

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
“IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ**

# **TEZĂ DE DOCTORAT**

## **Rezumat**

**Insuficiența renală acută - implicații  
etiopatogenetice, prognostic și perspective  
terapeutice**

**Conducător științific**

**Prof. Dr. Mirela Gherman Căprioară**

**Doctorand**

**Melania Airizer**

**Cluj Napoca**

**2011**

# CUPRINS

<b>1. Introducere</b> .....	6
<b>2. Stadiul actual al cunoașterii</b> .....	9
2.1. Concepte noi privind definiția și diagnosticul insuficienței renale acute .....	9
2.2. Implicarea stressului oxidativ în etiopatogenia insuficienței renale acute.....	12
2.3. Modele experimentale de insuficiență renală acută.....	20
2.4. Biomarkeri în diagnosticul precoce al insuficienței renale acute.....	31
2.5. Perspective terapeutice în insuficiența renală acută.....	36
<b>3. Contribuții personale:</b>	
<b>3.1. Evaluarea balanței oxidanți/ antioxidanți pe un model experimental de insuficiență renală acută</b>	
3.1.1. Obiective.....	38
3.1.2. Material și metodă.....	40
3.1.3. Rezultate.....	46
3.1.4. Discuții.....	111
3.1.5. Concluzii.....	113
<b>3.2. Studiul unor parametri de stress oxidativ la pacienți diagnosticați cu insuficiență renală acută cu necesar de hemodializă</b>	
3.2.1. Obiective.....	114
3.2.2. Material și metodă.....	115
3.2.3. Rezultate.....	117

3.2.4. Discuții.....	139
3.2.5. Concluzii.....	139
<b>3.3. Lipocalina 2 (NGAL) - marker de predicție a insuficienței renale acute în secția de terapie intensivă</b>	
3.3.1. Obiective.....	140
3.3.2. Material și metodă.....	141
3.3.3. Rezultate.....	143
3.3.4. Discuții.....	162
3.3.5. Concluzii.....	163
<b>4. Concluzii generale.....</b>	<b>164</b>
<b>5. Contribuții personale și perspective .....</b>	<b>166</b>
<b>6. Referințe.....</b>	<b>167</b>

**Cuvinte cheie:** insuficiența renală acută, stress oxidativ, N acetilcisteina, studiu experimental, biomarkeri, NGAL( lipocalina 2)

**Premize:** Insuficiența renală acută (IRA) este o entitate clinicobiologică complexă cu o rată de mortalitate și morbiditate foarte mare (aproximativ 50% din pacienți) care se poate manifesta în numeroase modalități, de la creșteri minime ale creatininei serice și până la insuficiența renală acută severă, anurică, cu necesar de dializă. Cu cât timpul scurs până la diagnosticarea IRA este mai lung, cu atât consecințele sunt mai importante și mai complexe. Este necesară descoperirea unor biomarkeri care să pună în evidență leziunea renală imediat după producerea ei.

Mecanismele implicate în producerea insuficienței renale acute, intens studiate, nu sunt încă complet elucidate. Implicarea stressului oxidativ în producerea insuficienței

renale acute a fost stabilită în studii recente, cele mai multe experimentale. Există însă foarte puține studii clinice referitoare la relația dintre stressul oxidativ- insuficiența renală acută- hemodializa acută.

Modelele experimentale folosite frecvent în nefrologia experimentală mondială, nu au fost folosite în România, medicina experimentală nefrologică fiind încă la început în țara noastră.

**Teza se constituie în două studii clinice și un studiu experimental.**

Primul studiu intitulat „*Evaluarea balanței oxidanți/ antioxidanți pe un model experimental de insuficiență renală acută*” este un studiu experimental realizat în colaborare cu Catedra de Fiziologie a Universității de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca.

### **Obiective:**

1. Efectuarea modelului experimental de ischemie- reperfuzie renală
2. Evaluarea eficienței inducerii ischemiei renale
3. Aprecierea severității leziunilor renale determinate de inducerea ischemiei renale
4. Analiza histologică în microscopie optică a fragmentelor renale
5. Aprecierea implicării stressului oxidativ în apariția leziunilor de ischemie-reperfuzie renală
6. Stabilirea corelației dintre markerii oxidanți și cei antioxidanți
7. Evaluarea rolului terapeutic al N acetilcisteinei în ameliorarea leziunilor ischemice renale
8. Aprecierea relației între doza de N acetilcisteină administrată și leziunile renale produse de sindromul de ischemie- reperfuzie renală
9. Evaluarea supraviețuirii la cele trei loturi de animale la care s-a intervenit chirurgical

Cercetările au fost efectuate pe șobolani albi, masculi, rasa Wistar, adulți, cu greutatea de 160-180 grame/animal, proveniți din biobaza Universității de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca. Animalele au fost menținute în condiții zooigienice de vivarium corespunzătoare, standardizate, în biobaza Catedrei de

Fiziologie – UMF “Iuliu Hațieganu”, la temperatura ambientală de 22 grade Celsius, hrană standardizată și apă ”ad libitum”, cu un ciclu lumină - întuneric de 12 ore și au fost lăsate timp de o săptămână să se adapteze înainte de începerea experimentului.

### **Protocolul experimental:**

S-au grupat animalele în patru loturi:

- lotul martor (0)- 11 animale
- lotul I - animalele supuse modelului de ischemie-reperfuzie renală-22 animale
- lotul II - animalele au fost tratate cu acetilcisteină, 200 mg/kg corp intraperitoneal cu 72 de ore, 24 ore și 3 ore înaintea intervenției chirurgicale și apoi la 3 ore, 24 ore și 72 de ore postoperator- 25 animale
- lotul III cuprinde animalele la care s-a administrat doză dublă de acetilcisteină (400 mg/kg c) intraperitoneal, la aceleași intervale de timp ca și în cazul lotului II- 20 animale

S-a efectuat narcoza animalelor pe o durată de 60 de minute, necesară pentru intervenția operatorie, cu un anesteziec mixtură, constituit din: 2/3 ketamină (Ketaminol 10, uz veterinar: 1 ml/kg corp) și 1/3 xilazină (Xylocontact 50 mg/ml, pentru uz veterinar: 0,5 ml/kg corp). Tehnica operatorie a fost următoarea: animalul narcotizat s-a imobilizat pe masa de intervenție, după care s-a efectuat epilare totală în regiunea lombară. S-a făcut apoi dezinfecție riguroasă cu Povidon-Iodine (Betadină), soluție 10 %. S-a practicat o incizie longitudinală cutaneomusculară în regiunea lombară dreaptă, la o distanță de 0,5-1 cm față de ultima coastă.

S-au decolat planurile anatomice până la identificarea rinichiului drept, acesta s-a adus în planul operator unilateral, s-a clampat timp de 3 minute pediculul vascular și ureterul, după care s-a practicat nefrectomie totală cu hemostază locală consecutivă și ligatura ureterului restant.

S-au decolat apoi planurile anatomice până la identificarea rinichiului stâng, care a fost adus în planul operator unilateral, s-a izolat artera renală stângă și s-a clampat timp de 30 de minute, timp în care rinichiul a fost umectat cu ser fiziologic.

Ulterior rinichiul a fost repus în loja renală, s-a verificat reperfuzia acestuia și s-a suturat plan cu plan, în ordinea inversă inciziei. Postoperator, animalele au fost ținute timp de 3 ore la temperatura de 24-25 grade Celsius, într-un mediu cu umiditate 60%. S-a recoltat sânge venos în recipiente cu anticoagulant la 1 zi (24 ore), 3 zile (72 ore) și 7 zile postoperator, la toate cele patru loturi de animale, după care animalele au fost sacrificate.

S-a înregistrat **mortalitatea la 1 zi, 3 zile și 7 zile postoperator**, s-au determinat **creatinina serică** prin metoda Jaffe, **malondialdehida serică** (nmol/ml) prin fluorescență, **superoxiddismutaza**, **catalaza**, **oxidul nitric** și **glutathionul**. S-au examinat în **microscopie optică** fragmente de țesut renal de la șobolanii din lotul I și III. Recoltările de țesut renal s-au făcut la sfârșitul studiului.

**Rezultatele** obținute au demonstrat realizarea corectă a modelului experimental, ischemia renală fiind obiectivată prin creșterea creatininei serice și prin punerea în evidență a leziunilor de necroză tubulară acută. Parametrii prooxidanți au fost crescuți după inducerea ischemiei renale iar cei antioxidanți au fost semnificativ mai mici. N acetilcisteina a ameliorat leziunile renale. Dublarea dozei de acetilcisteină nu a determinat o ameliorare suplimentară a stressului oxidativ.

Al doilea studiu intitulat” *Studiul unor parametri de stress oxidativ la pacienți diagnosticați cu insuficiență renală acută severă cu necesar de hemodializă acută*” este un studiu clinic, de tip transversal, analitic, observațional.

## **Obiective :**

-evaluarea efectului hemodializei asupra unor parametri de stress oxidativ la pacienții cu insuficiență renală acută;

-evaluarea balanței oxidanți/antioxidanți la pacienți diagnosticați cu insuficiență renală acută cu necesar de hemodializă acută față de un lot martor ;

- analiza relației dintre creatinina serică și caracteristicile generale ale pacienților- vârstă, sex, etiologia insuficienței renale acute;

- evaluarea relației dintre parametrii de stress oxidativ studiați și caracteristicile generale ale pacienților- vârstă, sex, mediul de proveniență, etiologia insuficienței renale acute.

## **Material și metodă:**

A fost constituit un lot de 28 de pacienți diagnosticați cu insuficiență renală acută cu necesar de hemodializă acută internați în Clinica Nefrologie “Mihai Manasia” Cluj –Napoca, în perioada noiembrie 2008- ianuarie 2009.

Criterii de includere:

- pacienți cu funcție renală normală în ultimele trei luni care au prezentat o creștere bruscă și susținută a retenției azotate;
- pacienți cu afectare renală preexistentă la care s-a înregistrat o creștere a creatininei serice cu cel puțin 50 % față de valoarea creatininei serice de fond;
- toți pacienții incluși în lotul studiat au necesitat tratament de supleere a funcției renale, indicațiile de hemodializă fiind cele clasice: hiperhidratare care nu a răspuns la tratamentul conservativ, dezechilibre ionice majore-hiperpotasemie severă- peste 7 mEq/l, acidoză metabolică severă ce nu a putut fi corectată prin mijloace conservative.

Criterii de excludere:

- pacienți cunoscuți cu boală cronică de rinichi stadiul KDOQI V, în program de hemodializă cronică.

Un număr de 10 voluntari a fost inclus în lotul martor.

S-au determinat următorii parametri de stress oxidativ: malondialdehida, superoxid-dismutaza și catalaza serică, înainte și după prima ședință de hemodializă.

La lotul martor s-a recoltat creatinina serică și parametri de stress oxidativ identici cu cei de la lotul de pacienți cu insuficiență renală acută.

**Rezultatele** au demonstrat că pacienții cu insuficiență renală acută prezintă parametri de stress oxidativ semnificativ diferiți față de martorii sănătoși iar ședința de hemodializă ameliorează parametri de stress oxidativ, determinând scăderea parametrilor prooxidanți și creșterea parametrilor antioxidanți.

Al treilea studiu intitulat „*Lipocalina 2 (NGAL) - marker de predicție a insuficienței renale acute în secția de terapie intensivă*” este un studiu clinic, de tip transversal, analitic, observațional.

## Obiective :

1. studiul evoluției NGAL seric la pacienții internați în secția terapie intensivă care au fost supuși unei intervenții chirurgicale;
2. evaluarea corelației NGAL cu creatinina serică, ureea serică, diureza, tip intervenție chirurgicală, pierderi sanguine la pacienți internați în secția terapie intensivă care au fost supuși unei intervenții chirurgicale;
3. aprecierea NGAL ca marker de predicție independent al IRA.

## Material si metodă :

S-au constituit două loturi de pacienți :

Lotul I - 17 pacienți internați în Secția Anestezie Terapie Intensivă Chirurgie I, din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj

Lotul II - 19 pacienți internați în Secția Anestezie Terapie Intensivă, Clinica Chirurgie V- Spitalul Clinic Municipal Cluj

Toți pacienții au fost supuși unei intervenții chirurgicale, moment care s-a considerat ca factor de risc pentru apariția insuficienței renale acute. La pacienții din lotul II intervențiile chirurgicale au fost doar în sfera urologică, în timp ce la pacienții din lotul I tipul intervenției chirurgicale a inclus și sfera digestivă și vasculară. S-a definit apariția insuficienței renale acute ca și creștere cu cel puțin 0,3 mg/dl, susținută- cel puțin 2 zile (clasa AKIN 1).

În funcție de apariția insuficienței renale ambele loturi au fost divizate în două subloturi :

Lotul Ia și IIa – pacienți care **au dezvoltat insuficiență renală acută**;

Lotul I b și II b- pacienți care **nu au dezvoltat insuficiență renală acută**.

S-au înregistrat caracteristicile generale ale pacienților- vârsta, sex, morbidități asociate, s-a notat riscul operator, tipul intervenției chirurgicale, durata intervenției chirurgicale, pierderile sanguine. S-au monitorizat zilnic diureza, tensiunea arterială sistolică și diastolică. Parametrii biologici folosiți în studiu au fost creatinina serică, ureea serică și hemoleucograma. Valoarea acestor parametri a fost notată preoperator și apoi pe o perioadă de 4 zile.

La lotul I s-a efectuat o singură determinare a NGAL plasmatic la un interval de timp de 24 de ore postoperator.



La lotul II s-au efectuat trei determinări de NGAL : preoperator, la 6 ore, la 24 de ore postoperator.

Criterii de excludere :

-pacienți cu insuficiență renală cronică aflați în program de supleere a funcției renale.

Pentru determinarea sensibilității și specificității NGAL la valori diferite de cut-off s-au folosit curbe de tip ROC și s-a calculat aria de sub curbă pentru stabilirea valorii de biomarker a NGAL.

**Rezultatele** obținute au demonstrat valori crescute ale lipocalinei la pacienții care au dezvoltat insuficiență renală acută postoperator și au confirmat NGAL ca marker de predicție al insuficienței renale acute.

### ***Concluzii generale:***

- 1. Stressul oxidativ este unul dintre mecanismele etiopatogenetice implicate în producerea insuficienței renale acute.*
- 2. Realizarea în premieră a modelului experimental de ischemie-reperfuzie renală a fost corectă, leziunile de necroză tubulară acută fiind obiectivate prin analiza histologică a fragmentelor renale.*
- 3. Valorile creatininei serice sunt semnificativ mai mari după inducerea ischemiei renale.*
- 4. Balanța oxidanți- antioxidanți în insuficiența renală acută este afectată prin creșterea markerilor prooxidanți și scăderea markerilor antioxidanți.*
- 5. N acetilcisteina este unul dintre mijloacele terapeutice ce ar putea influența markerii de stress oxidativ, determinând astfel limitarea leziunilor date de acesta.*
- 6. N acetilcisteina determină scăderea valorilor creatininei serice și creșterea valorilor glutathionului seric, catalazei și superoxidismutazei.*
- 7. Leziunile determinate de sindromul de ischemie-reperfuzie renală sunt semnificativ mai reduse după administrarea de N acetilcisteină.*
- 8. Mortalitatea este semnificativ mai scăzută după administrare de N acetilcisteină.*
- 9. Creșterea dozei de N acetilcisteină nu îmbunătățește semnificativ markerii de stress oxidativ.*

10. *Pacienții cu insuficiență renală acută cu necesar de hemodializă acută au un status oxidativ crescut, dar care este ameliorat prin hemodializă.*
11. *Hemodializa acută nu determină normalizarea parametrilor de stress oxidativ, aceștia rămânând mai mari decât la lotul martor.*
12. *Enzimele antioxidante și prooxidante nu prezintă diferențe semnificative în funcție de sex, vârstă, mediul de proveniență și etiologia insuficienței renale acute.*
13. *Lipocalina are valori semnificativ mai mari la pacienții care dezvoltă insuficiență renală acută.*
14. *O singură determinare a NGAL seric postoperator poate fi utilă în depistarea pacienților cu risc pentru dezvoltarea insuficienței renale acute.*
15. *Lipocalina se corelează pozitiv cu creatinina serică, ureea serică și durata intervenției chirurgicale și invers cu diureza.*
16. *Lipocalina este un biomarker renal eficient în predicția insuficienței renale acute.*

Teza cuprinde 142 referințe bibliografice din literatura de specialitate recentă.

Rezultatele studiilor au fost publicate în reviste de specialitate cotate B+.

## **CURRICULUM VITAE**

### **AIRIZER MELANIA RODICA**

- Data nașterii: 04.05.1975
- Părinții: Petru, Macedonia Rodica
- Starea civilă: căsătorită
- Copii: Viktor și Erik
- Adresa: Cluj Napoca, str. Ciucaș nr. 3 ap.41
- Telefon: 0724367437
- E-mail: [melania\\_airizer@yahoo.com](mailto:melania_airizer@yahoo.com)
- Permis de conducere: categoria B.

### **Studii:**

- 1989-1993- Colegiul “ Al. Papiu Ilarian” Târgu-Mureș, secția matematică- fizică
- 1993-1999 - Facultatea de Medicină Generală - Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu- Mureș: media de absolvire- 9.41, media examenului de licență- 10

### **Activitate profesională:**

- 2000-2001- Medic stagiar în Clinica Medicală V, Spitalul Clinic Județean Târgu-Mureș
- 2001-2007 -Medic rezident specialitatea nefrologie - Clinica de Nefrologie și Dializă ”Mihai Manasia” Cluj -Napoca
- Din martie 2007- Medic specialist nefrologie
- 2006-2010-Doctorand cu frecvență bursier UMF “Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca – Clinica de Nefrologie “Mihai Manasia”
- din 2010- Medic specialist nefrolog în Centrul de Dializă Rena Clinic Cluj
- din mai 2011-Angajată ca medic specialist nefrolog a Spitalului Clinic Municipal Cluj Napoca, secția Dializă

### **Pregătire postuniversitară:**

- Congreșele Naționale ale Studenților în Medicină și Tinerilor Medici 1998, 1999, 2000
- Conferința Anuală Națională de Alergologie și Imunologie Clinică Brașov, 1999
- Conferința Națională a Societății Române de Nefrologie- București, 2001
- Congresul Național de Nefrologie, 2003, Cluj Napoca
- The 2nd Renal Failure Academy , Constanța, 2004
- Curs internațional de pregătire postuniversitară în nefrologie organizat de ERA-EDTA, Praga, 2004
- Școala Internațională de Nefrologie, ediția a 11-a, Budapesta , 2004
- The 5-th Renal Failure Academy, Constanța, 2007
- Congresul Național de Nefrologie, Poiana Brașov, 2007
- The 6-th Renal Failure Academy, Venus 2008
- Congresul Național de Nefrologie Sinaia 2009
- Conferința interdisciplinară NefroCardia, Sibiu, 2010

### **Activitatea științifică:**

#### **Lista lucrărilor științifice publicate în extenso ca prim autor sau co-autor:**

1. **Melania Airizer**, R.Moldovan , Nicoleta Decea, Ina Kacso, Crina Rusu, Adriana Muresan, Mirela Gherman Căprioară -*Inducerea insuficienței renale acute pe un model experimental de ischemie-reperfuzie renală realizată pe șobolani Wistar*. Revista Română de Medicină Veterinară, 2010, vol. 20,nr. 1, 85-90 B+ - revista indexata BDI
2. **Melania Airizer**, Remus Moldovan, Nicoleta Decea, Adriana Muresan, Mirela Gherman Caprioara. *The protective role of N-acetylcysteine in an experimental renal ischemia-reperfusion model on Wistar rats*. Studia Universitatis “Vasile Goldiș”, Seria Științele Vieții Vol. 20, issue 1, 2010, pp.13-17, B+ - revista indexata BDI

3. Kacso I, Cristea A, Spânu C, **M. Airizer**, Răcășan S, Pațiu I.M., Pârvu L, Mirela Gherman –Căprioară- *Rolul proteinelor urinare cu greutate moleculară foarte mică în prognosticul nefropatiilor glomerulare*. Nefrologia, 6, 17, 2001, 413-18
4. Kacso I, Rusu A, Racasan S, Patiu IM, Orasan R, Rogoian A, Georgescu C, **Airizer M**, Moldovan D, Gherman –Caprioara M. *Calcific uremic arteriolopathy related to hyperparathyroidism secondary to chronic renal failure. A case-control study*. Acta Endo (Buc) 2008 4(4): 391-400 doi: 10.4183/aeb.2008.391- ISI

**Lista lucrărilor științifice comunicate sau publicate în volum de rezumate :**

1. **Melania Airizer**, Soimita Suciuc, Nicoleta Decea, Remus Moldovan, Adriana Muresan, Mirela Gherman Căprioară. *Rolul N-acetilcisteinei în ameliorarea leziunilor ischemice renale pe un model experimental de ischemie- reperfuzie renală*. Poster, Zilele UMF ” Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca, 2009
2. **M. Airizer**, I. Kacso, S. Suciuc, N. Decea, R.Moldovan, A. Muresan, M. Gherman Căprioară, A. Rusu. *Stresul oxidativ și rolul protectiv al N-acetilcisteinei pe un model experimental de ischemie- reperfuzie renală*. Comunicare orală Congresul Național de Nefrologie Sinaia 2009
3. Kacso I, Cristea A, Spânu C, **M. Airizer**, Răcășan S, Pațiu I.M., Pârvu L, Mirela Gherman –Căprioară -*Rolul proteinelor urinare cu greutate moleculară foarte mică în prognosticul nefropatiilor glomerulare*. Al treilea Congres de Nefrologie Cluj Napoca, 2003 .
4. **M. Airizer**, C. Ureche- *Markeri inflamatori în patologia respiratorie*-Al treilea Congres Național al Studenților în Medicină și al Tinerilor Medici- Sibiu, 1999, caiet rez. (32)
5. **M. Airizer**, C. Ureche -*Teama de aminofilină*. Al treilea Congres Național al Studenților în Medicină și al Tinerilor Medici- Sibiu, 1999, caiet rez. (32)
6. **M. Airizer**, C. Ureche, L. Bancu, Z. Brassai -*Premedicația cu ventolin(salbutamol) la pacienții astmatici care necesită endoscopie digestivă superioară*. Al doilea Congres Național al Studenților în Medicină și al Tinerilor Medici- București, 1998, caiet rez. (76)

7. C. Ureche, **M. Airizer**, Gina Suciu, Z. Brassai –*Markeri ai inflamației în astm (bradikinina, cuprul, ceruloplasmina)*. Conferința Anuală Națională de Alergologie și Imunologie Clinică- Poiana Brașov, 1998 , caiet rez. (30)

**Granturi:** “ *Insuficiența renală acută- implicații etiopatogenetice, prognostic și perspective terapeutice*”- grant CNCSIS tip TD cod 333, contract de finanțare nr. 132/16.09.2008 – director de proiect

Limbi străine cunoscute: maghiara, engleza

**“IULIU HAȚIEGANU”  
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY  
CLUJ-NAPOCA**

**PhD THESIS**

***ACUTE RENAL FAILURE- ETIOPATHOGENETIC  
IMPLICATIONS, PROGNOSTIC AND THERAPEUTIC  
PERSPECTIVES***

*Abstract*

**Scientific Coordinator  
Prof. Dr. MIRELA GHERMAN-CĂPRIOARĂ**

**PhD researcher  
MELANIA RODICA AIRIZER**

**2011**

# Contents

<b>1. Introduction</b> .....	6
<b>2. Current stage of knowledge</b> .....	9
2.1. New concepts in acute renal failure definition and diagnosis .....	9
2.2. The implication of oxidative stress in acute renal failure etiopathogeny.....	12
2.3. Experimental models for acute renal failure.....	20
2.4. Biomarkers in early diagnosis of acute renal failure.....	31
2.5. Therapeutic perspectives in acute renal failure.....	36
<b>3. Personal research:</b>	
3.1. Study of oxidant/antioxidant balance on an acute renal failure experimental model	
3.1.1. Objectives.....	38
3.1.2. Material and methods.....	40
3.1.3. Results.....	46
3.1.4. Discussions.....	111
3.1.5. Conclusions.....	113
<b>3.2. Study of oxidative stress in patients with acute renal failure treated with hemodialysis</b>	
3.2.1. Objectives.....	114
3.2.2. Patients and method.....	115
3.2.3. Results.....	117
3.2.4. Discussions.....	139



3.2.5. Conclusions.....	139
<b>3.3. Neutrophil-gelatinase-associated lipocalin –a predictive marker for acute renal failure in intensive care</b>	
3.3.1. Objectives.....	140
3.3.2. Patients and methods.....	141
3.3.3. Results.....	143
3.3.4. Discussions.....	162
3.3.5. Conclusions.....	163
<b>4. General conclusions.....</b>	<b>164</b>
<b>5. Personal contribution and perspectives .....</b>	<b>166</b>
<b>6. References.....</b>	<b>167</b>

**Key words:** acute renal failure, oxidative stress, N acetylcystein, experimental study, biomarkers, neutrophil gelatinase-associated lipocalin

**Introduction:** Acute renal failure is an complex clinical and biological entity with a high rate of morbidity and mortality( 50% of patients) which can manifests in different ways, from minimal changes in serum creatinine levels to severe anuric acute renal failure, treated with hemodialysis. The period of time needed to evidence the acute renal failure has important and complex consequences on renal function. It is therefore necessary to identify new effective biomarkers which may lead to improved efforts in ameliorating the course of acute renal failure or preventing further renal injury.

The mechanisms of acute renal failure are still not completely known. The implication of oxidative stress was the subject of many studies, most of them experimental. There are just few clinical studies regarding the relationship between acute renal failure and oxidative stress in human. The experimental models used in acute renal failure studies were not used in our country till now.

The thesis is structured in two clinical studies and one experimental study.

The first study named „ *Evaluation of oxidant/antioxidant balance in an acute renal failure experimental model* ” is an experimental study and the objectives are:

1. to create the renal ischemia-reperfusion model
2. to assess the efficiency of inducing renal ischemia by measuring the levels of serum creatinine
3. to assess the severity of renal lesions
4. to perform histologic analysis of kidney tissue in optic microscopy
5. to assess oxidative stress influence on acute renal failure
6. to assess the corelation between oxidants and antioxidants
7. to evaluate the protective role of N acetylcystein in attenuating renal lesions
8. to assess the effect of different doses of N acteylcistein on oxidative stress parameters and on renal lesions
9. to assess cumulative survival after renal ischemia reperfusion

**Material and methods:** Male Wistar rats, weighing aproximate 200 g, were divided in four groups: a control group- 11 rats, a group who underwent ischemia reperfusion(IR)

model -22 rats, a group treated with ACC( 200 mg/kg ip) with 72,24 and 3 hours prior IR and 3, 24, 72 hours after IR-25 rats and a group treated with double dose of ACC- 400 mg/kg/ip-20 rats. The animals were anaesthetized with a mixture of xylazine (10 mg/kg, i.p.) and ketamine (75 mg/kg, i.p.).The operatory technique was the following: through flank incisions, the left renal artery was clamped for 30 min by a non-traumatic microvascular clip, and a right-sided nephrectomy was performed. After surgery, fluid losses were replaced by administration of 5 ml of warm (37°C) isotonic saline i.p., and rats were returned to their cages. The rats had free access to normal rat chow and tap water throughout. On days 1, 3 and 7 venous blood samples were collected from all the three groups for measurements of plasma creatinine, MDA, SOD, nitric oxide, catalase and glutathione concentrations. At the end of the study animals were sacrificed and kidney tissue was examined in optic microscopy.

**Results:** the renal ischemia-reperfusion model was effective, the renal lesions were tippical for acute tubular necrosis, the serum creatinine leveles were increased in rats who underwent ischemia-reperfusion model. Prooxidant parameters had increased levels and antioxidants levels were decreasead in rats who underwent ischemia-reperfusion model. Acetylcystein reduced elevated levels of MDA, increased SOD, catalase and glutathione levels( $P < 0.05$ ) and attenuated renal dysfunction. These results demonstrate the antioxidant effect of ACC in attenuating renal ischemia reperfusion injury.

The second study „ *Study of oxidative stress in patients with acute renal failure treated with hemodialysis*” is a transversal, observational , analytical study.

### **Objectives :**

- to assess the effect of hemodialysis on some oxidative stress parameters in patients with acute renal failure
  - evaluation of oxidant/antioxidant balance in patients with acute renal failure treated with acute hemodialysis vs. a control group
  - to assess the relation between serum creatinine and demographic characteristics of patients

-to assess the relation between oxidative stress parameters and demographic characteristics of patients

**Patients and methods:** This study has been carried out on a group of 28 patients with acute renal failure from „Mihai Manasia” Nephrology Clinique Cluj, between november 2008- january 2009.

Inclusion criteria:

-patients with normal renal function in the last three months with an abrupt and constant deterioration of renal function

- patients with preexisting renal disorder who develop an acute renal failue defined asa 50% increase in serum creatinine from baseline

-all the patients were treated with hemodialysis. The indications for hemodylisis were : severe hyperhidratation without response at diuretic treatment , hyperkaliemia, severe methabolic acidosis

Exclusion criteria:

-patients with chronic kidney disease KDOQI V stage, treated with hemodialysis.

The control group was formed by 10 clinically healthy subjects.

The following parameters were determined: malondialdehyde, superoxiddismutase and catalase, before and after the first session of hemodialysis.I control group were determined serum creatinine and the same oxidative stress parameters.

**Results** demonstrated that the patients with acute renal failure treated with acute hemodialysis has an increased level of oxidative stress and the hemodialysis session ameliorates the oxidativ stress with the decrease of prooxidant parameters and increase of antioxidant parameters.

The third study „*Neutrophil-gelatinase-associated lipocalin(NGAL) –a predictive marker for acute renal failure in intensive care*” is a transversal, analitic, observational study.

### **Objectives :**

1. to assess the levels of serum NGAL in patients from intensive care undergoing a surgery intervention ;

2. to evaluate the correlation of NGAL with serum creatinine, serum urea, diuresis, the type of the surgery intervention, the blood loss
3. to evaluate the predictive role of NGAL for acute renal failure

## **Patients and method:**

This study has been carried out on two groups of patients:

Group I - 17 patients from Intensive Care from Emergency Clinic County Hospital Cluj

Lotul II - 19 patients from Intensive Care – Municipal Hospital Cluj

All the patients underwent a surgery intervention. This moment was considered the risk factor for developing acute renal failure. The patients from group II had an urology surgery intervention and the patients from group I had different kind of surgery intervention: urological, abdominal and vascular surgery. The acute renal failure was defined by a minimum 0,3 mg% increase of serum creatinine, sustained, more than 2 days (AKIN 1).

The groups were divided in two subgroups

Group Ia and IIa – patients who developed acute renal failure

Group Ib and IIb- patients without acute renal failure

The data regarding demographical and clinical characteristics were recorded- age, sex, comorbidities, surgery risk, the type and duration of the intervention, blood loss. Diuresis, systolic and diastolic pressure were recorded daily. Serum creatinine, serum urea, CBS was measured at baseline and routinely monitored daily before the surgery and in the immediate postoperative period for four days.

In group I plasma NGAL was tested at 24 hours after the surgery.

In group II plasma NGAL was tested in 3 moments: before the surgery, 6 hours after the surgery and 24 hours after the surgery.

Exclusion criteria:

-patients with chronic kidney disease KDOQI V stage, treated with hemodialysis.

To measure the sensitivity and specificity for plasma NGAL at different cutoff values, a conventional receiver-operating characteristic (ROC) curve was generated for NGAL. We calculated the area under the curve to ascertain the quality of NGAL as a biomarker.

Results: NGAL has increased levels in patients who developed acute renal failure and NGAL is a valide predictive early biomarker for acute renal failure.

### **General conclusions :**

- 1. Oxidative stress is one of the etiopathogenic mechanisms involved in acute renal failure.*
- 2. The experimental model of renal ischemia-reperfusion was correctly performed, lesions of acute tubular necrosis were objectified by histological analysis of renal fragments.*
- 3. Serum creatinine values are significantly higher after induction of renal ischemia*
- 4. Oxidants/antioxidants balance in acute renal failure is affected by increasing of prooxidant markers and decreasing of antioxidant markers.*
- 5. N acetylcysteine therapy is one of the methods that could influence oxidative stress markers.*
- 6. N acetylcysteine decreases serum creatinine and elevate glutathione levels, catalase and superoxiddismutase.*
- 7. Injuries caused by ischemia-reperfusion renal syndrome are significantly lower after administration of N acetylcysteine.*
- 8. Mortality is significantly lower after administration of N acetylcysteine.*
- 9. Increasing the dose of N acetylcysteine did not significantly improve oxidative stress markers.*
- 10. Patients with acute renal failure with acute hemodialysis have an increased oxidative status, but this is improved by hemodialysis.*
- 11. Acute hemodialysis does not cause oxidative stress a normalization parameters, they remain higher than in the control group.*
- 12. Antioxidant and prooxidant markers do not differ significantly by gender, age, area of origin and etiology of acute renal failure.*
- 13. Lipocalin has significantly higher values in patients who develop acute renal failure.*
- 14. One postoperative serum NGAL determination may be useful in detecting patients at risk for developing acute renal failure.*

- 15. Lipocalin is positively correlated with serum creatinine, serum urea and duration of surgery and negatively with diuresis.*
- 16. Lipocalin is an effective biomarker in predicting acute renal failure.*

## **CURRICULUM VITAE**

### **Personal data: AIRIZER MELANIA RODICA**

- Date of birth: 04.05.1975
- Parents: Petru, Macedonia Rodica
- Marital status: married
- Children: Viktor and Erik
- Address: Cluj Napoca, str. Ciucaş nr. 3 ap.41
- Phone: 0724367437
- E-mail: [melania\\_airizer@yahoo.com](mailto:melania_airizer@yahoo.com)
- Driving licence: B category.

### **Education:**

- 1989-1993- “ Al. Papiu Ilarian” College- Târgu-Mureş, mathematics-physics profile
- 1993-1999 – Faculty of Medicine –University of Medicine and Pharmacy Târgu-Mureş:

### **Professional activity:**

- 2000-2001- Clinical intern doctor in the department of Internal Medicine Clinic – Mures County General Hospital
- 2001- 2007- resident in nephrology – Nephrology and Dialysis Clinic ”Mihai Manasia” Cluj Napoca- Emergency County Hospital Cluj Napoca
- from 2007- Specialist in nephrology
- 2006-2010 – PhD attendant, Nephrology Department, University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca
- from 2010- specialist in nephrology in Rena Clinic Dialysis Center Cluj
- from may 2011- employee as specialist in nephrology in Municipal Clinic Hospital Cluj Napoca

### **Postgraduate training:**

- National Student Meeting-1998, 1999, 2000



- International Congress of Immunology and Allergology- Brasov, 1999
- National Conference of The Romanian Society of Nephrology-Bucuresti, 2001
- National Congress of Nephrology, 2003, Cluj Napoca
- The 2nd Renal Failure Academy , Constanța, 2004
- The 11th Budapest Nephrology School under the auspices of ISN, ERA-EDTA and EKRA, 28.08 - 2.09.2004, Budapest, Hungary
- The 4th Postgraduate Training Course of Nephrology, under the auspices of ISN, ERA- EDTA, 17-21.01.2004, Prague, Czech
- The 5-th Renal Failure Academy, Constanța, 2007
- National Congress of Nephrology, Poiana Brașov, 2007
- The 6-th Renal Failure Academy, Venus 2008
- National Congress of Nephrology Sinaia 2009
- Interdisciplinary Conference NefroCardia, Sibiu, 2010

**Scientific activity:**

**Articles in extenso:**

1. **Melania Airizer**, R.Moldovan , Nicoleta Decea, Ina Kacso, Crina Rusu, Adriana Muresan, Mirela Gherman Căprioară Evaluation of acute renal failure on a renal ischemia reperfusion experimentak model performed in Wistar rats-*Romanian Journal of Veterinary Medicine*, 2010, vol. 20,nr. 1, 85-90
2. **Melania Airizer**, Remus Moldovan, Nicoleta Decea, Adriana Muresan, Mirela Gherman Caprioara. *The protective role of N-acetylcysteine in an experimental renal ischemia-reperfusion model on Wistar rats*. Studia Universitatis “Vasile Goldiș”,Arad, Sciences of Life Series Vol. 20, issue 1, 2010, pp.13-17,
3. Kacso I, Cristea A, Spânu C, **M. Airizer**, Răcășan S, Pațiu I.M., Pârvu L, Mirela Gherman –Căprioară- “The role of very low molecular weight proteins in the prognosis of glomerular nephropaties” *Nefrologia*, 6, 17, 2001, 413-18
4. Kacso I, Rusu A, Racasan S, Patiu IM, Orasan R, Rogojan A, Georgescu C, **Airizer M**, Moldovan D, Gherman –Caprioara M. *Calcific uremic arteriolopathy*

*related to hyperparathyroidism secondary to chronic renal failure. A case-control study.* Acta Endo (Buc) 2008 4(4): 391-400 doi: 10.4183/aeb.2008.391- ISI

**Scientific works published as abstracts or communications :**

1. **Melania Airizer**, Soimita Suci, Nicoleta Decea, Remus Moldovan, Adriana Muresan, Mirela Gherman Căprioară. The role of N acetylcystein in preventing renal ischemic lesions on an experimental renal ischemia-reperfusion model. Poster, UMPH ” Iuliu Hațieganu” Days Cluj Napoca, 2009

2. **M. Airizer**, I. Kacso, S. Suci, N. Decea, R.Moldovan, A. Muresan, M. Gherman Căprioară, A. Rusu. Oxidative stress and the protective role of N acetylcystein in an experimental renal ischemia-reperfusion model. Oral communication, National Congress of Nephology, Sinaia 2009

3. Kacso I, Cristea A, Spânu C, **M. Airizer**, Răcășan S, Pațiu I.M., Pârvu L, Mirela Gherman –Căprioară - The role of very low molecular weight proteins in the prognosis of glomerular nephropaties. The third National Congress of Nephology , Cluj Napoca, 2003 .

4. **M. Airizer**, C. Ureche- Inflammatory markers in respiratory pathology. The third National Congress of Medicine Students and Young Doctors- Oral communication, Sibiu, 1999

5. **M. Airizer**, C. Ureche –*Aminofilin fear*. The Third National Congress of Medicine Students and Young Doctors - Oral communication Sibiu, 1999

6. **M. Airizer**, C. Ureche, L. Bancu, Z. Brassai –*Premedication with ventolin(salbutamol) in asthmatic patients needing superior digestiv endoscopy*. The Second National Congress of Medicine Students and Young Doctors - Oral communication, București, 1998

7. C. Ureche, **M. Airizer**, Gina Suci, Z. Brassai –*Inflammation markers in asthma (bradikinine, copper, ceruloplasmine)*. National Conference of Alergology and Clinic Immunology - Poiana Brașov, 1998

**Grants:** “ Acute renal failure- ethiopathogenetic implications, prognostic and therapeutic perspectives” grant CNCSIS TD 333, contract no. 132/16.09.2008 – project manager

**Foreign languages:** hungarian, english