

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej

# **PRACA DOKTORSKA**

## **Doctoral thesis**

Diagnostyka wczesnego uszkodzenia nerek u koni przy użyciu  
badania ultrasonograficznego i biomarkerów w surowicy krwi  
i moczu

Early detection of acute kidney injury in horses using ultrasonography and biomarkers in  
blood serum and urine

lek. wet. Natalia Siwińska

*Praca wykonana pod kierunkiem:*

*prof. dr hab. Urszuli Pasławskiej*

*Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów*

*Wydział Medycyny Weterynaryjnej*

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

WROCLAW 2021



## Streszczenie

Ostre uszkodzenie nerek (ang. acute kidney injury – AKI) to zespół kliniczny objawiający się gwałtownym pogorszeniem czynności nerek oraz rozwijające się jako powikłanie choroby pierwotnej lub jako wynik stosowania leków potencjalnie nefrotoksycznych. AKI spowodowane jest strukturalnym uszkodzeniem jednej nerki lub obu nerek i na wczesnym etapie może być w pełni odwracalne. Diagnostyka tego zespołu stanowi wyzwanie, ponieważ na wczesnym etapie AKI nie zawsze wiąże się z oczywistą dysfunkcją, tzn. nie towarzyszą temu specyficzne objawy kliniczne, tj.: zaburzenia wydalania moczu, nieprawidłowości możliwe do wykrycia w badaniu moczu, wyraźne zmiany w obrazowaniu ultrasonograficznym nerek, wyraźne zmiany w parametrach krwi. Zatem ciągle jeszcze istnieje potrzeba opracowania czułych i specyficznych biomarkerów umożliwiających diagnostykę AKI na etapie podklinicznym. Niewykryte, a co za tym idzie, nieleczone AKI może prowadzić do nieodwracalnej niewydolności nerek.

Częstość występowania AKI u koni jest zbliżona do istniejącej u ludzi i zwierząt towarzyszących – szczególnie w przypadkach pacjentów przyjętych na oddziały intensywnej terapii. U koni czynnikami predysponującymi do rozwoju AKI są zmiany hemodynamiczne, takie jak odwodnienie lub hipowolemia, endotoksemia lub zespół ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej (np. związanej z chorobami przewodu pokarmowego) oraz stosowanie leków potencjalnie nefrotoksycznych, np. aminoglikozydów i niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Obecnie rozpoznanie AKI u koni opiera się głównie na stwierdzeniu podwyższonego stężenia kreatyniny w surowicy krwi. Jednak stężenie kreatyniny wzrasta dopiero na stosunkowo późnym etapie choroby nerek, czyli gdy około 50% funkcji nerek zostało już utracone. Ponadto szereg czynników pozanerkowych może dodatkowo wpływać na stężenie kreatyniny. W medycynie człowieka i małych zwierząt towarzyszących oceniano wiele parametrów surowicy i moczu jako potencjalnych biomarkerów wykrycia AKI. U koni podjęto próbę oceny czynności nerek poprzez analizę frakcyjnego wydalania sodu (FENa), ocenę stosunku gamma-glutamylotranseptydazy do kreatyniny (GGT/Crea) w moczu, a także cystatyny C i lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilową (NGAL), ale uzyskano niespójne wyniki.

Badania pt. „Diagnostyka wczesnego uszkodzenia nerek u koni przy użyciu badania ultrasonograficznego i wybranych biomarkerów w surowicy krwi i moczu” pozwoliły na określenie prawidłowych wartości nerkowego wskaźnika oporu naczyniowego (RRI), symetrycznej dimetyloargininy (SDMA), cystatyny C, NGAL i podocyny u koni. Badania te

jako pierwsze oceniały wyżej wymienione parametry u koni z klinicznym i podklinicznym AKI, w celu określenia przydatności klinicznej i możliwości wybranych biomarkerów i możliwości użycia w diagnostyce tego schorzenia. Dodatkowo pierwszy raz w prezentowanej pracy wykonano wykrywanie podocyny u koni.

W przeprowadzonych badaniach wykazano niższą wartość RRI u koni niż u innych gatunków. U tych pierwszych z AKI ujawniono wzrost RRI tylko w jednej nerce, ale jego wartość nadal była niższa niż u innych gatunków zwierząt w przebiegu AKI. U koni w grupie ryzyka nie stwierdzono wpływu czynników potencjalnie nefrotoksycznych na wartość RRI. Kliniczne wykorzystanie RRI wydaje się wątpliwe zwłaszcza u koni niewspółpracujących. Zdrowe dorosłe konie miały stężenie SDMA podobne do innych gatunków zwierząt, jednak wartość odcięcia SDMA była wyższa niż wcześniej podawana w literaturze. U źrebiąt wykazano znacznie wyższe fizjologiczne wartości SDMA w porównaniu do koni dorosłych, co ukazuje konieczność stosowania innych wartości referencyjnych u tej grupy wiekowej. U koni z kliniczną postacią AKI – w porównaniu do tych zdrowych – wykazano podwyższenie wartości wszystkich badanych biomarkerów krwi i moczu. Jednak jedynie SDMA poprawnie rozpoznał wszystkie konie z azotemią, a jego wartość korelowała z nasileniem choroby. Konie z grupy ryzyka wystąpienia i rozwoju AKI miały nieprawidłowe pojedyncze wskaźniki w surowicy i moczu, ale poziom SDMA pozostawał u nich w granicach normy fizjologicznej, co sugeruje, że parametr ten może nie sprawdzać się do wykrywania podklinicznej formy AKI u tych zwierząt. Podocyna może być potencjalnym biomarkerem wykrywania uszkodzenia kłębuszków nerkowych, jednak jej użycie jest ograniczone możliwością występowania fizjologicznej podocyturii.

Uzyskane wyniki pozwoliły na identyfikację tych parametrów profilu nerkowego, które wykazują istotne różnice pomiędzy poszczególnymi stadiami chorób i mogą być pomocne w diagnostyce wczesnego uszkodzenia nerek na etapie podklinicznym. Wskazują one na brak uniwersalnego wskaźnika AKI u koni i potrzebę stworzenia panelu biomarkerów surowicy i moczu do wykrywania AKI.

Słowa kluczowe: ostre uszkodzenie nerek, niewydolność nerek, biomarker, ultrasonografia, czynniki potencjalnie nefrotoksyczne, koń.

## Summary

Acute kidney injury (AKI), also known as early kidney injury, is a clinical syndrome which manifests itself with a sudden deterioration of the renal function which develops as a complication of a primary disease or a result of the use of potentially nephrotoxic drugs. AKI is caused by a structural damage of one or both kidneys and, at an early stage, is completely reversible. The diagnostics of the syndrome poses a challenge as, at an early stage, AKI is not connected with an obvious dysfunction, i.e. it is not accompanied with specific clinical signs such as disorders of urine secretion, abnormalities in urinalysis, visible changes in the ultrasound image of the kidneys and significant alterations of the blood parameters. Thus, there is a need to work out sensitive and specific biomarkers which allow for the diagnostics of AKI at the subclinical stage. Undetected, and thus untreated, AKI may progress to an irreversible renal failure.

The AKI prevalence in horses is close to that in people and accompanying animals – in particular in the case of the patients admitted to intensive therapy wards. In horses, the factors predisposing for the development of AKI are haemodynamic conditions such as dehydration, hypovolemia, endotoxemia or systemic inflammatory response syndrome (SIRS) – e.g. connected with the alimentary tract diseases or the use of potentially nephrotoxic drugs such as aminoglycosides and non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Currently, the diagnosis of AKI in horses is based on finding an elevated creatinine level in blood serum. However, the creatinine level increases only at a relatively late stage of renal disease, i.e. when approximately 50% of the renal function has already been lost. Moreover, a number of extrarenal factors may additionally affect the creatinine level. In human and small animals medicine there were many serum and urine parameters which were evaluated as potential AKI biomarkers. In horses, an attempt was made to evaluate renal function by means of the analysis of fractional excretion of sodium (FENa), the assessment of the gamma-glutamyl transpeptidase to creatinine ratio (GGT/Crea) in urine as well as, cystatin C and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), yet the results were inconclusive.

The study titled, “The Diagnostics of an Early Renal Injury with the Use of the Ultrasound and Selected Biomarkers in Serum and Urine” allowed for the specification of correct values of the renal resistive index (RRI), symmetric dimethylarginine (SDMA), cystatin C, NGAL and podocin in horses. This study was the first one to assess the above parameters in horses with clinical and subclinical AKI, in order to determine the possibilities of their use in the diagnostics of this disease. Additionally, it was the first time in the subject

literature that podocin level was assessed in horses. The added value of the study was also the evaluation of the selected biomarkers both in blood and urine.

The studies performed showed an increased RRI value in horses in comparison with other species. In the AKI risk-group horses, no influence of potentially nephrotoxic factors on the RRI value was found. The clinical use of RRI in horses seems doubtful, especially in non-cooperating horses. Healthy adult horses had the SDMA concentration to other animal species, yet the SDMA cut-off value was higher than the one stated in earlier publications. In foals, physiological SDMA values were significantly higher than in adult horses, which points to the necessity of using different reference values for this age group. In horses with clinical form of AKI, elevated levels of SDMA, cystatin C, NGAL and podocin were observed in comparison with healthy horses. However, solely SDMA allowed to detect all the horses with azotaemia and its value correlated with the exacerbation of the disease. The horses from the AKI risk group had some abnormal values in serum and urine, yet, in their case, the SDMA remained within the physiological range, which might be indicative of the fact that this parameter might not be useful for detecting a subclinical form of AKI in horses. Podocin may be a potential biomarker for detecting the damage of renal glomeruli, yet its use is limited by the possibility of the existence of physiological podocyturia.

The obtained results allowed for the identification of the parameters of renal profile which point to the significant differences between specific stages of the disease and might be useful in the diagnostics of an early renal damage at the subclinical stage. The obtained results of the studies point to the need of creating a panel of biomarkers in serum and urine for the detection of AKI, with the use of the biomarkers presented in this study.

**Key words:** acute kidney injury, renal insufficiency, biomarker, ultrasound, potentially nephrotoxic factors, horse