Promjena koncentracije čimbenika rasta fibroblasta 23 u odnosu na stadij akutnoga zatajenja bubrega

Sakan, Sanja

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:508196

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Sanja Sakan

Promjena koncentracije čimbenika rasta fibroblasta 23 u odnosu na stadij akutnoga zatajenja bubrega

DISERTACIJA

ZAGREB, 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Sanja Sakan

Promjena koncentracije čimbenika rasta fibroblasta 23 u odnosu na stadij akutnoga zatajenja bubrega

DISERTACIJA

ZAGREB, 2015.

Disertacija je izrađena u Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje te u Klinici za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelj rada: prof. dr. sc. Nikolina Bašić-Jukić

Disertaciju posvećujem svojoj obitelji, mami, tati i sestri Silviji na potpori, strpljenju i ohrabrenju da ustrajem u ostvarenju i završetku svojih ideja i planova.

Za podršku i stručno vođenje, ne samo prilikom izrade ove disertacije nego i tijekom cjelokupne zajedničke suradnje zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Nikolini Bašić-Jukić.

Izrada ove disertacije ne bi bila moguća bez podrške i zajedničke suradnje s djelatnicima Klinike za laboratorijsku dijagnostiku.

Zahvaljujem dr Vedi Varnai na korisnim savjetima i znanstvenoj podršci.

Od srca zahvaljujem dr Viliki Bekavac-Mišak, mojim prijateljicama i prijateljima na prijateljskoj podršci, potpori i korisnim savjetima pri izradi ove disertacije.

Veliko hvala svim dobrovoljnim davateljima krvi koji su bili spremni nesebično pomoći u znanstvene svrhe.

SADRŽAJ

1. UVOD I SVRHA RADA……..... 1

1.1 Čimbenik rasta fibroblasta 23 (FGF 23)..... ……..…. 2

1.1.1. Građa FGF 23..... 2

1.1.2. FGF 23 receptori..... 3

1.1.3. Fiziologija FGF 23..... 3

1.1.4. Razgradnja FGF 23..... 5

1.1.5. Fiziologija fosfata..... 6

1.1.6. Odnos FGF 23, paratireoidnog hormona i vitamina D..... 7

1.1.7. Postoji li senzor koncentracije fosfata u organizmu?..... 8

1.1.8. FGF 23-Klotho os..... 8

1.2. Literaturni pregled……..……..…….. 9

1.2.1. Uloga FGF 23 kod normalne bubrežne funkcije…….....….....….9

1.2.2. Uloga FGF 23 kod oštećene bubrežne funkcije…….....…. 10

1.2.3. Uloga FGF 23 u kroničnoj bubrežnoj bolesti…….....…… 12

1.2.3.1. Dinamika kretanja FGF 23 i kronična bubrežna bolest..... 13

1.2.3.2. Djelovanje FGF 23 na srčanožilni sustav u kroničnoj bubrežnoj bolesti…….....…... 13

1.2.3.3. Terapijska primjena FGF 23 u kroničnoj bubrežnoj bolesti……...…….. 15

1.2.4. FGF 23 i akutna ozljeda bubrega…….....…….... 15

1.2.4.1. Akutna ozljeda bubrega…….....…….... 17

1.2.4.2. Ureja…….....…….... 18

1.2.4.3. Kreatinin…….....…..... 18

1.2.4.4. Klirens kreatinina…….....…. 19

1.2.4.5. Diureza…….....19

1.2.5. FGF 23- novi marker perioperativne akutne ozljede bubrega.....… 19

1.2.6. RIFLE i AKIN kriteriji u dijagnosticiranju akutne ozljede bubrega…….....20

1.2.6.1. RIFLE kriterij…….....…….... 21

1.2.6.2. AKIN kriterij…….....…….....22

1.2.7. Kada je optimalno započeti i prekinuti bubrežnu nadomjesnu terapiju……...…….23
2. HIPOTEZA.....24
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA..... 24
3.1 Glavni cilj istraživanja…….....……24
3.2 Specifični ciljevi istraživanja…….....……..24
4. MATERIJALI I METODE.....25
4.1 Ispitanici…….....……...25
4.2 Dizajn istraživanja…….....….. 26
4.3 Metodologija pripreme uzoraka……..... 28
4.3.1 Metoda mjerenja FGF 23…….....…….. 29
4.4 Suglasnosti…….....….. 29
4.5 Metode statističke analize podataka…….....…..29
5. REZULTATI.....31
5.1 Opći podaci ispitanika……...…… 31
5.2 Razina FGF 23 i kreatinina kod zdravih ispitanika…… 33
5.3 Promjena kriterija akutne ozljede bubrega kroz pet dana od operacije.....34
5.3.1 Dinamika FGF 23 tijekom prvih pet dana nakon operacije…….....…….35
5.4 Uloga FGF 23 kao ranog prediktora ishoda liječenja akutne ozljede bubrega…….36
5.4.1 Usporedba dijagnostičke vrijednosti FGF 23, RIFLE i AKIN kriterija mjerenih prvi dan nakon operacije na ishod bubrežne funkcije….....…..36
5.4.2 Usporedba dijagnostičke vrijednosti FGF 23, RIFLE i AKIN kriterija mjerenih treći dan nakon operacije na ishod bubrežne funkcije….....…. 40
5.5 Dinamika FGF 23 tijekom prvih pet dana nakon operacije s obzirom na stadij akutne ozljede bubrega prema RIFLE/AKIN kriterijima…….....….. 44
5.5.1 Razina FGF 23 s obzirom na stadij akutne ozljede bubrega prema RIFLE kriteriju…….....……44
5.5.2 Razina FGF 23 s obzirom na stadij akutne ozljede bubrega prema AKIN kriteriju…….....…….. 47

5.5.3 Razina FGF 23 s obzirom na poboljšanje stadija akutne ozljede bubrega prema RIFLE i AKIN kriterijima…….....……49

5.6 Povezanost razine FGF 23 sa serumskim i urinarnim laboratorijskim vrijednostima kreatinina, kalcija i fosfora te stadijem akutne ozljede bubrega…..…53

5.6.1 Prediktori povišene razine FGF 23 kroz tri točke mjerenja neposredno nakon operacije u ispitanika sa akutnom ozljedom bubrega….....…….. 57

6. RASPRAVA.....64

7. ZAKLJUČAK.....75

8. SAŽETAK.....77

9. SUMMARY..... 79

10. POPIS LITERATURE..... 81

11. ŽIVOTOPIS..... 92

KRATICE

FGF 23	čimbenik rasta fibroblasta 23
PTH	paratireoidni hormona
vitD	vitamin D
KBB	kronična bubrežna bolest
ABZ	akutno bubrežno zatajenje
AOB	akutna ozljeda bubrega
FGFR	FGF receptor
JIL	jedinica intenzivnog liječenja
NaPi	natrij-fosfatni
eGFR	procijenjena stopa glomerularne filtracije
SAPS II	Simplified Acute Physiologic Score II
CKD-MBD	Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder

1. UVOD I SVRHA RADA

Dosadašnja istraživanja su pokazala da ljudska fiziologija ovisi o održavanju precizne homeostaze fosfata. Poremećaj regulacije fosfata uzrokuje hiper- ili hipo-fosfatemiju sa mnogobrojnim kratkoročnim i dugoročnim posljedicama na organizam i njegove funkcionalne procese. Najčešće i najzastupljenije štetne posljedice hiperfosfatemije na organizam u svakodnevnoj kliničkoj praksi su ektopična kalcifikacija ili oštećena mineralizacija, te skraćeni životni vijek organizma. Trenutni endokrini modeli regulacije razine fosfata u orgamizmu su nepotpuni i nedovoljno razjašnjeni. Međutim, istraživanja o stečenim i nasljednim poremećajima homeostaze fosfata su otkrila nove potencijalne hormone regulacije fosfata u organizmu, tzv. fosfatonine (1). Jedan od novih i najsnažnijih fosfatonina je i čimbenik rasta fibroblasta 23 (engl. Fibroblast growth factor 23-FGF 23)(2). FGF 23 se proizvodi u koštanom sustavu i izlučuje u cirkulaciju. Genetske mutacije FGF 23 gena bilo nasljedne ili stečene uzrokuju poremećenu regulaciju fosfata, s izostankom prikladnog protudjelovanja paratireoidnog hormona (PTH) ili vitamina D (vitD). Studije na miševima su pokazale da FGF 23 ostvaruje endokrino djelovanje na mnoge organe, s time da je to djelovanje najjače izraženo na bubrege i koštani sustav. Značajno, studije su pokazale povezanost FGF 23 s funkcijom paratireoidne žlijezde i PTH.

Prema navedenim spoznajama, zahvaljujući hormonalnom djelovanju novootkrivenog fosfatonina FGF 23 koštani sustav je dobio novu funkciju endokrinog organa. Također, rezultati ukazuju da FGF 23 ima ulogu u mineralnom metabolizmu kostiju, te možemo zaključiti da FGF 23 predstavlja novi potencijalni dijagnostički biljeg i terapijski cilj u liječenju poremećaja mineralnog metabolizma u ne tako dalekoj budućnosti.

Kao što je već poznato većina hormonalnih sustava je kontrolirana i regulirana senzorima. Na isti način je i sekrecija FGF 23 regulirana poremećajem fosfatne homeostaze u organizmu. Međutim, istraživanja još uvijek nisu opisala i pronašla fosfatni senzor koji bi registrirao poremećaj fosfatne homeostaze i objasnio ulogu fosfata kao okidača za proizvodnju FGF 23 u organizmu.

Povod provođenju ovoga istraživanja je činjenica da su dosadašnja klinička mjerenja pokazala zasada veliku važnost određivanja FGF 23 kao biomarkera ne samo u dijagnostici i prognostici pogoršanja kronične bubrežne bolesti (KBB) nego i akutnog bubrežnog zatajenja (ABZ). Međutim, odmah u uvodu je bitno naglasiti da su se tijekom provođenja ovoga

istraživanja pojavile nove međunarodne smjernice koje su odbacile dosadašnji naziv ABZ te ga zamijenile sa novim nazivom akutne ozljede bubrega (AOB). AOB je klinički sindrom koji uključuje sve oblike bubrežne ozljede, od lakših do težih ozljeda. Stoga, u nastavku disertacije koristi se terminologija AOB.

Za ovo istraživanje kao i za buduća istraživanja na području AOB, važno je da FGF 23 zasada pokazuje dobre osobine da bude potencijalni novi i rani biomarker dijagnosticiranja i predviđanja progresije AOB (3). Glavne osobine koje bi novi bubrežni biomarker trebao imati su sposobnost ranog dijagnosticiranja i predviđanja tijeka AOB, identificiranje etiologije, mjesta i ozbiljnosti bubrežne ozljede, omogućiti individualnu stratifikaciju rizika za oboljele, točno definirati vrijeme započinjanja i prestanka s bubrežnom nadomjesnom terapijom u osoba s AOB, te da njegova svakodnevna klinička primjena bude financijski opravdana, pouzdana i jednostavna, primjenjiva u jedinici intenzivnog liječenja, na bolničkom odjelu ili u hitnom prijemu (4,5,6).

1.1 Čimbenik rasta fibroblasta 23 (FGF 23)

1.1.1 Građa FGF 23

FGF 23 je glavni fiziološki regulator homeostaze fosfata i vitD u ljudskom organizmu. FGF 23 gen se nalazi na kromosomu 12 i kodira slijed polipeptida od 251 aminokiseline (7,8). Izlučeni FGF 23 se glikozilira i ima molekularnu težinu od 32kDa. Dakle, FGF 23 je fosfaturični hormon koji cirkulira organizmom kao glikozilirani peptid veličine 32 kDa građen od 251 aminokiseline (9,2). Postoji 7 podtipova obitelji ljudskog FGF (7). FGF 19 podtip obitelji se sastoji od 3 proteina- FGF 19, FGF 21 i FGF 23. FGF 19 inhibira ekspresiju enzima kolesterol 7alfa hidroksilaza sa ulogom u sintezi žuči, FGF 21 stimulira inzulin neovisni unos glukoze u adipocite i snižava trigliceride, a FGF 23 je kao što je već rečeno centralni mineralni regulator homeostaze fosfata i vitD u krvi (10). Sva tri proteina iz FGF 19 obitelji sadrže disulfidnu vezu za razliku od ostalih podtipova FGF, zahvaljujući kojoj se mogu distribuirati u cirkulaciju i ostvariti endokrino djelovanje u organizmu. Svi FGF podtipovi su isto građeni od 3 dijela ili sekvence. Sastoje se od aminoterminalnog signalnog peptidnog dijela (ostaci 1-24 aminokiseline), homolognog FGF-sličnog dijela (25-180 aminokiseline) te karboksi-terminalnog dijela (181-251 aminokiseline) koji je isti u svih članova FGF obitelji (10). Poluživot FGF 23 u cirkulaciji iznosi 46-58 minuta (10). FGF 23

ostvaruje svoje djelovanje na ciljne organe vežući se na FGF receptore (FGFR) za koje je potrebna prisutnosti kofaktora Klotho koji povećava afinitet vezanja FGF 23 na FGFR i određuje mu tkivnu specifičnost djelovanja.

1.1.2. FGF 23 receptori

FGF 23 receptori imaju veliko značenje u nekoliko fizioloških mehanizama. Ukupno postoji sedam izoforma FGF receptora. Ovi izoformi receptora se međusobno razlikuju u tkivnoj ekspresiji, aktivnosti i vezanju liganda (11). FGF receptori sastoje se od izvanstaničnog liganda na koji se veže FGF, jednostrukog transmembranskog dijela i unutarstanične cijepajuće tirozin kinaze dijela, i tako građeni pripadaju obitelji receptora tirozin kinaza (12). Postoje dva izoformna oblika FGF receptora, b i c izoform. Oni se međusobno razlikuju u imunoglobulinskoj domeni izvanstaničnog dijela receptora. b-izoform FGFR se uglavnom nalazi na stanicama epitelnog porijekla, dok se c-izoform nalazi na stanicama mezenhimalnog porijekla (11,13). Postoji također razlika u načinu signaliziranja između ova dva izoformna receptora. Kofaktor Klotho je svojim djelovanjem neophodan za vezanje FGF 23 na receptor i njegovu aktivaciju.

1.1.3 Fiziologija FGF 23

Iako je prvotno FGF 23 primarno otkriven u središnjem živčanom sustavu miševa (8), primarni izvor cirkulirajućeg FGF 23 su osteoblasti i osteociti. Također ga proizvode amenoblasti, cementoblasti, hondrociti i osteoklasti (14). Prema tome, primarno se secernira u kostima (osteociti, osteoblasti), zatim u timusu, srcu, mozgu i u manjim količinama u ostalim tkivima poput paratireoidne žlijezde i jetri (9). Ostali članovi FGF obitelji imaju visoki afinitet za heparin sulfate koji se nalaze u izvanstaničnom matriksu, što ih predisponira za parakrinu funkciju. Kao što je već navedeno, FGF 23 pripada zajedno s FGF 19 i 21 obitelji s endokrinim osobinama (15,16). FGF 23 se cijepa u cirkulaciji na inaktivne N- i C-terminalne fragmente. Fiziološka funkcija FGF 23 se naširoko proučava. Glavni podražaj sekrecije FGF 23 je poremećaj homeostaze fosfata u organizmu. Naime pokazano je da visoka serumska vrijednost fosfata stimulira FGF 23 ekspresiju i sekreciju još uvijek nedovoljno razjašnjenim mehanizmom. Za razliku od ostalih članova FGF obitelji koji djeluju kao autokrini ili

parakrini faktori, FGF 23 djeluje kao endokrini faktor (17). Cilj FGF 23 je održati normalnu koncentraciju fosfata endokrinim djelovanjem na mineralni metabolizam. Održavanje homeostaze fosfata u organizmu omogućeno je putem zatvorene negativne petlje između bubrega, koštanog sustava i paratireoidnih žlijezdi. Kada ova petlja postane otvorena zbog disfunkcije bilo kojeg od navedenih organskih sustava, ali najčešće zbog bubrežne disfunkcije, serumske vrijednosti fosfata počinju rasti. Protuodgovor na hiperfosfatemiju je povećana sekrecija PTH i FGF 23 s pojačanjem fosfaturije radi snižavanja serumske vrijednosti fosfata. Razlika između fosfaturičnog djelovanja PTH i FGF 23, je da PTH pojačava fosfaturiju unutar nekoliko sati, dok FGF 23 počinje djelovati s vremenskom odgodom od nekoliko dana, ako hiperfosfatemija i dalje perzistira, unatoč protektivnom djelovanju PTH (18,19).

Prema tome, endokrini učinci FGF 23 u spomenutu svrhu se mogu jasnije opisati raščlanjenim mehanizmima zatvorene negativne petlje između bubrega, koštanog sustava, paratireoidnih žlijezdi i crijeva, na svaki navedeni organski sustav:

1) FGF 23 sprečava porast koncentracije fosfata u organizmu djelovanjem na bubrežnu reapsropciju fosfata. Smatra se da je samo intaktni FGF 23 bioaktivan te da ulazi u interakciju sa specifičnim receptorima na distalnim bubrežnim tubularnim stanicama i još uvijek nedovoljno poznatim mehanizmom, najvjerojatnije putem djelovanja solubilnog kofaktora Klotho, smanjuje ekspresiju natrij-fosfatnih (NAPi) kontransportera na stanicama proksimalnih bubrežniih tubularnih kanalića što ima za posljedicu smanjenu reapsorpciju fosfata. Trenutno je poznato da pretjerana ekspresija ili primjena FGF 23 uzrokuje smanjenu tubularnu reapsorpciju fosfata u proksimalnim kanalićima smanjenjem broja specifičnih NaPi2a i 2c kotransportera (20,21,22,23).

2) Također FGF 23 djeluje na metabolizam vitamina D. Smanjuje gensku transkripciju 1alfa hidroksilaze i stimulira 24-hidroksilazu što ima za posljedicu smanjenu serumsku koncentraciju vitD čime se još više smanjuje reapsorpcija fosfata. Dakle, FGF 23 inhibira 1,25-vitD-hidroksilazu i stimulira 24-vitD-hidroksilazu a posljedica je usporavanje aktivacije i ubrzavanje razgradnje vitD. Ovim mehanizmom se sprečava porast vitD kao odgovor na hipofosfatemiju (24,25). S druge strane, smanjena ekspresija FGF 23 u organizmu ima suprotni učinak štetnog nakupljanja fosfata i povišenih razina vitD (26,27,28).

3) Djelovanjem FGF 23 na crijeva indirektno putem vitD smanjuje se intestinalna apsorpcija fosfata i kalcija. Osim ovoga mehanizma smatra se da postojanje intestinalnih fosfatonina

može objasniti smanjenje bubrežne reapsorpcije fosfata kod povećane koncentracije fosfata u intestinalnom lumenu bez potrebe za sekrecijom FGF 23 u navedenom stanju (29).

4) FGF 23 održava homeostazu fosfata djelovanjem na stanice paratireoidne žlijezde i sekreciju PTH. FGF 23 direktnim djelovanje smanjuje ekspresiju i otpuštanje PTH (30,31). Nadalje, također indirektnim djelovanjem putem porasta kalcija i vitD smanjuje proizvodnju i ekskreciju PTH u organizmu (28).

Iz dosadašnjih istraživanja možemo zaključiti da su glavni fiziološki podražaj za porast FGF 23 vrijednosti vitD i visok unos fosfata prehranom te stanje produžene hiperfosfatemije u organizmu (10).

1.1.4 Razgradnja FGF 23

Vrijeme poluživota FGF 23 u cirkulaciji iznosi 46-58 min (32). Način uklanjanja FGF 23 iz organizma nije do kraja razjašnjen. Izlučivanje FGF 23 celularnim putem, urinom i dijalizom se mora proučiti kao i utjecaj ostatne funkcije bubrega i dijalize na serumsku razinu FGF 23. Međutim studije su pokazale da se FGF 23 iz organizma izlučuje intaktan te ako postoji degradacija u cirkulaciji ona je jako mala (33). Istraživanja o izlučivanju FGF 23 iz organizma bubrezima su kontradiktorna. Neka istraživanja su pokazala da vrijednost FGF 23 naglo pada nakon transplantacije bubrega što može ukazivati na bubrežno uklanjanje FGF 23 iz organizma. Također, kako bi se pokazalo da je porast FGF 23 u serumu posljedica smanjenog bubrežnog klirensa FGF23, mjerile su se vrijednosti FGF23 u ostatnom urinu bolesnika na dijalizi. Nađena je imunoreaktivnost FGF 23 u ostanom urinu kod tih osoba. Možemo zaključiti da veličina porasta FGF 23 više od 1000 puta u bolesnika na dijalizi govori u prilog smanjenog FGF 23 bubrežnog klirensa (34). Međutim, iako su određene studije zbog prisutnosti FGF 23 u urinu smatrale da je porast FGF 23 u serumu posljedica smanjenog bubrežnog klirensa FGF 23, druge su potvrdile da smanjenje bubrežne funkcije ne doprinosi značajnom porastu serumske vrijednosti FGF 23 nego je ono na kraju ipak posljedica značajno povećane proizvodnje FGF 23 (35,36).

1.1.5 Fiziologija fosfata

Fosfati u ljudskom organizmu integralni su dio velikog dijela staničnih procesa i ljudske fiziologije. Osim što su glavna komponenta mineralnog dijela koštanog sustava, također su sastavni dio nukleinskih kiselina, nosioci energije kao fosfatna veza u ATP molekuli potrebna za sve stanične funkcije, regulatori aktivnosti enzima i proteina, te puferi u kostima, serumu i urinu. Homeostaza fosfata je visoko i precizno reguliran proces. Fosfati su dominantno unutarstanični anioni. Budući da je unutarstanična koncentracija fosfata veća od izvanstanične koncentracije fosfata, unos fosfata u stanicu se odvija olakšanim transportom pomoću NaPi kotransportera. Postoje 3 tipa NaPi transportnih nosača. Tip 1 NaPi transportnih nosača se nalazi dominantno u bubregu, na apikalnoj membrani stanica proksimalnog i distalnog bubrežnog kanalića. Uz fosfate stimuliraju provođenje klorida. Također se nalaze u mozgu i jetri. Tip 2 NaPi kotransportera se nalaze u bubrezima, kostima i crijevima. Imaju funkciju transepitelnog transporta fosfata u crijevima i bubrezima. Podtip 2a NaPi transportera se nalazi u apikalnim membranama proksimalnih bubrežnih kanalića, te su specifični za fosfate. Naime većina filtriranog fosfata se reapsorbira putem tip 2a NaPi kotransportera. Njihova ekspresija je regulirana unosom fosfata u organizam prehranom i faktorima regulacije homeostaze fosfata poput PTH i FGF 23. Podtip 2b NaPi kotransportera izražen je u tankom crijevu. Njihov broj se povećava u stanjima manjka fosfata u organizmu. Postoji i podtip 2c NaPi kotransportera. Ova dva podtipa NaPi transportera su izraženi na S1 segmentu proksimalnog bubrežnog kanalića te su zajedno s tipom 2a važni za održavanje homeostaze fosfata u organizmu. Tip 3 NaPi transporteri su izraženi u gotovo svim stanicama organizma te imaju funkciju čuvara koji osigurava dovoljne količine fosfata svim stanicama. Serumska koncentracija fosfata varira s dobi, dnevnim ritmom (najviša je u podne), dijetom, godišnjim dobom i pH organizma. Dvije trećine fosfata unešenog prehranom se predominantno apsorbira u tankome crijevu. Apsorpciju povećava porast vitD i prehrana siromašna fosfatima. Mala količina fosfata se gubi gastrointestinalnim putem pomoću odljuštenih stanica i gastrointestinalne sekrecije. Koštani metabolizam fosfata je pod utjecajem faktora koji sudjeluju u stvaranju i razgradnji kostiju kao PTH, vitD, spolni hormoni, acidobazna ravnoteža i generalizirana upala. Ipak najveći dio viška fosfata u organizmu se izlučuje bubrezima. Glavno mjesto bubrežne regulacije homeostaze fosfata su proksimalni i distalni savijeni bubrežni kanalići. Možemo zaključiti da je hiperfosfatemija posljedica 4 patofiziološka poremećaja: 1) prekomjerni unos fosfata prehranom u slučaju oštećenih

bubrežnih mehanizama ekskrecije fosfata (bubrežno zatajenje, milk-alkali sindrom); 2) intoksikacija vitD koja dovodi do pretjerane gastrointestinalne i bubrežne apsorpcije fosfata; 3) smanjene ekskrecije fosfata radi zatajivanja bubrežne funkcije, bez obzira radi li se o akutnom ili kroničnom zatajenju. Dakle, smatra se da gubitak 40-50% bubrežne funkcije ne omogućava ekskreciju fosfata iz organizma što dovodi do narušavanja homeostaze i razvoja hiperfosfatemije kao posljedice. 4) zadnji uzrok hiperfosfatemije u organizmu je i pomak fosfata iz unutarstaničnog u izvanstanični prostor. Ovaj izvanstanični pomak događa kod nedostatka inzulina ili akutne acidoze. Incidencija hiperfosfatemije u bolesnika s oštećenom bubrežnom funkcijom se kreće oko 70%. Hiperfosfatemija je veoma opasno stanje za organizam budući da je klinički asimptomatska. Kratkoročne komplikacije hiperfosfatemije su hipokalcemija te posljedično nastank tetanije ili akutnih mineralnih depozita u mekim tkivima kao što su zglobovi, tetive i ligamenti (ograničena pokretljivost, visoka učestalost spontanih ruptura tetiva), potkožno tkivo i ostala meka tkiva (papularni osip, uremički pruritis i ishemijski ulkusi), očima (keratopatije, crvene oči ili konjuktivitis) te AOB. Dugoročne komplikacije hiperfosfatemije zahvaćaju srčanožilni sustav, koštani sustav, kožu i zglobove. Hiperfosfatemija je glavna komplikacija bolesnika na dijalizi i ima ključnu ulogu u razvoju sekundarnog hiperparatireoidizma. Smatra se da fosfati direktno stimuliraju sekreciju i sintezu PTH, te proliferaciju paratireoidne žlijezde neovisno o serumskoj vrijednosti kalcija i vitD (36). Također, smatra se da uremija sama za sebe dovodi do razvoja sekundarnog hiperparatireoidizma neovisno o bubrežnoj funkciji, vrijednosti kalcija, fosfora i vitD (36). Iz dosadašnjih istraživanja možemo zaključiti da je FGF23 posrednik putem kojeg ova dva spomenuta mehanizma ostvaruju svoj utjecaj na paratireoidnu žlijezdu. U sljedećem poglavlju, pokušali smo rasvijetliti interakciju navedenih faktora u mehanizmu nastanka sekundarnog hiperparatireoidizma. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja koja bi točno objasnila mehanizam djelovanja i interakciju.

1.1.6 Odnos FGF 23, paratireoidnog hormona i vitamina D

Već je objašnjeno da FGF 23 direktnim djelovanjem na paratireoidne žlijezde smanjuje transkripciju PTH. Taj učinak je potvrđen time da stanice paratireoidnih žlijezda imaju izražene FGFR1c i kofaktor Klotho. Fosfaturični učinci FGF 23 neovisni su o PTH što su pokazali radovi o FGF 23 djelovanju u bolesnika nakon paratireoidektomije. S druge strane,

PTH stimulira sekreciju FGF 23 u osteoblastima. Međutim, FGF 23 na paratireoidne žlijezde i sekreciju PTH djeluje i indirektno putem promjene serumske koncentracije vitD i kalcija u organizmu. Naime FGF 23 djeluje negativno na vitD tako da smanjuje njegovu vrijednost u organizmu već unutar nekoliko sati zahvaljujući ranije spomenutom mehanizmu inhibicije bubrežne 1alfa-hidroksilaze i povećane aktivnosti 24-hidroksilaze. Obrnuto, vitD stimulira FGF 23 proizvodnju vežući se na vitD regiju u sklopu FGF 23 gena (10). Smanjenje proizvodnje vitD dovodi do daljnjeg smanjenja fosfata i poremećaja apsorpcije kalcija u gastrointestinalnom sustavu. Posljedica ovih navedenih sekundarnih djelovanja je da FGF 23 uzrokuje hiperparatireoidizam. Stoga, smatra se da postoji nova bubrezi-koštani sustav-paratireoidne žlijezde-FGF 23 os u kojoj središnju ulogu ima FGF 23 s ciljem održavanja normalne ionske homeostaze organizma.

1.1.7 Postoji li senzor koncentracije fosfata u organizmu?

Dosadašnja istraživanja nisu razjasnila način kako FGF 23 primarno regulira poremećaj homeostaze fosfata u organizmu. Da li je to serumska koncentracija fosfata, lokalna koncentracija fosfata u blizini osteocita, ravnoteža fosfata u organizmu, metabolizam kostiju ili razina vitD? Budući da FGF 23 ima endokrino djelovanje u organizmu, potreban mu je specifični senzor za regulaciju otpuštanja FGF 23. Fosfatni senzor još zasada nije pronađen. Pretpostavlja se da najvjerojatnije osteoblasti i osteociti reagiraju na promjene u mineralizaciji za koju su potrebni fosfati ali on također ima i ulogu modulacije međustanične interakcije. Na kraju, još uvijek nije poznat fosfatni senzor niti senzorni mehanizam. Najvjerojatnije se radi o jednom ili nekoliko unutarstaničnih procesa uključenih u energetski metabolizam povezan s fosfatima ili fosfatnim transportnim procesom.

1.1.8 FGF 23-Klotho os

Usprkos sveprisutnosti FGFR po cijelom organizmu FGF 23 svoje učinke ostvaruje uglavnom djelovanjem na funkciju bubrega. Tkivno specifično djelovanje FGF 23 i vezanje FGF 23 na FGFR određuje prisutnost kofaktora Klotho koji povećava afinitet vezanja FGF 23 za FGFR. Ljudski Klotho je genski kodiran lanac od 1014 aminokiselina koji predstavlja tip1 jednostruki transmembranski polipeptid veličine molekularne mase od 130 kDa.

Transmembranski Klotho djeluje kao obligatni koreceptor za prijenos FGF 23 signala, i izražen je u distalnim zavijenim bubrežnim kanlićima, paratireoidnim žlijezdama i koroidnom pleksusu (37,31). Nedostatak kofaktora Klotho u organizmu se manifestira istim fenotipom poput nedostatka FGF 23. Budući da FGF 23 u bubrezima svoje djelovanje ostvaruje vežući se na receptore uz pomoć Klotha u distalnim bubrežnim kanalima, točan mehanizam kojim se ostvaruje fiziološki učinak FGF 23 na proksimalne bubrežne kanaliće nije jasan niti do kraja razjašnjen (2). Smatra se da se taj učinak ostvaruje otpuštanjem parakrinog faktora tzv. solubilnog Klotha. Iako je Klotho protein vezan na membranu, veliki izvanstanični dio se ispušta u cirkulaciju i poznat je kao solubilni Klotho (38,39). Istraživanja su pokazala da se Klotho (tj. alfaKlotho) veže na c izoforme FGFR1-3 i FGFR4 receptora, ali ne na b izoforme i u manjoj mjeri na FGFR2 (18,40). Ljudske mutacije Klotho gena uzrokuju hiperfosfatemiju i tumorsku kalcinozu (41), a nedavne studije su pokazale da bolesnici s povišenom razinom alfaKlotha razvijaju hipofosfatemični rahitis, hiperparatireoidizam i porast serumske razine FGF 23 (42). Možemo zaključiti da FGF 23 ima niski afinitet za FGFR, ali Klotho posreduje interakciju s FGFR i FGF 23 tako da povećava povećava afinitet njihova vezanja. Prema tome Klotho protein je obavezan za FGF 23 signalizaciju (43,44).

1.2. Literaturni pregled

1.2.1. Uloga FGF 23 kod normalne bubrežne funkcije

Istraživanja su pokazala da je glavna fiziološka uloga FGF 23 u zdravih osoba regulacija izlučivanja fosfata urinom s ciljem održavanja stabilne razine serumske vrijednosti fosfata (10). Nije pokazana cirkadijana varijabilnost serumske vrijednosti FGF 23 (35,45). Vrijednosti FGF 23 i vitD su 20-30% niže kod crnaca i latino-amerikanaca u usporedbi s bijelcima zbog rasne i etničke razlike u mineralnom metabolizmu, dok su vrijednosti PTH povišene (46). Također nije poznato da li serumska vrijednost FGF 23 može diferencirati bubrežne bolesti, te zbog stimulacije proizvodnje FGF 23 estradiolom nađene su njegove više vrijednosti u zdravih žena u odnosu na muškarce te u pušača i dijabetičara (47). Pokazano je da sistemski upalni odgovor organizma, tjelesna težina, transplantacija solidnih organa i terapija kortikosteroidima utječu na serumsku vrijednost FGF 23 (45). Svaki mehanizam smanjenja serumske vrijednosti fosfata dovodi do smanjene FGF 23 sekrecije i zatvaranja povratne petlje. Kontrola razine FGF 23 u organizmu je regulirana unosom fosfata prehranom

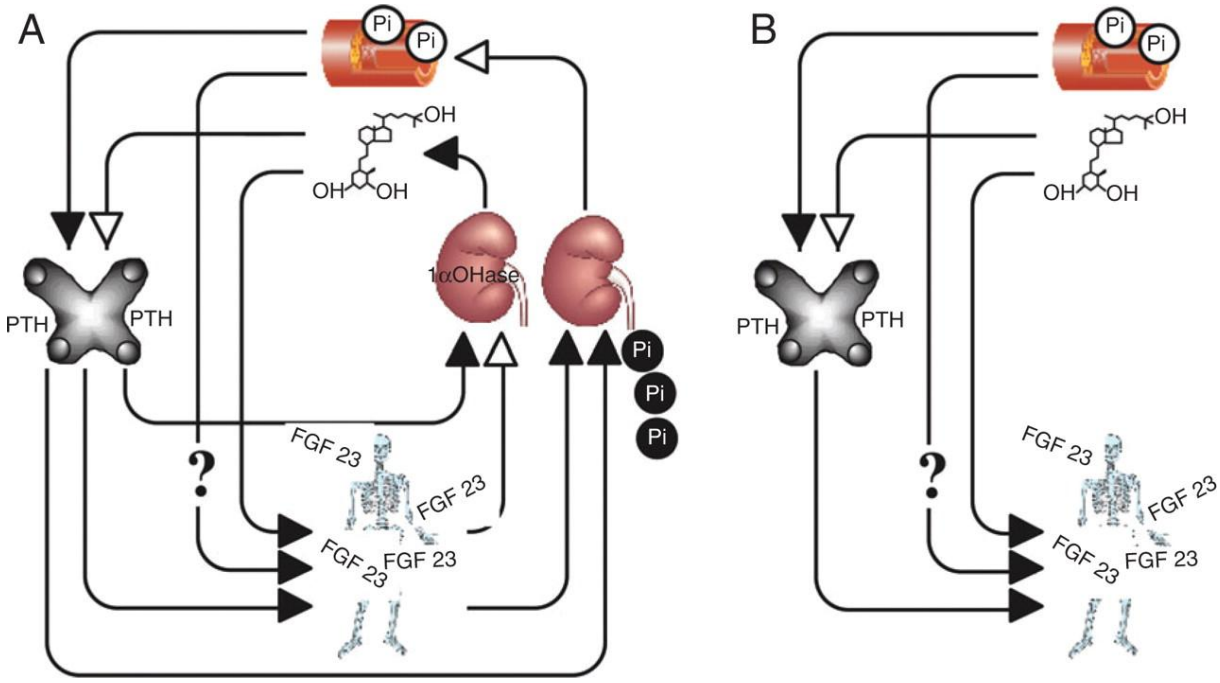
i serumskom vrijednosti fosfata te serumskom koncentracijom vitD (9). S obzirom da je FGF 23 povezan s poremećajem mineralnog metabolizma koji može biti posljedica poremećaja više različitih organskih sustava poput koštanog, bubrežnog, endokrinog, i intestinalnog za interpretaciju nalaza povišenih serumskih vrijednosti FGF 23 potrebno je izmjeriti i serumsku koncentraciju kalcija, magnezija, fosfata, alkalne fosfataze, kreatinina, PTH, vitD, i urinarnu koncentraciju kalcija i fosfata.

1.2.2. Uloga FGF 23 kod oštećene bubrežne funkcije

Studije su pokazale da je porast FGF 23 vrijednosti u bolesnika s bubrežnim oštećenjem prvi biomarker pravovremenog prepoznavanja porasta razine fosfata radi poremećene sinkronizacija osi bubrezi-fosfati-FGF 23 (48). Porast FGF 23 omogućuje rano zbrinjavanje ovih bolesnika i sprečavanje štetnih posljedica hiperfosfatemije na organizam. Možemo zaključiti da je serumska vrijednost FGF 23 u negativnoj korelaciji s vitD vrijednostima i maksimalnom tubularnom reapsorpcijom fosfata zbog samog fiziološkog djelovanja FGF 23 da inhibira reapsorpciju fosfata u proksimalnim bubrežnim kanalićima. Međutim s napredovanjem bubrežne bolesti zbog oštećenja bubrežnog parenhima dolazi do oštećenja glomerularne filtracije te smanjene ekskrecije fosfata unatoč kompenzaciji jako visokim FGF 23 serumskim vrijednostima (Slika 1). Posljedica razaranja bubrežnog parenhima je i smanjena proizvodnja vitD a posljedica je daljnje pogoršanje sekundarnog hiperparatireoidizma (Slika 1). Istraživanja su pokazala da povišene vrijednosti FGF 23 upućuju na retenciju fosfata i u onih bolesnika s normofosfatemijom. Prema tome smatra se da perzistentna retencija fosfata ili hiperfosfatemija imaju za posljedicu visoke vrijednosti FGF 23 (49).

Patofiziološki mehanizam u bolesnika s oštećenjem bubrežne funkcije je da na početku razvoja bubrežnog oštećenja dolazi do pojačanog lučenja FGF 23 iz osteocita kako bi se pojačala kompenzatorna fosfaturija na razini nefrona i inhibirala proizvodnja vitD s ciljem održavanja homeostaze serumske vrijednosti fosfata (50). Otkriće fosfaturičnog hormona FGF 23 je omogućilo bolje razumijevanje poremećaja metabolizma minerala u bolesnika s akutnim ili kroničnim oštećenjem bubrega. Mutacije gena FGF 23 su dosada bile karakteristika genetskih bolesti koje su se manifestirale s istim fenotipima hipofosfatemije, izoliranog gubitka fosfata urinom, rahitisom ili osteomalacijom, ili nedovoljnom proizvodnjom vitD za

određeni stupanj hipofosfatemije (50). Međutim danas klinička primjena mjerenja FGF 23 mogla bi imati funkciju ranog i potencijalno idealnog biomarkera oštećenja bubrežne funkcije.



Slika 1. FGF 23 posredovana regulacija homeostaze fosfata s normalnom (A) ili oštećenom (B) bubrežnom funkcijom. (A) Kod normalne bubrežne funkcije, petlja ovoga sustava regulacije je zatvorena. U uznapredovalim stadijima KBB, ovaj regulatorni sustav više ne radi prikladno čak niti u prisutnosti visokih FGF 23 vrijednosti. Visoke vrijednosti fosfata zajedno s niskim vitD razinama posljedično stimuliraju sekreciju PTH. (B) Kod oštećene bubrežne funkcije, ova petlja postaje otvorena. Unatoč podražajima za proizvodnju FGF 23, negativna povratna veza je prekinuta. Stoga, serumske vrijednosti FGF 23 u osoba na dijalizi dosežu jako visoke vrijednosti. Crne strelice označuju stimulatorne učinke a bijele strelice označuju supresivne učinke. Pretpostavka je da bi ovaj patofiziološki mehanizam mogao vrijediti i za bolesnike s AOB. Preuzeto od Fukagawa M, Kazama JJ Nephrol Dial Transplant (2005) 20:1295-1298.

1.2.3. Uloga FGF 23 u kroničnoj bubrežnoj bolesti

FGF 23 je u ovoj populaciji signifikantni neovisni prediktor napredovanja KBB i snažan prediktor smrtnosti (10). Međutim, u stanjima teške hiperfosfatemije >1.77 mmol/l, FGF 23 nema prognostičku vrijednost (10). Bolesnici s KBB imaju povišene FGF 23 vrijednosti te je razina FGF 23 obrnuto povezana sa vjerojatnošću uspješne terapije vitD ili vitD aktivnim analozima. Naime istraživanja su pokazala da bolesnici s KBB koji imaju povišene FGF 23 vrijednosti 50 puta iznad gornje granice imaju nisku šansu uspješnog odgovora na terapiju vitD (<5%). Osim toga bolesnici s KBB i na terapiji dijalizom koji su imali povišenu serumsku vrijednost FGF 23 imali su 6 puta veći rizik od smrti u usporedbi s onima s nižom vrijednosti FGF 23 (51). Istraživanja su pokazala da bolesnici s ranim stadijem KBB i visokim serumskim vrijednostima FGF 23 imaju 2 puta veći rizik progresije bubrežnog oštećenja ako im je u trenutku mjerenja procijenjena stopa glomerularne filtracije (engl. Estimated glomerular function rate (eGFR)) >=45 ml/min/1.73m^2, te 3 puta veći rizik smrti u usporedbi s onima s nižom razinom hormona (48). Možemo zaključiti da FGF 23 serumske vrijednosti su prediktor progresivnog pogoršanja KBB i smrtnog ishoda. Tome u prilog ide velika studija Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) provođena u razdoblju od 2003. do 2008. godine koja je pokazala da bi FGF 23 bio ključan marker koji može predvidjeti brzi gubitak bubrežne funkcije te razdvaja one bolesnike sa stabilnom bubrežnom bolesti od onih s progresivnim oštećenjem bubrega ali i težim oblikom srčane bolesti (51). U bolesnika s KBB poremećaji metabolizma minerala i kostiju su česta komplikacija koja ima značajne posljedice na ove bolesnike, međutim da li se ovi poremećaji događaju i kod bolesnika s AOB nije do kraja razjašnjeno. Ova komplikacija bolesnika s KBB poznata je pod nazivom „Metabolička bolest kostiju u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolesti“ tj. engl. Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorders (CKD-MBD). Studije su pokazale da je FGF 23 prediktor povećanog rizika za srčanožilne bolesti i smrt u bolesnika s KBB. Zanimljivo je da ta prediktivna sposobnost je osobito izražena u bolesnika s nedijabetičkim uzrokom KBB i u onih na dijalizi, te je neovisna o serumskoj vrijednosti fosfata (50). Smatra se da je FGF 23 dobar indikator potrebe za primjenom aktivnijeg načina liječenja, te pravovremenog započinjanja dijalize. Njegove vrijednosti imaju različitu dinamiku kod različitih oblika bubrežnog oštećenja. Pokazano je da raste ranije s obzirom na eGFR u bolesnika s policističnom bubrežnom bolesti nego u ostalim bubrežnim bolestima. Također je osjetljiviji

marker tubulointersticijskog oštećenja nego glomerularnog, što objašnjava njegovu povezanost s prognozom KBB neovisno o postojećoj eGFR i albuminuriji.

1.2.3.1. Dinamika kretanja FGF 23 i kronična bubrežna bolest

Još jednom je važno naglasiti da je FGF 23 ključan za održavanje ravnoteže fosfata u ljudskom organizmu. U blagom do umjerenom stadiju KBB FGF 23 i PTH su u međuovisnoj koregulaciji, sve do stadija 4 ili 5 KBB u kojima dolazi do značajnog rasta FGF 23 kao odgovora na hiperfosfatemiju i smanjeni bubrežni klirens. Taj porast FGF 23 u tome trenutku postaje eksponencijalan. FGF 23 ne raste značajno sve dok se u organizmu mogu održavati normalne razine fosfata porastom bubrežnog izlučivanja. Istraživanja su pokazala da razina FGF 23 progresivno raste već u ranom stadiju bubrežne bolesti s početkom smanjenja eGFR. Serumske vrijednosti FGF 23 mogu biti i do 1000 puta više od razine normale. Dosada je pokazano da u stadiju 2 i 3 KBB postoji značajan porast serumske vrijednosti FGF 23. U stadiju dijalize serumske razine FGF 23 su i do 1000 puta više nego u zdravih pojedinaca (10). Porast FGF 23 vrijednosti u ranoj fazi KBB je fiziološki kompenzatorni odgovor na stabilizaciju serumske vrijednosti fosfata radi smanjenja broja intaktnih nefrona i time smanjenog bubrežnog klirensa (10). Također dinamiku povećanja FGF 23 prati paralelno smanjenje vrijednosti vitD koje je posljedica ne samo smanjenja bubrežne mase nego i supresije aktivnosti 1alfa-hidroksilaze zbog povišenih FGF 23 vrijednosti. To se zove sekundarni mehanizam FGF 23. Tercijarni mehanizam FGF 23 je zapravo već ranije spomenut mehanizam koji objašnjava nastanak tercijarnog hiperparatireoidizma. Za dinamiku kretanja FGF 23 u bolesnika s KBB važno je znati da se progresivnim smanjenjem bubrežne funkcije smanjuje bubrežna ekspresija koreceptora Klotho radi smanjenja broja funkcionalnih nefrona te dolazi do porasta FGF 23 (51,52). Prema tome poremećaji mineralnog metabolizma u KBB mogu biti posljedica progresivne bubrežne rezistencije na FGF 23 (50).

1.2.3.2. Djelovanje FGF 23 na srčanožilni sustav u kroničnoj bubrežnoj bolesti

Incidencija srčanožilnih bolesti je visoka u osoba s KBB. Rizik smrti zbog srčanožilnih bolesti je 10-100 puta veći u osoba u uremičkom stadiju KBB u usporedbi s osobama iste dobi s normalnom bubrežnom funkcijom (53). Tradicionalni rizični faktori dob, hipertenzija,

dijabetes, dislipidemija i ne-tradicionalni faktori kao aktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sustava, oksidativni stres, nakupljanje uremičkih specifičnih metabolita, upala i poremećaj mineralnog metabolizma doprinose lošem ishodu (54). Naziv Chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD) je nastao 2009.g. i definiran kao: sistemski poremećaj mineralnog i koštanog metabolizma radi KBB, koji se manifestira poremećajem u kalciju, fosfatima, PTH ili vitD, poremećajima u koštanoj strukturi ili mineralizaciji kostiju ili kalcifikacijom vaskularnih ili mekanih tkiva, samih ili u kombinaciji (55). Kalcifikacija medije krvnih žila je česta u bolesnika s bubrežnom bolesti i povezana je sa smanjenom elastičnosti velikih arterija, povišenim pulsom i povišenim rizikom srčanog zatajenja i smrti (56). Ovo stanje pogoršava obstruktivnu bolest arterija. Točan uzrok vaskularne kalcifikacije nije potpuno jasan, ali pronašli su se dokazi o povezanosti između poremećenog mineralnog metabolizma, osobito hiperfosfatemije tijekom zadnjih nekoliko godina. U postojećoj koronarnoj bolesti postoji povezanost između serumske razine fosfata i smrtnosti, čak i kod bolesnika koji nemaju KBB (57). eGFR<60 ml/min/1.73m^2 je rizični faktor za srčanožilne bolesti čak i nakon korekcije za tradicionalne rizične faktore (55,58). Proces vaskularne kalcifikacije je aktivni proces koji nastaje kao posljedica smanjenja inhibitora kalcifikacije, i rediferenciranja glatkih mišićnih stanica vaskularne medije u stanice nalik osteoblastima. Suprafiziološka koncentracija vitD stimulira proces kalcifikacije porastom apsorpcije kalcija i fosfora. S druge strane vitD nedostatak potiče vaskularnu kalcifikaciju induciranjem apoptoze glatkih mišićnih stanica i smanjenjem protektivnih čimbenika. FGF 23 i nedostatak Klotha, dovode do nastanka kalcifikacija putem suprafizioloških vrijednosti vitD i hiperfosfatemijom. Dosadašnja istraživanja su pokazala da su FGF 23 razine su povezane s razvojem ateroskleroze (59) i endotelijalne disfunkcije (60). Povišene FGF 23 vrijednosti povezane su s pojačanom kalcifikacijom vaskularnog sustava. U početku bubrežne bolesti FGF 23 djeluje kao lokalni inhibitor vaskularne kalcifikacije održavanjem normalne serumske vrijednosti fosfata u poremećenoj homeostazi (10). Međutim, prelaskom zatvorene petlje bubrezi, fosfati i FGF 23 u otvorenu petlju dolazi do pojačane vaskularne kalcifikacije s razvojem ateroskleroze, povišenja kardivaskularnog rizika, pobolijevanja i smrti osobito. Mehanizam vaskularne kalcifikacije se sastoji od depozita minerala u kapilare i male arteriole, srednje arterije i srčano tkivo. Depoziti minerala u kapilare i male arteriole uzrokuju distalno oštećenje dotoka krvi radi kalcificirane krvne žile. Posljedica je nastanak nekroze kože i hemoragijske potkožne lezije. Depoziti minerala u srednje arterije karakteristika su bolesnika s bubrežnim zatajenjem. Dolazi do diferencijacije glatkih mišićnih stanica medije u stanice s fenotipom

osteoblasta. Posljedice depozita minerala u srčano tkivo dovode do poremećaja rada provodnog sustava i posljedično do nastanka značajnih aritmija te koronarne kalcifikacije. Smatra se da povišene razine FGF 23 direktnim mehanizmom uzrokuju hipertrofiju lijeve klijetke u bolesnika s KBB (61). Hipertrofija lijeve klijetke nađena je u bolesnika s jako visokim FGF 23 vrijednostima (>48 pg/ml) i eGFR <60 ml/min/1.73 m^2 unatoč normalnoj serumskoj vrijednosti fosfata (10).

Iako su studije pokazale da je porast FGF 23 biomarker hiperfosfatemije ili nedostatka vitD, smatra se da je toksičan za određene ciljne organe osobito srčanožilni sustav (50). FGF 23 ima direktno djelovanje na srčanožilni sustav neovisno o prisutnosti Klotha. Taj mehanizam se ostvaruje putem niskog afiniteta Klotho neovisnog vezanja FGF23 na FGFR. Također se smatra da u mladih zdravih ljudi FGF 23 nema glavnu ulogu u akutnoj homeostazi fosfata (54). Da li FGF 23 predstavlja osjetljivi biomarker poremećaja homeostaze fosfata u organizmu ili sam ima neovisno o serumskoj vrijednosti fosfata negativne učinke na organizam, osobito na kardiovaskularni sustav, i dalje ostaje tajna koju je potrebno istražiti (62).

1.2.3.3. Terapijska primjena FGF 23 u kroničnoj bubrežnoj bolesti

Vjeruje se da bi probir na FGF 23 mogao pomoći u pravovremenom prepoznavanju bolesnika s KBB i normalnim serumskim vrijednostima fosfata koji bi imali dobrobit od ograničavanja unosa fosfata prehranom i terapijske primjene vezača fosfata. U bolesnika s KBB povišenje serumskih vrijednosti FGF 23 se događa brzo za razliku od teške hiperfosfatemije kojoj je potreban duži vremenski period da se razvije. Međutim potrebna su daljnja istraživanja u bolesnika s raznim stadijima KBB kako bi se povišenje FGF 23 serumskih vrijednosti dokazalo kao rizični faktor kao i dobrobit od snižavanja vrijednosti FGF 23 u ovoj populaciji bolesnika.

1.2.4. FGF 23 i akutna ozljeda bubrega

Podaci o prognostičkoj ulozi FGF 23 kod AOB su, međutim, nedostatni. U dostupnoj literaturi postoje zasada pet publikacije o odnosu FGF 23 vrijednosti i AOB. Jedna od publikacija je prikaz slučaja bolesnika s povišenim vrijednostima FGF 23 u bolesnika s AOB

uzrokovanom rabdomiolizom (63). Druga publikacija je pokazala povišene serumske vrijednosti FGF 23 u bolesnika s AOB povezane s povišenim rizikom smrti i potrebe za bubrežnom nadomjesnom terapijom (64). Međutim nedostatak ove studije je bio mali broj ispitanika uključenih u studiju te mjerenje samo jedne FGF 23 vrijednosti čime je dinamika kretanja FGF 23 u AOB i dalje ostala pokrivena velom tajne. Treća dostupna publikacija je priopćenje posterom o serumskim vrijednostima FGF 23 izmjernim jednokratno u bolesnika s AOB (65). Nedostatak ovog istraživanja je isto bilo samo jedno mjerenje FGF 23 vrijednosti u ispitanika s AOB. Istraživanja su pokazala da se porast FGF 23 vrijednosti očekuje u vremenskom periodu od 1-3 dana, a prema nekim radovim 5-7 dana (66). FGF 23 porast je slijedio promjene serumskog fosfata i PTH. Međutim, ove studije su pokazale da su rezultati povezanosti FGF 23 i fosfata kontradiktorni. Stoga su potrebna daljnja istraživanja s većim brojem ispitanika i dužim vremenskim praćenjem.

Međutim, najnovije istraživanje je pokazalo ubrzani, i rani porast plazmatskih vrijednosti FGF 23 na dva životinjska modela toksinom inducirane nefropatije (67). Ovaj nalaz je potvrđen i komplementarnom pilot studijom koja je pokazala rani porast FGF 23 vrijednosti u osoba koje su nakon kardiokirurškog zahavata razvile AOB u odnosu na kontrolnu skupinu bez AOB (67). Rezultati su pokazali da FGF 23 počinje statistički značajno rasti rano nakon nastanka AOB u osoba podvrgnutih kardiokirurškoj operaciji, već i intraoperativno. Dakle, prije nego se uoči pogoršanje bubrežne funkcije dosadašnjim kliničkim biomarkerima. Značajan porast FGF 23 vrijednosti u osoba koje postoperativno razviju AOB se dešava unutar 24h nakon operacije, te prema ovom istraživanju nastavlja i sljedeća 2 dana. Iako je pokazano da dolazi također do značajnog porasta vrijednosti serumskog kreatinina unutar 24h postoperativno kod bolesnika koji postoperativno razviju AOB, ova veličina porasta serumskog kreatinina od 1.4 puta je puno manja od veličine porasta FGF 23 od 15.9 puta (67). Prema tome, kao što je i već dosada pokazano dok se još ne pronađe idealan bubrežni biomarker potrebno je kod osoba s AOB ozbiljno shvatiti svaku malu postoperativnu promjenu vrijednosti serumskog kreatinina. Važno je napomenuti da ovaj značajan porast plazmatskih FGF 23 vrijednosti u miševa se pokazao neovisan o signalizaciji PTH, vitD, i serumskim fosfatima (67). Nedostaci ovoga istraživanja su mali broj ispitanika te samo jedno mjerenje plazmatske FGF 23 vrijednosti, te nedostatak utvrđivanja epidemiološke povezanosti povišenih plazmatskih FGF 23 vrijednosti i smrtnosti u ispitanika s postoperativnim AOB.

Možemo zaključiti da su dostupne studije pokazale da je AOB povezana s povišenim serumskim vrijednostima FGF 23 (67-71). Također studije su pokazale da je povišena

serumska FGF 23 vrijednost u bolesnika s AOB povezana s lošim ishodom u ovih bolesnika poput povišenog rizika smrti ili potrebe za bubrežnom nadomjesnom terapijom (68). Serumske vrijednosti FGF 23 u bolesnika s AOB rastu neovisno o pokretačkom mehanizmu kod bolesnika s KBB kao što su visoki oralni unos fosfata, vitD i PTH (67). Međutim, točan mehanizam porasta FGF 23 u AOB nije još uvijek jasan. Smatra se da je za visoke vrijednosti FGF 23 u bolesnika s AOB odgovorna pojačana proizvodnja FGF 23 prije nego smanjenje bubrežne eliminacije FGF 23 radi smanjenja broja funkcionalnih nefrona (72). Drugi razlog rezistencije na FGF 23 djelovanje je nedostatak kofaktora Klotho u ozljeđenom bubregu (72). Osim toga, pojačana koštana proizvodnja FGF 23 u bolesnika s AOB je dokazana imunohistokemijskim i western blot analizama kostiju (73,74). Zanimljivo je da jedna pilot studija u pedijatrijskoj populaciji podvrgnutoj kardiokirurškom operativnom zahvatu je pokazala da povišene preoperativne serumske FGF 23 vrijednosti su povezane s dvostrukim porastom rizika razvoja AOB, te također koreliraju s volumnim preopterećenjem, duljinom strojne ventilacije i duljinom boravka u jedinici intenzivnog liječenja (JIL) (70). Stoga su potrebna daljnja istraživanja s većim brojem ispitanika i dužim vremenskim praćenjem, te mjerenjem FGF 23 u različitim fazama perioperativnog razdoblja kako bi se proučila njegova uloga u AOB.

1.2.4.1. Akutna ozljeda bubrega

AOB je klinički sindrom karakteriziran iznenadnim ili perzistentnim smanjenjem bubrežne funkcije (75-80). Kao posljedica smanjenja glomerularne filtracije manifestira se porastom serumske vrijednosti kreatinina ili smanjenjem diureze. Iako se stopa glomerularne filtracije smatra pokazateljem bubrežnog oštećenja, radi poteškoća tehničke prirode u njenom izvođenju, prihvaćeno je da se bubrežno oštećenje procjenjuje prema serumskoj vrijednosti kreatinina i diureze (81). Međutim, nedostaci porasta kreatinina i smanjenja diureze ne dopuštaju kliničarima pravovremeno uočavanje nastanka AOB niti ukazuju na mjesto i ozbiljnost bubrežnog oštećenja (82).

Akutna ozljeda bubrega je klinički sindrom koji predstavlja važnu i ozbiljnu perioperativnu komplikaciju. AOB je u perioperativnom razdoblju jedinstvena i česta komplikacija povezana sa povišenim rizikom pobolijevanja, smrti, produženog boravka u JIL-u i bolničkog boravka, te povišenim troškovima liječenja u zdravstvu (76,77,83-86). Bolnička incidencija AOB se

kreće od 1-5%, a unutar ove incidencija perioperativne AOB varira od 1-25% ovisno o vrsti operativnog zahvata i definiciji AOB (78,83). Istraživanja su pokazala da 1% od svih bolesnika s urednom bubrežnom funkcijom podvrgnuti općim kirurškim operativnim zahvatima razviju kao postoperativnu komplikaciju AOB (79,80). AOB kao postoperativna komplikacija sama po sebi u ovih osoba 3 puta povećava rizik postoperativnog pobolijevanja i pet puta rizik postoperativne smrtnosti (79). Kao što smo već naveli za dijagnosticiranje AOB osim eGFR, koriste se i indirektni serumski markeri procjene eGFR kao serumska vrijednost kreatinina, ureje te količina diureza u određenom vremenskom periodu (87). Smatra se da su eGFR, klirens kreatinina (CrCl) i serumski kreatinin korisne mjere procjene bubrežne funkcije.

1.2.4.2. Ureja

Ureja je nespecifični pokazatelj bubrežne funkcije i slabi surogat eGFR. Razlog tome je da vrijednosti ureje u teško bolesnih mogu neovisno o bubrežnoj funkciji varirati radi drugih razloga poput gastrointestinalnog krvarenja, pothranjenosti, primjene steroida.

1.2.4.3. Kreatinin

Serumska vrijednost kreatinina je specifičniji marker bubrežne funkcije od ureje. Također i njegove vrijednosti u kritično bolesnih su pod utjecajem vanbubrežnih faktora kao štu su mišićna masa, volumen distribucije kreatinina, proizvodnja kreatinina i funkcija jetre. Budući da serumske vrijednosti kreatinina široko variraju ovisno o kliničkom stanju bolesnika i terapiji koju prima, posljedica je odgođeni porast serumskog kreatinina u vremenskom periodu od nekoliko sati do ponekad nekoliko dana prije nego što postigne stalnu vrijednost (88). Radovi ukazuju da će serumski kreatinin početi rasti tek kod smanjenja bubrežne funkcije za 40-50% (88). Razlog odgođenog porasta serumskog kreatinina je da bubrezi iz organizma uklanjaju kreatinin procesom filtracije i sekrecija (89). Naime, male promjene u serumskom kreatininu ne reflektiraju promjene u bubrežnoj filtraciji, nego su posljedica promjena u bubrežnoj sekreciji koja se odvija u proksimalnom kanaliću a ovisi o protoku plazme kroz bubreg (90,91). Prema tome kreatinin je zasada najspecifičniji bubrežni

biomarker ne samo glomerularne filtracije nego i akutne tubularne ozljede u svakodnevnoj rutinskoj kliničkoj primjeni.

1.2.4.4. Klirens kreatinina

Istraživanja su pokazala da je 12-h CrCl i 24-h CrCl pouzdan pokazatelj procjene bubrežne funkcije. Međutim CrCl u bolesnika s AOB često precjenjuje eGFR. Razlog je da na početku AOB dolazi do porasta tubularne sekrecije kreatinina.

1.2.4.5. Diureza

S druge strane, nedostaci diureze kao biomarkera bubrežnog oštećenja su gubitak senzitivnosti mjerenja radi široke terapijske primjene diuretika u hospitaliziranih bolesnika čime se ne može detektirati nastanak oligurije (88). Osobito treba oprezno procijeniti etiologiju oligurije u kirurških bolesnika koji postoperativno radi perioperativnih multifaktorijalnih i kompleksnih hemodinamskih i volumnih poremećaja koji posljedično dovode do hipovolemije i time bubrežne hipoperfuzije, razviju privremenu oliguriju (92,93,94,95).

1.2.5. FGF 23-novi marker perioperativne akutne ozljede bubrega

Etiologija i patofiziologija perioperativne AOB je složena i multifaktorijalna (96,97,98). Međutim glavni rizični faktori koji dovode do bubrežnog oštećenja su hipotenzija, ishemija i reperfuzija, upala te nefrotoksini (94,95). Njihovo štetno djelovanje na bubreg je reverzibilno samo ako se sa preventivnim mjerama započne na vrijeme, odnosno u uskom terapijskom prozoru od 24-48h od izlaganja rizičnim čimbenicima. Novi biomarker AOB upravo u ovome rizičnom vremenskom periodu treba pokazati jaku specifičnost i senzitivnost. Međutim, FGF 23 bi mogao biti pouzdan biomarker AOB i pokazatelj njezine progresije budući da počinje značajno rasti već unutar 24 sata od nastanka bubrežne ozljede za razliku od ostalih novih biomarkera bubrežnog oštećenja (57). Trenutno poznati serumski i urinarni markeri bubrežne ozljede su neutrophil gelatinose-associated lipocalin (NGAL) (99), kidney injury molecule 1

(KIM-1) (100), cysteine rich protein, cystatin C (99), i lipocalin (101) . Od svih nabrojenih bubrežnih biomarkera cystatin C je dosada najviše proučavan. Za serumski cystatin C se smatra da je njegova vrijednost da je marker AOB u realnom vremenu u kritično bolesnih osoba te da bolje korelira s eGFR od kreatinina. Upravo zbog ovih razloga je cystatin C dijagnostički superiorniji kreatininu. Porast vrijednosti cystatina C značajno prethodi vrijednosti kreatinina i prema RIFLE kriterijima bubrežnu disfunkciju detektira 2 dana ranije nego kreatinin (87). Međutim, vremenski period porasta FGF 23 u AOB je prema istraživanjima ipak superiorniji od porasta cystatina C.

1.2.6. RIFLE i AKIN kriteriji u dijagnosticiranju akutne ozljede bubrega

U istraživanju smo koristili RIFLE i AKIN kriterije za procjenu težine AOB. Stadij zatajenja bubrega primjenom RIFLE/AKIN kriterija se određuju prema kriteriju smanjenja procijenjene stope glomerularne filtracije (eGFR) ili porasta serumske vrijednosti kreatinina te kriteriju smanjenja satne diureze (101,102). Ova dva kriterija su se pokazali korisni u dijagnosticiranju i klasifikaciji težine AOB u heterogenoj bolničkoj populaciji na bolničkom odjelu kao i u JIL-u (103,104,104,106). RIFLE i AKIN kriteriji precizno mogu predvidjeti bolničku smrtnost i kratkoročnu prognozu. Međutim, RIFLE kriteriji imaju bolju diskriminatornu moć i ukupnu točnost nego AKIN kriteriji (107). Osim toga ovi kriteriji omogućuju praćenje progresije AOB (108). Cilj ovih kriterija je rano prepoznavanje AOB te započinjanje pravovremene terapije prije nastanka progresivnog oštećenja i bubrežnog zatajenja s potrebom za bubrežnom nadomjesnom terapijom. Nedavna istraživanja su pokazala da mali porast serumske vrijednosti kreatinina koji se može smatrati klinički neznačajnim, trivijalnim i objasniti prerenalnim uzrocima je povezan s lošim ishodom bubrežne funkcije za toga bolesnika (101). Naime porast serumske vrijednosti kreatinina od 26.4 μmol/l uzrokuje porast rizika mortaliteta 4.1 puta (106). Upravo ovi rezultati su bili povod da je radna skupina 2007. godine Acute Kidney Injury Networ (AKIN) satavljena od nefrologa i intenzivista predložila primjenu modificiranih RIFLE kriterija, tzv. AKIN kriteriji. Dakle, AKIN grupa je htjela još više povećati senzitivnost RIFLE kriterija preporukom da već i puno manje promjene serumske vrijednosti kreatinina >=26.4 μmol/l definiraju prisutnost AOB i svrstavaju ovakve osobe u prvu skupinu tj Risk (Rizik). Važno je naglasiti da ova promjena ima vremensko ograničenje od 24-48h kojim se osigurava akutnost procesa i također se događa u klinički

važnom vremenskom periodu još uvijek reverzibilne ozljede bubrežne funkcije (109). Prema tome AKIN kriteriji usporedbom s RIFLE kriterijima su senzitivniji u određivanju dijagnoze i težine AOB, ali ne mogu predvidjeti kratkoročne ishode kao npr. bolnička smrtnost kritično bolesnih osoba (110,111,112). AOB je sama za sebe neovisan rizični faktor smrtnosti (97,100,103). Oporavak bubrežne funkcije nakon AOB se definira kao povratak serumske vrijednosti kreatinina unutar 20% bazalne vrijednosti u vremenskom periodu unutar 3 mjeseca do godine dana ili neovisnost bubrežne funkcije o dijalizi ako je prije postojala potreba za dijalizom (100,102,113).

1.2.6.1. RIFLE kriterij

RIFLE kriterij su senzitivni na rane promjene bubrežne funkcije i klasificiraju ih prema težini AOB u 3 stupnja, engl. Risk (Rizik), Injury (Ozljeda) i Failure (Zatajenje) te 2 ishoda AOB engl. Loss (Gubitak) i End stage kidney disease (ESKD (Završni stadij bubrežne bolesti). Karakteristika RIFLE kriterija je da se ozbiljnost AOB određuje na temelju kriterija smanjenja diureze ili porasta vrijednosti serumskog kreatinina, te se uvijek za procjenu uzima lošiji kriterij od ova dva. Npr. bolesnik s anurijom koja traje 12h će se klasificirati u RIFLE-F (Zatajenje) stupanj bez obzira na vrijednost serumskog kreatinina. Perzistentna AOB je stanje u kojem potreba za bubrežnom nadomjesnom terapijom traje više od 4 tjedna. ESKD (Završni stadij bubrežne bolesti) se definira kao potreba za bubrežnom nadomjesnom terapijom više od 3 mjeseca. Oligurija je posljedica djelovanja više mehanizama na bubrežnu funkciju. Ona nastaje neovisno o stadiju bubrežne disfunkcije.

Postoji pet kategorija RIFLE kriterija:

1. RISK(Rizik) - GFR kriterij: porast vrijednosti serumskog kreatinina x1,5 ili pad GFR >25%

   Kriterij diureze: diureza <0.5 ml/kg/h x6h
2. INJURY (Ozljeda)- GFR kriterij: porast vrijednosti serumskog kreatininax2 ili pad GFR>50%

   Kriterij diureze: diureza <0.5 ml/kg/h x12h
3. FAILURE (Zatajenje)- GFR kriterij: porast vrijednosti serumskog kreatinina x3 ili pad GFR>75%

   Kriterij diureze: diureza<0.3 ml/kg/h x24h ili anurija x12h

4. LOSS (Gubitak)- definira se kao perzistentno akutno zatajenje bubrega tj. potpuni gubitak funkcije bubrega >4 tjedna
5. ESKD (Završni stadij bubrežne bolesti)-End stage kidney disease odnosno završni stadij zatajenja bubrega(> 3 mjeseca).

U istraživanje su bili uključeni svi stadiji AOB prema RIFLE kriterijima osim stadija LOSS (Gubitak) i ESKD (Završni stadij bubrežne bolesti).

1.2.6.2. AKIN kriterij

AKIN kriteriji za razliku od RIFLE kriterija ne trebaju bazalnu vrijednost kreatinina međutim zahtijevaju mjerenje serumske vrijednosti kreatinina dva puta unutar 24-48 sati od prvog mjerenja. Stadij 1 AKIN kriterija je sličan stadiju 1 RIFLE kriterija ali uključuje iznenadno smanjenje bubrežne funkcije unutar 48h što se dijagnosticira porastom serumske vrijednosti kreatinina za 26,4 μmol/l. RIFLE stadij Injury (Ozljeda) i Failure (Zatajenje) odgovaraju stadiju 2 i 3 AKIN kriterija, s razlikom da stadij 3 uključuje sve one koji trebaju bubrežnu nadomjesnu terapiju bez obzira na stadij prema diurezi ili kreatininu. Iz AKIN kriterija izbačena su dva ishoda koji postoje u RIFLE kriteriju: Loss (Gubitak) i ESKD (Završni stadij bubrežen bolseti) (99,114).

Postoje tri stadija AKIN kriterija:

1. Stadij – Kreatinin kriterij: porast serumskog kreatinina za >26,4 μmol/l ili porast serumskog kreatinina x1,5
   Kriterij diureze: diureza <0,5 ml/kg/h x6h
2. Stadij – Kreatinin kriterij: porast serumskog kreatinina x2
   Kriterij diureze: diureza <0,5 ml/kg/h x12h
3. Stadij – Kreatinin kriterij: porast serumskog x3 ili serumski kreatinin >350 μmol/l sa akutnim porastom >44 μmol/l
   ili početak dijalize
   Kriterij diureze: diureza <0,3 ml/kg/h >24h ili anurija >12h

1.2.7. Kada je optimalno započeti i prekinuti bubrežnu nadomjesnu terapiju

Druga zagonetka ili tajna u svakodnevnom kliničkom zbrinjavanju bolesnika s AOB je kada pravovremeno započeti i prekinuti bubrežnu nadomjesnu terapiju. Još uvijek postoji tendencija odgađanja započinjanja bubrežne nadomjesne terapije što duže (103). Razlozi su hemodinamska nestabilnost bolesnika, komplikacije povezane s centralnim venskim dijaliznim kateterima, te aktivacija imunološkog i upalnog sustava bolesnika radi bionekompatibilnih dijaliznih membrana (115,116). Međutim studije su potvrdile da je odgađanje sa započinjanjem bubrežne nadomjesne terapije povezano s povišenom smrtnosti bolesnika, dužom primjenom bubrežne nadomjesne terapije, produženim bolničkim boravkom, kompromitiranjem oporavka bubrežne funkcije te povećanim rizikom progresije u KBB i ovisnosti o dijalizi u budućnosti (117,118,119,120,121). S druge strane korist ranog kretanja s bubrežnom nadomjesnom terapijom u stadiju 3 AOB prema AKIN kriterijima povezana je s boljim ishodom zbog izbjegavanja izlaganja organizma štetnim učincima metaboličkih nusproizvoda i posljedicama volumnog preopeterećenja organizma (102). Glavni cilj novog biomarkera bi bio predviđanje oporavka i progresije AOB te davanje jasnog odgovora na pitanje kada započeti i kada prekinuti bubrežnu nadomjesnu terapiju (102). Do tada odluka o započinjanju i prekidu bubrežne nadomjesne terapije do daljnjeg ostaje klinička odluka utemeljena na procjeni rizika i benefita njene primjene na organizam ovisna o manifestnim komplikacijama u volumnom, metaboličkom i elektrolitnom sustavu individualno za svakog bolesnika (103).

2. HIPOTEZA

Rano prepoznavanje AOB i predviđanje rizika pogoršanja AOB su od izuzetnog značenja. Smatra se da je najvažniji razlog taj da identificiranje ovih osoba s novonastalom i još uvijek potencijalno reverzibilnom AOB omogućuje pravovremeni početak liječenja što prema novim radovima uključuje dijalizu. Prema sadašnjim spoznajama dijalizu je uputno započeti već i prije nego što nastane znatno oštećenje bubrežne funkcije (122-124). Istraživanjem smo htjeli pokazati da je porast vrijednosti FGF 23 u plazmi rani prognostički pokazatelj progresije postoperativne akutne ozljede bubrega.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. Glavni cilj istraživanja

Proučiti dinamiku FGF 23 u plazmi u odnosu na napredovanje postoperativne AOB, te procijeniti ulogu FGF 23 kao ranog prediktora ishoda liječenja AOB.

3.2. Specifični ciljevi istraživanja

Proučiti dinamiku FGF23 tijekom prvih 5 dana AOB, u ovisnosti o stupnju težine AOB prema RIFLE i AKIN kriterijima. Usporediti vrijednosti FGF 23 tijekom navedenog razdoblja s vrijednostima u zdravih ispitanika. Proučiti povezanost promjena FGF 23 s promjenama serumskih i urinarnih vrijednosti minerala fosfora i kalcija, te serumskih i urinarnih vrijednosti kreatinina tijekom navedenog razdoblja. Procijeniti prognostičku vrijednost FGF 23 i usporediti je s prognostičkom vrijednošću RIFLE/AKIN kriterija. Odrediti vrijednost FGF 23 u skupini zdravih ljudi u svrhu uvođenja metode mjerenja FGF 23 u laboratorij te usporedbe s podacima objavljenim u literaturi za zdrave osobe istog spola i slične dobi.

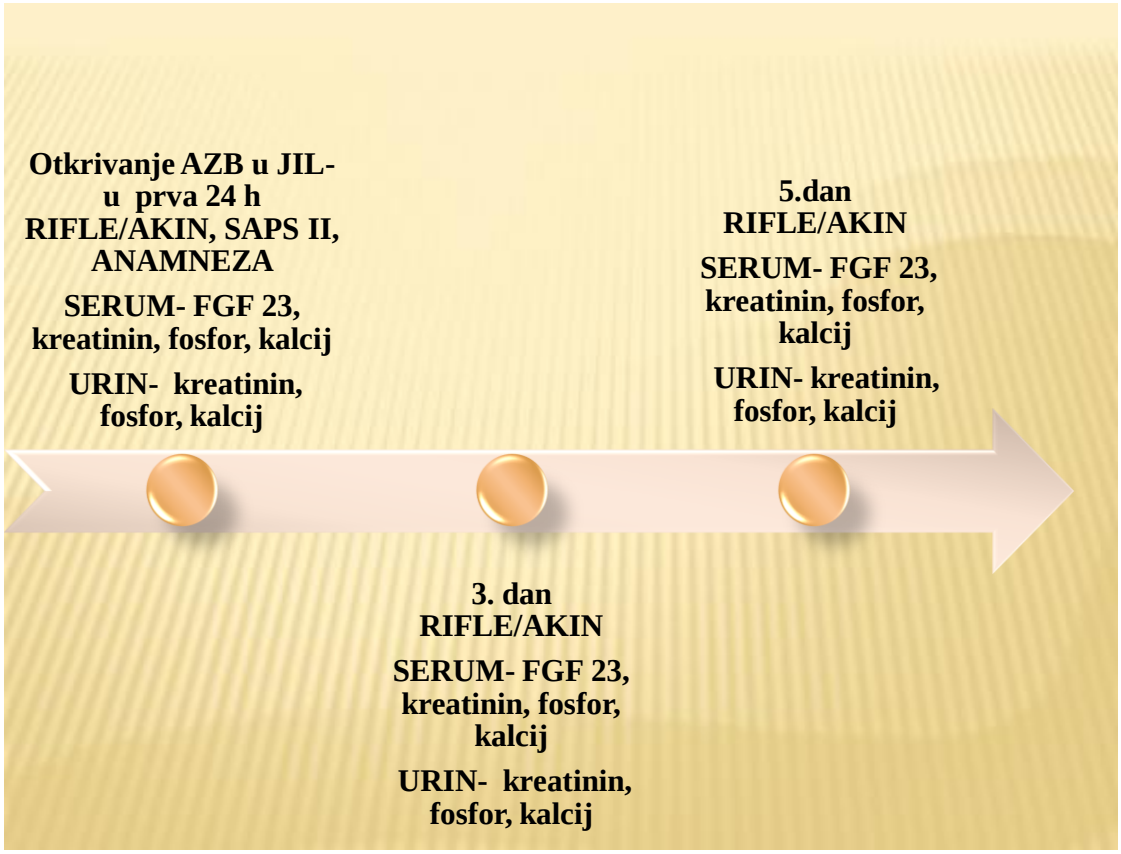
4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ispitanici

Proveli smo kohortno prospektivno istraživanje u Klinici za kirurgiji i Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od veljače 2012. do siječnja 2014. godine. Ispitanici su podijeljeni u dvije grupe. Grupu bolesnika sa postoperativnom AOB su činili odrasli ispitanici oba spola primljeni u JIL općih kirurških bolesnika u kojih se nakon elektivnih i hitnih velikih abdominalnih operativnih zahvata ili zahvata na aorti ili perifernim krvnim žilama razvila AOB. Ukupno potreban broj bolesnika je prema statističkoj analizi potrebne snage iznosio 120. Druga grupa ispitanika je bila kontrolna grupa koju su činili zdravi odrasli ispitanici oba spola. Ukupno potreban broj ispitanika kontrolne grupe je prema statističkoj analizi potrebne snage bio 30. Kriteriji uključenja za skupinu ispitanika s AOB su bili dobna starost od 18-60 godina, preoperativna vrijednost eGFR >60 ml/min/1.73m^2 izračunata na osnovi vrijednosti kreatinina u razdoblju od 365 dana prije dana operacije koristeći Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) jednadžbu, koji su razvili AOB prerenalne i renalne etiologije, te imali potpisani informirani pristanak (125). Kriteriji uključenja u kontrolnu skupinu su bili dobna starost od 18-60 godina, potpisani informirani pristanak, te anamnestičkim podacima i laboratorijskim parametrima potvrđena uredna funkcija bubrega, isključenje akutne upalne bolesti, bolesti vezivnog tkiva i mišića, malignih bolesti, bolesti endokrinog sustava i metabolizma. Iz istraživanja su bili isključeni politraumatizirani bolesnici, bolesnici koji nisu imali preoperativnu vrijednost kreatinina izmjerenu unutar godine dana od dana operacije, bolesnici s rabdomiolizom, anamnezom diseminirane maligne bolesti, bolestima metabolizma kao što su nasljedni hipofosfatemični sindrom, neregulirana šećerna bolest, koji su preoperativno uzimali vitD u terapiji, bolesnici s postrenalnom etiologijom AOB, s anamnezom urološke bolesti, kronične bubrežne bolesti, bolesti paratireoidne žlijezde, vezivnog tkiva, metaboličke bolesti kostiju, resekcije tankog crijeva i malapsorpcije masti, s teškom metaboličkom acidozom i anamnezom transplantiranog organa.

4.2. Dizajn istraživanja

Ispitanicima koji su zadovoljili kriterije uključenja u studiju se u prva 24 h tijekom boravka u JIL-u općih kirurških bolesnika dijagnosticirala AOB na temelju RIFLE/AKIN kriterija. Oni ispitanici koji su razvili AOB 24 sata nakon operacije tj. prvi postoperativni dan, odmah im se odredila ulazna i kasnije izlazna vrijednost Simplified Acute Physiology Score (SAPS) II, uzela i nadopunila anamneza te su se uzela dva uzorka krvi u jednu epruvetu s crvenim čepom volumena 4 ml i jednu epruvetu s čepom boje lavande volumena 2 ml, i porcija urina u epruvetu minimalnog volumena urina 1 ml (126) (Slika 2). Uzorak krvi za mjerenje FGF 23 se nakon pravilnog uzimanja i obrade pohranio u zamrzivač na -80°C, a drugi uzorak krvi za mjerenje rutinskih biokemijskih parametara kao kreatinin, fosfor, kalcij i uzorak porcije urina za mjerenje parametara kreatinina, fosfora i kalcija su se odmah poslali u medicinski laboratorij na analiziranje (127). Istim ispitanicima se ponovno radi proučavanja dinamike kretanja FGF 23 vrijednosti treći i peti dan boravka u bolnici ponovno odredio RIFLE/AKIN stadije te FGF 23, kreatinin, kalcij, fosfor u serumu, te kreatinin, fosfor, kalcij u porciji urina (Slika 2).



Slika 2. Prikaz protokola istraživanja prvih pet dana nakon operacije

Stanje bubrežne funkcije ispitanika se procjenjivalo sedmi i četrnaesti postoperativni dan sa mogućnošću 2 ishoda:

1. oporavak bubrežne funkcije (serumski kreatinin unutar 20% od preoperativne vrijednosti)
2. zatajenje bubrežne funkcije (serumski kreatinin >155 μmol/l) (35) (Slika 3).

Ispitanici su se pratili do otpusta iz bolnice (Slika 3).

Slika 3. Vremenski prikaz praćenja ispitanika tijekom istraživanja i ishoda bubrežne funkcije.

Ispitanicima se svaki dan u sklopu rutinske dijagnostike tijekom boravka u JIL-u određivala kompletna krvna slika i biokemija (ureja, kreatinin, bilirubin, glukoza, kalij, natrij, koagulogram, acidobazni nalaz, C-reaktivni protein). Također im se odredila kao što je već spomenuto kod dolaska, i kod napuštanja JIL-a vrijednost ulaznog i izlasnog SAPS II. Kontrolnoj skupini ispitanika koja je zadovoljila anamnestičke kriterije uključenja u studiju se samo jednim mjerenjem odredila serumska vrijednost kreatinina i koncentracija FGF 23 u

plazmi, te kompletna krvna slika, glukoza, bilirubin, C-reaktivni protein, kalij, natrij, fosfor, kalcij i koagulogram radi isključenja patoloških vrijednosti i potvrde urednih laboratorijskih parametara. Anamnestički podaci su uključili osnovne podatke o ispitanicima (spol, dob), komorbiditete, uzimanje lijekova, funkcije i navike. Podaci su dobiveni od samih ispitanika, te ako oni nisu bili sposobni u ostvarivanju komunikacije uzeti su heteroanamnestički podaci od uže rodbine te su također upotpunjeni podacima iz dostupne medicinske dokumentacije iz elektroničkog medicinskog sustava BIS KBC-a Zagreb.

4.3 Metodologija pripreme uzoraka

Serumski uzorci FGF 23 su manje stabilni od plazmatskih uzoraka (mogu stajati 6h vrs 14 dana na sobnoj temperaturi) te je preporuka da se trebaju zamrznuti unutar 6h od skupljanja. Plazma je preferirani oblik uzimanja uzoraka budući da serumska mjerenja daju niže vrijednosti FGF 23 za oko 25 RU/ml od plazmatskih. Referentne vrijednosti u zdrave dojenčadi mlađe od 3 mjeseca su značajno povišene, >900 RU/ml. Referentne vrijednosti u djece starosti od 3 mj do 17 godina su <=230 RU/ml, a referentne vrijednosti odraslih >=18 godina iznose <=180 RU/ml (128). Također izmjerene FGF 23 vrijednosti uvijek smo interpretirali sa serumskim i urinarnim vrijednostima fosfora i kalcija. Uzorci za mjerenje FGF 23 uzimali su se kod ispitanika ujutro dok su bili natašte. Budući da se radi o imunometričkoj enzimskoj pretrazi kod koje teška lipemija, hemoliza i hiperbilirubinemija interferiraju s rezultatima mjerenja, ispitanici s takvim uzorcima su bili isključeni iz istraživanja. Uzorak plazme ispitanika se skupio u epruvetu boje lavande volumena 2 ml s EDTA ili heparinom kao antikoagulansom kako bi se spriječilo zgrušavanje uzorka krvi. Svi uzorci su se unutar 30 minuta od trenutka skupljanja centrifugirali kroz 10 minuta brzinom 3000 okretaja u minuti. Centrifugiranjem uzorka dobila su se 3 sloja od vrha prema dolje: sloj plazme odnosno supernatant, sloj leukocita (buffy coat) i na dnu sloj eritrocita. Nakon centrifugiranja pažljivo se odpipetirao uzorak supernatanta veličine volumena od 150 µl te u obliku alikvota pohranio u zamrzivač na temperaturi od -80°C do mjerenja imunometričkom metodom. Uzorci alikvota pohranjeni su u ukupnom volumenu od 300 µl koji je potreban za izvedbu testa u duplikatu. Naime za jedno mjerenje potreban je uzorak volumena 150 µl koji

smo iz supernatanta odvojili pipetom volumena 1 ml. Svaki ispitanik je imao pohranjena u zamrzivač dva uzorka alikvota FGF 23 volumena 150 μmol.

4.3.1 Metoda mjerenja FGF 23

Plazmatski uzorak FGF 23 se mjerio imunoenzimatskom metodom (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) pomoću kita Human FGF-23 (C-Term) ELISA Kit (Immutopics, San Clemente, CA) prema uputama proizvođača. Uzorci krvi su se skupljali ujutro u ispitanika natašte, te odmah po skupljanju centrifugirali brzinom 3000 rpm/10 min, alikvotirali u duple uzorke volumena 150 μl i odmah zatim pohranili u zamrzivač na temperaturu od -80°C do izvođenja mjerenja (najduže 2 mjeseca) spomenutim kitom pri valnoj duljini od 450 nm za vrijednosti 0-445 RU/ml, te 595-650 nm za vrijednosti >445 RU/ml. Jako lipemični i hemolizirani uzorci plazme su se odbacili. Osjetljivost testa je bila 3.0 RU/ml.

4.3. Suglasnosti

Istraživanje je provedeno uz suglasnot svih etičkih povjerenstava ustanova u kojima se istraživanje provodilo, uključujući i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Zagreb i uz suglasnost svih ispitanika. Istraživanje je provedeno u skladu s Helsinškom Deklaracijom (engl. Declaration of Helsinki). Svi ispitanici (ispitanici s postoperativnom AOB i zdrave kontrole) potpisom su dali suglasnosti za sudjelovanje u istraživanju.

4.5. Metode statističke analize podataka

Razina statističke značajnosti je određena na $p<0,05$, i svi intervali pouzdanosti su dani na razini od 95%. U svim slučajevima upotrebljavani su dvokračni testovi statističke značajnosti. Testiranje normalnosti distribucije provedeno je pomoću Kolmogorov-Smirnov testa kod uzoraka većih od 30 ili Shapiro-Wilk testom kod uzoraka manjih od 30. Kao mjere centralne tendencije i raspršenja prikazani su medijan i interkvartilni raspon budući da je distribucija

većine rezultata odstupala od normalne. Razlika u učestalosti povišene razine FGF 23 između iapitanika s AOB i ispitanika bez AOB provjeravana je hi-kvadrat testom, uz koji je, kod statistički značajnih nalaza, kao standardizirana mjera veličine učinka dan Phi koeficijent. U analizi razlika srednjih vrijednosti FGF 23 između više stadija AOB upotrebljavan je Kruskal -Wallis test, pri čemu je kao standardizirana mjera veličine učinka, uz statistički značajne rezultate, prikazan η^2. Razlike u srednjim vrijednostima FGF 23 između ispitanika s AOB i ispitanika bez AOB analizirane su Mann-Whitney U testom, pri čemu je kao standardizirana mjera veličine učinka prikazan AUC (od engl. Area Under the Curve; izračunat prema formuli: U/(m*n) gdje je U rezultat Mann-Whitney testa (suma rangova), a m i n su veličine dva uzorka). Promjena u srednjim vrijednostima FGF 23 kroz tri točke mjerenja analizirana je Friedmanovim testom, a promjena između dvije točke mjerenja Wilcoxonovim rang testom. Za analizu promjene u prisutnosti AOB prema RIFLE ili AKIN kriteriju kroz tri točke mjerenja upotrjebljen je Cochranov Q test, a za analizu promjene u prisutnosti AOB između dvije točke mjerenja, McNemar egzakt test. Granične vrijednosti FGF 23 za dijagnozu AB0 prema RIFLE ili AKIN kriteriju određene su ROC krivuljom, uz analizu odgovarajuće razine specifičnosti, osjetljivosti, pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti.

Binarna logistička regresija korištena je za univarijatno i multivarijatno predviđanje povišene razine FGF 23, pri čemu su dani omjeri izgleda i 95%-tni intervali pouzdanosti za svaku varijablu. U slučaju višestrukih usporedbi, inflacija pogreške tipa I (alpha) uvijek je kontrolirana Bonferronijevom korekcijom. Sve statističke obrade obavljene su u paketu SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Analiza je provedena od strane agencije Biometrika Healthcare Research.

5. REZULTATI

5.1. Opći podaci ispitanika

Istraživanjem je obuhvaćeno 30 zdravih osoba u kontrolnoj skupini i 121 ispitanik s postoperativnom AOB. Osnovna obilježja ispitanika su navedena u **Tablici 1**.

Tablica 1. Ispitanici prema skupini, spolu i dobi (n=151)

	n (%)
Skupina	
Akutna ozljeda bubrega	121 (80,1)
Zdravi	30 (19,9)
ukupno	151 (100,0)
Dob*	57 (52-60)
Spol	
muški	88 (58,3)
ženski	63 (41,7)
ukupno	151 (100,0)

*Medijan (interkvartilni raspon)

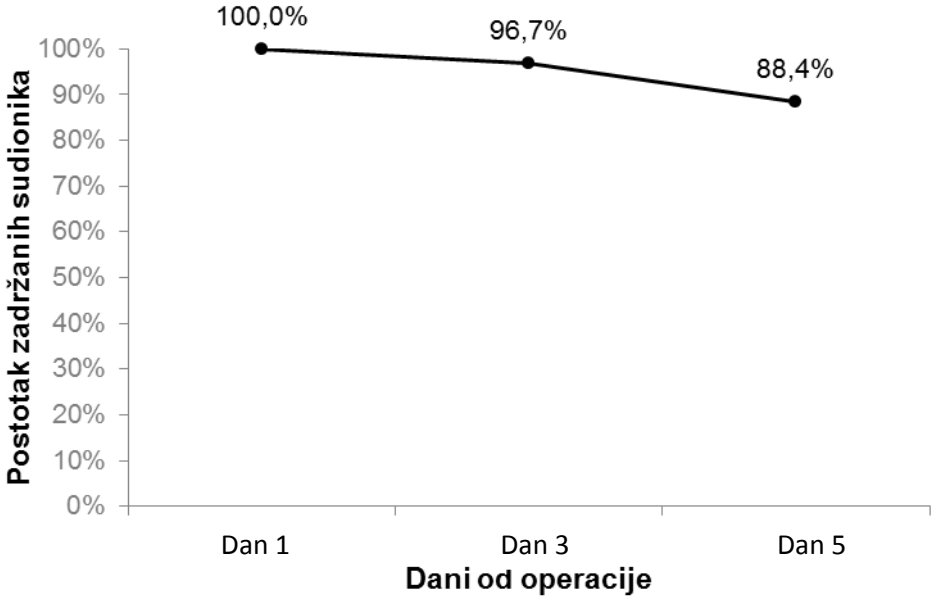
Utvrđena je statistički značajna razlika u dobi ispitanika između skupine s AOB i kontrolne grupe zdravih ispitanika (Mann-Whitney U=193,5; Z= -7.565; **p<0,001**; AUC=0,05). Medijan dobi (interkvartilni raspon) ispitanika skupine bolesnih bio je 57 (52-60) godina, dok je medijan (interkvartilni raspon) dobi skupine zdravih bio 33 (29-46) godina. Nije utvrđena statistički značajna razlika u spolu između dvije skupine sudionika ($\chi^2_{(1)}$=2,076; p=0,150).Iz analize su u potpunosti izbačena dva sudionika koji nisu imali podatke za FGF 23 niti u jednoj točki mjerenja, tako da je u analizi ukupan broj bolesnih n=121.

Osnovna preoperativna obilježja ispitanika s postoperativnom AOB su navedena u **Tablici 2**.

Tablica 2. Preoperativna obilježja ispitanika (skupina s AOB; n =121)

	n (%)
ASA	
1	5 (4,1)
2	24 (19,8)
3	70 (57,9)
4	10 (8,3)
5	12 (9,9)
ukupno	121 (100,0)
Hitnost operacije	
hitni	71 (58,7)
elektivni	50 (41,3)
ukupno	121 (100,0)
Dijagnoza	
vaskularna	28 (23,1)
abdominalna	93 (76,9)
ukupno	121 (100,0)
Operacija	
vaskularna	28 (23,1)
abdominalna	93 (76,9)
ukupno	121 (100,0)

Provedenom analizom udjela ispitanika s postoperativnom AOB zadržanih do kraja istraživanja s obzirom na varijablu mjerenja FGF 23 prvi dan nakon operacije u istraživanju je sudjelovalo 121 ispitanik s AOB (100%), treći dan nakon operacije 117 ispitanika s AOB (96,7%), peti dan nakon operacije 107 ispitanika s AOB (88,4%) (**Slika 4**). Razlog gubitka ispitanika do kraja istraživanja je bio ili njihov letalni ishod ili gubitak uzoraka FGF 23 tijekom istraživanja.



Slika 4. Postotak ispitanika zadržanih do kraja istraživanja. Ovdje je u obzir uzeta varijabla FGF 23, budući da je to glavni kriterij.

5.2. Razina FGF 23 i kreatinina kod zdravih ispitanika

Medijan (interkvartilni raspon) razine FGF 23 u skupini zdravih ispitanika iznosio je 70 (62-95) RU/mL. Najmanja zabilježena vrijednost iznosila je 38 RU/mL, a najveća 203 RU/mL. Među zdravim ispitanicima muškog spola, medijan (interkvartilni raspon) razine FGF 23 bio je 65 (59-79) RU/mL, te je najmanja zabilježena razina iznosila 38 RU/mL, a najveća 185 RU/mL. Među zdravim ispitanicima ženskog spola, medijan (interkvartilni raspon) razine FGF 23 bio je 93 (64-128) RU/mL, te je najmanja zabilježena razina iznosila 51 RU/mL, a najveća 203 RU/mL.

Medijan (interkvartilni raspon) razine kreatinina u skupini zdravih ispitanika iznosio je 82 (70-92) µmol/L. Najmanja zabilježena razina iznosila je 65 µmol/L, a najveća 103 µmol/L. Među zdravim ispitanicima muškog spola (n=14), medijan (interkvartilni raspon) razine kreatinina bio je 80 (70-92) µmol/L, te je najmanja zabilježena razina iznosila 65 µmol/L, a najveća 101 µmol/L. Među zdravim ispitanicima ženskog spola (n=16), medijan (interkvartilni raspon) razine kreatinina bio je 84 (70-92) µmol/L, te je najmanja zabilježena razina iznosila 65 µmol/L, a najveća 103 µmol/L. U istraživanju je nađena statistički značajna

razlika u razini FGF 23 između ispitanika s AOB i kontrolnih zdravih ispitanika, te je FGF 23 bio veći kod sudionika s AOB u sve tri točke mjerenja neposredno nakon operacije (Mann-Whitney test; **p<0,001**).

5.3. Promjena kriterija akutne ozljede bubrega kroz pet dana od operacije

U **Tablici 3** navedene su promjene pojavnosti AOB ovisno o RIFLE i AKIN kriterijima kroz sve tri vremenske točke praćenja ispitanika s postoperativnom AOB, dakle prvi, treći i peti dan nakon operacije.

Tablica 3. Promjena u prisutnosti AOB prema RIFLE i AKIN kriteriju od prvog dana do petog dana nakon operacije (skupina s AOB; n=104)

	Dani od operacije			
	Dan 1	**Dan 3**	**Dan 5**	**p**
	n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
RIFLE kriterij				
bez AOB	18 (17,3)	54 (51,9)	63 (60,6)	**<0,001**
AOB	86 (82,7)	50 (48,1)	41 (39,4)	
ukupno	104 (100,0)	104 (100,0)	104 (100,0)	
AKIN kriterij				
bez AOB	0 (0,0)	64 (61,5)	76 (73,1)	**<0,001**
AOB	104 (100,0)	40 (38,5)	28 (26,9)	
ukupno	104 (100,0)	104 (100,0)	104 (100,0)	

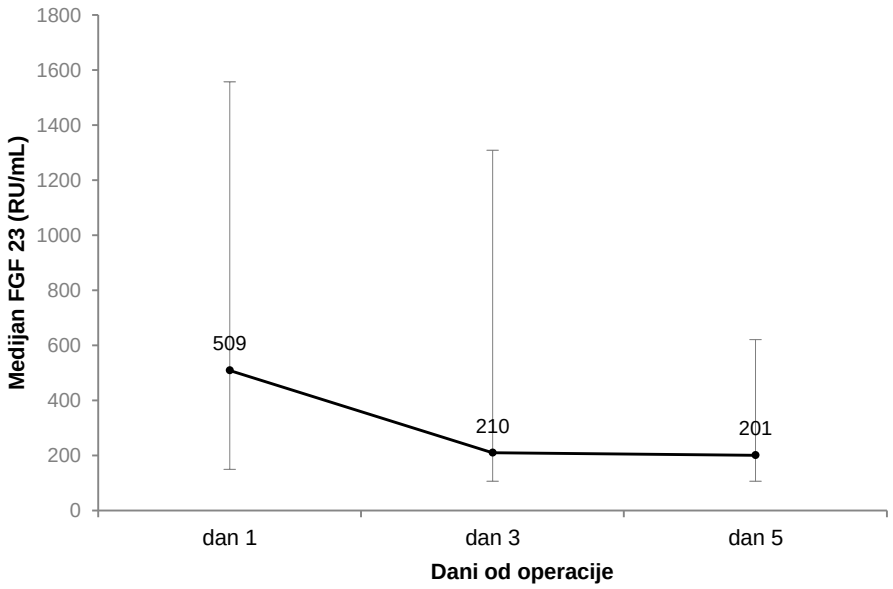
Kratice: P = razina statističke značajnosti, ili vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); Cochranov Q test

Utvrđene su statistički značajne promjene u udjelu ispitanika koji su ulazili u kriterij AOB kroz tri točke mjerenja prema RIFLE kriteriju (Cochranov Q=63; ss=2; **p<0,001**) i AKIN kriteriju (Cochranov Q=128,41; ss=2; **p<0,001**), te se udio ispitanika koji imaju AOB (RIFLE

stadij 1,2 ili 3, te AKIN stadij 1,2 ili 3) smanjuje neposredno nakon operacije do petog dana nakon operacije. Statistički značajna razlika u udjelu ispitanika s AOB prema RIFLE kriteriju utvrđena je između prvog dana nakon operacije i trećeg dana nakon operacije (McNemar egzakt test; **p<0,001**), te prvog dana nakon operacije i petog dana nakon operacije (McNemar egzakt test; **p<0,001**). Statistički značajna razlika u udjelu ispitanika s AOB prema AKIN kriteriju utvrđena je između prvog dana nakon operacije i trećeg dana nakon operacije (McNemar egzakt test; **p<0,001**), prvog dana nakon operacije i petog dana nakon operacije (McNemar egzakt test; **p<0,001**), te između trećeg i petog dana od operacije (McNemar egzakt test; **p=0,004**). U obzir su uzeti samo ispitanici koji su imali podatke za RIFLE stadij ili AKIN stadij u sve tri točke mjerenja su uzeti u obzir (n=104).

5.3.1. Dinamika FGF 23 tijekom prvih pet dana nakon operacije

Slika 5 pokazuje dinamiku kretanja FGF 23 u obliku srednje vrijednosti FGF 23 prvi, treći i peti dan nakon operacije u skupini ispitanika s AOB.



Slika 5. Srednje vrijednosti FGF 23 kroz tri točke mjerenja nakon operacije; crta pogreške predstavlja interkvartilni raspon (skupina s AOB; n=107)

Utvrđena je statistički značajna razlika u razini FGF 23 kroz tri točke mjerenje nakon operacije (Friedmanov test; χ^2=41,849; ss=2; **p<0,001**). Razlika u razini FGF 23 utvrđena je između mjerenja prvog dana nakon operacije i trećeg dana nakon operacije (Wilcoxonov test; Z= -3,855; **p<0,001**), te između mjerenja prvog dana nakon operacije i petog dana nakon operacije (Wilcoxonov test; Z= -5.730; **p<0,001**), dok se razina FGF 23 nije razlikovala statistički značajno između trećeg i petog dana nakon operacije.

5.4. Uloga FGF 23 kao ranog prediktora ishoda liječenja akutne ozljede bubrega

5.4.1. Usporedba dijagnostičke vrijednosti FGF 23, RIFLE i AKIN kriterija mjerenih prvi dan nakon operacije na ishod bubrežne funkcije

U **Tablici 4** vidljiva je dijagnostička vrijednost FGF 23 prvi dan nakon operacije kao prediktora ishoda bubrežne funkcije sedmi dan nakon operacije uspoređena s dijagnostičkom vrijednosti RIFLE kriterija određenih prvi dan nakon operacije pojedinačno za svaki kriterij prema Youdenovu J indeksu koji ima dobru teorijsku vrijednost. Za kliničku vrijednost FGF 23 kao prediktora ishoda bubrežne funkcije određena je granična vrijednost FGF 23 koja ima osjetljivost i specifičnost kao kod RIFLE kriterija (**Tablica 4**). AKIN kriteriji nisu bili dio analize prvi dan nakon operacije jer nije bilo moguće izračunati prediktivnu vrijednost AKIN kriterija budući da je kod svih (100%) bolesnika AKIN kriterij predviđao kao ishod zatajenje bubrega sedmi dan nakon operacije (**Tablica 4**).

Tablica 4. Usporedba RIFLE, AKIN i FGF 23 mjerenih prvi dan neposredno nakon operacije kao prediktora zatajenja bubrega (kreatinin >155 μmol/l) sedmi dan nakon operacije

	Prvi dan nakon operacije		
	RIFLE	**AKIN***	**FGF 23**
Ukupna točnost na temelju negrupiranih podataka			71 (57-85)
Granična vrijednost prema Youden J indeksu			63,5 RU/mL
Ukupna točnost	33 (25-37)		66 (57-72)
Osjetljivost	87 (69-70)		65 (45-82)
Specifičnost	18 (14-21)		66 (60-70)
Pozitivna prediktivna vrijednost	22 (18-24)		33 (23-42)
Negativna prediktivna vrijednost	84 (63-96)		88 (81-94)
Pozitivni omjer izgleda	1,07 (0,80-1,22)		1,89 (1,13-2,72)
Negativni omjer izgleda	0,71 (0,17-2,42)		0,53 (0,26-0,91)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	1		13
relativno	5		62
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	5		9
relativno	24		43
Granična vrijednost FGF 23 za osjetljivost kao kod RIFLE			138,4 RU/mL
Ukupna točnost	33 (25-37)		37 (30-41)
Osjetljivost	87 (69-70)		87 (69-97)
Specifičnost	18 (14-21)		24 (19-27)
Pozitivna prediktivna vrijednost	22 (18-24)		23 (18-26)
Negativna prediktivna vrijednost	84 (63-96)		88 (70-97)
Pozitivni omjer izgleda	1,07 (0,80-1,22)		1,15 (0,85-1,32)
Negativni omjer izgleda	0,71 (0,17-2,42)		0,54 (0,13-1,63)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	1		3
relativno	5		14
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	5		8
relativno	24		38
Granična vrijednost FGF 23 za specifičnost kao kod RIFLE			127 RU/mL
Ukupna točnost	33 (25-37)		33 (25-37)
Osjetljivost	87 (69-70)		87 (69-97)
Specifičnost	18 (14-21)		18 (14-21)
Pozitivna prediktivna vrijednost	22 (18-24)		22 (18-24)
Negativna prediktivna vrijednost	84 (63-96)		84 (63-96)
Pozitivni omjer izgleda	1,07 (0,80-1,22)		1,07 (0.80-1.22)
Negativni omjer izgleda	0,71 (0,17-2,42)		0.71 (0.17-2.24)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	1		1
relativno	5		5
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	5		5
relativno	24		24

Podaci predstavljaju postotke (%) osim kod omjera izgleda

* Prvi dan nakon operacije nije bilo moguće izračunati prediktivnu vrijednost AKIN kriterija jer je kod svih (100%) bolesnika AKIN kriterij predviđao zatajenje bubrega u sedmom danu nakon operacije

Analiza je pokazala da granične vrijednosti FGF 23 izmjerene prvi dan nakon operacije prema Youdenovu J indeksu u usporedbi sa RIFLE kriterijima imaju osjetljivost 65% a specifičnost 66% što nije dostatno za kliničku uporabu FGF 23 kao prediktora ishoda AOB sedmi dan nakon operacije. Klinička primjena FGF 23 vrijednosti izmjerenih prvi dan nakon operacije kao prediktora ishoda AOB sedmi dan nakon operacije se pokušala dokazati usporedbom sa prediktornom moći RIFLE kriterija.

Analiza je pokazala da granične vrijednosti FGF 23 izmjerene prvi dan nakon operacije određene prema osjetljivosti i specifičnosti kao kod RIFLE kriterija imaju istu prediktivnu vrijednost kao i RIFLE kriteriji u ocjeni ishoda bubrežne funkcije sedmi dan nakon operacije. Možemo zaključiti da prvi dan nakon operacije FGF 23 vrijednosti nisu inferiorne RIFLE kriteriju u predikciji ishoda bubrežne funkcije. Vidi rezultate **Tablica 4**.

U **Tablici 5** vidljiva je usporedba dijagnostička vrijednost FGF 23 prvi dan nakon operacije kao prediktora ishoda bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije uspoređena s dijagnostičkom vrijednosti RIFLE i AKIN kriterija određenih prvi dan nakon operacije pojedinačno za svaki kriterij prema Youdenovu J indeksu koji ima dobru teorijsku vrijednost. Za kliničku vrijednost FGF 23 kao prediktora ishoda bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije određena je granična vrijednost FGF 23 koja ima osjetljivost i specifičnost kao kod RIFLE kriterija **(Tablica 5)**. AKIN kriteriji nisu bili dio analize prvi dan nakon operacije jer nije bilo moguće izračunati prediktivnu vrijednost AKIN kriterija budući da je kod svih (100%) bolesnika AKIN kriterij predviđao kao ishod zatjenje bubrega četrnaesti dan nakon operacije (**Tablica 5**).

Tablica 5. Usporedba RIFLE, AKIN i FGF 23 mjerenih prvi dan nakon operacije kao prediktora zatajenja bubrega (kreatinin >155 μmol/l) četrnaesti dan nakon operacije

	Neposredno nakon operacije		
	RIFLE	**AKIN***	**FGF 23**
Ukupna točnost na temelju negrupiranih podataka			71 (57-85)
Granična vrijednost prema Youden J indeksu			857 RU/mL
Ukupna točnost	34 (26-41)		63 (50-73)
Osjetljivost	85 (71-96)		65 (44-82)
Specifičnost	11 (5-16)		61 (52-69)
Pozitivna prediktivna vrijednost	30 (25-34)		43 (30-55)
Negativna prediktivna vrijednost	63 (27-89)		79 (67-90)
Pozitivni omjer izgleda	0,96 (0,75-1,14)		1,68 (0,93-2,66)
Negativni omjer izgleda	1,32 (0,26-5,82)		0,57 (0,26-1,07)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	0		10
relativno	0		48
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	-5		8
relativno	-24		38
Granična vrijednost FGF 23 za osjetljivost kao kod RIFLE			138,5 RU/mL
Ukupna točnost	34 (26-41)		38 (28-44)
Osjetljivost	85 (71-96)		85 (69-96)
Specifičnost	11 (5-16)		16 (9-21)
Pozitivna prediktivna vrijednost	30 (25-34)		32 (26-36)
Negativna prediktivna vrijednost	63 (27-89)		70 (38-92)
Pozitivni omjer izgleda	0,96 (0,75-1,14)		1,01 (0,75-1,21)
Negativni omjer izgleda	1,32 (0,26-5,82)		0,94 (0,20-3,61)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	0		0
relativno	0		0
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	-5		1
relativno	-24		5
Granična vrijednost FGF 23 za specifičnost kao kod RIFLE			132 RU/mL
Ukupna točnost	34 (26-41)		34 (26-41)
Osjetljivost	85 (71-96)		85 (71-96)
Specifičnost	11 (5-16)		11 (5-16)
Pozitivna prediktivna vrijednost	30 (25-34)		30 (25-34)
Negativna prediktivna vrijednost	63 (27-89)		63 (27-89)
Pozitivni omjer izgleda	0,96 (0,75-1,14)		0,96 (0.75-1.14)
Negativni omjer izgleda	1,32 (0,26-5,82)		1.32 (0.26-5.82)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	0		0
relativno	0		0
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	-5		-5
relativno	-24		-24

Podaci predstavljaju postotke (%) osim kod omjera izgleda

* Prvi dan nakon operacije nije bilo moguće izračunati prediktivnu vrijednost AKIN kriterija jer je kod svih (100%) bolesnika AKIN kriterij predviđao zatajenje bubrega u četrnaestom danu nakon operacije

Analiza je pokazala da granične vrijednosti FGF 23 izmjerene prvi dan nakon operacije prema Youdenovu J indeksu u usporedbi sa RIFLE kriterijima imaju osjetljivost 65% a specifičnost 61% što nije dostatno za kliničku uporabu FGF 23 kao prediktora ishoda AOB četrnaesti dan nakon operacije. Klinička primjena FGF 23 vrijednosti izmjerenih prvi dan nakon operacije kao prediktora ishoda AOB četrnaesti dan nakon operacije se pokušala dokazati uspoređivanjem sa prediktornom moći RIFLE kriterija.

Rezultati prikazani u **Tablici 5** su pokazali da granične vrijednosti FGF 23 izmjerene prvi dan nakon operacije određene prema osjetljivosti i specifičnosti kao kod RIFLE kriterija istoga dana imaju istu prediktivnu vrijednost kao i RIFLE kriteriji u ocjeni ishoda bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije. Možemo zaključiti da FGF 23 vrijednosti mjerene prvi dan nakon operacije nisu inferiorne RIFLE kriterijima određenim istoga dana u ocjeni ishoda bubrežne funkcije. Vidi rezultate **Tablica 5.**

5.4.2. Usporedba dijagnostičke vrijednosti FGF 23, RIFLE i AKIN kriterija mjerenih treći dan nakon operacije na ishod bubrežne funkcije

U **Tablici 6** prikazani su rezultati dijagnostičke vrijednosti FGF 23 mjerenih treći dan nakon operacije kao prediktora ishoda bubrežne funkcije sedmi dan nakon operacije te uspoređeni s dijagnostičkom vrijednosti RIFLE i AKIN kriterija određenih treći dan nakon operacije pojedinačno za svaki kriterij prema Youdenovu J indeksu koji ima dobru teorijsku vrijednost. Od sva tri bubrežna biomarkera (RIFLE kriteriji, AKIN kriteriji, FGF 23) RIFLE kriteriji su pokazali najbolju osjetljivost od 86% te je u svrhu određivanja kliničke vrijednosti FGF 23 kao prediktora ishoda bubrežne funkcije sedmi dan nakon operacije određena granična vrijednost FGF 23 koja ima osjetljivost i specifičnost kao kod RIFLE kriterija (**Tablica 6**).

Tablica 6. Usporedba RIFLE, AKIN i FGF 23 mjerenih tri dana nakon operacije kao prediktora zatajenja bubrega (kreatinin >155 μmol/l) sedmi dan nakon operacije

	Tri dana nakon operacije		
	RIFLE	**AKIN***	**FGF 23**
Ukupna točnost na temelju negrupiranih podataka			81 (72-90)
Granična vrijednost prema Youden J indeksu			359 RU/mL
Ukupna točnost	75 (67-79)	84 (75-89)	77 (68-82)
Osjetljivost	86 (65-96)	76 (56-90)	78 (59-91)
Specifičnost	72 (67-75)	86 (80-89)	76 (71-80)
Pozitivna prediktivna vrijednost	44 (33-49)	57 (42-68)	47 (36-55)
Negativna prediktivna vrijednost	95 (88-99)	93 (88-97)	93 (86-97)
Pozitivni omjer izgleda	3,09 (1,98-3,83)	5,27 (2,85-8,23)	3,29 (2,01-4,51)
Negativni omjer izgleda	0,19 (0,05-0,52)	0,28 (0,11-0,55)	0,29 (0,11-0,56)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	24	38	26
relativno	114	181	124
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	16	14	14
relativno	76	67	67
Granična vrijednost FGF 23 za osjetljivost kao kod RIFLE			160,5 RU/mL
Ukupna točnost	75 (67-79)	84 (75-89)	60 (52-64)
Osjetljivost	86 (65-96)	76 (56-90)	87 (68-97)
Specifičnost	72 (67-75)	86 (80-89)	53 (48-55)
Pozitivna prediktivna vrijednost	44 (33-49)	57 (42-68)	33 (26-36)
Negativna prediktivna vrijednost	95 (88-99)	93 (88-97)	94 (85-98)
Pozitivni omjer izgleda	3,09 (1,98-3,83)	5,27 (2,85-8,23)	1,85 (1,29-2,16)
Negativni omjer izgleda	0,19 (0,05-0,52)	0,28 (0,11-0,55)	0,25 (0,06-0,68)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	24	38	12
relativno	114	181	57
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	16	14	14
relativno	76	67	67
Granična vrijednost FGF 23 za specifičnost kao kod RIFLE			402 RU/mL
Ukupna točnost	75 (67-79)	84 (75-89)	73 (64-79)
Osjetljivost	86 (65-96)	76 (56-90)	74 (54-88)
Specifičnost	72 (67-75)	86 (80-89)	72 (67-76)
Pozitivna prediktivna vrijednost	44 (33-49)	57 (42-68)	42 (30-50)
Negativna prediktivna vrijednost	95 (88-99)	93 (88-97)	91 (85-96)
Pozitivni omjer izgleda	3,09 (1,98-3,83)	5,27 (2,85-8,23)	2,68 (1,64-3,72)
Negativni omjer izgleda	0,19 (0,05-0,52)	0,28 (0,11-0,55)	0,36 (0,15-0,69)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	24	38	21
relativno	114	181	100
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	16	14	12
relativno	76	67	57

Podaci predstavljaju postotke (%) osim kod omjera izgleda

Iz **Tablice 6** vidljivo je da RIFLE kriteriji treći dan nakon operacije su superiorniji od AKIN kriterija i FGF 23 vrijednosti mjerenih treći dan nakon operacije te imaju najbolju prediktivnu vrijednost na ishod bubrežne funkcije sedmi dan nakon operacije. Vidi rezultate **Tablica 8**.

U **Tablici 7** prikazani su rezultati dijagnostičke vrijednosti FGF 23 mjerenih tri dana nakon operacije kao prediktora ishoda bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije te uspoređeni s dijagnostičkom vrijednosti RIFLE i AKIN kriterija određenih treći dan nakon operacije pojedinačno za svaki kriterij prema Youdenovu J indeksu koji ima dobru teorijsku vrijednost. Od sva tri bubrežna biomarkera (RIFLE kriteriji, AKIN kriteriji, FGF 23) RIFLE kriteriji su pokazali najbolju osjetljivost od 78% te je u svrhu određivanja kliničke vrijednosti FGF 23 kao prediktora ishoda bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije određena granična vrijednost FGF 23 koja ima osjetljivost i specifičnost kao kod RIFLE kriterija (**Tablica 7**).

Tablica 7. Usporedba RIFLE, AKIN i FGF 23 mjerenih tri dana nakon operacije kao prediktora zatajenja bubrega (kreatinin >155 μmol/l) četrnaesti dan nakon operacije

	Tri dana nakon operacije		
	RIFLE	**AKIN**	**FGF 23**
Ukupna točnost na temelju negrupiranih podataka			69 (55-83)
Granična vrijednost prema Youden J indeksu			363,5 RU/mL
Ukupna točnost	65 (52-74)	70 (57-80)	60 (47-71)
Osjetljivost	78 (56-92)	67 (45-84)	63 (42-81)
Specifičnost	60 (50-66)	71 (62-79)	58 (49-66)
Pozitivna prediktivna vrijednost	45 (32-54)	50 (34-63)	40 (27-51)
Negativna prediktivna vrijednost	86 (73-95)	83 (72-92)	78 (66-89)
Pozitivni omjer izgleda	1,92 (1,12-2,69)	2,33 (1,18-3,98)	1,51 (0,82-2,40)
Negativni omjer izgleda	0,37 (0,12-0,88)	0,47 (0,20-0,89)	0,63 (0,28-0,19)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	13	18	8
relativno	62	86	38
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	12	9	6
relativno	57	43	29
Granična vrijednost FGF 23 za osjetljivost kao kod RIFLE			159,5 RU/mL
Ukupna točnost	65 (52-74)	70 (57-80)	50 (38-58)
Osjetljivost	78 (56-92)	67 (45-84)	80 (60-93)
Specifičnost	60 (50-66)	71 (62-79)	36 (27-42)
Pozitivna prediktivna vrijednost	45 (32-54)	50 (34-63)	36 (27-42)
Negativna prediktivna vrijednost	86 (73-95)	83 (72-92)	80 (60-93)
Pozitivni omjer izgleda	1,92 (1,12-2,69)	2,33 (1,18-3,98)	1,26 (0,83-1,61)
Negativni omjer izgleda	0,37 (0,12-0,88)	0,47 (0,20-0,89)	0,55 (0,17-1,45)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	13	18	4
relativno	62	86	19
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	12	9	8
relativno	57	43	38
Granična vrijednost FGF 23 za specifičnost kao kod RIFLE			614 RU/mL
Ukupna točnost	65 (52-74)	70 (57-80)	58 (45-69)
Osjetljivost	78 (56-92)	67 (45-84)	65 (44-82)
Specifičnost	60 (50-66)	71 (62-79)	55 (45-62)
Pozitivna prediktivna vrijednost	45 (32-54)	50 (34-63)	39 (27-50)
Negativna prediktivna vrijednost	86 (73-95)	83 (72-92)	77 (64-89)
Pozitivni omjer izgleda	1,92 (1,12-2,69)	2,33 (1,18-3,98)	1,43 (0,81-2,19)
Negativni omjer izgleda	0,37 (0,12-0,88)	0,47 (0,20-0,89)	0,64 (0,28-1,23)
Poboljšanje predikcije AOB			
apsolutno	13	18	7
relativno	62	86	33
Poboljašnje predikcije nepostojanja AOB			
aposlutno	12	9	6
relativno	57	43	29

Podaci predstavljaju postotke (%) osim kod omjera izgleda

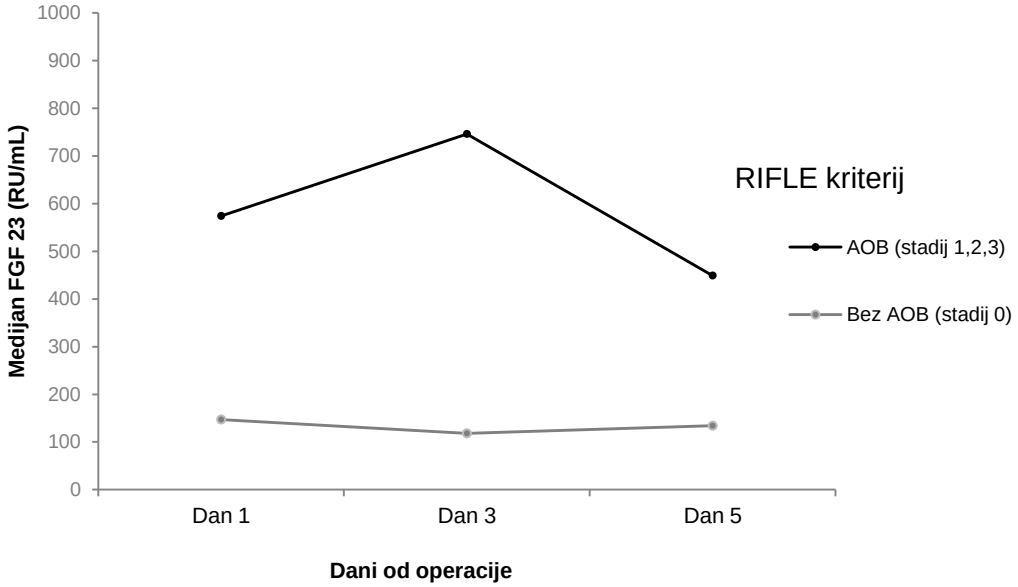
Iz rezultata u **Tablici 7** je vidljivo da RIFLE kriteriji treći dan nakon operacije su superiorniji od AKIN kriterija i FGF 23 vrijednosti mjerenih treći dan nakon operacije te imaju najbolju prediktivnu vrijednost u procjeni ishoda bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije. Vidi rezultate **Tablica 9**.

S obzirom na dobivene rezultate koji su pokazali treći dan nakon operacije značajan gubitak prediktivne vrijednosti FGF 23 kao bubrežnog biomarkera samog za sebe i u odnosu na RIFLE kriterije (**Tablica 6 i 7**), te s obzirom na rezultat provedene analize da vrijednosti FGF 23 izmjerene peti dan nakon operacije imaju nisku osjetljivost u prepoznavanju ispitanika s AOB (**Slika 5**), analiza nije pokazala statističku značajnu prediktivnu sposobnost FGF 23 vrijednosti izmjerene peti dan nakon operacije na ishod bubrežne funkcije sedmi i četrnaesti dan.

5.5. Dinamika FGF 23 tijekom prvih pet dana nakon operacije s obzirom na stadij akutne ozljede bubrega prema RIFLE/AKIN kriterijima

5.5.1. Razina FGF 23 s obzirom na stadij akutne ozljede bubrega prema RIFLE kriteriju

Ispitanici s AOB imali su statistički značajno veću razinu FGF 23 od ispitanika bez AOB prema RIFLE kriteriju u sve tri točke mjerenja; prvi dan nakon operacije (Mann-Whitney U =648; Z= -2,287; **p=0,022**; AUC=0,33), treći dan nakon operacije (Mann-Whitney U=718; Z = -5,135; **p<0,001**; AUC=0,22), te peti dan nakon operacije (Mann-Whitney U=582,5; Z= -4,370; **p<0,001**; AUC=0,24) (**Slika 6).**



Slika 6. Razina FGF 23 u tri točke mjerenja nakon operacije prema RIFLE kriteriju AOB

U **Tablici 8** vidljivi su rezultati dinamike srednjih vrijednosti FGF 23 u ovisnosti o stadiju težine postoperativne AOB prema RIFLE kriteriju prvi, treći i peti dan nakon operacije.

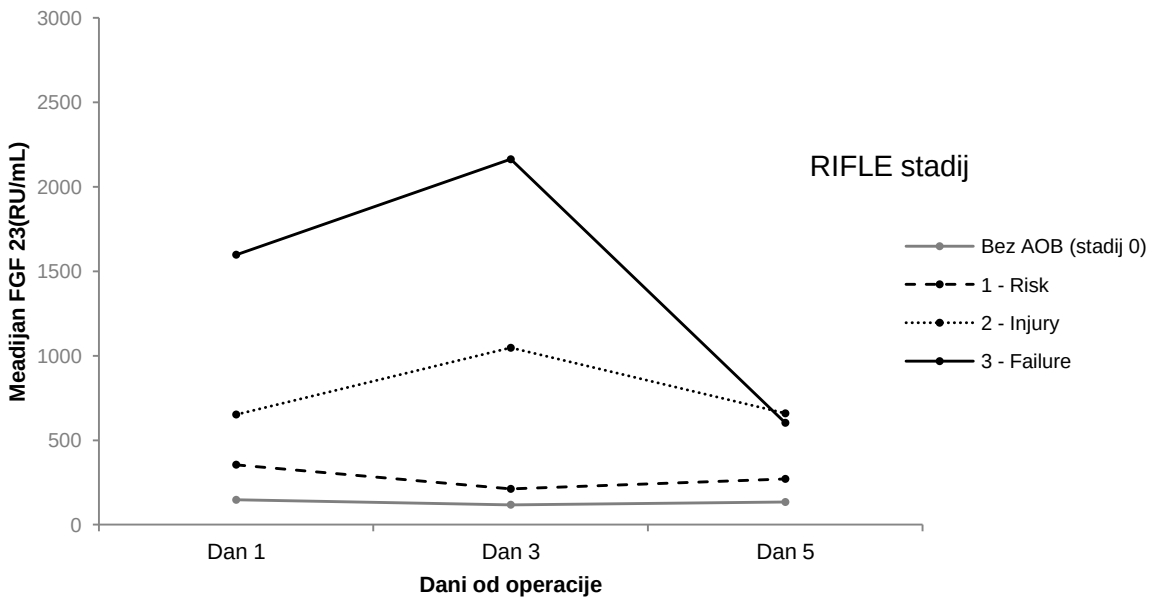
Tablica 8. Srednje vrijednosti razine FGF 23 s obzirom na stadij težine AOB prema RIFLE kriteriju u svakoj točki mjerenja

	Stadij AOB prema RIFLE kriteriju			
	Bez AOB (stadij 0)	**1 - Risk**	**2 - Injury**	**3 - Failure**
FGF 23	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**
Točka mjerenja				
Dan 1	147 (119-742)	355 (151-810)	652 (200-2035)	1598 (524-6132)
Dan 3	118 (73-256)	212 (121-1325)	1047 (139-2323)	2163 (824-4524)
Dan 5	134 (87-268)	271 (162-1060)	659 (116-954,3)	603 (467-2532)

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

Utvrđene su statistički značajne razlike u razini FGF 23 s obzirom na RIFLE stadij AOB u sve tri točke mjerenja. U sve tri točke najmanji FGF 23 je bio među ispitanicima stadija 0 (bez

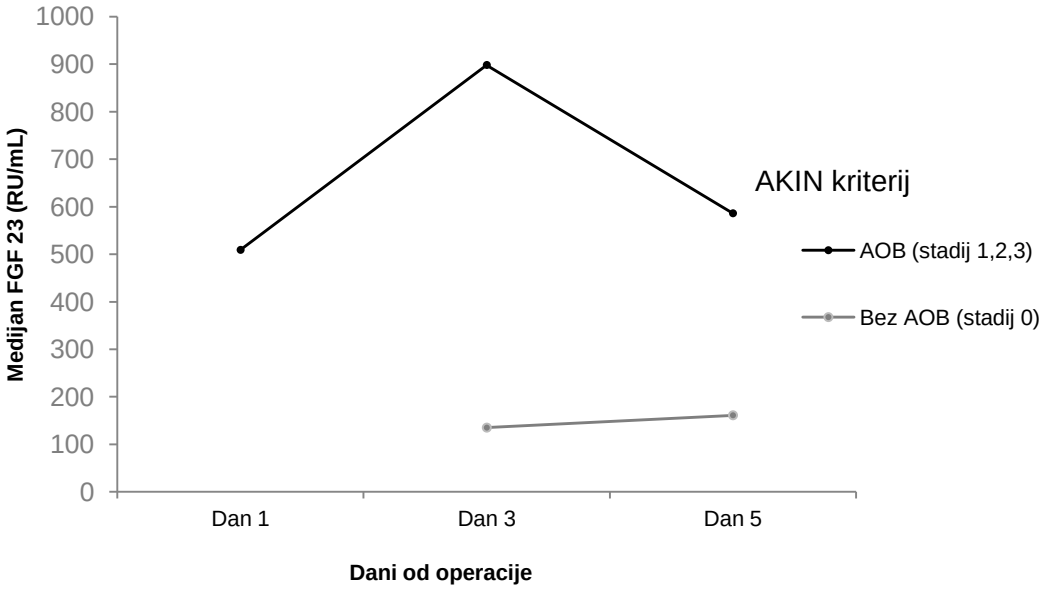
AOB) i raste s težinom AOB, osim peti dan nakon operacije u kojem je prosječna razina FGF 23 RIFLE stadija 2 približna (čak i nešto veća) razini FGF 23 RIFLE stadija 3. Prvi dan nakon operacije (n=121; Kruskal-Wallis test; χ^2=19,321; ss=3; **p<0,001**; η^2= -0,84), razina je bila statistički značajno različita između ispitanika stadija 0 i stadija 3 (Mann-Whitney U=94,5; Z= -3,388; **p=0,001**; AUC=0,20), te između stadija 1 i 3 (Mann-Whitney U=267,5; Z= -3,785; **p<0,001**; AUC=0,23). Treći dan nakon operacije (n=114; Kruskal-Wallis test; χ^2=37,216; ss=3; **p<0,001**; η^2= -0,67) ispitanici stadija 0 razlikovali su se od svih ostalih RIFLE stadija AOB; stadija 1 (Mann-Whitney U=523,5; Z= -2,868; **p=0,004**; AUC=0,31); stadija 2 (Mann-Whitney U=131; Z= -2,996; **p=0,003**; AUC=0,21); i stadija 3 (Mann-Whitney U=63,5; Z= -5,384; **p<0,001**; AUC=0,07), te su sudionici RIFLE stadija 1 imali statistički značajno manju razinu FGF 23 od sudionika stadija 3 (Mann-Whitney U=85; Z= -3,764; **p<0,001**; AUC=0,17). Peti dan nakon operacije (n=101; Kruskal-Wallis test; χ^2=21,818; ss=3; **p<0,001**; η^2= -0,78) razina FGF 23 statistički se značajno razlikovala između stadija 0 i 1 (Mann-Whitney U=433,5; Z= -3,203; **p=0,001**; AUC=0,28), te stadija 0 i 3 (Mann-Whitney U=49; Z = -3,674; **p<0,001**; AUC=0,10). **Slika 7** prikazuje navedene rezultate.



Slika 7. Razina FGF 23 u tri točke mjerenja nakon operacije s obzirom na RIFLE stadij AOB

5.5.2. Razina FGF 23 s obzirom na stadij akutne ozljede bubrega prema AKIN kriteriju

Ispitanici s AOB imali su statistički značajno veću razinu FGF 23 od ispitanika bez AOB prema AKIN kriteriju treći dan nakon operacije (Mann-Whitney U=765,5; Z=-4,595; **P<0,001**; AUC=0,25), te peti dan nakon operacije (Mann-Whitney U=473,5; Z=-4,033; **P<0,001**; AUC=0,24). Prvi dan nakon operacije svi su sudionici imali AOB prema AKIN kriteriju. **Slika 8** prikazuje navedene rezultate.



Slika 8. Razina FGF 23 u tri točke mjerenja nakon operacije prema AKIN kriteriju AOB

U **Tablici 9** vidljivi su rezultati dinamike srednjih vrijednosti FGF 23 u ovisnosti o stadiju težine postoperativne AOB prema AKIN kriteriju prvi, treći i peti dan nakon operacije.

Tablica 9. Srednje vrijednosti razine FGF 23 s obzirom na stadij težine AOB prema AKIN kriteriju u svakoj točki mjerenja

	Stadij AOB prema AKIN kriteriju			
	Bez AOB (stadij 0)	**Stadij 1**	**Stadij 2**	**Stadij 3**
FGF 23	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**
Točka mjerenja				
Dan 1	x x	296 (127-722)	717 (292-2294)	1073 (444-3920)
Dan 3	135 (81-393)	206 (109-837)	1047 (139-2323)	2163 (824-4524)
Dan 5	161 (95-323)	308 (191-976)	659 (116-954)	603 (367-2532)

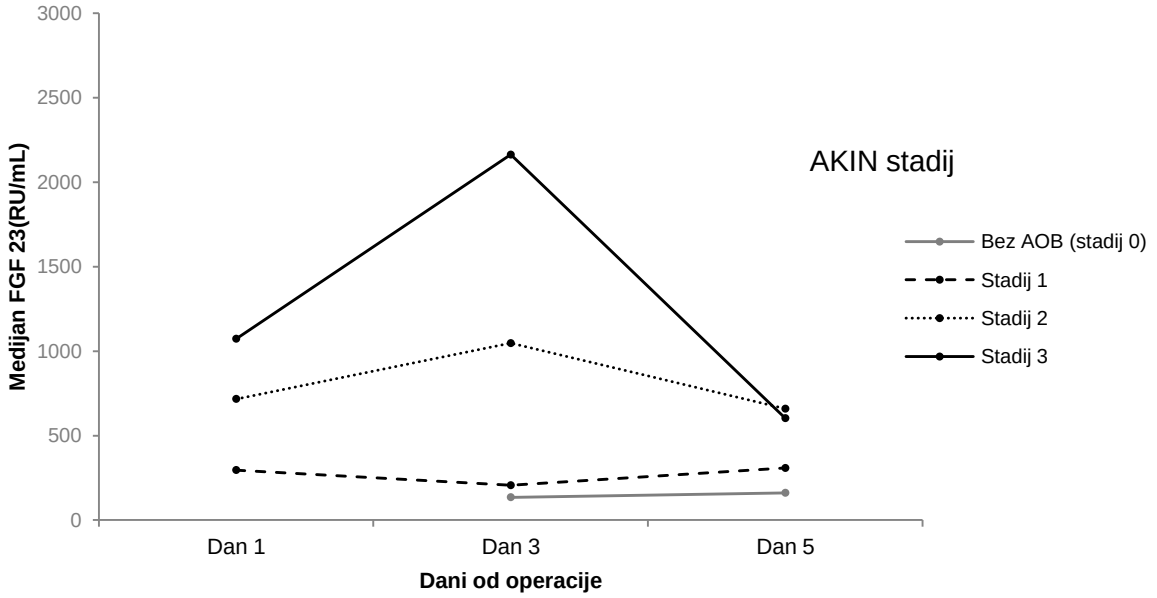
Kratice: IQR = interkvartilni raspon

Utvrđene su statistički značajne razlike u razini FGF 23 s obzirom na AKIN stadij AOB u sve tri točke mjerenja. Najmanji FGF 23 je bio među ispitanicima stadija 0 (bez AOB) i raste s težinom AOB, osim peti dan nakon operacije u kojem je prosječna razina FGF 23 AKIN stadija 2 veća od razine FGF 23 AKIN stadija 3.

Prvi dan nakon operacije (n=121; Kruskal-Wallis test; χ^2=16,546; ss=2; **p<0,001**; η^2= -0,86), razina je bila statistički značajno različita između ispitanika stadija 1 i stadija 2 (Mann-Whitney U=533; Z= -2,628; **p=0,009**; AUC=0,32), te između stadija 1 i 3 (Mann-Whitney U =532; Z= -3,759; **p<0,001**; AUC=0,26).

Treći dan nakon operacije (n=114; Kruskal-Wallis test; χ^2=32,014; ss=3; **p<0,001**; η^2= -0,72) ispitanici bez AOB (stadij 0) imali su statistički značajno niži FGF 23 od ispitanika stadija 2 (Mann-Whitney U=183; Z= -2,705; **p=0,007**; AUC=0,24) i ispitanika stadija 3 (Mann-Whitney U=99,5; Z= -5,257; **p<0,001**; AUC=0,09), te su ispitanici stadija 1 imali statistički značajno manji FGF 23 od ispitanika stadija 3 (Mann-Whitney U=49; Z= -3,433; **p<0,001**; AUC=0,16).

Peti dan nakon operacije (n=101; Kruskal-Wallis test; χ^2=18,112; ss=3; **p<0,001**; η^2= -0,82) razina FGF 23 statistički se značajno razlikovala samo između stadija 0 i 3 (Mann-Whitney U =73; Z= -3,485; **p<0,001**; AUC=0,12). **Slika 9** prikazuje navedene rezultate.



Slika 9. Razina FGF 23 u tri točke mjerenja nakon operacije s obzirom na AKIN stadij AOB

5.5.3. Razina FGF 23 s obzirom na poboljšanje stadija akutne ozljede bubrega prema RIFLE i AKIN kriteriju

Tablica 10 prikazuje rezultate dinamike srednjih vrijednosti FGF 23 kroz tri točke mjerenja (prvi, treći i peti dan nakon operacije) s obzirom na poboljšanje ili pogoršanje postoperativne AOB prema RIFLE i AKIN kritetijima. Nepromijenjen stadij 0 odnosi se na ispitanike koji od prve do zadnje točke mjerenja nisu ulazili u kriterij AOB prema RIFLE kriteriju. Budući da nitko od ispitanika nije bio izvan AOB prema AKIN kriteriju u prvoj točki mjerenja, mogao je samo doživjeti poboljšanje ili ostati unutar kriterija za AOB.

Poboljšanje se odnosi na ispitanike koji su u početku imali stadij 1, 2 ili 3, ali se treći ili peti dan njihovo stanje poboljšalo, te na kraju više nisu ulazili u kriterij za AOB

Pogoršanje se odnosi na ispitanike koji na početku nisu ulazili u kriterij za AOB jedino po RIFLE kriteriju, ali se njihovo stanje pogoršalo treći ili peti dan mjerenja, te su na kraju imali AOB prema RIFLE ili AKIN kriteriju ili na ispitanike koji su kroz sve tri točke mjerenja ulazili u kriterij AOB. Rezultati su prikazani u **Tablici 10.**

Tablica 10. Srednje vrijednosti razine FGF 23 u svakoj točki mjerenja s obzirom na poboljšanje AOB stadija prema RIFLE i AKIN kriteriju

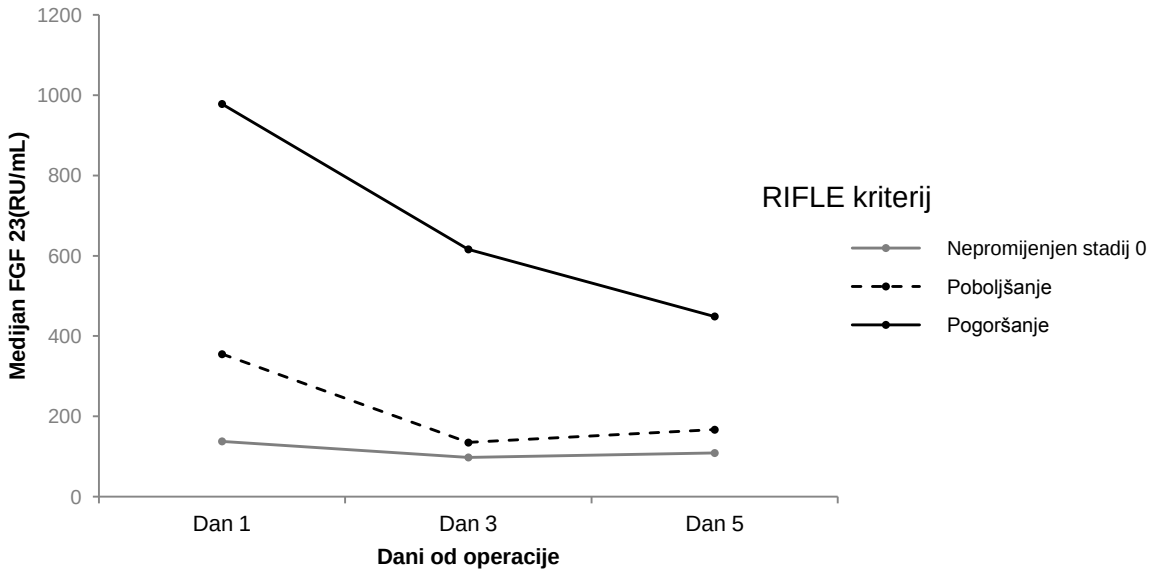
	Dan 1	Dan 3	Dan 5
FGF 23	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**	**Medijan (IQR)**
RIFLE			
Nepromijenjen stadij 0	138 (112-386)	98 (56-132)	109 (75-143)
Poboljšanje	355 (121-824)	135 (78-430)	167 (92-228)
Pogoršanje	978 (322-2949)	616 (168-2137)	449 (189-1060)
AKIN			
Poboljšanje	286 (128-793)	127 (76-393)	161 (95-323)
Pogoršanje	1279 (568-5629)	1104 (236-2503)	586 (220-979)

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

RIFLE kriterij

U sve tri točke mjerenja utvrđene su statistički značajne razlike u razini FGF 23 između ispitanika koji od početka do kraja mjerenja nisu imali AOB prema RIFLE kriteriju, ispitanika čiji status prema RIFLE kriteriju se poboljšao i ispitanika čiji status prema RIFLE kriteriju se pogoršao. Prvi dan nakon operacije (Kruskal-Wallis test; χ^2=20,134; ss=2; **p<0,001**; η^2= -0,81); treći dan mjerenja (Kruskal-Wallis test; χ^2=26,307; ss=2; **p<0,001**; η^2 = -0,75); te peti dan mjerenja (Kruskal-Wallis test; χ^2=21,161; ss=2; **p<0,001**; η^2= -0,79). U svim točkama mjerenja FGF 23 bio je najmanji kod ispitanika čiji je nepromijenjen stadij 0 ostao isti kroz sve točke mjerenja, a najveći kod ispitanika koji su u nekoj od točaka mjerenja doživjeli pogoršanje. U svim točkama mjerenja FGF 23 ispitanika koji su u nekom trenutku doživjeli pogoršanje bio je statistički značajno veći od FGF 23 ispitanika čiji stadij 0 je ostao nepromijenjen (prvi dan nakon operacije: Mann-Whitney U= 91, Z= -3,787; **p<0,001**, AUC=0,16; treći dan nakon operacije: Mann-Whitney U= 65,5, Z= -4,280; **p<0,001**, AUC=0,11; peti dan nakon operacije: Mann-Whitney U=80, Z= -3,894; **p<0,001**, AUC=0,15), te od FGF 23 ispitanika koji su u nekom trenutku doživjeli poboljšanje (prvi dan nakon operacije: Mann-Whitney U=557, Z= -3,626; **p<0,001**, AUC=0,28; treći dan nakon operacije: Mann-Whitney U= 449,5, Z= -4,092; **p<0,001**, AUC=0,25; peti dan nakon operacije: Mann-Whitney U=502,5, Z= -3,700; **p<0,001**, AUC=0,27). Razlika između ispitanika čiji stadij 0 je ostao nepromijenjen i onih koji su u nekom trenutku doživjeli poboljšanje nije bila statistički značajna niti u jednoj točki mjerenja. Dodatno je analizirana

promjena FGF 23 kroz tri točke mjerenja, posebno unutar svake od tri navedenih skupina ispitanika. Statistički značajna razlika između FGF 23 kroz tri točke mjerenja utvrđena je unutar skupine ispitanika koja je u nekom trenutku doživjela poboljšanje RIFLE kriterija (Friedman test; χ^2=12,387, ss=2; **p=0,001**), pri čemu je FGF 23 bio statistički značajno veći prvi dan nakon operacije u odnosu na treći dan nakon operacije (Wilcoxon test; Z= -3,004; p=**0,003**) i u odnosu na peti dan nakon operacije (Wilcoxon test; Z= -3,518; **p<0,001**). Također, statistički značajna razlika u FGF 23 kroz tri točke mjerenja utvrđena je unutar skupine ispitanika koja je u nekom trenutku doživjela pogoršanje RIFLE kriterija (Friedman test; χ^2= 24,168, ss=2; **p<0,001**), pri čemu je FGF 23 bio statistički značajno veći prvi dan nakon operacije u odnosu na treći dan nakon operacije (Wilcoxon test; Z= -2,644; **p=0,008**) i u odnosu na peti dan nakon operacije (Wilcoxon test; Z= -3,705; p<**0,001**). **Slika 9** prikazuje navedene rezultate.

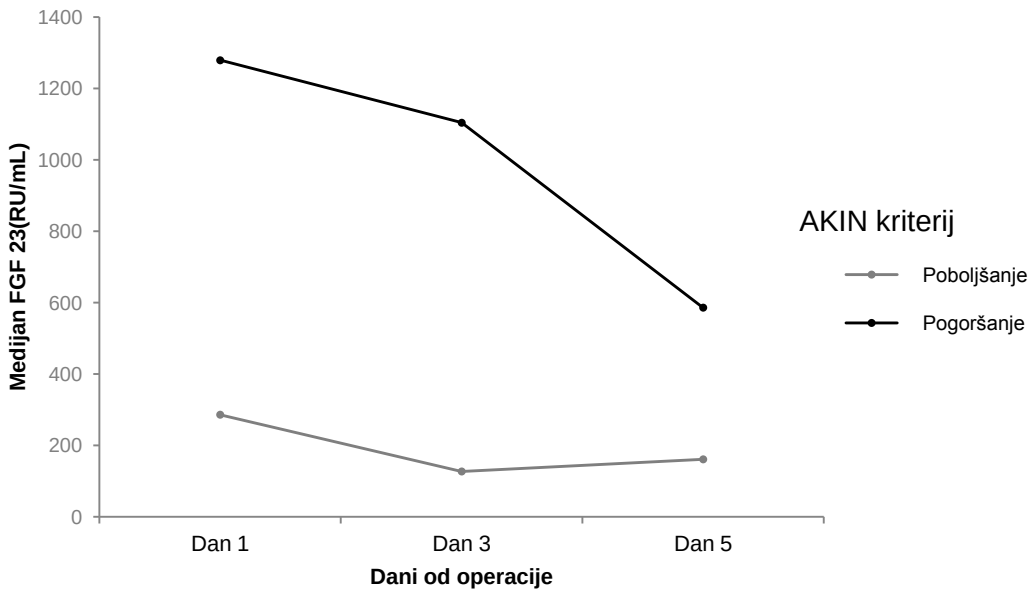


Slika 9. Razina FGF 23 s obzirom na poboljšanje RIFLE kriterija AOB

AKIN kriterij

Razina FGF 23 je bila statistički značajno veća kod ispitanika koji su doživjeli pogoršanje od razine FGF 23 ispitanika koji su doživjeli poboljšanje statusa AOB prema AKIN kriteriju u

sve tri točke mjerenja; prvi dan nakon operacije (Mann-Whitney U=557; Z= -3,626; **p<0,001**, AUC=0,28), treći dan nakon operacije (Mann-Whitney U=499,5; Z= -4,092; **p<0,001**, AUC=0,25) i peti dan nakon operacije (Mann-Whitney U=502,5; Z= -3,700; **p<0,001**, AUC=0,27). Dodatno je analizirana promjena FGF 23 kroz tri točke mjerenja posebno, unutar obje navedene skupine ispitanika. Statistički značajna razlika između FGF 23 kroz tri točke mjerenja utvrđena je unutar skupine ispitanika koji su doživjeli poboljšanje u AKIN kriteriju za AOB (Friedman test; χ^2=20,898, ss=2; **p<0,001**) i unutar skupine ispitanika koji su doživjeli pogoršanje u AKIN kriteriju za AOB (Friedman test; χ^2=24,729, ss=2; p<**0,001**). Razina FGF 23 prvi dan nakon operacije bila je statistički značajno veća u odnosu na razinu FGF 23 treći dan nakon operacije unutar skupine ispitanika koji su doživjeli poboljšanje (WIlcoxon test; Z= -3,816; p<**0,001**) i unutar skupine ispitanika koji su doživjeli pogoršanje (Wilcoxon test; Z= -2,482; **p=0,013**); te je ista također bila statistički značajno veća u odnosu na razinu FGF 23 peti dan nakon operacije unutar skupine ispitanika koji su doživjeli poboljšanje (Wilcoxon test; Z= -3,631; **p<0,001**) i unutar skupine ispitanika koji su doživjeli pogoršanje (Wilcoxon test; Z= -4,026; **p<0,001**). **Slika 10** prikazuje navedene rezultate.



Slika 10. Razina FGF 23 s obzirom na poboljšanje AKIN kriterija AOB

5.6. Povezanost razine FGF 23 sa serumskim i urinarnim laboratorijskim vrijednostima kreatinina, kalcija i fosfora te stadijem akutne ozljede bubrega

Dinamika kretanja serumskih i urinarnih vrijednosti minerala kalcija i fosfora, te serumskog kreatinina tijekom pet dana kod ispitanika sa postoperativnom AOB je bila statistički značajna. Hipokalcemija je bila prisutna tijekom pet dana od razvoja postoperativne AOB (normalne vrijednosti serumskog kalcija 2.12-2.57 mmol/l). Prvi postoperativni dan prosječna vrijednost serumskog kalcija je bila 1.93±0.17, a medijan 1.91 (IQR 1.83-2.03). Treći postoperativni dan prosječna vrijednost serumskog kalcija je bila 1.97±0.17, a medijan 1.97 (IQR 1.85-2.10). Peti postoperativni dan prosječna vrijednost serumskog kalcija je bila 1.97±0.22, a medijan 1.96 (IQR 1.89-2.11). Iako su vrijednosti serumskog kalcija bile slične, dinamika je pokazala statistički značajan (**p<0,001**) porast vrijednosti serumskog kalcija u vremenskom periodu od pet dana od nastanka postoperativne AOB ali cijelo vrijeme mjerenja ispod donje granice normalnih vrijednosti.

Vrijednosti serumskog fosfora su bile najveće prvi dan nakon operacije, ali u granicama normalnih vrijednosti (0.79-1.42 mmol/l). Prosječna vrijednost serumskog fosfora prvi postoperativni dan je bila 1.20±0.47, a medijan je iznosio 1.16 (IQR 0.88-1.49). Treći postoperativni dan vrijednosti serumskog fosfora su bile granično nižih vrijednosti. Prosječna vrijednost je bila 0.89±0.36, a medijan 0.78 (IQR 0.63-1.15). Peti postoperativni dan vrijednosti serumskog fosfora su također bile granično niže. Prosječna vrijednost serumskog fosfora peti postoperativni dan je bila 0.89±0.32, a medijan 0.85 (IQR 0.72-1.07). Iako su vrijednosti serumskog fosfora tijekom pet dana mjerenja bile u granicama normalnih vrijednosti, dinamika je pokazala statistički značajan pad (**p<0,001**) vrijednosti serumskog fosfora tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB. Najniža vrijednost serumskog fosfora je bila treći postoperativni dan, kada je bila najveća izmjerena vrijednost serumskog FGF 23 što je potvrdilo njegovu ulogu fosfaturičnog hormona. Također, razlika u smanjenju serumskog fosfora je bila najveća između prvog dana nakon operacije i trećeg dana, što je posljedica visokih serumskih vrijednosti fosfaturičnog hormona FGF 23 dana neposredno nakon operacije u odnosu na ostale dane mjerenja.

Vrijednosti serumskog kreatinina su bile povišene u svim točkama mjerenja od nastanka postoperativne AOB u odnosu na normalnu vrijednost serumskog kreatinina ispitanica ženskoga spola (63-107mcmol/l), kao i ispitanika muškoga spola (79-125 mcmol/l). Vrijednosti serumskog kreatinina su bile najveće prvi dan nakon operacije. Prosječna

vrijednost serumskog kreatinina prvi dan nakon operacije je bila 167.38±87.50, a medijan 151 (IQR 112.5-187). Treći postoperativni dan prosječna vrijednost serumskog kreatinina je bila 149.67±91.46, a medijan 120 (IQR 90.5-166.5). Peti postoperativni dan vrijednosti serumskog kreatinina su bile najniže. Prosječna vrijednost peti dan je bila 135.97±92.53, a medijan je iznosio 106 (IQR 80.5-139.5). Vrijednosti serumskog kreatinina tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB su pokazale statistički značajno (**p<0,001**) smanjenje vrijednosti.

Vrijednosti urinarnog kalcija su tijekom pet dan od nastanka postoperativne AOB bile značajno snižene u odnosu na normalne urinarne vrijednosti kalcija (normalne vrijednosti 2.50-7.50 mmol(Du)). Prvi dan neposredno nakon operacije prosječna vrijednost urinarnog kalcija je bila najniža 0.98±1.15, a medijan 0.77 (IQR 0.34-1.18). Treći postoperativni dan prosječna vrijednost urinarnog kalcija počinje rasti na 1.56±1.98, a medijan 1.25 (IQR 0.39-1.70). Peti postoperativni dan prosječna vrijednost urinarnog kalcija je bila najveća 1.62±1.75, a medijan 1.28 (IQR 0.53-2.12). Možemo zaključiti da tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB vrijednosti urinarnog kalcija su bile ispod donje granice normalne vrijednosti najvjerojatnije radi prisutne hipokalcemije i akutne bubrežne disfunkcije. Jedan od razloga povećanog gubitak kalcija urinarnim putem osobito treći i peti postoperativni dan je i dalje prisutna bubrežna disfunkcija. Sljedeći razlog bi mogla biti u ovom istraživanju ne proučavana vremenski sporija aktivacija paratireoidnog hormona direktnim i indirektnim djelovanjem FGF23 na paratireoidnu žlijezdu koja je najvjerojatnije odgovorna za porast vrijednosti serumskog kalcija.

Vrijednosti urinarnog fosfora su prvi dan nakon operacije bile u granicama normalnih vrijednosti (12.9-42 mmol(Du)). Prosječna vrijednost urinarnog fosfora prvi dan nakon operacije je bila 18.57±22, a medijan 7.92 (IQR 2.88-28.38). Treći postoperativni dan vrijednosti urinarnog fosfora su značajno pale te su bile ispod donje granice normalnih vrijednosti. Prosječna vrijednost je bila 6.99±7.69, a medijan 3.78 (IQR 1.17-12.03). Peti postoperativni dan vrijednosti urinarnog fosfora su također bile ispod donje granice normalnih vrijednosti. Prosječna vrijednost je bila 6.51±7.42, a medijan 4.39 (IQR 0.97-9.46). Dinamika urinarnog fosfora je pokazala statistički značajno (**p=0,014**) smanjenje izlučivanja fosfora urinom tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB. Najveće urinarno izlučivanje fosfora je bilo prvi dan nakon operacije što odgovara i najvećoj serumskoj vrijednosti fosfaturičnog hormona FGF 23. Smanjeni gubitak fosfora tijekom ostalog perioda mjerenja odgovara i dinamici smanjenja serumskog FGF 23 te poboljšanju bubrežne funkcije. Navedeni rezultati su prikazani u **Tablici 11**.

Tablica 11. Dinamika serumskih i urinarnih vrijednosti kreatinina, kalcija i fosfora kroz tri točke mjerenja neposredno nakon operacije u ispitanika s AOB: Friedmanov test.

	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Percentile		
						25.	Medijan	75.
Serumski kreatinin								
Dan 1.	109	167,38	87,50	44,00	623,00	112,50	151,00	187,00
Dan 3.	109	149,67	91,46	49,00	475,00	90,50	120,00	166,50
Dan 5.	109	135,97	92,53	48,00	578,00	80,50	106,00	139,50
Serumski kalcij								
Dan 1.	97	1,93	0,17	1,59	2,53	1,83	1,91	2,03
Dan 3.	97	1,97	0,17	1,60	2,42	1,85	1,97	2,10
Dan 5.	97	1,97	0,22	0,92	2,41	1,89	1,96	2,11
Serumski fosfor								
Dan 1.	97	1,20	0,47	0,18	2,48	0,88	1,16	1,49
Dan 3.	97	0,89	0,36	0,24	1,91	0,63	0,78	1,15
Dan 5.	97	0,89	0,32	0,19	2,04	0,72	0,85	1,07
Urinarni kreatinin								
Dan 1.	69	7,18	4,94	0,10	21,90	3,50	6,30	10,10
Dan 3.	69	7,31	4,90	0,10	22,40	3,45	6,70	10,40
Dan 5.	69	6,95	4,72	0,00	22,10	3,30	6,20	9,35
Urinarni kalcij								
Dan 1.	70	0,98	1,15	0,05	8,15	0,34	0,77	1,18
Dan 3.	70	1,56	1,98	0,05	11,17	0,39	1,25	1,70
Dan 5.	70	1,62	1,75	0,07	11,88	0,53	1,28	2,12
Urinarni fosfor								
Dan 1.	70	18,57	22,00	0,04	84,07	2,88	7,92	28,38
Dan 3.	70	6,99	7,69	0,10	36,39	1,17	3,78	12,03
Dan 5.	70	6,51	7,42	0,04	36,00	0,97	4,39	9,46

U **Tablici 12** prikazana je povezaost FGF 23 izmjerenih vrijednosti sa serumskim i urinarnim vrijednostima kreatinina, kalcija i fosfora prvi, treći i peti dan nakon operacije u ispitanika s postoperativnom AOB. $p<0,05$ predstavlja razinu statističke značajnosti.

Tablica 12. Povezanost FGF 23, serumskih i urinarnih vrijednosti kreatinina, kalcija i fosfora u tri točke mjerenja nakon operacije; Spearman koeficijent korelacije ranga (ρ) (n=121)

	ρ	p
Prvi dan nakon operacije		
U serumu		
Kreatinin	0,48	**<0,001**
Kalcij	-0,24	**0,009**
Fosfor	0,30	**0,001**
U urinu		
Kreatinin	-0,184	0,053
Kalcij	-0,151	0,114
Fosfor	-0,264	**0,005**
Treći dan nakon operacije		
U serumu		
Kreatinin	0,57	**<0,001**
Kalcij	-0,13	0,160
Fosfor	0,29	**0,002**
U urinu		
Kreatinin	-0,27	**0,006**
Kalcij	-0,42	**<0,001**
Fosfor	-0,11	0,248
Peti dan nakon operacije		
U serumu		
Kreatinin	0,39	**<0,001**
Kalcij	-0,09	0,374
Fosfor	0,04	0,700
U urinu		
Kreatinin	-0,09	0,452
Kalcij	-0,40	**<0,001**
Fosfor	-0,11	0,358

Iz **Tablice 12** vidljivo je da prvi dan nakon operacije postoji povezanost između FGF 23 i kreatinina u serumu (**p<0,001**), kalcija u serumu (**p=0,009**), fosfora u serumu (**p=0,001**) i fosfora u urinu (**p=0,005**). Treći dan nakon operacije postoji povezanost između FGF 23 i kreatinina u serumu (**p<0,001**), fosfora u serumu (**p=0,002**), kreatinina u urinu (**p=0,006**) i kalcija u urinu (**p<0,001**). Peti dan nakon operacije pronađena je povezanost između FGF 23 i kreatinina u serumu (**p<0,001**), te kalcija u urinu (**p<0,001**).

5.6.1. Prediktori povišene razine FGF 23 kroz tri točke mjerenja neposredno nakon operacije u ispitanika s akutnom ozljedom bubrega

Tablica 13 prikazuje rezultate analize povezanosti i prediktore povišenih vrijednosti FGF 23 mjerenih prvi dan nakon operacije u ispitanika s postoperativnom AOB s obzirom na spol, dijagnozu, promjene serumskih i urinarnih vrijednosti kreatinina, kalcija, fosfora, definirane kao normalna, snižena i povišena vrijednost ovih parametara s obzirom na referentne vrijednosti navedene u uvodu ovoga poglavlja, te prisutnost AOB prema RIFLE kriterijima. Normalnu FGF 23 vrijednost u našem istraživanju predstavlja prema dostupnoj literaturi vrijednost FGF 23 <180 RU/ml. Iz analize su isključeni ispitanici koji su prvi dan nakon operacije morali biti hemodijalizirani radi težine postoperativne AOB. Nijedan ispitanik s postoperativnom AOB koji je morao biti hemodijaliziran nije imao normalnu razinu FGF 23 prvi dan nakon operacije. Također je iz analize isključena varijabla kalcij u urinu. Što se tiče kalcija u urinu, samo je 6 ispitanika imalo normalnu razinu, od čega je samo 1 ispitanik imao povišenu razinu FGF 23. Iz navedenih razloga nije bilo moguće provesti valjanu analizu.

Tablica 13. Predikcija povišene razine FGF 23 prvi dan nakon operacije

	Razina FGF 23 dan 1				
	Povišena (≥180 RU/mL)	**Normalna (<180 RU/mL)**	**Ukupno**	**Univarijatna analiza**	**Multivarijatna analiza**
Spol					
muški	53 (71,6)	21 (28,4)	74 (100,0)	1	1
ženski	35 (74,5)	12 (25,5)	47 (100,0)	1,16 (0,51-2,65)	1,71 (0,47-6,16)
Dijagnoza					
vaskularna	21 (75,0)	7 (25,0)	28 (100,0)	1	1
abdominalna	67 (72,0)	26 (28,0)	93 (100,0)	0,86 (0,33-2,26)	1,73 (0,44-6,83)
Razina kreatinina u serumu					
normalna	16 (50,0)	16 (50,0)	32 (100,0)	1	1
povišena	72 (80,9)	17 (19,1)	89 (100,0)	**4,24 (1,77-10,12)**	1,85 (0,56-6,12)
Razina fosfora u serumu					
normalna	48 (75,0)	16 (25,0)	64 (100,0)	1	1
snižena	9 (52,9)	8 (47,1)	17 (100,0)	0,38 (0,12-1,14)	0,31 (0,07-1,39)
povišena	29 (78,4)	8 (21,6)	37 (100,0)	1,21 (0,46-3,17)	1,16 (0,30-4,47)
Razina kalcija u serumu					
normalna	5 (41,7)	7 (58,3)	12 (100,0)	1	1
snižena	81 (76,4)	25 (23,6)	106 (100,0)	**4,54 (1,32-15,55)**	4,25 (0,76-23,90)
Razina kreatinina u urinu					
normalna	26 (70,3)	11 (29,7)	37 (100,0)	1	1
snižena	52 (75,4)	17 (24,6)	69 (100,0)	1,29 (0,53-3,16)	0,30 (0,07-1,34)
povišena	3 (50,0)	3 (50,0)	6 (100,0)	0,42 (0,07-2,43)	0,61 (0,05-8,12)
Razina fosfora u urinu					
normalna	26 (76,5)	8 (23,5)	34 (100,0)	1	1
snižena	49 (79,0)	13 (21,0)	62 (100,0)	1,16 (0,43-3,16)	2,01 (0,50-8,13)
povišena	6 (37,5)	10 (62,5)	16 (100,0)	**0,19 (0,05-0,67)**	**0,10 (0,01-0,71)**
RIFLE kriterij					
bez AOB	9 (47,4)	10 (52,6)	19 (100,0)	1	1
AOB	79 (77,5)	23 (22,5)	102 (100,0)	**3,82 (1,39-10,51)**	**5,32 (1,31-21,62)**

Kratice: OR = omjer izgleda (od engl. odds ratio); 95% CI = 95%-tni interval pouzdanosti (od engl. confidence interval) za omjer izgleda

Na univarijatnoj razini, povišena razina FGF 23 prvi dan nakon operacije bila je statistički značajno povezana s povišenom razinom kreatinina i kalcija u serumu, prisutnošću AOB prema RIFLE kriteriju, te s povišenom razinom fosfora u urinu. Ispitanici s povišenom razinom kreatinina u serumu prvi dan nakon operacije imali su 4,24 puta veće izglede (OR=4,24; 95% CI=1,77-10,12), a oni s povišenom razinom kalcija u serumu 4,54 puta veće izglede (OR=4,54; 95% CI=1,32-15,55) za povišenom razinom FGF23 u odnosu na ispitanike s normalnom razinom kreatinina ili kalcija u serumu. Ispitanici s povišenom razinom fosfora

u urinu prvi dan nakon operacije imali su 0,81 puta manje izglede za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike s normalnom razinom fosfora u urinu (OR=0,19; 95% CI=0,05-0,67). Ispitanici s AOB prema RIFLE kriteriju imali su 3,82 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23 prvi dan nakon operacije, u odnosu na ispitanike bez AOB (OR =3,82; 95% CI=1,39-10,51). U multivarijatnom modelu, nakon prilagodbe za sve varijable uključene u model, povišena razina FGF 23 prvi dan nakon operacije bila je statistički značajno povezana s prisutnošću AOB prema RIFLE kriteriju i razinom fosfora u urinu. Ispitanici s AOB prema RIFLE kriteriju imali su 5,32 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike bez AOB (OR=5,32; 95% CI=1,31-21,62), te su ispitanici s povišenom razinom fosfora u urinu imali 0,9 puta manje izglede za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike s normalnom razinom fosfora (OR=0,10; 95% CI=0,01-0,71). Dob ispitanika s postoperativnom AOB se nije pokazala kao prediktor povišenih vrijednosti FGF 23 mjerenih prvi dan nakon operacije.

Tablica 14 prikazuje rezultate analize povezanosti i prediktore povišenih vrijednosti FGF 23 mjerenih treći dan nakon operacije u ispitanika s postoperativnom AOB s obzirom na spol, dijagnozu, promjene serumskih i urinarnih vrijednosti kreatinina, kalcija, fosfora, definirane kao normalna, snižena i povišena vrijednost ovih parametara s obzirom na referentne vrijednosti navedene u uvodu ovoga poglavlja, te prisutnost AOB prema RIFLE i AKIN kriterijima. Normalnu FGF 23 vrijednost u našem istraživanju predstavlja prema dostupnoj literaturi vrijednost FGF 23 <180 RU/ml. Iz analize su isključeni ispitanici koji su treći dan nakon operacije morali biti hemodijalizirani radi težine postoperativne AOB. Nijedan ispitanik s postoperativnom AOB koji je morao biti hemodijaliziran nije imao normalnu razinu FGF 23 treći dan nakon operacije. Također je iz analize isključena varijabla fosfor u serumu jer je samo 1 ispitanik s povišenom razinom fosfora u serumu imao normalnu razinu FGF 23.

Tablica 14. Predikcija povišene razine FGF 23 treći dan nakon operacije

	Razina FGF 23 dan 3				
	Povišena (≥180 RU/mL)	**Normalna (<180 RU/mL)**	**Ukupno**	**Univarijatna analiza**	**Multivarijatna analiza**
Spol					
muški	53 (71,6)	21 (28,4)	74 (100,0)	1	1
ženski	35 (74,5)	12 (25,5)	47 (100,0)	1,19 (0,56-2,54)	2,02 (0,60-6,81)
Dijagnoza					
vaskularna	21 (75,0)	7 (25,0)	28 (100,0)	1	1
abdominalna	67 (72,0)	26 (28,0)	93 (100,0)	1,16 (0,50-2,73)	3,66 (0,92-14,58)
Razina kreatinina u serumu					
normalna	31 (67,4)	15 (32,6)	46 (100,0)	1	1
snižena	7 (43,8)	9 (56,3)	16 (100,0)	0,59 (0,18-1,98)	3,35 (0,54-20,78)
povišena	46 (86,8)	7 (13,2)	53 (100,0)	**3,90 (1,66-9,19)**	4,71 (0,91-24,42)
Razina kalcija u serumu					
normalna	13 (54,2)	11 (45,8)	24 (100,0)	1	1
snižena	70 (77,8)	20 (22,2)	90 (100,0)	1,34 (0,54-3,31)	1,52 (0,34-6,80)
Razina kreatinina u urinu					
normalna	25 (64,1)	14 (35,9)	39 (100,0)	1	1
snižena	49 (76,6)	15 (23,4)	64 (100,0)	**3,33 (1,45-7,67)**	0,97 (0,27-3,50)
Razina fosfora u urinu					
normalna	17 (70,8)	7 (29,2)	24 (100,0)	1	1
snižena	59 (72,8)	22 (27,2)	81 (100,0)	1,99 (0,79-5,03)	2,20 (0,60-8,10)
Razina kalcija u urinu					
normalna	6 (35,3)	11 (64,7)	17 (100,0)	1	1
snižena	71 (79,8)	18 (20,2)	89 (100,0)	**13,13 (2,82-61,10)**	**9,19 (1,15-73,44)**
RIFLE kriterij					
bez AOB	20 (35,7)	36 (64,3)	56 (100,0)	1	1
AOB	44 (75,9)	14 (24,1)	58 (100,0)	**5,66 (2,51-12,75)**	5,63 (0,62-50,94)
AKIN kriterij					
bez AOB	29 (42,6)	39 (57,4)	68 (100,0)	1	1
AOB	35 (76,1)	11 (23,9)	46 (100,0)	**4,28 (1,87-9,82)**	0,18 (0,02-1,89)

Kratice: OR = omjer izgleda (od engl. odds ratio); 95% CI = 95%-tni interval pouzdanosti (od engl. confidence interval) za omjer izgleda

Treći dan nakon operacije, povišena razina FGF 23 je na univarijatnoj razini bila statistički značajno povezana s povišenom razinom kreatinina u serumu, sniženom razinom kreatinina i kalcija u urinu, s prisutnošću AOB prema RIFLE i AKIN kriteriju. Ispitanici s povišenom razinom kreatinina u serumu su imali 3,9 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23 treći dan nakon operacije, u odnosu na ispitanike s normalnom razinom FGF 23 (OR=3,90;

95% CI=1,66-9,19). Ispitanici sa sniženom razinom kreatinina u urinu imali su 3,33 (OR=3,33; 95% CI=1,45-7,67) puta veće izglede, a oni sa sniženom razinom kalcija u urinu 13,13 puta veće izglede (OR=13,13; 95% CI=2,82-61,10) za povišenom razinom FGF 23 treći dan nakon operacije, u odnosu na ispitanike s normalnom razinom kreatinina ili kalcija u urinu. Ispitanici s AOB prema RIFLE kriteriju imali su 5,66 puta veće izglede (OR=5,66; 95% CI=2,51-12,75), a oni s AOB prema AKIN kriteriju 4,28 puta veće izglede (OR=4,28; 95% CI=1,87-9,82) za povišenom razinom FGF 23, u odnosu na ispitanike bez AOB prema RIFLE ili AKIN kriteriju. U multivarijatnom modelu, nakon prilagodbe za sve varijable uključene u model, povišena razina FGF 23 treći dan nakon operacije ostala je statistički značajno povezana samo sa sniženom razinom kalcija u urinu. Ispitanici sa sniženom razinom kalcija u urinu imali su 9,19 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23, u odnosu na ispitanike s normalnom razinom kalcija (OR=9,19; 95% CI=1,15-73,44).

U **Tablici 15** vidljivi su rezultati analize povezanosti i prediktori povišenih vrijednosti FGF 23 mjerenih peti dan nakon operacije u ispitanika s postoperativnom AOB s obzirom na spol, dijagnozu, promjene serumskih i urinarnih vrijednosti kreatinina, kalcija, fosfora, definirane kao normalna, snižena i povišena vrijednost ovih parametara s obzirom na referentne vrijednosti navedene u uvodu ovoga poglavlja, te prisutnost AOB prema RIFLE i AKIN kriterijima. Normalnu FGF 23 vrijednost u našem istraživanju predstavlja prema dostupnoj literaturi vrijednost FGF 23 <180 RU/ml. I peti dan nakon operacije iz analize su isključeni ispitanici koji su peti dan nakon operacije morali biti hemodijalizirani radi težine postoperativne AOB. Nijedan ispitanik s postoperativnom AOB koji je morao biti hemodijaliziran nije imao normalnu razinu FGF 23 peti dan nakon operacije. Također je peti dan nakon operacije iz analize isključena varijabla fosfor u serumu jer je samo 1 ispitanik s povišenom razinom fosfora u serumu imao normalnu razinu FGF 23.

Tablica 15. Predikcija povišene razine FGF peti dan nakon operacije

	Razina FGF 23 dan 5				
	Povišena (≥180 RU/mL)	**Normalna (<180 RU/mL)**	**Ukupno**	**Univarijatna analiza**	**Multivarijatna analiza**
Spol					
muški	35 (50,7)	34 (49,3)	69 (100,0)	1	1
ženski	22 (57,9)	16 (42,1)	38 (100,0)	1,34 (0,60-2,97)	2,09 (0,51-8,58)
Dijagnoza					
vaskularna	15 (60,0)	10 (40,0)	25 (100,0)	1	1
abdominalna	42 (51,2)	40 (48,8)	82 (100,0)	0,70 (0,28-1,74)	0,48 (0,09-2,52)
Razina kreatinina u serumu					
normalna	20 (41,7)	28 (58,3)	48 (100,0)	1	1
snižena	9 (37,5)	15 (62,5)	24 (100,0)	0,84 (0,31-2,30)	0,88 (0,17-4,51)
povišena	27 (81,8)	6 (18,2)	33 (100,0)	**6,30 (2,20-18,08)**	0,94 (0,18-5,01)
Razina kalcija u serumu					
normalna	10 (43,5)	13 (56,5)	23 (100,0)	1	1
snižena	41 (54,7)	34 (45,3)	75 (100,0)	1,57 (0,61-4,02)	2,08 (0,47-9,28)
Razina kreatinina u urinu					
normalna	8 (36,4)	14 (63,6)	22 (100,0)	1	1
snižena	36 (64,3)	20 (35,7)	56 (100,0)	**3,15 (1,13-8,79)**	0,71 (0,13-3,86)
Razina fosfora u urinu					
normalna	4 (40,0)	6 (60,0)	10 (100,0)	1	1
snižena	40 (58,8)	28 (41,2)	68 (100,0)	2,14 (0,55-8,30)	3,61 (0,43-30,61)
Razina kalcija u urinu					
normalna	3 (25,0)	9 (75,0)	12 (100,0)	1	1
snižena	41 (62,1)	25 (37,9)	66 (100,0)	**4,92 (1,22-19,91)**	4,86 (0,81-29,26)
RIFLE kriterij					
bez AOB	23 (37,1)	39 (62,9)	62 (100,0)	1	1
AOB	30 (76,9)	9 (23,1)	39 (100,0)	**5,65 (2,29-13,98)**	2,03 (0,33-12,63)
AKIN kriterij					
bez AOB	30 (40,5)	44 (59,5)	74 (100,0)	1	1
AOB	23 (85,2)	4 (14,8)	27 (100,0)	**8,43 (2,65-26,87)**	5,59 (0,58-53,79)

Kratice: OR = omjer izgleda (od engl. odds ratio); 95% CI = 95%-tni interval pouzdanosti (od engl. confidence interval) za omjer izgleda

Peti dan nakon operacije, FGF 23 je na univarijatnoj razini bio povezan s povišenom razinom kreatinina u serumu, sniženom razinom kreatinina i kalcija u urinu, s prisutnošću AOB prema RIFLE i AKIN kriterijima. Ispitanici s povišenom razinom kreatinina u serumu imali su 6,3 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23 peti dan od operacije, u odnosu na ispitanike s normalnom razinom kreatinina u serumu (OR=6,30; 95% CI=2,20-18,08). Ispitanici sa

sniženom razinom kreatinina u urinu imali su 3,15 puta veće izglede (OR=3,15; 95% CI=1,13-8,79), a ispitanici sa sniženom razinom kalcija u urinu 4,92 puta veće izglede (OR=4,92; 95% CI=1,22-19,91) za povišenom razinom FGF 23 peti dan nakon operacije, u odnosu na ispitanike s normalnom razinom kreatinina ili kalcija u urinu. Ispitanici s AOB prema RIFLE kriteriju imali su 5,65 puta veće izglede (OR=5,65; 95% CI=2,29-13,98) za povišenom razinom FGF 23, a oni s AOB prema AKIN kriteriju 8,43 puta (OR=8,43; 95% CI=2,65-26,87), u odnosu na ispitanike bez AOB prema RIFLE ili AKIN kriteriju. U multivarijatnom modelu, nakon prilagodbe za sve varijable uključene u model, nije bilo statistički značajne povezanosti s povišenom razinom FGF 23.

6. RASPRAVA

Podaci o prognostičkoj ulozi FGF 23 kod AOB su nedostatni. Ova studija provedena je kako bi se utvrdilo da li je porast FGF 23 u plazmi rani i dovoljno dobar prognostički pokazatelj ishoda postoperativne AOB. U istraživanju smo imali dvije skupine ispitanika: ispitanici s AOB prema RIFLE/AKIN kriterijima i kontrolna zdrava skupina ispitanika koji su zadovoljili kriterije uključenja u istraživanje. Uloga kontrolne zdrave skupine je bila usporedba referentnih vrijednosti FGF 23 naše populacije sa vrijednostima FGF 23 drugih zdravih populacija navedenih u dostupnoj literaturi slične dobi. Međutim, u našem istraživanju usporedbom naše dvije grupe ispitanika nije utvrđena statistički značajna razlika u spolu između ove dvije grupe ispitanika. Ali utvrđena je statistički značajna razlika u dobi između ove dvije grupe ispitanika, s time da su ispitanici u skupini s AOB bili stariji. Preoperativno najveći broj ispitanika je po klasifikaciji Udruženja Američkih Anesteziologa (American Society of Anesthesiologists-ASA) pripadao rizičnoj skupini ASA 3 (bolesnici sa teškim ali kompenziranim sistemskim poremećajem), te je najveći broj ispitanika bio podvrgnut hitnom velikom abdominalnom operativnom zahvatu (129). S obzirom na varijablu FGF 23 cijelo istraživanje je do kraja provedeno na 107 ispitanika, odnosno postotak zadržanih ispitanika do kraja istraživanja je bio 88.4%. Razlog gubitka ispitanika do kraja istraživanja je bio ili njihov letalni ishod ili gubitak uzoraka FGF 23 tijekom istraživanja.

Prognostičku vrijednost FGF 23 uspoređivali smo sa trenutno pouzdanim i primjenjivim pokazateljima dijagnosticiranja i progresije AOB a to su RIFLE i AKIN kriteriji prema konsenzusu AQDI grupe. Studija koju je proveo Cruz i suradnici (2010) je pokazala da težina AOB prema AKIN/RIFLE kriterijima dobro korelira sa ishodom bubrežne funkcije, s duljinom boravka u bolnici, bolničkom smrtnosti te kratkoročnim ishodom (130). Naše istraživanje je pokazalo da se tijekom pet dana praćenja u tri točke mjerenja prvi dan nakon operacije do petog dana nakon operacije statistički značajno smanjuje prema RIFLE i AKIN kriterijima broj ispitanika s AOB, što znači da u većine njih dolazi do oporavka postoperativne bubrežne funkcije. Međutim u našem istraživanju pokazali smo kao što je već dosada poznato veću osjetljivost AKIN kriterija u prepoznavanju AOB za razliku od RIFLE kriterija.

Međutim, važno je znati da smo našim istraživanjem pokazali statistički značajnu dinamiku kretanja FGF 23 vrijednosti prvi i treći dan nakon operacije. Vrijednost FGF 23 peti dan

nakon operacije nije bila statistički značajna. Uglavnom dinamika kretanja FGF 23 u našem istraživanju ima tendenciju smanjivanja te dobro korelira sa dinamikom RIFLE i AKIN kriterija koje smo koristili kao standarde za procjenu bubrežne funkcije. Time smo pokazali da je FGF 23 u AOB ne samo novi rani biomarker dijagnosticiranja bubrežnog oštećenja nego je također pokazao i prognostičku ulogu u postoperativnoj AOB koja po značenju i vrijednosti dobro korelira sadašnjem zlatnom standardu, RIFLE kriterijima. Međutim, FGF 23 je bio najveći neposredno nakon operacije, a treći i peti dan nakon operacije je bio sličnih vrijednosti bez statistički značajne razlike. Ovo upućuje da FGF23 ima veliku vrijednost u ranom i pravovremenom prepoznavanju AOB neposredno nakon operacije kod koje postoji bubrežno oštećenje ali bubrežna funkcija još uvijek je očuvana tzv. subklinička AOB. U subkliničkoj AOB vrijednosti funkcijskih bubrežnih parametara serumskog kreatinina i satne diureze su u granicama normalnih vrijednosti za razliku od vrijednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja koji su povišeni. Ovaj koncept subkliničke AOB omogućuje pravovremeno prepoznavanje još uvijek reverzibilne AOB i primjene pravovremenih invazivnih i neinvazivnih renoprotektivnih mjera i postupaka. Za stratifikaciju težine AOB, dijagnostičku i prognostičku vrijednost FGF 23 kao ranog biomarkera bubrežne ozljede pokazali smo da je važna njegova neposredna postoperativna vrijednost i vrijednost trećeg postoperativnog dana koja dobro korelira s RIFLE i AKIN kriterijima. Vrijednost FGF 23 izmjerena peti postoperativni dan od nastanka AOB nije pokazala značajnost, te možemo zaključiti da ona pripada sivoj zoni prognoziranja AOB te bez komplementiranja sa drugim kliničkim parametrima i serijskim mjerenjenjem navedenog parametra ne može odrediti smjer daljnje dinamike AOB. Kakogod, dinamika serijskog mjerenja FGF 23 u našem istraživanju je pokazala signifikantno smanjenje vrijednosti FGF 23 kao i udjela ispitanika s AOB. To upućuje na poboljšanje bubrežne funkcije u velikog djela naših ispitanika već treći postoperativni dan. Iste vrijednosti FGF 23 izmjerene peti postoperativni dan kao i treći dan nakon operacije mogle bi upozoravati na nepromijenjeno stanje bubrežne funkcije te da je bolesnik možda bio izložen opetovanom oštećenju bubrega. To stanje može biti posljedica bilo odlaska ispitanika iz JIL-a na odjel sa smanjenim nadzorom bolesnikova kliničkog stanja a time i bubrežne funkcije te posljedičnim pogoršanjem bubrežne funkcije, ili upućuje na perzistiranje subkliničke AOB u još i dalje prisutnom vulnerabilnom razdoblju postoperativne AOB, ili na povećanje gornje granice normalnih referentnih vrijednosti FGF 23 u našoj populaciji sa 180 RU/ml na 201 RU/ml. Kakogod, možemo zaključiti da postoji korelacija između FGF 23 i težine AOB prema RIFLE/AKIN kriterijima.

U našem istraživanju ispitanici s AOB prema RIFLE kriterijima su imali značajno veće vrijednosti FGF 23 u sve tri točke mjerenja, za razliku od zdravih ispitanika prema RIFLE kriterijima. Vrijednosti medijana FGF 23 u ispitanika sa AOB su bile 3-6 puta veće od zdravih ispitanika tijekom dinamike mjerenja. Međutim, najveća razlika između ove dvije grupe je bila treći postoperativni dan kada je medijan FGF 23 ispitanika s AOB bio 6.3 puta veći od medijana zdravih ispitanika (746 RU/ml vs 118 RU/ml). Vrijednosti medijana FGF 23 u ispitanika s AOB (574-746-449) bile su slične vrijednostima medijana FGF 23 u studiji koju je proveo Zhang i suradnici (2011) u preživjelih ispitanika s AOB (medijan 544 RU/ml) (64).

Važno je naglasiti da je naše istraživanje pokazalo da postoji korelacija između FGF 23 i RIFLE kriterija, te da razina FGF 23 raste značajno s težinom AOB prema RIFLE kriterijim. Porast FGF 23 je značajan prvi i treći dan nakon operacije. Naše istraživanje je pokazalo da je vrhunac povećanja FGF 23 trećeg dana nakon operacije kada postoji značajna razlika između svih zdravih i oboljelih bez obzira na težinu AOB, a porast FGF 23 je osobito izražen u sudionika s težim stadijem AOB (failure i risk). Možemo zaključiti da je tada i uloga FGF 23 u stratifikaciji težine AOB najbolja. Prema tome, FGF 23 je ovim istraživanjem pokazao visoku osjetljivost prva tri postoperativna dana, a time zaključujemo da je dobar prediktor za teške stadije AOB (failure i risk) dok je za niske stadije loš. Kakogod, ovo njegovo svojstvo bi moglo u kliničkom smislu omogućiti pravovremeno prepoznavanje ispitanika s potencijalnim subkliničkim teškim stadijem AOB. Također i olakšati procjenu donošenja odluke o optimalnom vremenu uvođenja dijalize u terapiju. S vremenskim odmakom smanjuje se moć FGF 23 u prepoznavanju bolesnika s težim oblikom AOB, a u našem slučaju to su RIFLE stadiji 1-3.

Slično vrijedi i kada se usporedi uloga FGF 23 u ispitanika s AOB prema AKIN kriterijima. Naime, studija koju je proveo Zhang i suradnici (2011) nije pronašla korealciju između FGF 23 i težine AOB definirane prema AKIN kriterijima (64). Za razliku od navedenog istraživanja, naše istraživanje je pokazalo da postoji korelacija između FGF 23 i težine AOB prema AKIN kriterijima. Naime ispitanici s AOB prema AKIN kriterijima su imali značajno veće FGF 23 vrijednosti u usporedbi s zdravim ispitanicima prema AKIN kriterijima. Također, je utvrđeno da s težinom AOB prema AKIN kriterijima značajno raste i razina FGF 23. Taj porast je kao i kod RIFLE kriterijia značajan prvi i treći dan nakon operacije s vrhuncem povećanja treći postoperativni dan. Međutim, porast FGF 23 vrijednosti od prvog do trećeg postoperativnog dana je puno veći nego kod RIFLE kriterija. Taj porast se može

objasniti nejednakom vrijednošću RIFLE i AKIN kriterija u prepoznavanju bolesnika s AOB što može biti posljedica nelineranog odnosa njihovih trenutnih markera procjene bubrežne funkcije, a to su serumski kreatinin i diureza.

Na kraju možemo zaključiti da je serijsko mjerenje vrijednosti FGF 23 tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB pokazalo da se sa poboljšanjem bubrežne funkcije smanjuje FGF 23 vrijednost. Zanimljivo je da i sudionici s pogoršanjem postoperativne AOB su također pokazali u mjerenom vremenskom periodu tendenciju smanjenja FGF 23 vrijednosti. Iz toga možemo zaključiti da što je veći vremenski odmak od trenutka nastanka AOB, FGF 23 gubi osjetljivosti u prepoznavanju ispitanika s težim stadijem AOB. Štoviše, FGF 23 kao novi bubrežni biomarker nam omogućuje da prepoznamo subkliničku AOB. Također može se primjeniti za stratifikaciju težine AOB. Naime, FGF 23 zajedno sa RIFLE kriterijima je pokazao značajnu razliku u razini FGF 23 u zdravih ispitanika prema RIFLE kriterijima, te onima sa poboljšanjem i pogoršanjem AOB od početka do kraja mjerenja. Zanimljivo je da je vidljivo smanjenje FGF 23 vrijednosti u ispitanika sa poboljšanjem AOB kao i u ispitanika sa pogoršanjem AOB, te je ono bilo značajno kroz sve tri točke mjerenja. Kada se FGF 23 komplementira sa AKIN kriterijima, pronađeno je da je FGF 23 vrijednost značajno bila povišena u ispitanika sa pogoršanjem AOB u odnosu na ispitanike sa poboljšanjem AOB u sve tri točke mjerenja. Međutim obje grupe ispitanika su imale značajno smanjenje FGF 23 vrijednosti kroz sve točke mjerenja. Štoviše, FGF 23 je u grupi s pogoršanjem kod oba RIFLE/AKIN kriterija bio i dalje iznad granica normalnih vrijednosti što upućuje na prisutnost AOB u blažem obliku. Ovime smo pokazali još jedno važno svojstvo koje bi novi idealni biomarker bubrežnog oštećenja trebao posjedovati, a to je dobra stratifikacija težine AOB u trenutku mjerenja biomarkera te rano prepoznavanje klinički težih stadija AOB.

Kad smo usporedili dijagnostičku vrijednost FGF 23 određivanjem optimalne gornje i donje cut-off točke prema RIFLE i AKIN kriterijima tijekom sve tri vremenske točke mjerenja, nismo dobili dovoljno veliku specifičnost i osjetljivost našeg novog biomarkera u odnosu na dosadašnje standarde određivanja AOB. Naime, iz toga smo mogli zaključiti da izmjerene vrijednosti našeg biomarkera FGF 23 u danim točkama pripadaju sivoj zoni odlučivanja. Prema tome komplementiranje FGF 23 sa nekim drugim parametrima i biomarkerima može pomoći u stratifikaciji težine AOB ozljede u trenutku mjerenja i odluci o vrsti terapije koju je najbolje primijeniti. Također su potrebna daljnja istraživanka ove problematike.

Što se tiče prediktivne sposobnosti FGF 23 na u ovom istraživanju proučavani kratkoročni ishod bubrežne funkcije, možemo zaključiti da je ona najbolja prvi dan nakon operacije te

tada odgovara prediktivnoj sposobnosti RIFLE kriterija. Granična vrijednost FGF 23 za ishod bubrežne funkcije sedam dana nakon operacije za predikciju kao kod RIFLE bi bila za osjetljivost 138,4 RU/ml, a za specifičnost 127 RU/ml. Granična vrijednost FGF 23 za ishod bubrežne funkcije četrnaesti dan nakon operacije za predikciju kao kod RILFE bi bila za osjetljivost 138,5 RU/ml, a za specifičnost 132 RU/ml. Nije nađena korelacija predikcije FGF 23 sa predikcijom RIFLE kriterija na ishod bubrežne funkcije u ostalim točkama mjerenja. Također, FGF23 nije pokazao korelaciju prediktivne ulogu na ishod bubrežne funkcije niti s AKIN ktiterijima u sve tri točke mjerenja.

Poremećaj mineralnog metabolizma u AOB je i dalje velika zagonetka (10). Za KBB se zna da je hiperfosfatemija ili poremećaj homeostaze fosfata osobito u stanjima kada je eGFR<30 ml/min/1.73m^2 povezan sa smrtnosti i lošim ishodom ovih bolesnika, te sa povećanom učestalošću srčanožilnih komplikacija (10,54,57,62). Dosadašnja istraživanja o povezanosti AOB i hiperfosfatemije su kontradiktorna (10,54,55,57,62). U istraživanju koju je proveo Zahng i suradnici (2011) nije pronađena korelacija između FGF 23 i fosfata u bolesnika s AOB, iako su oba parametra bila povišena (64). U ranije spomenutom istraživanju vrijednosti serumskog fosfora su bile 4.5±1 mmol/L(64). Za razliku od navedenog istraživanja, u našem istraživanju kroz sve tri točke mjerenja vrijednosti serumskog fosfora su bile u granicama normalnih vrijednosti (AS±SD prvi dan nakon operacije 1.20±0.47mmol/l, treći dan nakon operacije 0.89±0.36 mmol/l, peti dan nakon operacije 0.89±0.32 mmol/l). Unatoč normalnim vijednostima serumskog fosfora imali smo porast FGF 23. Kao što sam već navela u uvodnom dijelu disertacije dosadašnja istraživanja smatraju da je poremećaj ravnoteže fosfata u organizmu koji nastaje kao posljedica procesa pretvaranja zatvorene u otvorenu petlju bubrezi-fosfati-FGF 23 čimbenik koji aktivira sekreciju FGF 23. U našem slučaju za poremećaj ravnoteže fosfata u organizmu je bila odgovorna postoperativna AOB. Vrijednost serumskog fosfora je bila najveća neposredno nakon operacije sa tendencijom značajnog smanjivanja kroz ostale točke mjerenja što također govori u prilog reverzibilnosti bubrežne funkcije. Izostanak značajne hiperfosfatemije u naših bolesnika se može objasniti održanom eGFR>30 ml/min/1.73m^2. Naime prema rezultatima istraživanja Kettelera (2011) serumske vrijednosti fosfora su u granicama normalnih vrijednosti sve dok gubitak bubrežne funkcije ne dostigne eGFR<30 ml/min/1.73m^2 (131). Tek tada serumske vrijednosti fosfora počinju značajno rasti. Ovim mehanizmom se mogu objasniti normalne serumske vrijednosti fosfora u naših ispitanika. Naša studija kao i navedena je pokazala postojanje korelacije između FGF 23 i serumskog fosfora prvi dan nakon operacije i treći postoperativni dan. Ovime smo kao i u

dosadašnjim istraživnjima potvrdili da je poremećaj stalne razine fosfora u organizmu trigger koji aktivira sekreciju fosfaturičnog hormona FGF 23, kao i fosfaturičnu ulogu FGF 23 u organizmu. Možemo zaključiti, da se i u AOB događa klinički neuočljiv poremećaj koncentracije fosfata koji je dovoljan da naruši homeostazu fosfata u organizmu i potakne pojačanu sekreciju FGF 23. Ali opet s druge strane ovako značajan porast i dinamika FGF 23 kod AOB može značiti i da je FGF 23 biomarker tubularne ozljede te je njegov porast posljedica oštećenja samog bubrežnog tkiva. Kakogod, potrebna su daljnja istraživanja na većem uzorku ispitanika i možda u kraćim vremenskim intervalima serijskog mjerenja navedenih parametara.

Međutim naše istraživanje je pokazalo značajnu negativnu korelaciju sa razinom fosfora u urinu prvi dan nakon operacije. Naime ispitanici s AOB sa povišenom razinom fosfora u urinu su prvi dan nakon operacije prema univarijantnoj analizi imali 0.81 puta a prema multivarijantnoj analizi 0.9 puta manje izglede za povišenu razinu FGF 23 u odnosu na ispitanike s AOB s normalnom razinom fosfora u urinu. Iz toga možemo zaključiti da nalaz serijski povišenih vrijednosti fosfora u urinu zajedno sa smanjenjem plazmatskih FGF 23 vrijednosti govori u prilog reverzibilnoj AOB. Također potvrđuje i fosfaturičnu ulogu FGF 23 u organizmu.

Vrijednosti serumskog kalcija u istraživanju Zhanga i suradnika (2011) su bile snižene 1.91±0.1 mmol/l, kao i u našem istraživanju (64). Naše istraživanje za razliku od navedene studije je pokazalo i dinamiku kretanja serumskog kalcija tijekom vremenskog perioda od pet dana od nastanka AOB sa tendencijom značajnog porasta serumskih vrijednosti kalcija ali i dalje u razini hipokalcemije (AS±SD prvi dan nakon operacije 1.92±0.17 mmol/l, treći dan nakon operacije 1.97±0.17 mmol/l, peti dan nakon operacije 1.97±0.22 mmol/l). Ovaj poremećaj mineralnog metabolizma kalcija sličan je kao i kod poremećaja metabolizma kalcija u osoba s KBB. Na temelju podataka iz dosadašnjih istraživanja možemo pretpostaviti da povišene vrijednosti FGF 23 djelovanjem na bubrežne enzime značajno smanjuju proizvodnju te ubrzavaju razgradnju vitamina D već neposredno nakon nastanka AOB (24,25,64). Ovaj mehanizam može objasniti izraženu hipokalcemiju neposredno nakon nastanka postoperativne AOB. Također visoke FGF 23 vrijednosti direktnim i indirektnim mehanizmom djeluju na paratireoidnu žlijezdu te inhibiraju lučenje PTH i time produbljuju hipokalcemiju (10). Oporavkom bubrežne funkcije smanjuje se djelovanje ova dva navedena mehanizma te serumska razina kalcija polako počinje rasti. Nedostatak našeg istraživanja je da nismo bili u mogućnosti mjeriti paralelno i dinamiku promjene vitD i PTH u ispitanika s

AOB te na taj način dodatno rasvijetliti mehanizam djelovanja FGF 23 u AOB. U našem istraživanju nismo pokazali korelaciju serumskog kalcija i FGF 23. Kakogod, povišene vrijednosti serumskog kalcija su se pokazale kao značajan prediktor povišenih FGF 23 vrijednosti u ispitanika s AOB samo prvi dan nakon operacije. Dakle, ispitanici s AOB sa povišenom razinom serumskog kalcija su prvi dan nakon operacije imali 4.54 puta veće izglede za povišene FGF 23 a time i vjerojatnost nastanka AOB. To može biti posljedica pojačanog lučenja PTH kao ranog odgovora na porast serumskog fosfata radi AOB.

Serumski kreatinin je pokazao značajnu korelaciju sa vrijednostima FGF 23. Naime, povišene vrijednosti serumskog kreatinina u ispitanika s AOB su se pokazale kao dobar prediktor povišenih FGF 23 vrijednosti u sve tri točke mjerenja. Ispitanici s AOB i povišenom razinom serumskog kreatinina u odnosu na one s normalnom razinom serumskog kreatinina su prvi dan nakon operacije imali 4.24 puta , treći dan nakon operacije 3.9 puta, a peti dan nakon operacije 6.3 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23. Prema tome, pronađena je značajna korelacija povišenih vrijednosti serumskog kreatinina i povišenih FGF 23 vrijednosti tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB.

Kreatinin u urinu nije pokazao značajnu korelaciju s FGF 23 u sve tri točke mjerenja. Međutim, snižene vrijednosti kreatinina u urinu se se pokazale kao dobar prediktor povišenih FGF 23 vrijednosti u ispitanika s AOB treći i peti dan nakon operacije. Ispitanici s AOB sa sniženim vrijednostima urinarnog kreatinina su imali treći dan nakon operacije 3.33 puta, a peti dan nakon operacije 3.15 puta veće izglede za povišenim razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike s AOB i normalnim vrijednostima kreatinina u urinu.

Vrijednsti urinarnog kalcija u ispitanika s AOB su u sve tri točke mjerenja bile snižene. Urinarni kalcij je značajno korelirao sa FGF 23 treći i peti dan mjerenja. Naime, snižene vrijednosti kalcija u urinu su se pokazale kao dobar prediktor povišenih FGF 23 vrijednosti u ispitanika s AOB treći i peti dan nakon operacije. Ispitanici s nižom razinom kalcija u urinu su imali treći dan nakon operacije 13.13 puta prema univarijantnoj analizi i 9.19 puta prema multivarijantnoj analizi veće izglede za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike s AOB s normalnom razinom kalcija u urinu. Peti dan nakon operacije isti kao i gore navedeni ispitanici su imali 4.92 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike s AOB s normalnom razinom kalcija u urinu.

Također smo pokazali postojanje značajne korelacije AOB prema RIFLE kriterijima sa FGF 23 kroz sve tri točke mjerenja. Prisutnost AOB prema RIFLE kriterijima se pokazala kao prediktor povišene razine FGF 23 kroz sve tri točke mjerenja u odnosu na ispitanike bez

AOB. Tako su ispitanici s AOB prema RIFLE kriterijima (stadij 1,2,3) prema univarijantnoj analizi imali prvi dan nakon operacije 3.82 puta, treći dan nakon operacije 5.66 puta, a peti dan nakon operacije 5.65 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na ispitanike bez AOB. Multivarijantni model je pokazao veću korelaciju AOB prema RIFLE kriterijima i povišene razine FGF 23. Prema tome modelu ispitanici s ABO prema RIFLE kriterijima su prvi dan nakon operacije imali 5.32 puta, a treći dan nakon operacije 8.44 puta veće izglede za povišenom razinom FGF 23.

Prisutnost značajne korelacije između FGF 23 i AKIN kriterija je pokazana treći i peti dan nakon operacije. Prisutnost AOB definirane prema AKIN kriterijima se pokazala kao dobar prediktor povišene razine FGF 23 treći i peti dan nakon operacije u odnosu na ispitanike bez AOB. Nadalje, ispitanici s AOB prema AKIN kriterijima su imali treći dan nakon operacije 4.28 puta, a peti dan nakon operacije 8.43 puta veće šanse za povišenom razinom FGF 23 u odnosu na zdrave ispitanike bez AOB.

Ovime smo pokazali da dodatni klinički parametri komplementiraju dijagnostičku i prediktornu moć FGF 23. Na taj način olakšano je postavljanje dijagnoze AOB. Međutim, naše istraživanje je pokazalo da njihova zajednička dijagnostička vrijednost ovisi o vremenskoj varijabli mjerenja. Tako su se dosadašnji pouzdani i validirani RIFLE i AKIN kriteriji, te serumski kreatinin pokazali kao dobra nadopuna FGF 23 u postavljanu dijagnoze AOB tijekom svih pet dana od nastanka AOB. Prvi dan nakon operacije povišena razina sermuskog kalcija i snižena vrijednost urinarnog fosfora su pokazale povezanost s povišenim FGF 23 i dijagnosticiranjem AOB. Treći i peti dan nakon operacije snižena vrijednost kalcija u urinu i snižena vrijednost kreatinina u urinu su bili prediktori povišenih vrijednosti FGF 23 i time dijagnosticiranja AOB. Nažalost, nismo mogli pokazati njihovu ulogu u stratifikaciji težine AOB u pojedinim vremenskim točkama.

Do sada je objavljeno pet publikacija o povezanosti FGF 23 i AOB. U istraživanju koje je proveo Christov i suradnici (2013) dokazan je značajan porast FGF 23 i kreatinina neposredno nakon nastanka AOB (67). U miševa je porast FGF 23 bio značajan unutar 1h od toksinom inducirane AOB, a vrhunac porasta plazmatskog FGF 23 je bio 24 h nakon nastanka AOB te je porastao 18 puta od bazalne vrijednosti (67). Istraživanje je pokazalo i porast FGF 23 15.9 puta od normalnih vrijednosti u ispitanika podvrgnutih kardiokirurškoj operaciji zamjene aortalne valvule neposredno 24 sata od operacije (67). Ovu postoperativnu dinamiku FGF 23 pratio je i porast od 1.4 puta postoperativne serumske vrijednosti kreatinina u odnosu na bazalnu vrijednost (67). Taj porast FGF 23 vrijednosti u navedenom istraživanju je bio

značajan još sljedeća dva dana od operacije kao i u našem istraživanju (67). Našim istraživanjem pokazali smo slične rezultate. Porast serumske vrijednosti kreatinina unutar 24h od nastanka AOB u odnosu na bazalnu vrijednost serumskog kreatinina je bio 1.7 puta, slično kao i u navedenom istraživanju. Trećeg postoperativnog dana taj porast se smanjuje i iznosi 1.4 puta, a petog postoperativnog dana 1.2 puta. Možemo zaključiti da je porast serumskog kreatinina tijekom prvih pet dana od nastanka postoperativne AOB dosta značajan i visok što upućuje na pojačanu vulnerabilnost bubrežne funkcije ne samo u prva 24-48 sati od nastanka AOB nego i tijekom prvih pet dana od nastanka postoperativne AOB. Naše istraživanje je kao i ovo pokazalo neposredno nakon operacije ali i sljedećih pet dana postoperativno porast gornje vrijednosti FGF 23 više od 100 puta u usporedbi sa gornjom vrijednosti kontrolne zdrave skupine (28 000 vs 203 RU/ml). Također porast vrijednosti FGF 23 prvi dan nakon operacije je bio 22.2 puta veći od vrijednosti FGF 23 zdrave kontrolne skupine (1556 vs 70 RU/ml), što je još veći porast od navedenog porasta od 15.9 puta u istraživanju koje je proveo Christov i suradnici. U ostalim točkama mjerenja porast FGF 23 u usporedbi s kontrolnom skupinom je i dalje bio značajan. Treći dan nakon operacije vrijednosti FGF 23 su 18.7 puta bile veće (1308 vs 70 RU/ml), a peti dan nakon operacije vrijednosti FGF 23 su 8.9 puta bile veće od vrijednosti kontrolne skupine (620 vs 70 RU/ml). Možemo zaključiti da vrijednosti FGF 23 rastu značajno i brzo neposredno nakon nastanka AOB te dobro koreliraju sa RIFLE i AKIN kriterijima te dinamikom serumskog kreatinina. Naše istraživanje je pokazalo da je dinamika FGF 23 značajna prvih pet dana nakon nastanka postoperativne AOB, a osobito prva tri dana nakon razvoja AOB kada ima dobru prognostičku ulogu o reverzibilnosti AOB i moć stratifikacije težih stadija AOB. Zahvaljujući tome možemo pretpostaviti koju terapiju liječenja primijeniti već u ranom tijeku nastanka AOB. Ovaj jako veliki porast FGF 23 prva tri dana od nastanka AOB može se objasniti ne samo mehanizmom dosada poznate otvorene petlje bubrezi-kost-FGF 23, nego upućuje da je FGF 23 zaista biomarker bubrežnog tkvinog oštećenja. Međutim, moramo napomenuti da ovakav porast i dinamika kretanja FGF 23 u našem istraživanju može biti i posljedica uključenja drugih kompenzatornih mehanizama poput PTH, vitD, te kofaktora Klotho čije djelovanje i ulogu u AOB nažalost u našem istraživanju nismo uspjeli paralelno proučiti. Prema istraživanju koje je proveo Christov i suradnici (2013) ovaj dosta značajan i velik porast FGF 23 vrijednosti mogao bi se objasniti perioperativnom aktivacijom sistemskog upalnog odgovorom organizma na operativni stres (67,132). Također, dosadašnja istraživanja su pokazala da nastanak multiorganskog zatajenja, sepse i ostalih septičkih komplikacija utječe na vrijednost i dinamiku kretanja novih

bubrežnih biomarkera (132,133,134). Međutim, točan mehanizam kojim bi se ta događanja mogla objasniti zasada još nije dovoljno razjašnjen. Dakle, to zasada ostaje i dalje zagonetka koju je potrebno riješiti u budućnosti. Još jedan od nedostataka studije je bio i kratko ili možda predugo vremensko praćenje dinamike promjena FGF23 nakon razvoja AOB koju smo u našem istraživanju uspjeli pokazati, i potvrditi da je signifikantna tijekom perioda od pet dana nakon nastanka AOB. Također smo za razliku od dosadašnjih istraživanja definirali korist primjene FGF 23 kao ranog prognostičkog faktora progresije postoperativne AOB osobito prvi dan nakon operacije na kratkoročni ishod bubrežne funkcije. Naime njegova predikcija u toj vremenskoj točki mjerenja odgovara u potpunosti predikciji RIFLE kriterija. Također smo pokazali dobru osjetljivost FGF 23 zahvaljujući kojoj ovaj biomarker u prva tri dana nakon razvoja postoperativne AOB može dobro prepoznati teže stadije AOB kada je potrebno donijeti ispravnu odluku o optimalnom početku uvođenja bubrežne nadomjesne terapije.

S obzirom da su se dosada novi urinarni biomarkeri ranog bubrežnog oštećenja pokazali značajniji u dijanosticiranju AOB od serumskih biomarkera, nedostatak naše studije je da nismo istodobno zajedno sa plazmatskim mjerenjem mjerili i urinarne vrijednosti FGF 23. Naime taj dio u području ovog biomarkera, osobito izlučivanja FGF 23 iz organizma bubrezima te utjecaja dijalize na plazmatsku FGF 23 koncentraciju, još uvijek predstavlja veliku nepoznanicu.

Ovaj značajan porast plazmatskih FGF 23 vrijednosti prvi dan nakon operacije upućuje da već intraoperativno dolazi do razvoja nefropatije i porasta FGF 23. Iz toga možemo zaključiti da ne samo postoperativne vrijednosti FGF 23, već također preoperativne i intraoperativne plazmatske vrijednosti FGF 23 mogu biti pouzdan prognostički biomarker progresije AOB. Pilot studija koju je proveo Ali i suradnici (2013) u dječjoj populaciji podvgnutoj kardiokirurškom operativnom zahvatu pokazala je da ispitanici koji su nakon zahvata razvili AOB su imali preoperativno i postoperativno povišene plazmatske vrijednosti FGF 23 u usporedbi s onima bez AOB (70). Studija je pokazala da je relativni rizik bio 2 ako su ispitanici imali preoperativno FGF 23 >86 RU/ml (70). Dakle, FGF 23 je novi potencijalni bubrežni biomarker koji za razliku od ostalih potencijalnih ranih bubrežnih biomarkera može i preoperativno u određenih visokorizičnih bolesnika predvidjeti razvoj AOB.

Naše istraživanje ima nekoliko nedostataka. Naime naša studija je rađena kao i sve studije do sada u ovome novom području istraživanja novih bubrežnih biomarkera u vremenski poznatom periodu nastanku AOB. Prema tome onemogućila nam je prepoznavanje

subkliničke AOB kod koje vrijedi princip da je biomarker pozitivna, a kreatinin negativna. Također, nedostatak je da nismo bili u mogućnosti odrediti preoperativne i intraoperativne vrijednosti FGF 23 u svih ispitanika podvrgnutih velikim abdominalnim i vaskularnim kirurškim zahvatima. Drugo, zlatni stanadard po kojem smo određivali neposredno postoperativno AOB u ispitanika su bili RIFLE i AKIN kriteriji, a indirektno serumski kreatinin i diureza, za koje znamo iz dosada provedenih istraživanja da nisu idealni za stratifikaciju rizika i težine AOB. Vremenska dinamika mjerenja FGF 23 je napravljena prema dosadašnjim istraživanjima. Iako se pokazala u našem istraživanju značajna možda su ipak bili neophodni kraći vremenski periodi mjerenja kako bi bolje razumjeli korelaciju FGF 23 i AOB. Također, nismo mogli u potpunosti dokazati ulogu FGF 23 u stratifikaciji težine AOB u naših ispitanika. Osim toga, naši ispitanici su postoperativno razvili uobičajene komplikacije poput sepse, septičkog šoka, respiratorne insuficijencije, pneumonije, krvarenja koji također prema zadnjim radovima mogu utjecati na dinamiku i varijabilnost FGF 23 na još nedovoljno razjašnjen način. Iako se pokazalo u dosadašnjim istraživanjima da mjerenje urinarnih vrijednosti FGF 23 ne korelira sa oštećenjem bubrežne funkcije, ipak bi odgovorilo na pitanje eliminacije FGF 23 iz organizmu te utjecaj dijalize na FGF 23 plazmatske vrijednosti. Na taj način bi bar djelomično mogli potvrditi ili isključiti dosadašnje rezultate istraživanja. Osim toga, nismo bili u mogućnosti istovremeno mjeriti serumske vrijednosti PTH i vitD koje bi nam još bolje razjasnile zagonetku mineralnog metabolizma u ispitanika s AOB. Osim svega navedenog, nismo bili u mogućnosti proučiti djelovanje i utjecaj drugih kompenzatornih mehanizama poput kofaktora Klotho koji bi možda bili ključan faktor u razumijevanju patofiziološkog procesa FGF 23 u ispitanika s AOB.

7. ZAKLJUČAK

Našim smo prospektivnim kohortnim istraživanjem pokazali da je plazmatski FGF 23 potencijalni, novi, rani biomarker postoperativne AOB. Naime naše istraživanje dinamike FGF 23 je pokazalo da porast plazmatske FGF 23 vrijednosti korelira sa porastom serumskog kreatinina, i težinom AOB prema RIFLE i AKIN klasifikaciji. Zanimljivo je da je porast plazmatske FGF 23 vrijednosti puno veći od porasta serumskog kreatinina (FGF 23 vrs kreatinin: 22.2 vrs 1.7) tijekom sve tri točke mjerenja. Međutim, FGF 23 kao novi biomarker je pokazao ipak najveću vrijednost u ispitanika s postoperativnom AOB prvi i treći dan nakon operacije. Tada, a osobito treći postoperativni dan zabilježene su najviše vrijednosti FGF 23 u bolesnika s težim stadijem AOB prema RIFLE/AKIN klasifikaciji. Ovime smo pokazali dobru osjetljivost FGF 23 koja omogućuje dovoljno rano prepoznavanje težih, ali još uvijek reverzibilnih stadija, postoperativne AOB. Na taj način bi pravovremeno mogli započeti liječenje AOB što prema novim smjernicama uključuje primjenu pravovremene bubrežne nadomjesne terapije tj. dijalize.

Štoviše, pokazali smo da je FGF 23 dobar prediktor kratkoročnog ishoda bubrežne funkcije sedmi i četrnaesti dan tj. rani prognostički pokazatelj progresije postoperativne AOB. Međutim to vrijedi samo za FGF 23 mjerenja napravljena u ispitanika s postoperativnom AOB prvi postoperativni dan. Tada, naime, njegova predikcija odgovara predikciji dosadašnjeg zlatnog standarad, RIFLE kriterija. Povezanost predikcije FGF23 i AKIN kriterija nije dokazana. Kakogod, i u dostupnoj literaturi je opisano da je AKIN kriterij inferiorniji u predikciji kratkoročnog ishoda AOB što smo našim istraživanjem također pokazali.

Možemo zaključiti da je FGF 23 novi biomarker bubrežnog oštećenja koji bi s vremenom mogao zamijeniti RIFLE kriterije. Naime potrebna su daljnja istraživanja te ispitivanje financijske isplativosti primjene FGF 23 u svrhu uvođenja njegova mjerenja u svakodnevnu kliničku praksu.

Također smo istražili povezanost koncentracije FGF 23 u plazmi i poremećaja mineralnog metabolizma kalcija i fosfora u serumu i urinu u ispitanika s postoperativnom AOB. Takvi su podaci, naime, izuzetno nedostatni ili kontradiktorni. Pronašli smo da i u AOB postoji značajan poremećaj mineralnog metabolizma kalcija i fosfata. Dakle, tijekom sve tri

vremenske točke mjerenja ispitanici su imali normofosfatemiju i hipokalcemiju. Još više, pokazali smo povezanost povišene koncentracije FGF 23 u plazmi sa povišenom razinom serumske koncentracije kalcija i fosfora, te sniženom razinom urinarnog fosfora prvi dan nakon operacije. Treći i peti dan postoperativni dan pokazali smo povezanost povišene koncentracije FGF 23 u plazmi te snižene razine vrijednosti kalcija i kreatinina u urinu. Zanimljivo je da smo našim istraživanjem pokazali povezanost plazmatske FGF 23 vrijednosti i urinarne koncentracije kalcija, fosfora i kreatinina. Ovaj odnos bi također trebalo dodatnim istraživanjima u budućnosti proučiti.

Po prvi puta smo odredili plazmatsku vrijednost FGF 23 u skupini zdravih ljudi u svrhu uvođenja metode mjerenja FGF 23 u laboratorij. Izmjerene vrijednosti FGF 23 su odgovarale normalnim vrijednostima navedenim u dosadašnjoj literaturi (medijan (IQR) 70 (62-95) RU/ml. Osim toga, pokazali smo kao i dosadašnja istraživanja više vrijednosti FGF 23 u ispitanica ženskog spola (medijan (IQR) 93(64-128) RU/ml), za razliku od muških ispitanika (medijan (IQR) 65(59-79) RU/ml).

8. SAŽETAK

Promjena koncentracije čimbenika rasta fibroblasta 23 u odnosu na stadij akutnoga zatajenja bubrega

Cilj: FGF 23 je novi potentni fosfaturični hormon. Ono što je bio povod provođenju ovoga istraživanja je da su dosadašnja klinička mjerenja pokazala zasada veliku važnost određivanja FGF 23 kao novog, ranog biomarkera u dijagnostici i prognostici pogoršanja akutnog bubrežnog zatajenja, a prema novoj nomenklaturi akutne bubrežne ozljede (AOB). FGF 23 kao rani, novi biomarker bubrežne funkcije bi omogućio identificiranje onih osoba s novonastalom i još uvijek potencijalno reverzibilnom AOB.

Materijali i metode: Proveli smo kohortno prospektivno istraživanje u Klinici za kirurgiji i Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od veljače 2012. do siječnja 2014. godine. Ispitanici su podijeljeni u dvije grupe. Grupu bolesnika sa AOB su činili odrasli ispitanici oba spola primljeni u jedinicu intenzivnog liječenja općih kirurških bolesnika u kojih se nakon elektivnih i hitnih velikih abdominalnih operativnih zahvata ili zahvata na aorti ili perifernim krvnim žilama razvila AOB. Druga grupa ispitanika je bila kontrolna grupa koju su činili zdravi odrasli ispitanici oba spola. Naravno, ispitanici obje grupe su prije uključenja u istraživanje morali zadovoljiti kriterije uključenja i isključenja. Ispitanicima koji su zadovoljili kriterije uključenja u studiju se u prva 24 h tijekom boravka u JIL-u općih kirurških bolesnika dijagnosticirala AOB na temelju RIFLE/AKIN kriterija. Oni ispitanici koji su razvili AOB odmah im se serijskim mjerenjima 24h nakon operacije, treći i peti dan nakon operacije odredila ulazna i kasnije izlazna vrijednost Simplified Acute Physiology Score (SAPS) II, uzela i nadopunila anamneza, te serumske i urinarne vrijednosti kreatinina, kalcija i fosfora. Kontrolnoj skupini ispitanika koja je zadovoljila anamnestičke kriterije uključenja u studiju se samo jednim mjerenjem odredila serumska vrijednost kreatinina i koncentracija FGF 23. Plazmatski uzorak FGF 23 se mjerio imunoenzimatskom metodom (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA). Stanje bubrežne funkcije ispitanika se procjenjivalo sedmi i četrnaesti postoperativni

dan sa mogućnošću 2 ishoda: ili oporavak bubrežne funkcije ili zatajenje bubrežne funkcije. Ispitanici su se pratili do otpusta iz bolnice.

Rezultati: Razina statističke značajnosti je određena na $p<0,05$. Sve statističke obrade obavljene su u paketu SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Utvrđene su statistički značajne razlike u razini FGF 23 između ispitanika bez AOB i ispitanika s AOB, te je FGF 23 bio veći kod ispitanika s AOB u sve tri točke mjerenja prema RIFLE i AKIN kriteriju ($p<0,001$). Utvrđene su statistički značajne razlike u razini FGF 23 s obzirom na težinu stadija AOB prema RIFLE i AKIN kriteriju u sve tri točke mjerenja. U sve tri točke FGF 23 raste s težinom AOB, osim peti dan nakon operacije. Hipokalcemija i normofosfatemija su bile prisutne tijekom pet dana od razvoja postoperativne AOB. Vrijednosti serumskog kreatinina su bile povišene u svim točkama mjerenja od nastanka postoperativne AOB u odnosu na normalnu vrijednost serumskog kreatinina dok su vrijednosti urinarnog kalcija tijekom pet dana od nastanka postoperativne AOB bile značajno snižene. Vrijednosti urinarnog fosfata su samo prvi dan nakon operacije bile u granicama normalnih vrijednosti, a u ostalim točkama mjerenja snižene.

Zaključak: Podaci o prognostičkoj ulozi FGF 23 kod AOB su nedostatni. Prognostičku vrijednost FGF 23 uspoređivali smo sa trenutno pouzdanim i primjenjivim pokazateljima dijagnosticiranja i progresije AOB a to su RIFLE i AKIN kriteriji prema konsenzusu AQDI grupe. Dinamika kretanja FGF 23 u našem istraživanju dobro korelira sa dinamikom RIFLE i AKIN kriterija. Time smo pokazali da je FGF 23 u AOB ne samo novi rani biomarker dijagnosticiranja bubrežnog oštećenja nego je također pokazao i prognostičku ulogu u postoperativnoj AOB koja po značenju i vrijednosti dobro korelira sadašnjem zlatnom standardu, RIFLE kriterijima. Također FGF 23 se pokazao kao dobar biomarker stratifikacije težine AOB i prepoznavanja subkliničke postoperativne AOB. Podaci o poremećaju mineralnog metabolizma u AOB su naime, izuzetno nedostatni ili kontradiktorni. Tijekom sve tri vremenske točke mjerenja naši ispitanici su imali normofosfatemiju i hipokalcemiju. Po prvi puta smo odredili plazmatsku vrijednost FGF 23 u skupini zdravih ljudi u svrhu uvođenja metode mjerenja FGF 23 u laboratorij. Izmjerene vrijednosti FGF 23 su odgovarale normalnim vrijednostima navedenim u dosadašnjoj literaturi (medijan (IQR) 70 (62-95) RU/ml). Možemo zaključiti da je FGF 23 dobar, primjenjiv, rani, novi biomarker bubrežnog oštećenja koji bi s vremenom mogao zamijeniti RIFLE kriterije.

Ključne riječi: Akutna bubrežna ozljeda; Biomarker; Dijaliza; FGF 23; Kirurgija; Intenzivno liječenje.

9. SUMMARY

Fibroblast growth factor 23 concentration changes in relation to acute kidney failure stage

Aim: Fibroblast growth factor 23 (FGF 23) is a novel potent phosphaturic hormon. The main reason for conducting this study was that present studies have shown the great significance of FGF 23 as a new, early biomarker in diagnosis and prognosis of acute renal insufficiency outcome, according to the new guideliness acute kidne injury (AKI). FGF 23 could be the early, novel renal biomarker that could help identify those subjects with early but still reversible AKI.

Matherials and methods: We conducted a prospective cohort study at Department of surgery and Department of anesthesiology, reanimatology and intensive care Clinical Hospital Center Zagreb from February 2012 till January 2014. Our study enrolled two groups. The first group were adult subjects who developed postoperative AKI after scheduled and emergency large abdominal operations, or vascular operations on aorta and peripheral blood vessels, admitted to the surgical Intensive care unit afterwards. The second group was the control group which enrolled adult healthy subjects of both sex. Certainly, the subjects of both groups before comprising in the study had to content the inclusion and exclusion criteria. The subjects who contented the inclusion criteria for the study were monitored in the surgical intensive care unit for 24 hours postoperatively and diagnosed AKI according to RIFLE/AKIN criteria. Those who developed postoperative AKI serial mesurements of plasma FGF 23, serum and urine creatinine, calcium and phosphorus levels were done 24 hours after operation, on the third and fifth postoperative days. Control subjects who satisafied the inclusion criteria in the study according to history data were determined only one measurement of serum creatinine and plasma FGF 23. Plama FGF 23 samples were measured in the laboratory by imunoenzymatic method Enzyme-Linked Immunosorbent Assay-ELISA. Renal function outcome was assessed on the seventh and fourteenth postoperative day. There were two outcome posibilities: recovery of renal function or renal insufficiency. The subjects were followed until the release from the hospital.

Results: Two-tailed p values <0,05 were considered significant. Data analysis was conducted by using SPSS 17.0 (SP22 Inc., Chicago, IL,USA). FGF 23 levels were significantly higher in subjects with AKI compared to subjects without AKI and heaalthy controls in all three mesurement points (p<0,001). Plasma FGF 23 levels significantly increased with the severity of AKI according to RIFLE/AKIN criteria in all measurement points except on the fifth postoperative day. Hypocalcemia and normophosphatemia were recorded during all three measurement points. Serum creatinine levels were incresed, while urinary calcium levels were decreased during all three measurement points. Urinary phosphorus levels were normal on the first postoperative day, but lower than normal values on the third and fifth postoperative days.
Conclusion: Data on FGF 23 prognostic role in AKI, howevere, are insufficient. We compared prognostic role of FGF 23 with presently reliable and applicable diagnostic and prognostic scores, RIFLE and AKIN criteria according to AQDI consensus group. FGF 23 dynamics in our study have showen falling trend, and good correlation with RIFLE/AKIN criteria, currently clinically golden standards for renal function assessment. We have also demonstrated that FGF 23 could be not only novel, early renal biomarker of diagnosing AKI, but moreover a good prognostic renal biomarker in postoperative AKI. We have showed that FGF 23 has a good correlation with short-term prognostic role of RIFLE criteria. We conclude that FGF 23 is a novel, early, renal biomarker of AKI severity stratification and can also timely recognize subclinical AKI. Available data about mineral metabolism disturbances in AKI are insufficient or contradictory. During five postoperative days subjects with postoperative AKI had hypocalcemia and normophosphatemia. For the first time, we determined the plasma FGF 23 values in healthy subjects with the purpose of implementing FGF 23 measurements in everyday laboratory practice. The measured FGF 23 values matched normal FGF 23 values according to present available literature (median (IQR) 70 (62-95) RU/ml). Finally, we conclude that FGF 23 is a good, applicable, early, novel renal biomarker which could in time replace RIFLE criteria.

Keywords: Acute kidney injury; Biomarker; Dialysis; FGF 23; Surgery; Intensive Care

10. POPIS LITERATURE

1. Lee D.B., Walling M.W., Brautbar N. Intestinal phosphate absorption: influence of vitamin D and non-vitamin D factors. Am J Physiol 1986;250:369-73.
2. Komaba H, Fukagawa M. FGF23: a key player in mineral and bone disoredr in CKD. Nefrologia 2009;295:392-6.
3. Quarles LD. Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: implications in chronic kidney disease. Exp Cell Res 2012;318: 10408.
4. Siew ED, Ware LB, Gebretsadik T, Shintani A, Moons KG, Wickersham N, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin moderately predicts acute kidney injury in critically ill adults. J Am Soc Nephrol 2009;20:1823-32.
5. Devarajan P. Proteomics for biomarker discovery in acute kidney injury. Semin Nephrol 2007 Nov;27(6):637-51.
6. Devarajan P. Proteomics for the investigation of acute kidney injury. Contrib Nephrol 2008;160:1-16.
7. Shimada T, et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. Proc Natl Acad USA. 2001;98:6500-5.
8. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. Biochem Res Commun, 2000; 277: 494-8.
9. Razzaque MS, Lanske B. The emerging role of the fibroblast growth factor-23-klotho axis in renal regulation of phosphate homeostasis. J Endocrinol 2007, 194 (1): 1-10.
10. Russo D, Battaglia Y. Clinical significance of FGF-23 in patients with CKD. Int J Nephrol 2011;2011:364890.
11. Ornitz DM, et al. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. J Biol Chem 1996;271, 15292-7.
12. Ruta M, et al. Receptor for acidic fibroblast growth factor is related to the tyrosine kinase encoded by the fms-like gene (FLG). Proc Natl Acad Sci USA 1989;86, 8722-6.
13. Werner S, et al. Differential splicing in the extracellular region of fibroblast growth factor receptor 1 generates receptor variants with different ligand-binding specificities. Mol Cell Biol 1992;12, 82-8.

14. Yoshiko Y, et al. Mineralized tissue cells are a principal source of FGF23. Bone, 2007. 40(6): 1565-73.
15. Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. Trends Genet 2004. 20: 563-9.
16. Fukumoto S. Actions and mode of actions of FGF19 subfamily members. Endocr J 2008. 55: 23-31.
17. Kuro-o M. Klotho in chronic kidney disease- what's new? Nephrol Dial Transplant 2009;24:1705-8.
18. Nishida Y, Taketani Y, Yamanaka-Okumura H, Imamura F, Taniquchi A, Sato T, et al. Acute effect of oral phosphate loading on serum fibroblast growth factor 23 levels in healthy men. Kidney Int 2006;70:2141–2147.
19. Reiss E, Canterbury J, Bercovitz M, Kaplan EL. The role of phosphate in the secretion of parathyroid hormone in men. J Clin Invest 1970;49:2146–2149.
20. Larsson T, et al. Transgenic mice expressing fibroblast growth factor 23 under the control of the alpha1(I) collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia, and disturbed phosphate homeostasis. Endocrinology 2004;145:3087-94.
21. Shimada T, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. J Bone Miner Res 2004;19: 429-35.
22. Bowe AE, et al. FGF-23 inhibits renal tubular phosphate transport and is a PHEX substrate. Biochem Biophys Res Commun 2001;284: 977-81.
23. Yamashita T, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-23 inhibits renal phosphate reabsorption by activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. J Biol Chem 2002;277: 28265-70.
24. Bai XY et al. The autosomal dominant hypophosphatemic rickets R176Q mutation in fibroblast growth factor 23 resists proteolytic cleavage and enhances in vivo biological potency. J Biol Chem 2003;278:9843-9.
25. Saito H et al. Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na+-dependent phosphate co-transport activity and 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 production. J Biol Chem 2003;278:2206-11.
26. Shimada T, et al. Targeted ablation of Fgf 23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. J Clin Invest 2004. 113(4): 561-8.
27. Yu X, et al. Genetic disorder of phosphate- and vitamin D-mediated regulation of circulating Fgf 23 concentrations. Bone 2005;36:971-7.

28. Yamazaki Y, et al. Anti-FGF23 neutralizing antibodies show the physiological role and structural features of FGF23. J Bone Miner Res 2008;23:1509-18.
29. Berndt T, et al. Evidence for a signaling axis by which intestinal phosphate rapidly modulates renal phosphate reabsorption. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:11085-90.
30. Ben-Dov IZ, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. J Clin Invest. 2007;117:4003-8.
31. Krajisnik T, et al. Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1alpha-hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells. J Endocrinol 2007;195:125-31.
32. Khosravi A et al. Determination of the elimination half-life of fibroblast growth factor-23. J Clin Endocrinol Metab 2007;92: 2374-7.
33. Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. J Am Soc Nephrol 2010;21:1427-35.
34. Seiler S, Heine GH, Fliser D. Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. Kidney Int Suppl 2009;114:34-42.
35. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren Ö *et al*. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. Kidney Int 2003;64: 2272–2279.
36. Nagano N, Miyata S, Abe M, Kobayashi N, Wakita S, Yamashita T, Wada M. Effect of manipulating serum phosphorus with phosphate binder on circulating PTH and FGF23 in renal failure rats. Kidney Int 2006;69:531-7.
37. Kuro-o M et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature 390;45-51:1997.
38. Kuroso H et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. Science 2005;309:1829-33.
39. Imura A et al. Secreted Klotho protein in sera and CSF: implication fir post-transitional cleavage in release of Klotho protein from cell membrane. FEBS Lett 2004;565:143-7.
40. Urakawa I et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. Nature 2006;444:770-4.
41. Ichikawa S et al. A homozygous missense mutation in human KLOTHO causes severe tumoral calcinosis. J Clin Invest 2007;117:2684-91.

42. Brownstein CA, Alder F, Nelson-Williams C, Iijima J, Li P, Imura A, et al. A translocation causing increased (alpha)-Klotho level results in hypophosphatemic rickets and hyperparathyroidism. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:3455-60.
43. Urakawa I et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. Nature 2006;444:770-4.
44. Kurosu H et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. J Biol Chem 2006;281:6120-3.
45. Bacchetta J, Cochat P, Salusky IB. FGF23 and Klotho: the new cornerstones of phosphate/calcium metabolism. Arch Pediatr 2011;18:686-95.
46. Jovanovich AJ CM, Cheung AK, Kaufman JS, Greene TH, Roberts WL, Smits GJ et al.Racial differences in vitamin D, parathyroid hormone and FGF23 in patients with severe chronic kidney disease. American Society of Nephrology, Denver PO2153 2010.
47. Mirza MA, Alsio J, Hamarstedt A, Erben RG, Michaelsson K, Tivesten A, et al. Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with fat mass and dyslipidemiy in two independent cohorts of elderly individuals. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2011;31:219-227.
48. Lowy H. Elevated hormone FGF 23 could indicate kidney failure imminent. FierceDiagnostics 2011, June 21.
49. Kuczera P, Adamczak M, Wiecek A. Cinacalcet treatment decrease plasma fibroblast growth factor 23 concentration in haemodialysed patients with chronic kidney disease and secondary hyperparathyroidism Clin Endocrinol (Oxf) 2014;80:607-12.
50. Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. J Am Soc Nephrol 2010;21:1427-35.
51. Polglase B. NIH researches identify new marker to predict progressive kidney failure, death. NIH News 2011, June 14.
52. Juppner H. Phosphate and FGF-23. Kidney International Supplement 2011; 79 (S121): 24-27.
53. Manjunath G et al. Level of kidney function as a risk factor for cardiovascular outcomes in the elderly. Kidney Int 2003;63:1121-9.
54. Seiler S, Reichart B, Roth D, Seibert E, Fliser D, Heine GH. FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kideny disease before initiation of dialysis treatment. Nephrol Dial Transplant 2010; 25:3983-9.
55. Kidney Disease: Improving Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic

Kidney Disease- Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). Kidney Int Suppl 2009;113: 1-130.

56. Guerin AP et al. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal failure. Circulation 2001;103:987-992.
57. Tonelli M et al. Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. Circulation 2005;112:2627-33.
58. Go AS et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. N Engl J Med 2004;35:1296-305.
59. Mirza MA et al. Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. Nephrol Dial Transplant 2009;24:3125-31.
60. Mirza MA, et al. Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. Atherosclerosis 2009;205:385-90.
61. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. J Clin Invest 2011;121:4393-408.
62. Juppner H, Wolf M, Salusky IB. FGF-23: More than a regulator of renal phosphate handlig? J Bone Miner Res 2010;25:2091-7.
63. Leaf DE, Wolf M, Stern L. Elevated FGF-23 in a patient with rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. Nephrol Dial Transplant 2010;25:1335-7.
64. Zhang M, Hsu R, Hsu CY, Kordesch K, Nicasio E, Cortez A, et al. FGF-23 and PTH levels in patients with acute kidney injury: A cross-sectional case series study. Ann of Intensive Care 2011:1:21.
65. Nasrallah M, El-Shehaby A, Salem M, El Din US. Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) in acute kidney injury. Poster presented at: XLVII ERA-EDTA Congress II DGfN Congress; 2010 June 25-28; Munich, Germany.
66. Nagano N, Miyata S, Abe M, Kobayashi N, Wakita S, Yamashita T, et al. Effect of manipulating serum phosphorus with phosphate binder on circulating PTH and FGF23 in renal failure rats. Kidney Int 2006;69:531-7.
67. Christov M, Waikar SS, Pereira RC, Havasi A, Leaf DE, Goltzman D, et al. Plasma FGF23 levels increase rapidly after acute kidney injury. Kidney Int 2013;84:776-85.
68. Leaf DE, Wolf M, Waikar SS, Chase H, Christov M, Cremers S, at al. FGF-23 levels in patients with AKI and risk of adverse outcomes. Clin J Am Soc Nephrol 2012;7: 1217-23.

69. Charnow JA. High FGF-23 in AKI Raises Death Risk. Renal & Urology News. Haymarket Media. 2011. HighBeam Research.2014 Feb 3.
70. Ali FN, Hassinger A, Price H, Langman CB. Preoperative plasma FGF23 levels predict acute kidney injury in children: results of a pilot study. Pediatr Nephrol 2013;28:959-62.
71. Zhang M, Hsu R, Hsu CY, Kordesch K, Nicasio E, Cortez A, et al. FGF-23 and PTH levels in patients with acute kidney injury: A cross-sectional case series study. Annals of Intensive Care 2011;1:21.
72. Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S, Tamori A, Shiomi S, NakatanI T, et al. Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney. Biochem Biophys Res Commun 2001;280:1015–1020.
73. Stubbs JR, He N, Idiculla A, Gillihan R, Liu S, David V, et al. Longitudinal evaluation of FGF23 changes and mineral metabolism abnormalities in a mouse model of chronic kidney disease. J Bone Miner Res 2012;27:38–46.
74. Pereira RC, Juppner H, Azucena-Serrano CE, Yadin O, Salusky IB, Wesswling-Perry K, et al. Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease. Bone 2009;45:1161–1168.
75. Borthwick E, Ferguson A. Perioperative acute kidney injury: risk factors, recognition, management, and outcomes. BMJ 2010 5;341:c3365.
76. Conlon PJ, Stafford-Smith M, White WD, Newman MF, King S, Winn P, at al. Acute renal failure following cardiac surgery. Nephrol Dial Transplant 1999**;**14:1158-1162**.**
77. Kheterpal S, Tremper KK, Heung M, Rosenberg AL, Englesbe M, Shanks AM, et al. Development and validation of an acute kidney injury risk index for patients undergoing general surgery: results from a national data set**.** Anesthesiology 2009;110:505-515.
78. Webb ST, Allen JSD. Perioperative renal protection. Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain. 2008;8:176-180.
79. Kheterpal S, Tremper KK, Heung M, Rosenberg AL, Englesbe M et al. Development and validation of an acute kidney injury risk index for patients undergoing general surgery: results from a national data set. Anesthesiology 2009;110:505-15.
80. De Santo LS, Romano G, Galdieri N, Buonocore M, Bancone C, De Simone V, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury in valvular surgery. J Heart Valv Dis 2010;19:139-47.
81. Josephs SA, Thakar CV. Perioperative risk assessment, prevention, and treatment of acute kidney injury. Int Anesthesiol Clin 2009; 47:89-105.

82. Borthwick E, Ferguson A. Perioperative acute kidney injury: risk factors, recognition, management, and outcomes. BMJ 2010;5:341:c3365.
83. Kheterpal S, Tremper KK, Englesbe MJ, O'Reilly M, Shanks AM, Fetterman DM, et al. Predictors of postoperative renal failure after noncardiac surgery in patients with previously normal renal function. Anesthesiology 2007;107:892-902.
84. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. J Am Soc Nephrol 2005; 16:3365-3370.
85. Thakar CV, Arrigain S, Worley S, Yared JP, Paganini EP. A clinical score to predict acute renal failure after cardiac surgery. J Am Soc Nephrol 2005; 16:12-14.
86. Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, Bachmann LM, Druml W, Bauer P, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: A prospective cohort study. J Am Soc Nephrol 2004;15:1597-1605.
87. Venkataraman R, Kellum JA. Defining acute renal failure: the RIFLE criteria. J Intensive Care Med 2007;22:187-93.
88. Lamiere N The diagnostic role of novel biomarkers in acute kidney injury in critically ill patients. International Journal of Intensive Care 2011;4:118-121.
89. Serdar MA, Kurt I, Ozcelik F, Urhan M, Ilgan S, Yenicesu M, et al. A practical approach to glomerular filtration rate measurements: Creatinine clearance estimation using ci-metidine. Ann Clin Lab Sci 2001;31:265-273.
90. Urakami Y, Kimura N, Okuda M, Inui K. Creatinine transport by basolateral organic cation transporter hOCT2 in the human kideny. Pharm Res 2004;21:976-981.
91. Urakami Y, Kimura N, Okuda M, Masuda S, Katsura T, Inui K. Transcellular trasnposrt of creatinine in renal tubular epithelial cell line LLC-PK1. Drug Metab Pharmacokinet 2005;20:200-2005.
92. Brienza N, Giglio MT, Dalfino L. Surgical and intensive care strategies to prevent renal failure. International Journal of Intensive Care 2011;4:100-108.
93. Lobo DN, Macafee DAL, Allison SP. How perioperative balance influences postoperative outcomes. Best Practice and Research Clinical Anaesthesiology 2006;20:439-455
94. Gann DS, Kenney PR. Special problems of fluid and electolyte management in surgery. Chan JCM and Gill JR eds, Kidney Electolyte Disorders. Churchill Livingstone Inc. USA 1990; 343-362.

95. Alpert RA, Roizen MF, Hamilton WK et al. Intraoperative urinary output does not predict postoperative renal function in patients undergoing abdominal aortic revascularisation. Surgery 1984;95:707-711.
96. Kellum JA Acute renal failure, interdisciplinary knowledge and the need for standardization. Curr Opin Crit Care 2005;11: 525-526.
97. Kellum JA. Acute kidney injury. Crit Care Med 2008;36: S141–S145.
98. LameirE N, Van BW, Vanholder R. Acute kidney injury. Lancet 2008;372:1863–1865.
99. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. Kidney Int 2004;66:1115-1122.
100. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule. Kidney Int 2002;62:237-244.
101. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. Lancet 2005;365:1231-1238.
102. Dinna N Cruz, Zaccaria Ricci, Claudio Ronco. Clinical review: RIFLE and AKIN – time for reappraisal. Crit Care. 2009;13:211.
103. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. Crit Care. 2007; 11: R31
104. Lin CY, Chen YC, Tsai FC, Tian YC, Jenq CC, Fang JT, et al. RIFLE classification is predictive of short-term prognosis in critically ill patients with acute renal failure supported by extracorporeal membrane oxygenation. Nephrol Dial Transplant 2006;21:2867-2873.
105. Lin CY, Tsai FC, Tian YC, Jenq CC, Chen YC, Fang JT, et al. Evaluation of outcome scoring systems for patients on extracorporeal membrane oxygenation. Ann Thorac Surg 2007;84:1256-1262.
106. Lin CY, Chen YC, Tsai FC, Tian YC, Jenq CC, Huang CC, et al. Continuous renal replacement therapy combined with extracorporeal membrane oxygenation in advanced cardiac failure patients. J Nephrol 2008;21:789-792.
107. Journois D. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass. Kidney Int Suppl 1998;66:174-177.

108. Chang CH, Lin CY, Tian YC, Jeng CC, Chang MY, Chen YC, et al. Acute kidney injury classification: comparison of AKIN and RIFLE criteria. Shock 2010;33:247-52.

109. Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. Crit Care 2006; 10: R73.

110. Bagshaw SM, George C, Dinu I, Bellomo R. Multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. Nephrol Dial Transplant 2008;23:1203-1210.

111. Kellum JA, Mehta RL, Ronco C. Acute dialysis quality initiative (ADQI). Contrib Nephrol 2001;132:258-265.

112. Z Ricci, D Cruz, C Ronco. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. Kidney International 2008;73:538–546.

113. Bagshaw SM, George C, Bellomo R., ANZICS Database Management Committee A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients. Nephrol Dial Transplant. 2008;23:1569–1574.

114. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. Kidney inter, Suppl. 2012; 2: 1–138.

115. Conger JD. Does hemodialysis delay recovery from acute renal failure? Semin Dial 1990;3:146-148.

116. Schortgen F, Soubrier N, Delclaux C, Thuong M, Girou E, Brun-Buisson C, et al. Hemodynamic tolerance of intermittent hemodialysis in critically ill patients: usefulness of practice guidelines. Am J Respir Crit Care Med 200;162:197-202.

117. Palevsky PM, Baldwin I, Davenport A, et al. Renal replacement therapy and the kidney: minimizing the impact of renal replacement therapy on recovery of acute renal failure. Curr Opin Crit Care 2005;11:548–554.

118. Conger JD. A controlled evaluation of prophylactic dialysis in post-traumatic acute renal failure. J Trauma 1975;15:1056–1063.

119. Fischer RP, Griffen Wo JR, Reiser M, Clark DS, et al. Early dialysis in the treatment of acute renal failure.Surg Gynecol Obstet 1966;123: 1019–1023.

120. Kleinknecht D, Jungers P, Chanard J, Barbanel C, Ganeval D. Uremic and non-uremic complications in acute renal failure: Evaluation of early and frequent dialysis on prognosis. Kidney Int 1972;1:190–196.

121. Parsons FM, Hobson SM, Blagg CR, McCracken BH. Optimum time for dialysis in acute reversible renal failure. Description and value of an improved dialyser with large surface area. Lancet 1961;1:129–134.
122. Farrington K, Warwick G. Renal association clinical practice guideline on planning, initiating and withdrawl of renal replacement therapy. Nephron Clin Pract 2011;118 Suppl 1:c189-208.
123. Schiffl H, Lang SM, Fischer R. Daily hemodialysis and the outcome of acute renal failure. N Engl J Med 2002;346:305-10.

124. Liu KD, Himmelfarb J, Paganini E, Ikizler TA, Soroko SH, Mehta RL, Chertow GM. Timing of initiation of dialysis in critically ill patients with acute kideny injury. Clin J Am Soc Nephrol 2006;1:915-919.
125. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med 1999;130:461-70.
126. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new simplified acute physiology score (SAPS II) based on a European / North American multicenter study. JAMA 1993;270:2957-63.
127. Robinson-Cohen C, Ix JH, Smits G, Persky M, Chertow GM, Block GA, Kestenbaum BR. Estimation of 24-hour urine phosphate excretion from spot urine collection: Development of a predictive equation. Journal of Renal Nutrition 2014;24:194-199.
128. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Juppner H, Jonsson KB. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. Kidey Int 2003;64:2272-2279.
129. Dripps RD. New classification of physical status. Anesthesiol 1963;24:111.
130. Cruz DN, Bagshaw SM, Ronco C, Ricci Z. Acute kidney injury: classification and staging. Contrib Nephrol 2010;164:24-32.
131. Ketteler M. Phosphate metabolism in CKD stages 3-5: Dietary and pharmacological control. Int J nephrol 2011;2011:970245. Epub 2011 May 23.
132. Siew ED, Ikizler TA, Gebretsadik T, Shintani A, Wickersham N, Bossert F et al. Elevated urinary IL-18 levels at the time of ICU admission predict adverse clinical outcomes. Clin J Am Soc Nephrol 2010;5:1497-1505.

133. De Geus HR, Bakker J, Lesaffre EM, le Noble JL. Neuthrophil gelatinase-associated lipocalin at ICU admission predicts for acute kidney injury in adult patients. Am J respir Crit Care Med 2011;183:907-914.

134. Martensson J, Bell M, Oldner A, Xu S,Venge P, Martling CR. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in adult septic patients with and without acute kidney injury. Intensive Care Med 2010;36:1333-1340.

11. ŽIVOTOPIS

Sanja Sakan, dr med

Rođena sam 19. ožujka 1981. godine u Zagrebu. Završila sam Osnovnu školu Eugen Kumičić u Velikoj Gorici, te srednju Prirodoslovno-matematičku V. Gimnaziju u Zagrebu. Medicinski fakultet u Zagrebu upisala sam 1999. a diplomirala 2005. Tijekom studija radila sam dvije godine kao demonstrator na Katedri za anatomiju. 2004. bila sam u trajanju od mjesec dana na studentskoj razmjeni u Dječjoj bolnici SPSK 4 u gradu Lublinu u Poljskoj. 2004. nagrađena sam Rektorovom stipendijom Sveučilišta u Zagrebu za izvrsnost u uspjehu tijekom studiranja, a 2005. stipendijom Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta. Obavezan liječnički staž obavila sam od 2005. do 2006. u Sveučilišnoj klinici za dijabetes, endokrinologiju i metaboličke bolesti Vuk Vrhovac, a specijalizaciju iz anesteziologije, reanimatologije i intenzivnog liječenja započela sam 2007. u KBC-u Zagreb. 2008. bila sam na stručnom usavršavanju u trajanju od dva tjedna u Institutu za anesteziju i intenzivno liječenje Landesklinikum Voralpen Lilienfeld u Austriji. Specijalistički ispit položila sam 2011. te do 2015. radila kao specijalista anesteziolog na Odjelu za liječenje općih kirurških i uroloških bolesnika KBC-a Zagreb. Od veljače 2015. radim kao specijalista anesteziolog na Klinici za torakalnu kirurgiju Jordanovac, Sveučilišne bolnice Zagreb. Poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo upisala sam 2008. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.
Sudjelovala sam na nekoliko stranih i domaćih kongresa i simpozija iz područja anesteziologije i intenzivnog liječenja, aktivno sa usmenim izlaganjima, posterima, radovima i kongresnim sažecima te pasivno kao slušač.
Do sada sam kao prvi autor i koautor objavila 20 radova, od kojih su dva indeksirana u Current Contets bazi podataka.