

NEFROLOGO IN CORSA

Lipocalina e Delayed Graft Function nel paziente trapiantato renale



Luigi Russo¹, Rosa Carrano¹, Gaetano Corso², Antonio Dello Russo³, Monica Gelzo³, Paola Napolitano¹, Stefano Federico¹, Domenico Russo¹

(1) Dipartimento di Sanità Pubblica; Unità di Nefrologia, Università degli Studi di Napoli Federico II

(2) Università degli Studi di Napoli "Federico II"; Dipartimento di Clinica Sperimentale Università degli Studi di Foggia

(3) Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Corrispondenza a: Luigi Russo, PhD; Dipartimento di Sanità Pubblica; Unità di Nefrologia Università degli Studi di Napoli "Federico II" Via S. Pansini, 5; 80131 Napoli; Cel: +39 328 2823966 Fax: +39 081 7464305 Mail:

luigirusso82@hotmail.it

Abstract

INTRODUZIONE: Il rene trapiantato è esposto agli effetti dell'ischemia-riperfusionne responsabili di ritardata ripresa funzionale dell'organo (delayed graft function; DGF). DGF può incidere negativamente sull'evoluzione del rene trapiantato. Nel presente studio è stato valutato il ruolo della lipocalina urinaria quale predittore di DGF.

MATERIALI E METODI: Sono stati valutati pazienti sottoposti a trapianto di rene da donatore cadavere. Prelievi ematici erano effettuati immediatamente prima del trapianto. Le urine erano raccolte per le 24 ore successive al trapianto. DGF era definita dalla necessità di trattamento dialitico entro la prima settimana dal trapianto.

RISULTATI: Sono stati valutati 20 pazienti. I pazienti che avevano una rapida ripresa funzionale del rene trapiantato (NO-DGF) erano 14 (70%). DGF era osservata in 6 pazienti. L'età media nei DGF era superiore (58±6 Vs 51±11, p=0.001). Nei pazienti DGF risultavano significativamente ridotta la diuresi (57±35 Vs 4150 ± 2230 ml/24h; p=0.001) e la escrezione urinaria di creatinina (191±184 Vs 683±660 mg/24h; p=0.001), misurate nel primo giorno successivo al trapianto. Non erano osservate significative differenze tra pazienti DGF e NO-DGF per la escrezione urinaria di lipocalina (1,20±2,20 Vs 2,44±4,0 mg/24h; p<0.20). In univariata, DGF risultava associata negativamente alla diuresi (r2=-0.795, p=0.001) ed alla escrezione urinaria di creatinina (r2=-0.480, p=0.037) e positivamente all'età (r2=0.446, p=0.049). In multivariata diuresi (p=0.014) ed escrezione urinaria di creatinina (p=0.039) erano associati a DGF.

CONCLUSIONI: Lipocalina urinaria, misurata nel giorno successivo al trapianto renale, non è biomarcatore predittivo di DGF. I risultati del presente studio possono essere stati influenzati dal campione limitato di pazienti e dalla bassa incidenza di DGF.

Parole chiave: IRA, Lipocalina, ritardata ripresa funzionale, trapianto renale

Lipocalin and Kidney Transplant

INTRODUCTION: Kidney transplantation is frequently complicated by delayed graft function (DGF). DGF is associated with more frequent rejection episodes, increased need of post-transplantation biopsies, dialysis sessions and prolonged hospitalization. These complications may have negative impact on long-term survival of transplanted kidney. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (uNGAL) is regarded as

acute kidney injury marker. This preliminary study aimed at evaluating whether uNGAL may be early predictor of DGF in kidney transplanted patients.

SUBJECTS AND METHODS: Urine samples were collected from renal transplant recipients on day 1 post-transplantation to determine 24/h urinary NGAL and creatinine excretion. On same day, routine blood chemistry was assessed.

RESULTS: N. 20 renal transplant recipients were evaluated. DGF was observed in n. 6 patients (DGF-patients). In DGF-patients compared to NO-DGF-patients, mean age was higher (58 ± 6 Vs 51 ± 11 , $p=0.001$), while 24/h urine output (57 ± 35 Vs 4150 ± 2230 ml/24h; $p=0.001$) and urinary creatinine excretion (191 ± 184 Vs 683 ± 660 mg/24h; $p=0.001$) were lower. No difference was found between DGF- and NO-DGF-patients in 24/h urinary NGAL excretion ($1,20 \pm 2,20$ Vs $2,44 \pm 4,0$ mg/24h; $p<0.20$). In univariate analysis, DGF was inversely associated to 24/h urine output ($r^2=-0.795$, $p=0.001$) and urinary creatinine excretion ($r^2=-0.480$, $p=0.037$) and positively to age ($r^2=0.446$, $p=0.049$). In multivariate analysis 24/h urine output ($p=0.014$) and 24/h urinary creatinine excretion ($p=0.039$) were associated to DGF.

CONCLUSION: This preliminary study suggests that 24/h urinary NGAL excretion, measured 1 day after kidney transplantation, is not a reliable predictor of DGF. Larger study with longer observation period is mandatory.

Key words: delayed graft function, kidney transplantation, NGAL

Introduzione

Nel corso del trapianto di rene possono verificarsi alterazioni provocate dall'ischemia-ri-perfusione, responsabili di ritardata ripresa funzionale del rene trapiantato (Delayed Graft Function; DGF).

La DGF può incidere negativamente sull'evoluzione del trapianto di rene sia nel tempo immediatamente successivo all'impianto sia a distanza di tempo.

Le alterazioni indotte dall'ischemia-ri-perfusione in corso di trapianto renale possono essere assimilate a quelle ritenute responsabili di danno renale acuto (acute kidney injury, AKI) [1] (full text) [2] (full text).

I marcatori biochimici di AKI più utilizzati nella pratica clinica sono: lipocalina (NGAL), interleuchina 18 (IL-18), cistatina C, kidney injury molecole-1 (KIM-1), attività N-acetil-beta-(D)-glucosaminidasi (NAG).

Lo scopo del presente studio è stato quello di verificare se la lipocalina urinaria è sensibile predittore di DGF.

Pazienti e metodi

In questo studio prospettico sono stati valutati pazienti sottoposti a trapianto di rene presso il Centro Trapianti dell'Università Federico II di Napoli nel periodo Luglio 2011- Giugno 2013.

Criteri di inclusione erano: ricevente di età >18 anni e con diuresi residua assente, impianto di singolo rene da donatore cadavere, procedure chirurgiche effettuate dallo stesso operatore, stessa terapia immunosoppressiva, follow-up post-trapianto affidato allo stesso team chirurgico/nefrologico.

Prelievi ematici erano effettuati immediatamente prima della procedura di impianto e successivamente ogni 12 ore. Le urine erano raccolte per le 24 ore successive al trapianto. I prelievi ematici e le raccolte urinarie erano effettuati nei cinque giorni successivi al trapianto.

I pazienti erano suddivisi in 2 gruppi in base alla comparsa di DGF.

DGF era definita dalla necessità di trattamento dialitico entro la prima settimana dal trapianto [2] (full text) [3] (full text) [4].

Lipocalina e creatinina urinaria erano riportate sia come concentrazione assoluta (mg/dL), sia come escrezione per 24/h; inoltre, la lipocalina era riportata come escrezione per 24/h normalizzata per la creatinuria (uNGAL-to-creatinine ratio).

I campioni ematici ed urinari per i dosaggi di biochimica clinica erano analizzati presso il laboratorio centralizzato dell'Azienda Ospedaliera Universitaria "Federico II". I campioni urinari di lipocalina erano analizzati presso il laboratorio afferente al Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche della medesima Azienda. Il dosaggio della lipocalina urinaria era effettuato con metodo immunologico chemiluminescente a cattura di microparticelle (CMIA), utilizzando autoanalizzatore per analisi in chemiluminescenza (Abbott ARCHITECHT i 1000SR).

I campioni ematici erano centrifugati a 2500 rpm per 15 minuti, mentre i campioni di urine erano sottoposti a centrifugazione a 2000 rpm per 10 minuti e il sopranatante congelato a -20°C fino al momento dell'analisi.

I dati sono riportati come media \pm deviazione standard, mediana e range interquartile, oppure come frequenze. Il T-test ed il χ^2 erano usati per il confronto tra gruppi. Variabili risultanti significativamente associate all'evento DGF nella analisi univariata (Pearson's test) erano inserite nell'analisi multivariata per determinare la variabile che meglio prediceva l'evento DGF.

Valore di $P < 0.05$ era considerato significativo. SPSS, versione 19, era usato per l'analisi statistica.

Risultati

Sono stati valutati 20 pazienti (15 maschi).

I pazienti che avevano una rapida ripresa funzionale del rene trapiantato (NO-DGF) erano 14 (70%; 78,6 % sesso maschile). La DGF era osservata in 6 pazienti (30%; 60% di sesso maschile). L'età media dei soggetti appartenenti al gruppo DGF era superiore a quella dei pazienti NO-DGF (58 \pm 6 Vs 51 \pm 11, $p=0.001$).

Risultavano significativamente ridotte la diuresi (57 \pm 35 Vs 4150 \pm 2230 ml/24h; $p=0.001$) e la escrezione urinaria di creatinina (191 \pm 184 Vs 683 \pm 660 mg/24h; $p=0.001$), misurate nel primo giorno successivo al trapianto nei pazienti DGF confrontati con i pazienti NO-DGF. Non erano osservate significative differenze tra pazienti DGF e NO-DGF per la escrezione urinaria di lipocalina (1,20 \pm 2,20 Vs 2,44 \pm 4,0 mg/24h; $p < 0.20$), per il valore del ratio e per la escrezione urinaria di sodio e di potassio nelle misurazioni effettuate nel primo giorno successivo al trapianto.

Nell'analisi univariata, la DGF risultava associata negativamente alla diuresi ($r^2 = -0.795$, $p=0.001$) ed alla escrezione urinaria di creatinina ($r^2 = -0.480$, $p=0.037$) e positivamente all'età ($r^2 = 0.446$, $p=0.049$). Nell'analisi multivariata fattori associati significativamente alla DGF erano la diuresi ($p=0.014$) e la escrezione urinaria di creatinina ($p=0.039$).

Discussione

Individuare un predittore di DGF in pazienti sottoposti a trapianto renale è di notevole rilevanza clinica essendo la DGF strettamente associata alla perdita di funzione dell'organo non

solo nel tempo immediatamente successivo al trapianto ma anche a distanza dallo stesso [2] (full text). Inoltre, una diagnosi precoce di DGF consente di modulare la terapia immunosoppressiva, potenziare i tempi del follow-up, di stimare i tempi di ospedalizzazione

Per lungo tempo la concentrazione plasmatica di creatinina ed azotemia è stata utilizzata quale biomarcatore della funzione renale nell'immediato follow-up del paziente trapiantato renale [5] [6] (full text). Purtroppo, sia la creatinina che l'azotemia sono poco sensibili poiché sono entrambe influenzate da fattori quali lo stato di nutrizione, la terapia con steroidi, la massa muscolare, l'età e il sesso [6] (full text). Pertanto, nuovi marcatori in grado di predire precocemente e con maggiore sensibilità e specificità l'insorgenza di DGF sono stati presi in considerazione nel corso degli ultimi anni. La maggior parte di essi erano stati già valutati in diverse condizioni cliniche caratterizzate da AKI; successivamente il loro ruolo è stato valutato anche nel paziente trapiantato, essendo la DGF assimilabile ad una condizione di AKI [7] (full text) [8] [9].

Tra i suddetti biomarcatori, la lipocalina è stata estensivamente studiata e considerata come affidabile biomarcatore anche nel trapianto renale [2] (full text) [7] (full text) [9] [10]. In questa ultima condizione clinica, infatti, la escrezione urinaria di lipocalina, misurata nel giorno successivo al trapianto, risultava sempre significativamente più elevata nei pazienti che presentavano DGF rispetto ai pazienti con ripresa funzionale rapida del rene trapiantato [2] (full text) [11] (full text). Inoltre, la escrezione urinaria di lipocalina persisteva più elevata nei 5 giorni successivi al trapianto ed era significativamente e positivamente associata alla creatininemia [1] (full text) [11] (full text). Pertanto, la lipocalina urinaria è risultata essere un predittore precoce di DGF quando confrontato con la creatininemia [11] (full text).

I dati del presente studio sono in netto contrasto con quanto riportato da altri. Dall'analisi univariata, infatti, la lipocalina urinaria era inversamente associata a DGF; dall'analisi multivariata, la lipocalina urinaria non era variabile associata a DGF; nel confronto tra gruppi la lipocalina urinaria era più elevata nel gruppo NO-DGF rispetto al gruppo DGF sia nel primo che nel secondo giorno dal trapianto.

Tale discrepanza non trova una plausibile spiegazione nei tempi di raccolta, nel dosaggio della lipocalina, nelle caratteristiche cliniche dei pazienti valutati. Unica caratteristica distintiva dei pazienti del presente studio è che essi erano stati selezionati sull'accertata assenza di diuresi residua dei reni nativi. Dati sulla diuresi residua non sono stati riportati dagli altri studi. È importante sottolineare che la diuresi residua è stata considerata importante "confounder" per la corretta valutazione delle variabili urinarie utilizzate per la diagnosi di DGF [2] (full text). Altra plausibile spiegazione per i dati contrastanti osservati nel presente studio è nella numerosità del campione studiato e la bassa incidenza di DGF registrata.

I dati del presente studio, per quanto non confermino per la lipocalina il ruolo di biomarcatore predittivo di DGF, forniscono interessanti informazioni. Nell'analisi multivariata, la diuresi era la variabile significativamente e positivamente associata a DGF fin dal primo giorno dal trapianto. La creatininemia era significativamente più alta nei pazienti DGF per tutto il periodo di osservazione, ma risultava associata a DGF solo al 3° giorno dal trapianto. La latenza conferma che la creatininemia non possa rappresentare un valido biomarcatore di DGF [1] (full text).

Conclusioni

Lipocalina urinaria, misurata nel giorno successivo al trapianto renale, non è biomarcatore predittivo di DGF.

I risultati del presente studio possono essere stati influenzati dal numero limitato di pazienti e dalla bassa incidenza di DGF registrata.

Bibliografia

[1] Fonseca I, Oliveira JC, Almeida M et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation is an early marker of graft dysfunction and is associated with one-year renal function. *Journal of transplantation* 2013;2013:650123 (full text)

[2] Hall IE, Yariagadda SG, Coca SG et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2010 Jan;21(1):189-97 (full text)

[3] Sureshkumar KK, Hussain SM, Ko TY et al. Effect of high-dose erythropoietin on graft function after kidney transplantation: a randomized, double-blind clinical trial. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2012 Sep;7(9):1498-506 (full text)

[4] Haase-Fielitz A, Haase M, Devarajan P et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Annals of clinical biochemistry* 2014 May;51(Pt 3):335-51

[5] Haase M, Mertens PR Biomarkers: more than just markers! *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2014 Apr 21;

[6] Siew ED, Ware LB, Gebretsadik T et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin moderately predicts acute kidney injury in critically ill adults. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2009 Aug;20(8):1823-32 (full text)

[7] Soni SS, Ronco C, Katz N et al. Early diagnosis of acute kidney injury: the promise of novel biomarkers. *Blood purification* 2009;28(3):165-74 (full text)

[8] Soto K, Papoila AL, Coelho S et al. Plasma NGAL for the diagnosis of AKI in patients admitted from the emergency department setting. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2013 Dec;8(12):2053-63

[9] Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E et al. Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2013 Feb;28(2):254-73

[10] Smith ER, Lee D, Cai MM et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin may aid prediction of renal decline in patients with non-proteinuric Stages 3 and 4 chronic kidney disease (CKD). *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2013 Jun;28(6):1569-79

[11] Parikh CR, Jani A, Mishra J et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2006 Jul;6(7):1639-45 (full text)