIAK
KOMISJA BIOETYCZNA
UMIĘTNI
UNIWERSYTET MEDYCZNY
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Fredry 10
61-701 Poznań
tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax (+48 61) 854 61 07

21.06.2011

potwierdza się zgodność
z oryginałem

MISJA BIOETYCZNA
 przy
UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
 a. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
 61-701 Poznań, ul. Fredry 10
 tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
 fax (+48 61) 854 61 07

SKŁAD OSOBOWY KOMISJI BIOETYCZNEJ

16.06.2011r.

z dnia

Lp	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy
1.	Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Zygmunt Przybylski	medycyna sądowa	Katedra Medycyny Sądowej UM ul. Świącickiego 6, Poznań
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, Poznań
3.	prof. dr hab. Roman Szulc	anestezjologia i reanimacja, otolaryngologia	I Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii UM, ul. Długa 1/2, Poznań
4.	prof. dr hab. Janusz Szymaś	anatomia patologiczna	Katedra Patomorfologii Klinicznej UM ul. Przybyszewskiego 49, Poznań
5.	prof. dr hab. Wojciech Służewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UM ul. Szpitalna 27/33, Poznań
6.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych UM ul. Przybyszewskiego 49, Poznań
7.	dr hab. Maciej Krawczyński prof. UM	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UM ul. Grunwaldzka 55, Poznań
8.	dr hab. Robert Spaczyński prof. UM	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UM, ul. Polna 33, 60-535 Poznań
9.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UM, ul. Łąkowa 1/2, Poznań
10.	prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UM, ZOZ MSWiA ul. Dojazd 34, Poznań
11.	prof. dr hab. Janusz Paluszak	fizjologia kliniczna	Katedra i Zakład Fizjologii UM, ul. Świącickiego 6
12.	ks. prof. dr hab. Jerzy Troska	teologia, etyka	Wydział Teologiczny UAM, ul. Wieżowa 2/4, Poznań
13.	dr hab. Jerzy W. Ochmański prof. UAM	prawnik	Wydział Prawa UAM, ul. Św. Marcin 90, Poznań
14.	dr farm. Olimpia Klimaszewska	farmaceuta	Apteka „Kalifarm”
15.	Barbara Lipiak	pielęgniarka	ZOZ Grunwald