

Rozprawa doktorska „Ocena przydatności biomarkerów ostrego uszkodzenia nerki (AKI) w oznaczeniu stopnia uszkodzenia strukturalnego nerki po zabiegu litotrypsji pozaustrojowej”.

Streszczenie

ESWL (litotrypsja zewnątrzustrojowa falami uderzeniowymi) to technika mało inwazyjnego leczenia kamicy moczowej, która obarczona jest ryzykiem powikłań, niekiedy poważnych. W trakcie zabiegu oraz po jego zakończeniu dochodzić może do uszkodzenia strukturalnego i funkcjonalnego nerki. Jego diagnostyka zazwyczaj oparta jest o pomiar stężenia kreatyniny w surowicy, jednak bywa to niewystarczające w wykryciu uszkodzenia nerek na wczesnym etapie. Kamica układu moczowego jest chorobą nawrotową i u wielu pacjentów zabieg ESWL może być powtarzany. Istnieje zatem potrzeba opracowania specyficznych i czułych testów opartych na biomarkerach do rozpoznawania przejściowego uszkodzenia nerek po ESWL, aby określić rzeczywisty stopień uszkodzenia narządu podczas leczenia.

Niniejsza praca jest badaniem prospektywnym, randomizowanym. Pierwszym jej celem była ocena przydatności zastosowania biomarkerów ostrego uszkodzenia nerki (AKI) w oznaczeniu stopnia uszkodzenia strukturalnego nerki po zabiegu litotrypsji pozaustrojowej (ESWL). Wybrano do tego markery AKI o dobrze scharakteryzowanej i opisanej w literaturze czułości i swoistości, wydzielanych do moczu w różnych miejscach nefronu – NGAL, KIM-1, IL-18, TGFβ. Porównano stężenie markerów w moczu z rutynowo stosowanymi w praktyce klinicznej laboratoryjnymi wskaźnikami czynności nerek – kreatyniną w surowicy, mocznikiem, kwasem moczowym. Drugim celem pracy było porównanie ze sobą dwóch protokołów zabiegowych ESWL – standardowego, wykorzystującego zalecaną częstotliwość 60 Hz oraz koncepcyjnego, do tej pory zbadanego jedynie w warunkach *in vitro*, wykorzystującego częstotliwość łączoną 60 i 120 Hz. Porównanie dotyczyło bezpieczeństwa zabiegu, wyrażonego między innymi ilością wydzielanych do moczu biomarkerów, oraz jego czasu trwania i skuteczności leczenia.

Do badania włączono 85 pacjentów z kamicią nerki jednostronną – pierwszorazową lub nawrotową, w tym 31 mężczyzn i 54 kobiety. W badaniu wzięli udział pacjenci z pojedynczym kamieniem nerkowym w miedniczce nerkowej lub kielichu nerki (górnym, środkowym lub dolnym). Pacjentów podzielono na dwie grupy – u 41 pacjentów wykonano zabieg ESWL przy zastosowaniu częstotliwości 60 Hz (2000 impulsów), a u 44 pacjentów zastosowano częstotliwość początkowo 60 Hz (pierwsze 1000 impulsów), a następnie 120 Hz (drugie 1000 impulsów).

Przed zabiegiem i 1 godzinę po, 24 godziny po oraz 7 dni po zabiegu pobrano krew i mocz na badania. Metodą ELISA oznaczono wartości stężeń biomarkerów AKI w moczu – NGAL, KIM-1,

TGFβ, Il-18. Stężenie markerów odzwierciedlających uszkodzenie nerek w próbkach moczu oznaczono za pomocą dostępnych komercyjnie testów immunoenzymatycznych ELISA (R&D) zgodnie z dostępnymi protokołami. Oznaczono również poziom kreatyniny, mocznika, kwasu moczowego w surowicy. Po 30 dniach oceniono skuteczność zabiegu w kontrolnym badaniu USG i RTG. Wykonano analizę statystyczną.

W pracy wykazano, że ESWL jest zabiegiem, po którym dochodzi na wczesnym etapie do wzrostu stężenia markerów ostrego uszkodzenia nerki (AKI) w moczu, co sugeruje lokalne uszkodzenie miąższu nerki. Proces ten nie jest wykrywany przy użyciu klasycznych laboratoryjnych parametrów nerkowych (mocznik, kwas moczowy, kreatynina w surowicy, eGFR). Jest to zjawisko przemijające i w przeciągu doby dochodzi do spadku poziomu markerów w moczu do stanu wyjściowego. W czasie trwania badania u pacjentów nie zanotowano istotnego wzrostu stężenia kreatyniny w surowicy, ani też pacjenci nie demonstrowali klinicznych objawów AKI. Badanie to, jako pierwsze, przeprowadzono na tak licznej grupie. Warto też wspomnieć, że zostało zaprojektowane, aby ocenić, na którym etapie doszło do uszkodzenia strukturalnego nerki po ESWL. W tym celu wybrano białka wydzielane na różnych odcinkach nefronu. Wykazano, po raz pierwszy, że działanie fal uderzeniowych nie jest selektywne w stosunku do struktur nefronu i wszystkie markery AKI wykazały istotny wzrost w okresie pozabiegowym.

Porównano również ze sobą, po raz pierwszy w literaturze, dwa protokoły zabiegowe z zastosowaniem różnych częstotliwości – standardowej 60 Hz i koncepcyjnej, podwójnej 60/120 Hz. Oceniono je pod kątem skuteczności zabiegu i bezpieczeństwa dla pacjenta, wyrażonego poziomem wydzielanych do moczu biomarkerów, parametrów nerkowych, oceną bólu w skali VAS i obecnością krwiaków nerkowych w kontrolnych badaniach obrazowych. Wykazano, że zastosowanie podwójnej częstotliwości pozwala na istotne skrócenie czasu zabiegu, przy braku różnicy w skuteczności zabiegu i podobnym profilu bezpieczeństwa.

Summary

ESWL (extracorporeal shock wave lithotripsy) is a technique of minimally invasive treatment of urolithiasis, which carries the risk of complications, sometimes serious ones. During the procedure and after its completion, the kidney may suffer structural and functional damage. Its diagnosis is usually based on the measurement of serum creatinine concentration, however, it may be insufficient in detecting kidney damage at an early stage. Urolithiasis is a recurrent disease and ESWL may be repeated in many patients. Therefore there is a need to develop specific and sensitive biomarker-based tests for the diagnosis of transient kidney injury following ESWL to determine the actual degree of organ damage during treatment.

This work is a prospective, randomized study. Its first goal was to assess the usefulness of the use of acute kidney injury biomarkers (AKI) in determining the degree of structural damage to the kidney after extracorporeal lithotripsy (ESWL). For this purpose, AKI markers with well-characterized sensitivity and specificity, secreted into urine at various sites of the nephron - NGAL, KIM-1, IL-18, TGF β , were selected. The concentration of markers in urine was compared with laboratory indicators of renal function routinely used in clinical practice - serum creatinine, urea, and uric acid. The second aim of the study was to compare two ESWL treatment protocols - the standard one, using the recommended frequency of 60 Hz, and the conceptual one, so far tested only in in vitro conditions, using a combined frequency of 60 and 120 Hz. The comparison concerned the safety of the procedure, expressed, inter alia, by the amount of biomarkers excreted in the urine, as well as its duration and treatment effectiveness.

The study included 85 patients with unilateral nephrolithiasis - first-time or recurrent, including 31 men and 54 women. Patients with a single kidney stone in the renal pelvis or calyx (upper, middle or lower) were enrolled. The patients were divided into two groups - 41 patients underwent the ESWL procedure using the frequency of 60 Hz (2000 pulses), and in 44 patients the frequency was initially 60 Hz (first 1000 pulses), then 120 Hz (the second 1000 pulses). Before and 1 hour after, 24 hours after and 7 days after surgery, blood and urine were collected for testing. The concentration of AKI biomarkers in urine - NGAL, KIM-1, TGF β , IL-18 were determined by the ELISA method. The concentration of markers reflecting kidney damage in urine samples was determined by commercially available enzyme-linked immunosorbent assays (R&D) according to available protocols. Serum creatinine, urea and uric acid levels were also determined. After 30 days, the effectiveness of the treatment was assessed in a follow-up ultrasound and X-ray examination. Statistical analysis was performed.

The study showed that ESWL is a procedure that leads to an early increase in the concentration of markers of acute kidney injury (AKI) in the urine, which suggests local damage to the renal

parenchyma. This process is not detected using classical laboratory renal parameters (urea, uric acid, serum creatinine, eGFR). It is a transient phenomenon and within 24 hours the level of markers in the urine decreases to the baseline level. There was no significant increase in serum creatinine levels in patients during the course of the study, nor did patients demonstrate clinical symptoms of AKI. This study was the first to be conducted on such a large group. It is also worth mentioning that it was designed to assess at what stage the structural damage of the kidney occurred after ESWL. For this purpose, proteins secreted in different sections of the nephron were selected. It was demonstrated for the first time that the action of shock waves is not selective for nephron structures and all AKI markers showed a significant increase in the postoperative period. For the first time in the literature, two treatment protocols using different frequencies - standard 60 Hz and conceptual, double 60/120 Hz were also compared. They were assessed in terms of the effectiveness of the procedure and safety for the patient, expressed in the level of urinary biomarkers, renal parameters, pain assessment on the VAS scale and the presence of renal hematomas in follow-up imaging studies. It has been shown that the use of double frequency allows for a significant reduction in the duration of the procedure, with no difference in the effectiveness of the procedure and a similar safety profile.