

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Gordana Miloševski-Lomić

Rana detekcija subkliničkog akutnog oštećenja
bubrega kod dece lečene od malignih bolesti
cisplatinom i ifosfamidom

Doktorska disertacija

Beograd, 2026.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Gordana Miloševski-Lomić

Early detection of subclinical acute kidney injury in
children with malignant diseases treated with
cisplatin and ifosfamide

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026.

Mentor:

Prof. dr Dušan Paripović, vanredni profesor na katedri pedijatrije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Komentor:

Prof. dr Jelena Kotur-Stevuljević, redovni profesor na katedri za medicinsku biohemiju i biostatistiku Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi Komisije:

1. Prof. dr Brankica Spasojević, vanredni profesor na katedri pedijatrije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Doc. dr Jelena Lazić, docent na katedri pedijatrije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Doc. dr Milica Miljković Trailović, docent na katedri za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
4. Prof. dr Mirjana Laušević, vanredni profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
5. Prof. dr. Ana Protić, redovni profesor na katedri za analitiku lekova Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane:

Zahvaljuljem se

Ova doktorska disertacija je urađena u biohemijskoj laboratoriji Univerzitetske dečje klinike u Beogradu i Katedri za medicinsku biohemiju, Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, u saradnji sa odeljenjem hematologije sa onkologijom Univerzitetske dečje klinike u Beogradu u okviru naučnog projekta broj 175079 pod rukovodstvom prof. dr Amire Peco-Antić.

Izradi ove doktorske disertacije u mnogome su svojim znanjem, nesebičnom podrškom i ljubavlju doprineli moji učitelji, saradnici, prijatelji i moja porodica. Koristim ovu priliku da im se svima srdačno zahvalim.

Najveću zahvalnost dugujem prof. dr Amiri Peco-Antić, redovnom profesoru u penziji Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, mom učitelju, prvobitnom mentoru i idejnom tvorcu disertacije na pruženoj podršci i poverenju tokom svih godina našeg zajedničkog rada.

Veliku zahvalnost dugujem prof. dr Jeleni Kotur-Stevuljević, redovnom profesoru Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, mom komentoru, na nesebičnoj stručnoj pomoći, dragocenim sugestijama i idejama.

Zahvalnost dugujem i svom prvom i najbližem saradniku prof. dr Dušanu Paripoviću, vanrednom profesoru Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, bez čijeg razumevanja i tihe, gotovo neprimetne upornosti ova disertacija ne bi doživela publikaciju.

Posebno sam zahvalna prof. dr Dragani Janić, prof. dr Dejanu Škoriću, prof. dr Nadi Krstovski, prof. dr Lidiji Dokmanović, doc. dr Jeleni Lazić, doc. dr Predragu Rodiću i klin. asist. dr Goranu Miloševiću koji su mi otvorili vrata odeljenja hematologije i onkologije Univerzitetske dečje klinike i time dali mogućnost da realizujem ovaj projekat.

Najtoplije zahvaljujem mr sc. med. dr Jadranki Mitrović, dr sci diplomiranom molekularnom biologu i fiziologu Biljani Vukmir, magistru farmacije Branku Subošiću kao i celokupnom kolektivu biohemijske laboratorije Univerzitetske dečje klinike u Beogradu na velikoj pomoći tokom eksperimentalnog rada.

Neizmernu zahvalnost dugujem svojim roditeljima, majci Nadi i ocu Vladimiru, čija me безусловna ljubav, neizmerna podrška i razumevanje vode kroz život, inspirišu na svaki napredak i čine beskrajno srećnom i ponosnom.

Najsajnijim zvezdama mog neba, izvoru moje snage i večnoj inspiraciji

Posvećeno mojim ćerkama Jani i Nadi

RANA DETEKCIJA SUBKLINIČKOG AKUTNOG OŠTEĆENJA BUBREGA KOD DECE LEČENE OD MALIGNIH BOLESTI CISPLATINOM I IFOSFAMIDOM

SAŽETAK

Cilj: Ispitati dijagnostičku vrednost novih serumskih (sNGAL, sCyC, sFGF-23) i urinarnih (uNGAL, uKIM-1, uL-FABP, uVNN-1) biomarkera kao ranih markera akutnog oštećenja bubrega (AOB) izazvanog cisplatinom (CIS) i/ili ifosfamidom (IFO); proceniti uticaj primene CIS i/ili IFO na parametre oksidativnog stresa (TOS, TAS, PON1, PAB) i ispitati prevalenciju hroničnog oštećenja bubrega (HOB) ≥ 1 godine nakon lečenja.

Metodologija: Studija je obuhvatila decu sa malignim bolestima lečenu CIS i/ili IFO. AOB je definisano prema KDIGO - Kidney Disease Improving Global Outcomes kriterijumima poređenjem serumskog kreatinina (sCr) pre i 48 h nakon ciklusa HT. Prikupljano je pet uzoraka seruma (bazalni, 2, 6, 24 i 48 h nakon HT) i četiri uzorka urina (bazalni, 2, 6 i 24 h nakon HT). Urinarni biomarkeri (uBm) su normalizovani prema koncentraciji kreatinina u urinu.

Rezultati: Od 38 bolesnika, 6 (15,79%) je ispunjavalo KDIGO kriterijume za AOB. Svi ispitivani serumski i urinarni biomarkeri su bili značajno povišeni već 2–6 h nakon primene HT, dok se vrednosti sCr nisu značajno menjale. Značajnu dijagnostičku vrednost za predikciju AOB su pokazali procentualno povećanje sFGF-23 (AUC 0,729) 2h i uL-FABP (AUC 0,813) 24h, kao i smanjenje aktivnosti PON1 2h (AUC 0,243) i 24h (AUC 0,193) nakon HT. Najveći dijagnostički potencijal za predikciju AOB su pokazali kombinovani modeli serumskih (AUC 0,949) 2h i urinarnih biomarkera (AUC 0,917) 24h od HT. Ukupno 11/19 bolesnika (57,9%) je imalo znake hroničnog toksičnog oštećenja bubrega ≥ 1 godinu nakon lečenja. uL-FABP pre terapije je bio značajan prediktor HOB.

Zaključak: Novi serumski i urinarni biomarkeri omogućavaju raniju i precizniju predikciju AOB, kao i procenu rizika za razvoj HOB kod pedijatrijskih bolesnika lečenih CIS i/ili IFO.

Ključne reči: akutno oštećenje bubrega (AOB), deca, cisplatin (CIS), ifosfamid (IFO), cistatin C, NGAL, FGF-23, KIM-1, L-FABP1, VNN-1, markeri oksidativnog stresa, PON1, hronično oštećenje bubrega (HOB)

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: nefrologija

UDK broj:

EARLY DETECTION OF SUBCLINICAL ACUTE KIDNEY INJURY IN CHILDREN WITH MALIGNANT DISEASES TREATED WITH CISPLATIN AND IFOSFAMIDE

ABSTRACT

Objective: To evaluate the diagnostic value of novel serum (sNGAL, sCyC, sFGF-23) and urinary (uNGAL, uKIM-1, uL-FABP, uVNN-1) biomarkers as early indicators of acute kidney injury (AKI) induced by cisplatin (CIS) and/or ifosfamide (IFO); to assess the effects of CIS and/or IFO on oxidative stress parameters (TOS, TAS, PON1, PAB); and to determine the prevalence of chronic kidney damage (CKD) ≥ 1 year after treatment.

Methods: Children with malignant diseases treated with CIS and/or IFO were included. AKI was defined according to KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) criteria by comparing pretreatment serum creatinine (sCr) with values obtained 48 h after chemotherapy. Five serum (baseline, 2, 6, 24, and 48 h after treatment) and four urine samples (baseline, 2, 6, and 24 h after treatment) were collected. Urinary biomarkers were normalized to urine creatinine.

Results: Among 38 patients, 6 (15.79%) developed AKI within 48 h. All serum and urinary biomarkers were significantly increased within 2–6 h after chemotherapy, whereas sCr did not change significantly. Significant diagnostic value for AKI prediction was shown by the percentage increase in sFGF-23 at 2 h (AUC 0.729) and uL-FABP at 24 h (AUC 0.813), as well as by decreased PON1 activity at 2 h (AUC 0.243) and 24 h (AUC 0.193) after chemotherapy. Combined serum biomarkers at 2 h (AUC 0.949) and urinary biomarkers at 24 h (AUC 0.917) demonstrated the highest predictive performance. Overall, 11/19 patients (57.9%) showed signs of CKD ≥ 1 year after treatment. Pre-treatment uL-FABP was a significant predictor of CKD.

Conclusion: Novel serum and urinary biomarkers enable earlier and more accurate prediction of AKI and assessment of the risk for CKD in pediatric patients treated with CIS and/or IFO.

Key words: acute kidney injury (AKI), children, cisplatin, ifosfamide, cystatine C, NGAL, FGF-23, KIM-1, L-FABP1, VNN-1, oxidative stress markers, PON1, chronic kidney damage (CKD)

Scientific field: medicine

Scientific subfield: nephrology

UDK number:

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Akutno oštećenje bubrega – definicija, klasifikacija i epidemiologija.....	1
1.1.1. Definicija i koncept akutnog oštećenja bubrega	1
1.1.2. Patofiziološki mehanizmi akutnog oštećenja bubrega	1
1.1.3. KDIGO klasifikacija akutnog oštećenja bubrega.....	2
1.1.4. Epidemiologija akutnog oštećenja bubrega u pedijatrijskoj onkologiji	2
1.1.5. Klinički ishodi akutnog oštećenja bubrega.....	2
1.2. Hemoterapijom indukovano akutno oštećenje bubrega - epidemiologija, patofiziologija, dijagnostika i terapijski pristup.....	3
1.2.1. Opšte karakteristike hemoterapijom indukovane nefrotoksičnosti.....	3
1.2.2. Cisplatin	4
1.2.2.1. Istorijat i klinička primena cisplatina.....	4
1.2.2.2. Mehanizmi nefrotoksičnosti cisplatina.....	4
1.2.2.2.1. Unos i akumulacija cisplatina u ćelijama.....	4
1.2.2.2.2. Metabolička konverzija cisplatina u nefrotoksični tiol.....	4
1.2.2.2.3. Patofiziološki mehanizmi oštećenja bubrega cisplatinom	4
1.2.2.3. Incidencija i faktori rizika za nastanak nefrotoksičnosti cisplatina.....	5
1.2.2.4. Klinička prezentacija cisplatinom indukovane nefrotoksičnosti	5
1.2.2.5. Strategije zaštite od nefrotoksičnih efekata cisplatina.....	6
1.2.3. Ifosfamid	6
1.2.3.1. Istorijat i klinička primena ifosfamida.....	6
1.2.3.2. Farmakokinetika i mehanizam nefrotoksičnosti ifosfamida	6
1.2.3.3. Incidencija i faktori rizika za nefrotoksičnost ifosfamida	7
1.2.3.4. Klinička prezentacija ifosfamidom indukovane nefrotoksičnosti	7
1.2.3.5. Prevencija i lečenje nefrotoksičnosti izazvane ifosfamidom	7
1.3. Biomarkeri akutnog oštećenja bubrega.....	8
1.3.1. Definicija i klasifikacija biomarkera akutnog oštećenja bubrega.....	8
1.3.2. Biomarkeri funkcionalnog bubrežnog oštećenja i njihova ograničenja za rano otkrivanje akutnog oštećenja bubrega.....	8
1.3.2.1. Serumski kreatinin.....	8
1.3.2.2. Diureza kao biomarker akutnog oštećenja bubrega.....	9
1.3.2.3. Cistatin C	9
1.3.2.4. Procena jačine glomerulske filtracije primenom prediktivnih jednačina.....	10
1.3.2.4.1. Jednačine za preračunavanje jačine glomerulske filtracije iz vrednosti kreatinina u serumu	10
1.3.2.4.2. Prediktivne jednačine za izračunavanje jačine glomerulske filtracije iz vrednosti cistatina C u serumu	11
1.3.3. Biomarkeri strukturnog bubrežnog oštećenja.....	11

1.4. Subkliničko akutno oštećenje bubrega – koncept i klinički značaj.....	11
1.4.1. Definicija i koncept subkliničkog akutnog oštećenja bubrega.....	11
1.4.2. Klinički značaj subkliničkog akutnog oštećenja bubreg	12
1.4.3. Uloga biomarkera u detekciji subkliničkog akutnog oštećenja bubrega	12
1.5. Značaj biomarkera za rano otkrivanje hemoterapijom indukovano akutnog oštećenja bubrega	12
1.5.1. Lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, NGAL).	13
1.5.2. Molekul bubrežnog oštećenja-1 (Kidney injury molecule-1, KIM-1)	14
1.5.3. Jetreni protein koji vezuje masne kiseline (Liver-type Fatty Acid-Binding Protein, L-FABP).....	15
1.5.4. Fibroblastni faktor rasta 23 (Fibroblast Growth Factor 23, FGF-23)	16
1.5.5. Vanin-1 (Vanin-1, VNN1).....	17
1.6. Oksidativni stres i njegov značaj kod hemoterapijom indukovano akutnog oštećenja bubrega	18
1.6.1. Osnove oksidativnog stresa i redoks biologije	18
1.6.2. Dvostruka uloga ROS: fiziološka signalizacija i patološko oštećenje.....	18
1.6.2.1. Markeri oksidativnog oštećenja	18
1.6.2.1.1. Lipidna peroksidacija.....	18
1.6.2.1.2. Markeri oksidacije proteina	18
1.6.2.1.3. Markeri oštećenja dezoksiribonukleinske kiseline	19
1.6.3. Antioksidativni odbrambeni sistem.....	19
1.6.4. Oksidativni stres u tumorskoj biologiji	19
1.6.5. Oksidativni stres i hemioterapijom izazvano akutno oštećenje bubrega	19
1.7. Paraoksonaza 1 (PON1) – struktura, funkcija i značaj u onkologiji.....	19
1.7.1. Struktura i funkcija PON1	19
1.7.2. PON1 u patofiziologiji malignih bolesti.....	20
1.7.3. Uticaj hemioterapije na PON1 i oksidativni stress.....	20
1.7.4. PON1 kod pedijatrijskih onkoloških pacijenata	20
2. Ciljevi istraživanja.....	21
3. Materijal i metode.....	22
3.1. Ispitanici i dizajn studije.....	22
3.2. Merenje i preračunavanje standardnih serumskih i urinarnih parametara	23
3.3. Merenje novih biomarkera seruma i urina	24
3.4. Ispitivani ishodi namanje jednu godinu od završetka lečenja	24
3.5. Statistička analiza	27

4. Rezultati.....	28
4.1. Bazične karakteristike ispitanika i demografski podaci	28
4.2 Akutno bubrežno oštećenje uzrokovano hemioterapijom.....	30
4.3. Serumski biomarkeri bubrežne funkcije i markeri oksidativnog stresa.....	32
4.3.1. Promene ispitivanih serumskih biomarkera bubrežne funkcije tokom studije. ...	32
4.3.2. Rana dijagnoza AOB izazvanog primenom nefrotoksičnih lekova i značaj novih serumskih biomarkera	40
4.4. Vremenski zavisne promene biomarkera subkliničkog akutnog oštećenja bubrega i parametara oksidativnog stresa tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije.....	47
4.5. Urinarni biomarkeri bubrežne funkcije.....	56
4.5.1. Promene ispitivanih urinarnih biomarkera bubrežne funkcije tokom studije	56
4.5.2. Rana dijagnoza AOB izazvanog primenom citotoksičnih lekova i značaj novih urinarnih biomarkera.....	61
4.6. Vremenski zavisne promene urinarnih biomarkera subkliničkog akutnog bubrežnog oštećenja tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije	65
4.7. Predikcija nastanka hronične bolesti bubrega ≥ 1 godinu nakon završenog lečenja.....	73
4.7.1. Akutno oštećenje bubrega nastalo tokom primene cisplatina i/ili ifosfamida kao faktor rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja bubrega.....	73
4.7.2. Vrsta maligne bolesti i primenjene citostatske terapije kao faktori rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja bubrega	75
4.7.3. Demografske karakteristike, biomarkeri bubrežne funkcije, novi serumski i urinarni biomarkeri i parametri oksidativnog stresa kod ispitanika sa i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja bubrega.....	77
4.7.4. Dijagnostički potencijal novih serumskih i urinarnih biomarkera za predikciju rizika za razvoj hroničnog toksičnog oštećenja bubrega	81
5. Diskusija.....	88
6. Zaključci.....	99
7. Literatura	101

Spisak skraćenica

1. UVOD

1.1. Akutno oštećenje bubrega – definicija, klasifikacija i epidemiologija

1.1.1. Definicija i koncept akutnog oštećenja bubrega

Akutno oštećenje bubrega (AOB) predstavlja ozbiljno, potencijalno životno ugrožavajuće patološko stanje koje se karakteriše naglim, najčešće reverzibilnim smanjenjem ili prestankom bubrežne funkcije, koje se razvija tokom nekoliko sati do 7 dana od štetnog dejstva na bubrege [1, 2].

Ranije prepoznati klinički entiteti, kao što su akutna bubrežna insuficijencija ili akutna tubulska nekroza, nisu obuhvatali suptilnije promene u bubrežnoj funkciji, pre svega blagi porast vrednosti serumskog kreatinina. Međutim, vremenom je postalo jasno da čak i blaga smanjenja bubrežne funkcije mogu imati ozbiljne kliničke posledice, uključujući značajan porast mortaliteta [3, 4].

Iz tih razloga je uveden pojam AOB koji obuhvata širok raspon oštećenja bubrežne funkcije – od malih promena u vrednostima serumskog kreatinina i diureze do potpunog prestanka rada bubrega koji zahteva primenu tehnika zamene bubrežne funkcije. Sindrom AOB podrazumeva kako morfološko oštećenje bubrežnog tkiva praćeno smanjenjem bubrežne funkcije, tako i oštećenje bubrežne funkcije bez morfološkog supstrata.

1.1.2. Patofiziološki mehanizmi akutnog oštećenja bubrega

Akutno oštećenje bubrega predstavlja kompleksan patološki proces koji nastaje kao posledica brojnih uzroka i mehanizama. Ključni patofiziološki procesi uključuju bubrežnu medularnu ishemiju nastalu usled nedovoljne bubrežne perfuzije i vazokonstrikcije bubrežnih krvnih sudova, smanjenje jačine glomerulske filtracije (JGF), opstrukciju bubrežnih kanalića, kao i remodelovanje i metaboličke promene epitelnih ćelija bubrežnih kanalića.

Danas se smatra da je ishemija/reperfuzija bubrega ključni proces u patogenezi AOB. U okviru ovog procesa postoje dva značajna faktora. Prvi su vaskularni faktori, koji obuhvataju bubrežnu vazokonstrikciju, smanjenje bubrežnog protoka krvi i pad krvnog pritiska u glomerulima, što dovodi do lateralne medularne ishemije. Kao posledica toga dolazi do pogoršanja i aktivacije tubulsko-glomerulske povratne sprege, ishemijskog oštećenja tkiva ili nekroze ćelija. Drugi su bubrežni tubulski faktori, koji uključuju opstrukciju bubrežnih tubula, poremećaj reapsorpcije i bubrežnu intersticijumsku inflamaciju [5].

Pored navedenog, dolazi do aktivacije oksidativnog stresa medijatorima zapaljenja koje stvaraju oštećene epitelne ćelije, kao i do oslobađanja različitih vazokonstriktornih supstanci. Ovi procesi zajedno mogu dovesti do pogoršanja ishemijskog oštećenja, pri čemu su posebno vulnerabilni S3 segment proksimalnih bubrežnih tubula i medularni debeli ascendentni krak Henle-ove petlje [6].

1.1.3. KDIGO klasifikacija akutnog oštećenja bubrega

Trenutno opšte prihvaćena definicija i klasifikacija AOB (Tabela 1), KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) definicija, zasniva se na akutnom porastu serumskog kreatinina (sCr) ili smanjenju diureze i stratifikovana je u tri stadijuma težine: stadijum 1 (blago AOB), stadijum 2 (umereno AOB) i stadijum 3 (teško AOB). Ova definicija je omogućila standardizovana epidemiološka istraživanja AOB na globalnom nivou, što je doprinelo utvrđivanju činjenice da je AOB povezano sa nepovoljnim kratkoročnim i dugoročnim ishodima kod mnogih populacija.

Tabela 1. Klasifikacija akutnog oštećenja bubrega prema KDIGO vodiču

Stadijum	Serumski kreatinin	Diureza
1	1,5-1,9 puta veći od bazalne vrednosti ili povećanje za $\geq 26,5 \mu\text{mol/l}$	$<0,5\text{ml/kg/h}$ tokom 6-12h
2	2,0-2,9 puta veći od bazalne vrednosti	$<0,5\text{ml/kg/h}$ tokom $\geq 12\text{h}$
3	3,0 puta veći od bazalne vrednosti ili $\geq 353,6 \mu\text{mol/l}$ ili početak terapije zamene bubrežne funkcije ili JGF $<35 \text{ ml/min/1,73m}^2$ kod bolesnika <18 godina	$<0,3\text{ml/kg/h}$ tokom $\geq 24\text{h}$ ili anurija $\geq 12\text{h}$

Adaptirano prema KDIGO smernicama iz 2012. godine [1].

Legenda Tabele 1: *JGF – jačina glomerulske filtracije*

1.1.4. Epidemiologija akutnog oštećenja bubrega u pedijatrijskoj onkologiji

Akutno oštećenje bubrega predstavlja značajan problem u pedijatrijskoj onkologiji. Procenjena incidencija AOB kod dece koja se leče od različitih malignih bolesti iznosi 16-53% [7, 8] pri čemu je ekspozicija nefrotoksičnim lekovima odgovorna za približno 16% slučajeva AOB kod ovih bolesnika hospitalizovanih van jedinica pedijatrijske intenzivne nege (JPIN) [9]. Faktori rizika za nastanak AOB u ovih bolesnika, pored primene nefrotoksičnih lekova, uključuju mlađi uzrast i viši stepen težine bolesti [10].

Nastanak bubrežnog oštećenja kod ove dece često dodatno pogoršavaju pridruženi faktori, kao što su hipovolemija, sepsa, istovremena primena drugih nefrotoksičnih lekova, sindrom tumorske lize i direktni patofiziološki efekti maligniteta [11, 12].

1.1.5. Klinički ishodi akutnog oštećenja bubrega

Ispitivanja pokazuju snažnu povezanost AOB sa nepovoljnim kratkoročnim i dugoročnim kliničkim ishodima. Nastanak AOB je povezan sa produženom hospitalizacijom, produženom potrebom za mehaničkom ventilacijom, većom stopom mortaliteta i višim troškovima lečenja [13, 14]. Smanjeni bubrežni klirens citokina, kao i povećana produkcija citokina u samim oštećenim bubrežima, doprinose sistemske inflamaciji [15]. Iz tih razloga se AOB smatra sistemskom bolešću koja može imati značajne posledice na funkciju udaljenih organa, kao i na urođeni i stečeni imunitet [15, 16].

Takođe, razvoj AOB je važan faktor rizika za nastanak *de novo* hronične bolesti bubrega (HBB) ili ubrzanje progresije već postojeće HBB [17, 18], što je povezano sa pogoršanjem kvaliteta života, invaliditetom i dugoročno visokim troškovima lečenja [19]. Uprkos značajnom usavršavanju tehnika zamene bubrežne funkcije tokom poslednjih decenija, stopa mortaliteta povezana sa AOB ostala je nepromenjena, što naglašava potrebu za daljim istraživanjima u ovoj oblasti, posebno u kontekstu prevencije i ranog otkrivanja AOB kod dece koja primaju hemoterapiju [20].

1.2. Hemoterapijom indukovano akutno oštećenje bubrega - epidemiologija, patofiziologija, dijagnostika i terapijski pristup

1.2.1. Opšte karakteristike hemoterapijom indukovane nefrotoksičnosti

Tokom poslednjih decenija, primena hemoterapije u lečenju malignih tumora kod dece i adolescenata dovela je do značajnog povećanja stope preživljavanja. Uvođenjem savremenih protokola radioterapije i polihemioterapije postignuto je značajno unapređenje petogodišnjeg preživljavanja dece i adolescenata obolelih od malignih bolesti, sa stopom izlečenja koja dostiže 83–88% [21, 22]. Imajući u vidu očekivani normalan životni vek ovih bolesnika, od ključnog značaja je prevencija nastanka dugoročnih neželjenih posledica povezanih sa primenom hemioterapijskih agenasa.

Nefrotoksičnost podrazumeva sposobnost određenih terapijskih agenasa da izazovu strukturna i/ili funkcionalna oštećenja bubrega, uključujući glomerulsku i tubulsku disfunkciju, poremećaje regulacije krvnog pritiska, kao i poremećaje bubrežne endokrine funkcije [23, 24]. Kod pedijatrijskih onkoloških bolesnika rizik od razvoja nefrotoksičnosti zavisi od uzrasta, postojećeg bubrežnog oštećenja, vrste maligne bolesti, kao i vrste, doze i trajanja primene nefrotoksičnih lekova [25].

Među citostaticima koji se koriste u pedijatrijskoj onkologiji, cisplatin i ifosfamid imaju izražen nefrotoksični potencijal, uprkos visokoj terapijskoj efikasnosti kod brojnih solidnih tumora [25, 26]. Razvoj AOB tokom njihove primene povezan je sa povećanim morbiditetom i mortalitetom, produženom hospitalizacijom, odlaganjem ili prekidom terapijskih ciklusa, kao i potrebom za primenom terapije za zamenu bubrežne funkcije, čime se može kompromitovati ukupni terapijski ishod [27, 28].

Različiti oblici hemoterapijom indukovane bubrežne bolesti opisani u literaturi uključuju toksično akutno tubulsko oštećenje/nekrozu, trombotičku mikroangiopatiju (TMA), kristalnu nefropatiju, proteinuriju, nefrotski sindrom (sa histološki minimalnim promenama), fokalnu segmentnu glomerulosklerozu (FSGS), membransku nefropatiju, intersticijski nefritis i različite oblike tubulopatija [26, 29, 30].

1.2.2. Cisplatin

1.2.2.1. Istorijat i klinička primena cisplatina

Cisplatin (cis-diamin-dihloroplatinum (II)) je neorganski derivat platine koji se od sedamdesetih godina prošlog veka široko primenjuje u terapiji brojnih solidnih tumora kod dece i odraslih [31, 32]. Njegov antitumorski efekat se zasniva na formiranju DNK (dezoksiribonukleinska kiselina) adukata i ukrštanja DNK lanaca, što dovodi do zastoja ćelijskog ciklusa i apoptoze [33]. Kliničku primenu cisplatina ograničavaju izraženi neželjeni efekti, među kojima nefrotoksičnost ima centralnu ulogu [34].

1.2.2.2. Mehanizmi nefrotoksičnosti cisplatina

Nefrotoksičnost cisplatina rezultat je međusobno povezanih patofizioloških procesa, koji uključuju akumulaciju leka u ćelijama proksimalnih tubula, metaboličku konverziju u tiol, oksidativni i nitrozativni stres, mitohondrijalnu disfunkciju, inflamaciju i aktivaciju apoptotskih puteva [35–40].

1.2.2.2.1. Unos i akumulacija cisplatina u ćelijama

Organski katjonski transporter 2 (OCT2) ima centralnu ulogu u inicijaciji nefrotoksičnosti. Ekspimiran je u bazolateralnoj membrani S3 segmenta epitelnih ćelija proksimalnih tubula. OCT2 je odgovoran za akumulaciju cisplatina u epitelne ćelije proksimalnih tubula i oko 30% nefrotoksičnog efekta cisplatina povezano je sa OCT2- posredovanim unosom [41-43].

1.2.2.2.2. Metabolička konverzija cisplatina u nefrotoksični tiol

Metabolička konverzija cisplatina započinje vezivanjem za glutation u plazmi pod uticajem enzima glutation-S-transferaze. Kompleksi cisplatin-glutation filtriraju se kroz glomerule i uz pomoć enzima γ -glutamil-transpeptidaze (γ -GT), na površini epitelnih ćelija tubula, konvertuju se u cisteinilglikozinske, a zatim u cisteinske komplekse pod uticajem enzima aminopeptidaze. Ovi cisteinski kompleksi ulaze u epitelne ćelije bubrežnih tubula i dejstvom enzima cistein-S-konjugat β -lijaze konvertuju se u tiolna jedinjenja sa izrazito citotoksičnim dejstvom [44–46].

1.2.2.2.3. Patofiziološki mehanizmi oštećenja bubrega cisplatinom

Oksidativni stres je prepoznat kao ključni patofiziološki mehanizam u razvoju nefrotoksičnosti izazvane cisplatinom. Cisplatin indukuje pojačano stvaranje reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) putem iscrpljivanja intracelularnih antioksidativnih rezervi, oštećenja mitohondrijskog respiratornog lanca i aktivacije sistema citohroma P450 (CYP450) [37, 47–49].

Povećane koncentracije ROS dovode do aktivacije p38 mitogen-aktivirane protein kinaze (p38 MAPK) i nuklearnog faktora kappa B (NF- κ B) signalnih puteva. Ova aktivacija rezultuje povećanom ekspresijom i oslobađanjem proinflamatornih citokina (TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1) uz amplifikaciju inflamatornog odgovora [11, 34, 38, 40].

Istovremeno, indukcija indukovane sintaze azot-monoksida (iNOS) i povećano stvaranje azot-monoksida dovode do formiranja peroksinitrita, snažnog oksidansa koji doprinosi razvoju nitrozativnog stresa, oštećenju DNK i mitohondrijalnoj disfunkciji.

Smatra se da tumor-supresorski protein p53 ima ključnu ulogu u apoptotskom oštećenju ćelija bubrega. Nakon oštećenja DNK, p53 aktivira proapoptotski protein PUMA- α (p53-indukovani modulator apoptoze-alfa), što dovodi do akumulacije BAX (pro-apoptotski protein iz Bcl-2 familije) u mitohondrijama i inhibicije anti-apoptotskih proteina Bcl-2 (B-ćelijski limfom-2) porodice. B-ćelijski limfom-2-asocirani X (BAX) stimuliše oslobađanje citohroma C iz mitohondrija, aktivaciju kaspaze-3 i apoptotsku smrt ćelija tubula [45, 50].

1.2.2.3. Incidencija i faktori rizika za nastanak nefrotoksičnosti cisplatina

Cisplatin se akumulira u bubrezima u većim koncentracijama nego u drugim tkivima, a posledice njegovog nefrotoksičnog dejstva mogu perzistirati i decenijama nakon završetka terapije [25, 51–55]. Prevalencija cisplatinom indukovanog AOB kod dece varira od 27% do 100%, u zavisnosti od primenjene definicije AOB [27, 56]. Faktori rizika uključuju uzrast, kumulativnu dozu, režim primene, dehidraciju, hipoalbuminemiju, postojeće bubrežno oštećenje i istovremenu primenu drugih nefrotoksičnih agenasa [55, 57].

1.2.2.4. Klinička prezentacija cisplatinom indukovane nefrotoksičnosti

Akutno oštećenje bubrega izazvano cisplatinom nastaje kao posledica degeneracije, nekroze i deskvamacije epitelnih ćelija proksimalnih i distalnih bubrežnih tubula, kao i sabirnih kanalića, dok su promene u glomerulima najčešće odsutne ili slabije izražene [40, 44, 45, 58].

U ranoj fazi, tokom prvih 24–48 sati nakon infuzije cisplatina, dolazi do pojave poliurije i smanjenja osmolalnosti urina, uz relativno očuvanu JGF. Ove promene su posledica mitohondrijske disfunkcije, poremećaja aktivnosti ATP-aza (adenozin-trifosfataza), kao i smanjene ekspresije i funkcije tubulskih membranskih transportera, kotransportera i akvaporina [11, 40, 44, 46].

Nakon približno 48 sati od primene cisplatina dolazi do pada JGF, uz izraženije manifestacije tubulske disfunkcije, koja se klinički prezentuje povećanim urinarnim gubicima elektrolita, uključujući kalijum, natrijum, kalcijum i magnezijum, kao i glukozurijom i proteinurijom. Opisane funkcionalne promene su u većini slučajeva prolaznog karaktera i najčešće se povlače u periodu od dve do četiri nedelje nakon primene leka, iako kod pojedinih bolesnika mogu perzistirati i duže [38, 44, 45].

Cisplatin može izazvati i Fankoni-sindromu sličan poremećaj, renalni gubitak soli, distalnu renalnu tubulsku acidozu, trombotičku mikroangiopatiju, hiperurikemiju, hipokalcemiju i prolaznu proteinuriju [25, 29, 30, 38, 44, 45].

1.2.2.5. Strategije zaštite od nefrotoksičnih efekata cisplatina

Osnovu prevencije nefrotoksičnosti cisplatina čine adekvatna parenteralna hidratacija izotoničnim rastvorima, praćenje i korekcija elektrolitnih poremećaja uz racionalnu upotrebu manitola i diuretika. Suplementacija magnezijuma predstavlja standardnu preventivnu meru, s obzirom na učestalost hipomagnezemije i njen doprinos pojačanoj akumulaciji cisplatina u bubrezima [61, 62]. Takođe, modifikacija režima primene cisplatina koja podrazumeva nedeljne infuzije manjih doza leka, može smanjiti rizik od AOB uz očuvanje terapijske efikasnosti [60].

1.2.3. Ifosfamid

1.2.3.1. Istorijat i klinička primena ifosfamida

Ifosfamid je alkilujućí citotoksični agens iz grupe azotnih iperita koji je uveden u kliničku praksu 1972. godine. Ovaj sintetski analog ciklofosfamida primarno se izlučuje putem urina. Zbog veće antineoplastične efikasnosti, višeg terapijskog indeksa i ređe ukrštene rezistencije u odnosu na ciklofosfamid, ifosfamid se sve češće koristi u lečenju pedijatrijskih solidnih tumora, uključujući Juingov sarkom, rabdomiosarkom, neuroblastom, osteosarkom, tumore mekih tkiva i Vilmsov tumor [53, 64]. Njegovu primenu prati značajan rizik od neželjenih efekata, pri čemu se toksičnost uglavnom pripisuje aktivnim metabolitima ifosfamida, naročito hloroacetaldehidu i akroleinu [65].

1.2.3.2. Farmakokinetika i mehanizam nefrotoksičnosti ifosfamida

Ifosfamid je neaktivni oblik leka koji se metabolički aktivira u jetri putem enzima citohrom P450 (prevažodno CYP3A4 i CYP2B6), pri čemu nastaju 4-hidroksiifosfamid i aldoifosfamid. Ovi metaboliti ulaze u sistemsku cirkulaciju i transportuju se do tumorskih ćelija. Aldoifosfamid se dalje ili spontano konvertuje u ifosfamid mustard, krajnji alkilirajućí metabolit odgovoran za citotoksično dejstvo, uz istovremeno stvaranje akroleina, ili se dehidrogenacijom pretvara u neaktivni karboksiifosfamid [66]. Alternativnim metaboličkim putem iz ifosfamida nastaju dehloroetil-ifosfamidni metaboliti i hloroacetaldehid (CAA), za koji se smatra da ima ključnu ulogu u razvoju nefrotoksičnosti [66].

Oko 30% ifosfamida se vezuje za proteine plazme, dok se eliminacija odvija prvenstveno putem urina, uglavnom u obliku njegovih metabolita, pri čemu se približno 20% primenjene doze izlučuje nepromenjeno [66, 67, 68]. Poluvreme eliminacije iznosi 2,1 - 8,6 sati, kraće je kod dece, a produženo kod starijih osoba i gojaznih bolesnika [66, 67].

Veći nefrotoksični potencijal ifosfamida u poređenju sa ciklofosfamidom delimično se pripisuje njegovom selektivnom preuzimanju u ćelije proksimalnih tubula putem transportera OCT2. Nakon ulaska u ćelije, toksični metaboliti, posebno CAA, izazivaju izraženu mitohondrijalnu disfunkciju, uključujući inhibiciju kompleksa I respiratornog lanca, oštećenje mitohondrijalne DNK, depolarizaciju membrane i produženo otvaranje pora tranzicije propustljivosti, što dovodi do ćelijske smrti [69–72]. Histopatološki se nefrotoksičnost manifestuje tubulskom nekrozom, intersticijskom inflamacijom, kariomegalijom i izraženim mitohondrijalnim promenama [73–75].

1.2.3.3. Incidencija i faktori rizika za nefrotoksičnost ifosfamida

Prijavljena učestalost bubrežnog oštećenja kod dece lečene ifosfamidom varira u širokom rasponu, od približno 1,4% do 30%, što odražava heterogenost ispitivanih populacija, primenjenih terapijskih protokola i kriterijuma za procenu bubrežne funkcije [76, 77]. Faktori rizika uključuju postojeće bubrežno oboljenje, istovremenu primenu drugih nefrotoksičnih agenasa (posebno cisplatina), visoku kumulativnu dozu, radioterapiju bubrežne regije i smanjenu funkcionalnu bubrežnu rezervu, naročito kod dece nakon unilateralne nefrektomije [68, 78].

Kumulativna doza ifosfamida predstavlja jedan od ključnih determinanti nefrotoksičnosti. Veći rizik od bubrežnog oštećenja opisan je kod dece koja su primila ukupne doze leka (> 60–80 g/m²). Ipak, važno je naglasiti da se nefrotoksični efekti mogu javiti i pri nižim kumulativnim dozama, što ukazuje na značaj individualne osetljivosti i prisustva dodatnih faktora rizika [53, 68, 76, 79].

Uzrast bolesnika se takođe razmatra kao potencijalni faktor rizika, budući da su teži oblici tubulske toksičnosti češće zabeleženi kod odojčadi i dece mlađe od pet godina [68, 78]. Ova povećana osetljivost pripisuje se nezrelosti sistema uključenih u metabolizam ifosfamida. Međutim, dosadašnja istraživanja nisu jednoznačno potvrdila mlađi uzrast kao nezavisan prediktor dugoročnih posledica [80].

Među opisane dugoročne posledice terapijske primene ifosfamida spadaju arterijska hipertenzija i hronična bolest bubrega koje se mogu manifestovati par meseci, pa i nekoliko godina nakon završenog onkološkog lečenja [25, 75].

1.2.3.4. Klinička prezentacija ifosfamidom indukovane nefrotoksičnosti

Ifosfamidom indukovana nefrotoksičnost može zahvatiti različite segmente nefrona, ali se najčešće ispoljava kao disfunkcija proksimalnih tubula, koja ima tendenciju progresije [81, 83]. Klinički se manifestuje glukozurijom, aminoacidurijom, proteinurijom male molekulske mase, hipofosfatemijom i fosfaturijom, a u težim oblicima razvojem Fankoni sindroma [68]. Subklinički oblici oštećenja često se prezentuju izolovanom tubulskom proteinurijom i glikozurijom, dok teži oblici mogu dovesti do hipofosfatemijskog rahitisa, proksimalne renalne tubulske acidoze, hipokalemije i progresije ka HBB [65, 83, 84, 85].

Glomerulska disfunkcija sa smanjenjem JGF najčešće nastaje sekundarno, kao posledica izraženog tubulskog oštećenja [83, 86]. Ređe, ifosfamid može izazvati i oštećenje distalnih tubula, praćeno distalnom renalnom tubulskom acidozom i poremećajem koncentracione sposobnosti bubrega [87, 88]. Ovi nalazi naglašavaju potrebu za sistematskim i dugoročnim praćenjem bubrežne funkcije kod pedijatrijskih bolesnika lečenih ifosfamidom [76].

1.2.3.5. Prevencija i lečenje nefrotoksičnosti izazvane ifosfamidom

U ovom trenutku ne postoje standardizovane i opšteprihvaćene specifične strategije za prevenciju ili lečenje nefrotoksičnosti izazvane ifosfamidom, te se klinički pristup pre svega zasniva na pažljivom praćenju bolesnika tokom i nakon terapije, sa ciljem ranog

otkrivanja znakova tubulske disfunkcije [75, 89].

Iako su antioksidansi poput N-acetilcisteina, melatonina i glutaciona pokazali protektivne efekte u eksperimentalnim modelima, njihova klinička efikasnost kod ljudi još uvek nije potvrđena [91–98].

Rizik od nefrotoksičnosti se može smanjiti izbegavanjem visokih kumulativnih doza leka, (>80 g/m²) naročito kod dece mlađe od pet godina, bolesnika koji su prethodno lečeni ili istovremeno dobijaju cisplatin i onih sa postojećim bubrežnim oštećenjem. Intenzivna hidratacija i suportivna terapija za sad ostaju osnovne mere u prevenciji i lečenju ifosfamidom uzrokovanog bubrežnog oštećenja [25,61,96,101].

1.3. Biomarkeri akutnog oštećenja bubrega

1.3.1. Definicija i klasifikacija biomarkera akutnog oštećenja bubrega

Biomarker bubrežnog oštećenja predstavlja merljivu biološku karakteristiku (molekul, protein, enzim, metabolit ili ćelijski proizvod) koja se može detektovati u telesnim tečnostima (krv, urin) ili tkivu, a koja objektivno odražava prisustvo, stepen ili mehanizam oštećenja bubrežnih struktura, posebno ćelija bubrežnih tubula, nezavisno ili pre promene klasičnih parametara bubrežne funkcije kao što su serumski kreatinin i diureza [102].

U poslednjih nekoliko decenija identifikovan je veliki broj različitih molekula koji ukazuju ili na oštećenje bubrežnog tkiva ili predstavljaju odraz smanjenja bubrežne funkcije [103]. Po tome se dele u dve velike grupe: biomarkere strukturnog i biomarkere funkcionalnog bubrežnog oštećenja.

1.3.2. Biomarkeri funkcionalnog bubrežnog oštećenja i njihova ograničenja za rano otkrivanje akutnog oštećenja bubrega

1.3.2.1. Serumski kreatinin

Biomarkeri bubrežne funkcije koji se široko primenjuju u kliničkoj praksi su serumski kreatinin i diureza. Određivanje koncentracije kreatinina u serumu je osnovni parametar za procenu bubrežne funkcije i sastavni je deo savremenih dijagnostičkih kriterijuma za AOB, uključujući KDIGO klasifikaciju [1].

Kreatinin je krajnji produkt metabolizma kreatina i fosfokreatina u skeletnim mišićima i njegova produkcija u velikoj meri zavisi od mišićne mase, pola, starosti i etničke pripadnosti, uz izvesne dnevne varijacije [104, 105]. U fiziološkim uslovima, kreatinin se slobodno filtrira u glomerulima i delimično sekretuje u proksimalnim bubrežnim tubulima. Serumski kreatinin je u nelinearnoj, recipročnoj vezi sa JGF, zbog čega je relativno neosetljiv za rano otkrivanje blagih i umerenih smanjenja bubrežne funkcije [1, 104, 105]. Kod većine bolesnika, porast serumskog kreatinina iznad gornje granice referentnih vrednosti nastaje tek kada je JGF smanjena za više od 50%. U odsustvu poznate bazalne vrednosti kreatinina, koncentracije unutar referentnog opsega mogu maskirati postojanje značajno snižene JGF [104]. Dodatno, procenu bubrežne funkcije na osnovu serumskog

kreatinina komplikuju brojni faktori, uključujući razlike u ishrani (niže vrednosti kod vegetarijanaca), malnutriciju, amputacije ekstremiteta, hronične inflamatorne i maligne bolesti, cirozu jetre, kao i hemodiluciju kod hipervolemije [104, 105].

Pojedini lekovi, poput trimetoprima i cimetidina, mogu dovesti do porasta serumskog kreatinina inhibicijom njegove tubulske sekrecije, bez stvarnog smanjenja JGF, dok kod uznapredovale bubrežne insuficijencije dolazi do povećane intestinalne eliminacije kreatinina [104]. Zbog sporih kinetika akumulacije, serumski kreatinin nije pogodan marker za detekciju brzih i akutnih promena bubrežne funkcije, naročito u ranoj fazi AOB [1, 104, 105].

Ograničenja primene serumskog kreatinina posebno su izražena kod kritično obolelih bolesnika, kod kojih brojni dodatni klinički i biohemijski faktori (starije životno doba, gubitak mišićne mase, sepsa, hiperbilirubinemija, primena vazopresora) značajno utiču na njegovu koncentraciju, čineći procenu JGF na osnovu ovog biomarkera nepouzdanom [104, 105].

1.3.2.2. Diureza kao biomarker akutnog oštećenja bubrega

Diureza predstavlja drugi važan biomarker funkcionalnog bubrežnog oštećenja koji je u kliničkoj praksi često zanemaren. Kombinovana primena kriterijuma zasnovanih na promenama serumskog kreatinina i diureze omogućava ranije postavljanje dijagnoze AOB, čak 2,5–46 sati pre nego primena serumskog kreatinina kao izolovanog markera [1, 4].

Brojne studije su pokazale da je smanjena diureza, slično porastu serumskog kreatinina, snažan nezavisni prediktor mortaliteta i nepovoljnih ishoda kod bolesnika sa AOB, naročito u jedinicama intenzivne nege [4, 111]. Međutim, pouzdanost oligurije kao markera bubrežne funkcije je ograničena, jer na izlučivanje urina utiču brojni faktori, uključujući hipovolemiju, primenu diuretika, prirodu osnovnog oboljenja, kao i terapijske intervencije poput hiperhidracije u prevenciji nefrotoksičnosti [1, 111].

Zbog svega navedenog, tradicionalni biomarkere funkcionalnog bubrežnog oštećenja, serumski kreatinin i diureza, imaju ograničenu osetljivost i specifičnost za rano otkrivanje AOB, budući da se njihove promene često registruju tek nakon značajnog gubitka bubrežne funkcije. Ova ograničenja predstavljaju osnovni razlog za intenzivna istraživanja novih, senzitivnijih i specifičnijih biomarkera bubrežnog oštećenja u savremenoj nefrologiji [1, 104, 105].

1.3.2.3. Cistatin C

Cistatin C je neglikolizirani bazični protein male molekulske mase (13.359 D) koji pripada familiji inhibitora cisteinskih proteinaza. Stvaraju ga sve ćelije organizma koje imaju jedro konstantnom brzinom tokom čitavog života. Iz cirkulacije se eliminiše isključivo glomerulskom filtracijom. Zahvaljujući svojoj maloj molekulskoj masi, cistatin C se slobodno filtruje kroz glomerulski kapilarni zid, a preko 99% ovog proteina biva reapsorbovano i metabolisano u epitelnim ćelijama proksimalnih bubrežnih kanalića posredstvom transepitelnog receptora megalina [112, 113, 114, 115].

Danas se sve češće preporučuje određivanje nivoa cistatina C u serumu, koji se smatra pouzdanijim endogenim funkcionalnim markerom u odnosu na kreatinin seruma [116, 117]. Na koncentraciju cistatina C u serumu ne utiču uzrast, pol, mišićna masa, zapaljenje niti maligne bolesti [118]. Kako na koncentraciju cistatina C u plazmi gotovo ekskluzivno utiče JGF, to ovaj mali protein čini dobrim pokazateljem bubrežne funkcije. Kao i serumski kreatinin, cistatin C je u inverznoj nelinearnoj vezi sa JGF. Međutim, cistatin C pokazuje jaču korelaciju sa smanjenjem JGF u opsegu od 80 do 40 ml/min/1,73 m² u poređenju sa serumskim kreatininom.

Iako se cistatin C smatra pouzdanim markerom bubrežne funkcije, postoje brojni faktori koji mogu uticati na njegove koncentracije u serumu, kao što su terapija glikokortikoidima, bolesti štitaste žlezde, konzumiranje duvana i bolesti jetre [119].

Većina kliničkih studija koje su ispitivale vezu između cistatina C i cisplatinom indukovanoj AOB fokusirale su se na serumske koncentracije, dok su urinarne koncentracije ovog markera ispitivane u manjoj meri. Serumski cistatin C kod bolesnika lečenih cisplatinom bio je za 41% viši od bazalnih vrednosti trećeg dana od primene leka [120], dok su u drugim studijama prijavljene umerene promene (1,1×) koncentracija [121, 122, 123]. Zbog ovih umerenih promena, kao i osetljivosti ovog proteina na uticaj pridruženih bolesti, još uvek nije jasno da li je cistatin C idealan biomarker cisplatinne nefrotoksičnosti.

Kod bolesnika na terapiji cisplatinom, male promene urinarnog cistatina C zabeležene su u prvih 8 sati od primene leka, dok se dvostruko povećanje koncentracije beleži trećeg dana od završetka ciklusa [124]. Ovi nalazi ističu potrebu za dodatnim ispitivanjima kako bi se utvrdio značaj promena koncentracija cistatina C u urinu u detekciji subkliničkog i kliničkog AOB kod onkoloških bolesnika koji primaju cisplatin.

1.3.2.4. Procena jačine glomerulske filtracije primenom prediktivnih jednačina

1.3.2.4.1. Jednačine za preračunavanje jačine glomerulske filtracije iz vrednosti kreatinina u serumu

Glavni uzrok grešaka pri određivanju klirensa kreatinina je nepravilno sakupljanje 24h urina. To je bio jedan od razloga za uvođenje sada već brojnih jednačina i nomograma za procenu glomerulske filtracije iz vrednosti koncentracije kreatinina u serumu, podataka o polu, uzrastu, telesnoj visini, telesnoj težini i rasnoj pripadnosti [125]. Prediktivne jednačine su nastale primenom regresionih tehnika na povezanost između serumskih nivoa filtracionih markera i izmerene JGF u proučavanoj populaciji. Ove jednačine polaze od pretpostavke da je izlučivanje kreatinina urinom konstantno i da odgovara stvaranju kreatinina. Osim toga, prediktivne jednačine pretpostavljaju da je koncentracija kreatinina u serumu konstantna zbog čega njihova primena za procenu bubrežne funkcije u stanjima koja prati brza promena koncentracije kreatinina u serumu, kao što je slučaj sa AOB, nije najpouzdanija. Iz tog razloga, prediktivne jednačine bazirane na serumskom kreatininu imaju ograničenu vrednost u ranoj detekciji AOB.

U cilju procene JGF bez prethodnog sakupljanja urina, Švarc (*Schwartz*) i saradnici uvode koncept količnika telesne visine kao mere mišićne mase i kreatinina seruma kao jakog surogat markera JGF kod dece [126]. Uzevši u obzir vezu između stvaranja kreatinina i

mišićne mase, ovi istraživači izvode tzv. Švarcovu formulu za procenu JGF (pJGF) kod dece [127, 128]. Ova jednačina omogućava procenu JGF iz vrednosti kreatinina seruma i telesne visine ispitanika uz primenu konstante proporcionalnosti određene poređenjem količnika telesne visine i kreatinina seruma sa merenom JGF.

1.3.2.4.2. Prediktivne jednačine za izračunavanje jačine glomerulske filtracije iz vrednosti cistatina C u serumu

Prediktivne jednačine za pJGF zasnovane na cistatinu C pružaju tačniju procenu bubrežne funkcije od jednačina zasnovanih isključivo na kreatininu, što je posebno pokazano u pedijatrijskoj hematološko-onkološkoj populaciji [130]. Jednačine koje kombinuju kreatinin i cistatin C (pJGF cr-cys) dodatno poboljšavaju tačnost pJGF i preciznost doziranja lekova kod bolesnika obolelih od malignih bolesti [116, 131, 132, 133, 134].

Na osnovu sistematskog pregleda studija, Američko društvo za onko-nefrologiju je 2024. godine predložilo primenu kombinovanih jednačina za pJGF kod onkoloških bolesnika [134, 135].

1.3.3. Biomarkeri strukturnog bubrežnog oštećenja

Biomarkeri strukturnog bubrežnog oštećenja predstavljaju heterogenu grupu molekula koji odražavaju direktno oštećenje bubrežnog tkiva. Oni mogu biti konstitutivni proteini oslobođeni iz oštećenih ćelija bubrega, molekuli čija je sinteza pojačana kao odgovor na povredu, ili supstance ekstrarenalnog porekla koje podležu glomerulskoj filtraciji, tubulskoj reapsorpciji ili sekreciji. Po svojoj prirodi, najčešće su proteini, ali obuhvataju i egzozomalne komponente i mikroRNK (ribonukleinska kiselina), čime omogućavaju precizniju procenu mesta, uzroka i stepena bubrežnog oštećenja [104, 136]. U zavisnosti od mesta i patofiziološkog mehanizma oštećenja bubrežnog parenhima, biomarkeri strukturnog oštećenja mogu se podeliti na glomerulske, tubulske i tubulointersticijske.

Biomarkeri tubulskog oštećenja predstavljaju centralnu grupu biomarkera za rano otkrivanje subkliničkog AOB. Oni potiču iz oštećenih epitelnih ćelija tubula ili odražavaju gubitak njihove normalne funkcije [1, 137, 138].

1.4. Subkliničko akutno oštećenje bubrega – koncept i klinički značaj

1.4.1. Definicija i koncept subkliničkog akutnog oštećenja bubrega

Subkliničko akutno oštećenje bubrega (sAOB) se definiše kao stanje u kome postoji strukturno oštećenje bubrežnog parenhima, koje se otkriva primenom senzitivnih biomarkera oštećenja, u odsustvu merljivog pada glomerulske filtracije dovoljnog da se registruje konvencionalnim funkcionalnim markerima [1, 3, 139]. Ovaj koncept proizašao je iz savremenog shvatanja da rana oštećenja bubrežnog tkiva mogu imati značajan klinički i prognostički značaj, čak i u situacijama kada je funkcionalni kapacitet bubrega još uvek očuvan i vrednosti serumskog kreatinina ostaju u referentnom opsegu. Razvoj i klinička primena visoko osetljivih strukturnih biomarkera omogućili su identifikaciju ove „neme“ faze bubrežnog oštećenja, pomerajući vremenski okvir ranog prepoznavanja AOB

pre pojave kriterijumima definisane disfunkcije prema važećim KDIGO smernicama [139, 140].

1.4.2. Klinički značaj subkliničkog akutnog oštećenja bubrega

Blagovremeno prepoznavanje sAOB ima višestruki klinički značaj. Pre svega, omogućava ranu detekciju bubrežnog oštećenja u fazi kada su nastale promene još uvek u velikoj meri reverzibilne i kada su preventivne nefroprotektivne mere najefikasnije [28, 30].

Dodatno, sAOB može biti prediktor dugoročnih ishoda. Studije su pokazale da čak i prolazno tubulsko oštećenje, koje ne dovodi do manifestnog AOB, može biti povezano sa povećanim rizikom za razvoj HBB, hipertenzije i drugih kardiorrenalnih komplikacija [12, 17, 18]. Ovo je posebno važno u pedijatrijskoj populaciji, obzirom na dug preostali životni vek, i kumulativni efekat ranog bubrežnog oštećenja.

1.4.3. Uloga biomarkera u detekciji subkliničkog akutnog oštećenja bubrega

Biomarkeri strukturnog oštećenja bubrega imaju centralnu ulogu u identifikaciji sAOB. Za razliku od serumskog kreatinina, koji reflektuje funkcionalnu rezervu bubrega, biomarkeri kao što su NGAL (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom), KIM-1 (molekul bubrežnog oštećenja-1), L-FABP (jetrin protein tip 1 koji vezuje masti) i VNN-1 (vanin-1) direktno ukazuju na oštećenje tubulskih struktura. Rani porast nivoa ovih biomarkera definiše sAOB i otvara prozor za blagovremeno uvođenje preventivnih mera [56, 73, 81]. Idealan biomarker sAOB bi trebalo da poseduje nekoliko karakteristika: visoku osetljivost za rane tubulske promene, odgovarajuću specifičnost za nefrotoksično oštećenje, prediktivnu vrednost za progresiju ka manifestnom AOB, kao i prognostički značaj za dugoročne ishode. Kombinovanje više biomarkera u panel može poboljšati dijagnostičku tačnost i omogućiti diferencijalnu dijagnozu različitih tipova bubrežnog oštećenja [28, 74].

1.5. Značaj biomarkera za rano otkrivanje hemoterapijom indukovanoog akutnog oštećenja bubrega

Lekovima indukovano AOB predstavlja značajan deo ukupnog opterećenja AOB u bolničkim uslovima, uključujući jedinice intenzivnog lečenja. Podaci iz prospektivnih kohortnih studija kod odraslih ukazuju da je primena lekova povezana sa razvojem AOB u približno 14–26% slučajeva, u zavisnosti od ispitivane populacije i primenjene definicije AOB, dok se nefrotoksični lekovi često navode kao doprinoseći faktor u teškim oblicima AOB kod kritično bolesnih pacijenata [141, 142, 143]. Zakasnelo prepoznavanje oštećenja bubrega, praćeno nastavkom izlaganja nefrotoksičnim agensima, prepoznaje se kao važan faktor koji doprinosi nastanku i progresiji AOB [142, 143].

Identifikacija bolesnika sa visokim rizikom od razvoja hemoterapijom indukovanoog AOB predstavlja poseban izazov, naročito u pedijatrijskoj hemato-onkologiji, gde se nefrotoksični citostatici (npr. cisplatin i ifosfamid) često primenjuju uz istovremeno prisustvo dodatnih faktora rizika (dehidracija, infekcije, istovremena primena više nefrotoksičnih agenasa). U tom kontekstu, biomarkeri bubrežnog oštećenja nude potencijalno rešenje za usmeravanje kliničara u terapijskim odlukama i prevenciji

nepovoljnih ishoda AOB.

U kliničkoj praksi, biomarkeri mogu doprineti [28]:

- ranoj identifikaciji pacijenata sa povećanim rizikom od nefrotoksičnosti,
- pravovremenoj modifikaciji doze ili izboru alternativnog terapijskog režima kada je to moguće,
- praćenju dinamike bubrežnog oštećenja tokom lečenja,
- stratifikaciji rizika za perzistentno oštećenje i dugoročne bubrežne komplikacije

Urin predstavlja idealnu telesnu tečnost za procenu biomarkera AOB jer se može dobiti neinvazivno spontanim mokrenjem ili, u ređim situacijama, kateterizacijom bešike. Do danas je identifikovan značajan broj urinarnih biomarkera bubrežnog oštećenja koji se razlikuju prema anatomskom poreklu, kinetici, biološkoj funkciji i vremenu oslobađanja nakon inicijalnog insulta [1, 144]. Većina ovih molekula nastaje usled oštećenja bubrežnog parenhima i detektuje se u urinu kao posledica smanjene ili izostale tubulske reapsorpcije.

Prema dostupnim podacima iz relevantne literature, među najopsežnije i najčešće ispitivane urinarne biomarkere tubuskog oštećenja spadaju [1, 144, 145]:

- Lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom (NGAL)
- Molekul bubrežnog oštećenja-1 (KIM-1)
- Jetrin protein tip 1 koji vezuje masti (L-FABP)

Pored navedenih, identifikovani su i drugi potencijalni serumski i urinarni biomarkeri kao što su:

- Serumski fibroblastni faktor rasta-23 (FGF-23)
- Vanin-1 (VNN-1)

Ovi biomarkeri su manje proučavani u kontekstu hemoterapijom indukovano AOB, posebno u pedijatrijskoj populaciji, što predstavlja važnu oblast istraživanja [146, 147]. Njihova potencijalna uloga u ranom otkrivanju sAOB kod pedijatrijskih bolesnika lečenih od malignih bolesti terapijskom primenom potencijalno nefrotoksičnih citostatika zaslužuje pažnju, jer bi mogla omogućiti pravovremenu intervenciju i prevenciju teških oblika bubrežnog oštećenja.

1.5.1. Lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, NGAL)

Lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom (NGAL) je protein molekulske mase približno 25 kDa koji pripada superfamiliji lipokalina. U fiziološkim uslovima eksprimira se u niskim koncentracijama u različitim tkivima, uključujući pluća, gastrointestinalni trakt i epitelne ćelije bubrežnih tubula, dok se njegova ekspresija značajno povećava kao odgovor na oštećenje tkiva, infekciju ili inflamaciju [148, 149]. Ovaj protein se primarno oslobađa iz aktiviranih neutrofila, ali se njegova sinteza značajno indukuje i u drugim tkivima, uključujući bubrege, tokom patoloških procesa [150, 151].

Lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom ima važnu ulogu u urođenoj imunosti zahvaljujući sposobnosti vezivanja siderofora sa gvožđem, čime se ograničava dostupnost gvožđa mikroorganizmima i inhibira njihov rast. Pored antimikrobnog dejstva, smatra se da povećana produkcija NGAL-a u bubrežima predstavlja deo adaptivnog, potencijalno samoprotektivnog odgovora na oštećenje, uključujući regulaciju homeostaze gvožđa i procese rasta, proliferacije i diferencijacije ćelija tubula [152].

Glavna mesta povećane ekspresije NGAL-a u bubrežima su epitelne ćelije distalnih tubula, uzlaznog kraka Henleove petlje i sabirnih kanalića, dok proksimalni tubuli u manjoj meri doprinose njegovoj produkciji [153]. U fiziološkim uslovima NGAL se izlučuje u urin u niskim koncentracijama, dok u ranoj fazi AOB dolazi do njegovog povećanog lokalnog stvaranja što uz smanjenu tubulsku reapsorpciju omogućava rano otkrivanje ovog biomarkera u urinu. Koncentracije NGAL-a u urinu i plazmi rastu već u prvih 2–6 sati nakon inicijalnog oštećenja, znatno pre porasta serumskog kreatinina, a povišeni nivoi se mogu održavati i tokom narednih nekoliko dana, što NGAL čini ranim i osetljivim biomarkerom AOB [154, 155, 156].

Lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom se posebno istakao kao potencijalno koristan biomarker AOB izazvanog nefrotoksičnim citostaticima, poput cisplatina i ifosfamida. Njegova ekspresija u proksimalnim i distalnim segmentima tubula, koji su zahvaćeni nefrotoksičnim dejstvom ovih lekova, dodatno potvrđuje njegov klinički značaj [153]. Kod bolesnika lečenih cisplatinom zabeležen je izražen, dozno i vremenski zavisian porast koncentracije NGAL-a u urinu, koji se javlja u intervalu od približno 12 časova do 3 dana nakon primene terapije i u većini slučajeva prethodi porastu serumskog kreatinina [124, 157, 158]. Brojne kliničke studije su pokazale da su urinarne koncentracije NGAL-a značajno više kod bolesnika sa klinički manifestnim, ali i sa sAOB, pri čemu se porast urinarnog NGAL-a, naročito drugog dana nakon primene cisplatina, pokazao kao nezavisian prediktor razvoja AOB [157].

Nasuprot tome, kod bolesnika lečenih cisplatinom nisu dosledno potvrđene značajne razlike u koncentracijama serumskog NGAL-a između bolesnika sa i bez AOB, dok su podaci o njegovoj primeni u kontekstu ifosfamidom indukovanoj AOB i dalje ograničeni [56, 123, 157].

Pored uloge u ranom otkrivanju AOB, NGAL se sve češće razmatra i kao biomarker hroničnog bubrežnog oštećenja. Povišene koncentracije NGAL-a u tkivu bubrega i urinu povezane su sa progresijom bubrežne disfunkcije, nepovoljnijim ishodima, potrebom za dijalizom i povećanim mortalitetom, što ukazuje na njegov potencijalni prognostički značaj u različitim stadijumima bubrežnih bolesti [158].

1.5.2. Molekul bubrežnog oštećenja-1 (Kidney injury molecule-1, KIM-1)

Molekul bubrežnog oštećenja-1 (KIM-1; poznat i kao TIM-1/HAVCR1) je tip I transmembranski glikoprotein (~100 kDa) sa imunoglobulinskim i mucinskim domenom i jedan je od najistraživanijih urinarnih biomarkera tubulskog oštećenja. U zdravom bubregu njegova ekspresija je minimalna, dok se nakon ishemijskog ili nefrotoksičnog oštećenja naglo pojačava, dominantno u epitelnim ćelijama proksimalnog tubula. Ekstracelularni domen KIM-1 se proteolitički odseca (*shedding*) i izlučuje u urin, što omogućava njegovo

neinvazivno određivanje i praćenje oštećenja proksimalnih tubula [159]. Molekul bubrežnog oštećenja-1 takođe može delovati kao receptor za fosfatidilserin, doprinoseći uklanjanju apoptotskih ćelija (eferocitozi) u oštećenom epitelu bubrežnih tubula.

U kontekstu cisplatinom indukovanoj AOB kod odraslih onkoloških bolesnika, dijagnostičke performanse urinarnog KIM-1 su varijabilne: pojedine studije ukazuju na dobru diskriminativnu vrednost za rano otkrivanje AOB (AUC-ROC približno 0,78–0,94) [160], dok druge ukazuju na ograničenu prediktivnu moć (AUC oko 0,55) [161]. U klinički manifestnom cisplatinom indukovanoj AOB, nivoi KIM-1 u urinu se najčešće povećavaju tokom prvih nekoliko dana nakon primene terapije i u nekim studijama dostižu maksimalne koncentracije istovremeno sa porastom serumskog kreatinina ili neposredno nakon toga, što je u skladu sa činjenicom da se porast urinarnih koncentracija KIM-1 često registruje kasnije u odnosu na urinarni NGAL [160].

Dostupni podaci ukazuju da se porast urinarnih koncentracija KIM-1 može registrovati i kod bolesnika sa sAOB, ali klinički i prognostički značaj ovih promena još uvek nije u potpunosti razjašnjen [162]. U pedijatrijskoj populaciji KIM-1 se pokazao kao koristan biomarker za rano otkrivanje AOB u različitim nekancerskim stanjima (npr. nakon kardiohirurških intervencija, primene kontrastnih sredstava, kod kritično bolesne dece lečene u jedinicama intenzivne nege i kod novorođenčadi), dok su podaci o njegovoj primeni kod pedijatrijskih hemato-onkoloških bolesnika i dalje ograničeni [163, 164, 165]. U prospektivnoj studiji kod dece koja su primala nefrotoksičnu antineoplastičnu terapiju (cisplatin ili metotreksat), urinarni KIM-1 meren 24 časa nakon završetka infuzije pokazao je dobru diskriminativnu vrednost za otkrivanje AOB (AUC-ROC~0,82) [166]. Sveukupno, dostupni podaci ukazuju da je KIM-1 pouzdan biomarker proksimalnog tubulskog oštećenja, posebno u okviru panela više biomarkera strukturnog oštećenja (npr. u kombinaciji sa NGAL-om), pri čemu se porast njegovih koncentracija u urinu najčešće registruje kasnije u odnosu na NGAL [136].

1.5.3. Jetreni protein koji vezuje masne kiseline (Liver-type Fatty Acid-Binding Protein, L-FABP)

Jetrin protein tip 1 koji vezuje masti (L-FABP) je citoplazmatski protein molekulske mase oko 14 kDa, koji pripada porodici proteina koji vezuju masne kiseline (fatty acid-binding proteins, FABP), sa tkivno-specifičnom ekspresijom različitih izoformi. Kod ljudi je kodiran genom FABP1 i, pored jetre, eksprimira se i u drugim organima, uključujući gastrointestinalni trakt, pluća i bubrege. U bubrežima je L-FABP lokalizovan u epitelnim ćelijama proksimalnih tubula.

Ovaj protein spada u grupu transportnih proteina odgovornih za regulaciju unutarćelijskog unosa i transporta masnih kiselina dugog lanca. Slobodne masne kiseline vezane za albumine plazme prolaze glomerulski filter i reapsorbuju se u proksimalnim tubulima bubrega [167]. Jetrin protein tip 1 koji vezuje masti ima ključnu ulogu u vezivanju i transportu masnih kiselina do mitohondrija i peroksizoma, gde se one metabolišu putem β -oksidacije, i na taj način doprinose stvaranju energije u ćelijama [168, 169]. Bubrežne ćelije proksimalnih tubula izložene ishemijskom ili oksidativnom stresu imaju tendenciju da smanje aktivnost ovog metaboličkog puta, što dovodi do povećanja koncentracije slobodnih masnih kiselina unutar ćelija [170]. Peroksidisane masne kiseline su citotoksične

i mogu izazvati tubulointersticijsko oštećenje, kao i pogoršanje bubrežne funkcije [171]. Selektivno vezivanje L-FABP-a za proizvode peroksidacije lipida ograničava oštećenje ćelija ovim toksinima, a ova zaštitna uloga L-FABP-a je izazvala interesovanje za ovaj protein kao potencijalni marker ćelijskog oštećenja.

Eksperimentalne i kliničke studije su pokazale da se porast urinarnih koncentracija L-FABP javlja rano, često pre porasta serumskog kreatinina, u različitim modelima AOB, uključujući ishemijsko-reperfuziono i cisplatinom indukovano AOB [172, 173]. Meta-analize potvrđuju njegovu dobru dijagnostičku vrednost za rano otkrivanje AOB, kao i potencijalnu ulogu u proceni progresije HBB [173, 174].

U kontekstu nefrotoksičnosti citostatika, urinarni L-FABP je ispitivan kao samostalan biomarker, ali i u kombinaciji sa drugim biomarkerima. Posebno je pokazao potencijal u ranom otkrivanju sAOB kod bolesnika lečenih cisplatinom, uključujući pedijatrijsku hemato-onkološku populaciju, čime se potvrđuje njegov značaj kao dela panela biomarkera strukturnog oštećenja u ranom prepoznavanju bubrežnog oštećenja [157, 175].

1.5.4. Fibroblastni faktor rasta 23 (Fibroblast Growth Factor 23, FGF-23)

Fibroblastni faktor rasta 23 (FGF-23) je glikoproteinski hormon molekulske mase približno 32 kDa, sastavljen od 251 aminokiseline, poznat i kao fosfatonin, koji se primarno sintetise u kostima, pre svega u osteocitima i osteoblastima [176]. Pored koštanog tkiva, ekspresija FGF-23 je prisutna i u drugim ćelijama, uključujući kardiomiocyte, epitelne ćelije bubrežnih tubula i vaskularni endotel, naročito u patološkim stanjima kao što su akutna i hronična bubrežna oboljenja [177, 178],

U cirkulaciji, FGF-23 postoji u intaktnom obliku (iFGF-23) i u obliku C-terminalnih fragmenata (cFGF-23), nastalih proteolitičkim cepanjem hormona.

Glavni biološki efekti FGF-23 odnose se na regulaciju homeostaze fosfora i aktivnog oblika vitamina D. Fibroblastni faktor rasta 23 inhibira tubulsku reapsorpciju fosfata u proksimalnim tubulima bubrega putem smanjene ekspresije natrijum-fosfatnih kotransportera tipa 2a i 2c (NaPi-2a i NaPi-2c), dok istovremeno smanjuje koncentraciju 1,25-dihidroksivitamina D inhibicijom 1 α -hidroksilaze (citohrom P450 27B1, CYP27B1) i stimulacijom 24-hidroksilaze (citohrom P450 24A1, CYP24A1) [176].

Fibroblastni faktor rasta 23 takođe deluje na paratiroidne žlezde, gde inhibira sintezu i sekreciju parathormona (PTH), pri čemu je ovaj efekat klotho-zavisan i može biti oslabljen u uznapredovalim stadijumima HBB [179].

Kliničke studije su pokazale da su koncentracije FGF-23 u serumu i urinu značajno povišene kod bolesnika sa AOB različite etiologije, često već u ranoj fazi bolesti, pre porasta konvencionalnih markera bubrežne funkcije, poput serumskog kreatinina, kao i da su povezane sa težinom bubrežnog oštećenja, potrebom za terapijskom nadoknadom bubrežne funkcije i povećanom smrtnošću [146, 180].

Mehanizmi porasta koncentracije FGF-23 u AOB uključuju povećanu sintezu hormona, kako u koštanom tako i u ekstrakoštanom tkivima, kao i smanjen renalni klirens usled

akutnog gubitka bubrežne funkcije. Iako postoje indicije da FGF-23 može imati direktne biološke efekte u bubrežima, njegova precizna patofiziološka uloga u razvoju i progresiji AOB još uvek nije u potpunosti razjašnjena.

U AOB različite etiologije dosledno je pokazano rano povećanje koncentracija FGF-23 u cirkulaciji i njihova povezanost sa nepovoljnim ishodima. Međutim, specifična dijagnostička i prognostička vrednost FGF-23 u hemoterapijom indukovanom AOB kod pedijatrijskih hemato-onkoloških bolesnika još uvek nije dovoljno ispitana i zahteva dodatnu kliničku validaciju [179].

1.5.5. Vanin-1 (Vanin-1, VNN1)

Vanin-1 (VNN1) je epitelni ektoenzim sa panteteinaznom aktivnošću, uključen u ćelijski odgovor na oksidativni stres *in vivo*. Katalizuje hidrolizu panteteina do pantotenske kiseline (vitamina B5) i cisteamina, čime učestvuje u metabolizmu koenzima A (CoA) i regulaciji redoks homeostaze. VNN1 je vezan za ćelijsku membranu putem glikozilfosfatidilinozitol (GPI) ankera, dok su opisani i njegovi rastvorljivi oblici, što ukazuje na potencijalne lokalne i sistemske efekte ovog enzima [181, 182].

U fiziološkim uslovima, VNN1 se eksprimira u organima sa intenzivnim metabolizmom, uključujući jetru, pluća, gastrointestinalni trakt i bubrege [183]. U bubrežima ljudi i glodara, VNN1 se dominantno lokalizuje u četkastoj ivici epitela proksimalnih tubula, što je u skladu sa visokom metaboličkom i transportnom aktivnošću ovih ćelija [181].

Fiziološka uloga VNN1 je povezana sa održavanjem intracelularne homeostaze CoA i modulacijom oksidativnog stresa. Razgradnjom panteteina, međuproizvoda u katabolizmu CoA, VNN1 oslobađa pantotensku kiselinu, omogućavajući resintezu CoA, ali istovremeno proizvodi cisteamin, molekul koji može ispoljavati prooksidativne i proinflamatorne efekte. Eksperimentalna istraživanja na VNN1-deficitarnim životinjskim modelima pokazala su povećane rezerve glutationa i pojačanu otpornost na oksidativni stres i inflamaciju, što ukazuje na potencijalnu patofiziološku ulogu VNN1 u regulaciji redoks ravnoteže [183, 184]. U eksperimentalnim modelima ishemijsko-reperfuzionog i nefrotoksičnog AOB, VNN1 je identifikovan kao jedan od gena sa najranijom i najizraženijom indukcijom ekspresije u proksimalnim tubulima [185, 186].

Porast koncentracije VNN1 u urinu registrovan je u ranoj fazi AOB, pre porasta serumskog kreatinina i pre pojave promena drugih strukturnih biomarkera tubulskog oštećenja, kao što su N-acetil- β -D-glukozaminidaza (NAG), NGAL i KIM-1, naročito u modelima nefrotoksičnosti izazvane lekovima [186, 187].

Kliničke studije su dodatno potvrdile da se urinarni VNN1 može detektovati sa visokom osetljivošću kod bolesnika sa tubulskim oštećenjem, uključujući opstruktivne i nefrotoksične oblike bubrežnog oštećenja, što potvrđuje njegov potencijal kao ranog i neinvazivnog biomarkera proksimalnog tubulskog oštećenja [161].

Zbog svoje specifične tubulske ekspresije, ranog porasta u urinu i povezanosti sa oksidativnim stresom, VNN1 predstavlja obećavajući biomarker AOB. Međutim, njegova precizna patofiziološka uloga i klinička vrednost u različitim etiološkim oblicima AOB

zahtevaju dalju validaciju u kliničkim studijama.

1.6. Oksidativni stres i njegov značaj kod hemoterapijom indukovano g oštećenja bubrega

1.6.1. Osnove oksidativnog stresa i redoks biologije

Oksidativni stres predstavlja funkcionalni poremećaj redoks regulacije ćelije, koji nastaje usled nesklada između stvaranja ROS i kapaciteta antioksidativne odbrane. Očuvanje redoks ravnoteže je neophodno za normalno funkcionisanje ćelije, dok njegovo narušavanje doprinosi razvoju brojnih hroničnih i malignih oboljenja [188].

Reaktivne kiseonične vrste nastaju kao fiziološki nusproizvodi ćelijskog metabolizma, pre svega mitohondrijskog disanja, ali i tokom aktivnosti različitih enzima kao što su NADPH-oksidge (nikotinamid-adenin- dinukleotid fosfat oksidge), ksantin-oksidge i ciklooksigenaze. Reaktivne kiseonične vrste obuhvataju slobodne radikale (superoksidni anjon-radikal, hidroksilni radikal) i neradikalne molekule (vodonik-peroksid, H₂O₂) [189].

1.6.2. Dvostruka uloga ROS: fiziološka signalizacija i patološko oštećenje

U fiziološkim uslovima, niske do umerene koncentracije ROS imaju ključnu ulogu u regulaciji ćelijske signalizacije, proliferacije, diferencijacije i adaptivnih odgovora na stres. Nasuprot tome, prekomerna produkcija ROS dovodi do oksidativnog oštećenja lipida, proteina i nukleinskih kiselina, čime se narušava strukturni i funkcionalni integritet ćelije [190].

1.6.2.1. Markeri oksidativnog oštećenja

1.6.2.1.1. Lipidna peroksidacija

Oksidativno oštećenje lipida se manifestuje procesom lipidne peroksidacije, tokom kojeg dolazi do stvaranja sekundarnih produkata, kao što su malondialdehid (MDA) i 4-hidroksinonenal (4-HNE). Ovi molekuli se rutinski koriste kao indirektni markeri oksidativnog oštećenja membranskih struktura [191]. Pored pojedinačnih produkata, savremeni koncepti procene oksidativnog stresa uključuju određivanje ukupnog oksidantnog statusa (ukupni oksidativni status, TOS), koji omogućava procenu ukupnog oksidativnog opterećenja organizma [192].

1.6.2.1.2. Markeri oksidacije proteina

Proteini predstavljaju značajnu metu oksidativnih modifikacija. Njihova oksidacija se kvantifikuje merenjem karbonilnih grupa i produkata napredne oksidacije proteina (Advanced Oxidation Protein Products, AOPP), koji se smatraju pouzdanim markerima oksidativnog stresa [193].

1.6.2.1.3. Markeri oštećenja dezoksiribonukleinske kiseline

Oštećenje dezoksiribonukleinske kiseline predstavlja jednu od najznačajnijih bioloških posledica oksidativnog stresa. Za procenu oštećenja DNK na nivou pojedinačnih ćelija često se koristi alkalna varijanta testa komete (comet assay), koja omogućava detekciju jednolančanih i dvolančanih prekida DNK. Primena ove metode u nemaligim ćelijama obolelih pacijenata omogućava uvid u sistemske efekte terapije i genotoksično opterećenje organizma [194].

1.6.3. Antioksidativni odbrambeni sistem

Ćelije poseduju složen antioksidativni odbrambeni sistem koji obuhvata enzimске komponente (superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-peroksidaza, glutation-reduktaza) i neenzimske komponente (glutacion, vitamin C, vitamin E). Integrisana procena antioksidativne sposobnosti organizma izvodi se merenjem ukupnog antioksidativnog statusa (ukupni antioksidativni status, TAS). U novije vreme koristi se i parametar prooksidativno-antioksidativni balans (PAB), koji omogućava simultanu procenu oba aspekta redoks statusa [195].

1.6.4. Oksidativni stres u tumorskoj biologiji

Tumorske ćelije karakterišu povišeni bazalni nivoi ROS, ali istovremeno aktiviraju adaptivne antioksidativne mehanizme, održavajući ROS koncentracije u opsegu koji pogoduje proliferaciji, invaziji i preživljavanju. Ova „napeta redoks ravnoteža" (redox stress) predstavlja jednu od ključnih karakteristika maligno transformisanih ćelija i tumorskog metabolizma [196].

1.6.5. Oksidativni stres i hemioterapijom izazvano akutno oštećenje bubrega

Kao što je ranije istaknuto u kontekstu cisplatinске nefrotoksičnosti, oksidativni stres predstavlja centralni patogenetski mehanizam AOB izazvanog hemioterapijom. Citostatici poput cisplatina, ifosfamida i metotreksata indukuju oksidativni stres u bubrežnom tkivu kroz povećanu produkciju ROS i smanjenu antioksidativnu odbranu, sa posledičnim oksidativnim oštećenjem lipida, proteina i DNK. Intenzitet oksidativnog stresa korelira sa težinom bubrežnog oštećenja i kliničkim ishodom [197].

1.7. Paraoksonaza 1 (PON1) – struktura, funkcija i značaj u onkologiji

1.7.1. Struktura i funkcija PON1

Paraoksonaza 1 (PON1) je kalcijum-zavisni esterazni enzim molekulske mase približno 43 kDa, sintetisan pretežno u jetri, koji se u cirkulaciju otpušta vezan za lipoproteine visoke gustine (HDL). Paraoksonaza 1 poseduje izraženu antioksidativnu aktivnost kroz hidrolizu oksidovanih fosfolipida i lipidnih peroksida, čime doprinosi zaštiti lipoproteina i ćelijskih membrana od oksidativnog oštećenja [198].

1.7.2. PON1 u patofiziologiji malignih bolesti

Kod pacijenata obolelih od različitih malignih bolesti zabeležena je smanjena serumska aktivnost PON1 u poređenju sa zdravim kontrolama. Ovaj nalaz se dovodi u vezu sa hroničnim oksidativnim stresom prisutnim u malignom oboljenju, kao i sa promenama u strukturi i funkciji HDL čestica. Smanjena aktivnost PON1 doprinosi daljem pogoršanju oksidativnog statusa, jer dolazi do smanjene sposobnosti organizma da neutrališe oksidovane lipide. Genski polimorfizmi PON1 (Q192R i L55M) mogu dodatno modifikovati enzimsku aktivnost i individualnu osetljivost na oksidativna oštećenja [198].

1.7.3. Uticaj hemioterapije na PON1 i oksidativni stres

Tokom primene hemioterapije dolazi do značajnog porasta markera lipidne peroksidacije (MDA, 4-HNE) i ukupnog oksidativnog statusa (TOS), uz istovremeno smanjenje ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAS) i aktivnosti antioksidativnih enzima, uključujući PON1. Smatra se da snižena aktivnost PON1 tokom primene ovih lekova nastaje kao posledica direktnog oksidativnog oštećenja enzimske molekule, promena u HDL česticama i supresije sinteze u jetri usled sistemske inflamacije i toksičnih efekata citostatika na hepatocite. Pad PON1 aktivnosti tokom terapijske primene citostatika je u pozitivnoj korelaciji sa porastom MDA i PAB vrednosti, što potvrđuje blisku povezanost PON1 sa ukupnim redoks statusom organizma [199].

1.7.4. PON1 kod pedijatrijskih onkoloških pacijenata

Kod dece obolele od malignih bolesti, dostupni podaci ukazuju na sniženu bazalnu aktivnost PON1 već u trenutku postavljanja dijagnoze, uz dalje smanjenje tokom primene hemioterapije. Ovakvi nalazi sugerišu da PON1 može imati potencijalnu ulogu u proceni kumulativnog oksidativnog opterećenja i u identifikaciji pacijenata sa povećanim rizikom od komplikacija terapijske primene lekova sa nefrotoksičnim potencijalom među kojima su cisplatin i ifosfamid [200].

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Planom istraživanja predviđeni su sledeći ciljevi:

1. Ispitati dinamiku promena konvencionalnih (serumski kreatinin, procenjena jačina glomerulske filtracije) i novijih serumskih (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom, cistatin C i fibroblastni faktor rasta-23) i urinarnih (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom, molekul bubrežnog oštećenja-1, jetrin protein tip 1 koji vezuje masti, i vanin-1) biomarkera bubrežne funkcije kod dece obolele od malignih bolesti tokom inicijalnog ciklusa terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida
2. Utvrditi dijagnostički značaj ovih parametara u skriningu razvoja subkliničnog akutnog oštećenja bubrežne funkcije u ovoj populaciji dece
3. Učiniti analizu vremenski zavisnih promena novih serumskih (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom, cistatin C i fibroblastni faktor rasta-23) i urinarnih (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom, molekul bubrežnog oštećenja-1, jetrin protein tip 1 koji vezuje masti, i vanin-1) biomarkera tokom ponavljanih ciklusa primene cisplatina i/ili ifosfamida
4. Ispitati uticaj primene cisplatina i ifosfamida na vrednosti parametara oksidativno-stresnog statusa: TOS (totalni oksidativni status), TAS (totalni antioksidativni status), PON1 (aktivnost enzima paraoksonaze 1) i PAB (prooksidativno-antioksidativni balans) tokom inicijalnog i ponavljanih ciklusa hemioterapije
5. Proceniti značaj dinamike promena novih serumskih (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom, cistatin C i fibroblastni faktor rasta-23) i urinarnih (lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom, molekul bubrežnog oštećenja-1, jetrin protein tip 1 koji vezuje masti, i vanin-1) biomarkera tokom terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida za predviđanje subkliničkog akutnog oštećenja bubrega kao i razvoja hroničnog toksičnog bubrežnog oštećenja
6. Ispitati prevalencu, prirodu i težinu hroničnog toksičnog oštećenja bubrega izazvanog cisplatinom i/ili ifosfamidom, jednu i više godina nakon završenog lečenja
7. Utvrditi da li razvoj subkliničkog akutnog oštećenja bubrega tokom terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida korelira sa razvojem hronične bolesti bubrega najmanje godinu dana od završetka lečenja maligne bolesti

3. MATERIJAL I METODE

3.6. Ispitanici i dizajn studije

U ovoj kohortnoj studiji je učestvovalo 38 bolesnika uzrasta 1-18 godina koji su zbog prirode maligne bolesti u periodu od 1. januara 2012 godine do 1. juna 2017 godine lečeni na Univerzitetскоj dečjoj klinici u Beogradu primenom cisplatina i/ili ifosfamida (1-4 ciklusa hemioterapije). Kontrolnu grupu je činilo 19 dece koja su uspešno završila lečenje jednu i više godina pre ispitivanja.

Kriterijumi za isključivanje bolesnika iz studije su: uzrast stariji od 18 godina, akutna ili hronična bolest bubrega, primena drugih nefrotoksičnih lekova i supstanci (tokom i četrnaest dana pre primene cisplatina i/ili ifosfamida), infekcija i smrt bolesnika. Isključivanjem drugih potencijalnih uticaja na bubrežnu funkciju naših ispitanika, jedini potencijalni uzročnik bubrežnog oštećenja je mogla biti primena citotoksičnih lekova cisplatina i/ili ifosfamida. Procenjenu jačinu glomerulske filtracije (pJGF) smo računali prema formuli Švarca i saradnika [127], $pJGF \text{ (ml/min/1.73 m}^2\text{)} = k \times \text{telesna visina/serumski kreatinin}$, pri čemu je telesna visina izražena u centimetrima (cm), serumski kreatinin u $\mu\text{mol/l}$ dok je koeficijent k određen uzrastom ispitanika (39 za decu uzrasta ispod 2 godine; 48,6 za devojčice uzrasta starijeg od 2 godine i dečake uzrasta 2-12 godina i 61,9 za dečake uzrasta ≥ 13 godina). Akutno bubrežno oštećenje je definisano i klasifikovano primenom KDIGO [1]. Za dijagnozu AOB korišćene su relativne promene kreatinina u serumu kao jedini kriterijum. Izlučivanje urina nije korišćeno kao kriterijum, jer oligurija nije tipična karakteristika AOB izazvanog primenom cisplatina ili ifosfamida. Definisana su tri stadijuma prema težini AOB: stadijum 1 koji podrazumeva povećanje kreatinina seruma za $\geq 26,5 \mu\text{mol/L}$ od početne vrednosti u roku od 48 sati od primene leka; stadijum 2 - povećanje kreatinina seruma 2–2,9 puta od početne vrednosti i stadijum 3 - povećanje kreatinina seruma > 3 puta od početne vrednosti (Tabela 1).

Protokoli hemoterapije koji uključuju dva ispitivana citotoksična leka, cisplatin i ifosfamid, određeni su prema dijagnozi maligne bolesti i stratifikaciji stadijuma/rizika. Cisplatiniski protokoli su se sastojali od 4 do 8 ciklusa terapije koje su bolesnici primali svake 2 do 3 nedelje. Lek je primenivan intravenskim putem u vidu jednokratne infuzije visoke doze cisplatina ($80\text{-}100 \text{ mg/m}^2$) ili tokom pet uzastopnih dana u maloj dozi, 20 mg/m^2 dnevno. Svi bolesnici su hidrirani intravenskim putem sa $3 \text{ l/m}^2/\text{dan}$ kristaloidnih rastvora, 12 sati pre i tokom primene hemoterapije. Kumulativna doza cisplatina po ciklusu je iznosila $50\text{-}100 \text{ mg/m}^2$. Raspon doze ifosfamida se kretao $0,8\text{-}3 \text{ g/m}^2/\text{dan}$, zavisno od prirode bolesti, i u ovom slučaju lek je primenjivan intravenski putem infuzije tokom dva do pet uzastopnih dana po ciklusu, praćen istovremenom 24-časovnom kontinuiranom hidratacijom ($3 \text{ l/m}^2/\text{dan}$ kristaloidnih rastvora) i primenom Uromiteksana (Mesna) u dozi od 120% ekvivalentne doze ifosfamida. Kumulativna doza ifosfamida koju su bolesnici primili po ciklusu je iznosila $3 \text{ do } 9 \text{ g/m}^2$ telesne površine.

Na uključenju u studiju svim bolesnicima je učinjen detaljan klinički pregled sa merenjem telesne visine, telesne težine, krvnog pritiska, određivanjem telesne površine i

indeksa telesne mase. Tokom ispitivanja su uzimani podaci o primenjenoj dozi leka (po ciklusu hemioterapije i kumulativna doza leka), sukcesivnoj ili istovremenoj primeni oba leka kao i eventualnom prisustvu komorbiditeta.

Svakom bolesniku je prilikom inicijalnog ciklusa hemioterapije cisplatinom i/ili ifosfamidom uzimano 5 uzoraka seruma: neposredno pre, 2 sata, 6 sati, 24 sata i 48 sati nakon hemoterapije i četiri uzorka urina (neposredno pre, 2 sata, 6 sati i 24 sata nakon hemoterapije). Kod 19 od 38 bolesnika su uzorci seruma i urina uzimani u istim vremenskim tačkama i tokom ponavljanih, uzastopnih ciklusa terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida (3 uzastopna ciklusa hemioterapije). Svi uzorci seruma i urina su unutar sat vremena od uzorkovanja centrifugirani (3000 o/min tokom 10 minuta), a supernatanti uzoraka su zamrzavani na -80 °C do momenta analiziranja. Bolesnicima su pre, 24 i 48 sati nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida iz uzetih uzoraka seruma i urina rađeni standardni biohemijski parametri. Analiza novih serumskih biomarkera (cistatin C, NGAL i FGF-23), parametara oksidativnog stresa (TAS, TOS, PON1 i PAB) i urinarnih (NGAL, KIM-1, L-FABP i VNN-1) biomarkera je rađena naknadno.

Takođe, bolesnicima (n=19) kod kojih je uspešno završeno lečenje maligniteta i koji su nastavili praćenje na Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu, kontrolni uzorci seruma i urina (po jedan uzorak seruma i urina) su uzimani najmanje godinu dana od završetka lečenja. I ovi uzorci su unutar sat vremena od uzorkovanja centrifugirani (3000 o/min tokom 10 minuta). Iz dela uzetih uzoraka su odmah po odvajanju rađeni standardni biohemijski parametri dok je deo supernatanta uzoraka zamrzavan na -80 °C do momenta analiziranja novih serumskih biomarkera (cistatin C, NGAL i FGF-23) parametara oksidativnog stresa (TAS, TOS, PON1 i PAB) i urinarnih (NGAL, KIM-1, L-FABP i VNN-1) biomarkera.

Svaki od ispitanika odnosno njihovih roditelja ili staratelja su pre uključivanja u studiju detaljno obavešteni o cilju studije i potpisali su dobrovoljan pristanak za učešće u ispitivanju. Ovu studiju je odobrio Etički komitet Univerzitetne dečje klinike u Beogradu (br. 16/114 od 8.11.2010.) kao i Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (br. 29/IV-10 od 25.04.2016.). Studija je sprovedena u skladu sa načelima Dobre kliničke prakse i Helsinškom deklaracijom.

3.7. Merenje i preračunavanje standardnih serumskih i urinarnih parametara

Nivoi kreatinina u serumu i urinu su mereni u biohemijskoj laboratoriji Univerzitetne dečje klinike u Beogradu metodom modifikovane kinetičke Jaffe-ove reakcije na autoanalizatoru "Dimension RxLMax" (Siemens Healthcare GmbH, Nemačka). Na istom aparatu su rađeni i ostali biohemijski parametri (glukoza, ureja, mokraćna kiselina, elektroliti, albumini, proteini, osmolalitet). U skladu sa standardnim formulama, preračunavani su odnosi proteini urina/kreatinin urina, albumen urina/kreatinin urina ekskrecija urinarnih elektrolita normalizovana u odnosu na izlučivanje kreatinina urinom (kalcijum, mokraćna kiselina), zatim frakcione ekskrecije filtriranog natrijuma (FeNa), kalijuma (FeK), magnezijuma (FeMg) i tubulska reapsorpcija fosfata (TRF).

3.8. Merenje novih biomarkera seruma i urina

Serumski cistatin C, NGAL i FGF-23 kao i urinarni NGAL, KIM-1, L-FABP1 i VNN-1 su prilikom primene cisplatina i/ili ifosfamida određivani iz četiri uzorka (neposredno pre davanja leka, 2, 6 i 24 sata od primene leka) kao i nakon završenog lečenja maligne bolesti izlečenim bolesnicima iz jednog uzorka seruma i urina. Određivanje nivoa ovih biomarkera je rađeno primenom komercijalno dostupnih metoda enzimske imunoreakcije, enzyme-linked immunoassay - ELISA (R&D Systems, Inc., Mineapolis, MN, SAD), prema preporukama proizvođača. Nivoi novih urinarnih biomarkera prilagođeni su prema koncentraciji kreatinina u urinu kako bi se minimizirali efekti hiperhidracije i izraženi su u ng/mg. Za merenje parametara oksidativnog statusa (TAS, TOS, PON1 i PAB) iz uzoraka seruma primenjena je spektrofotometrijska metoda na analizatoru „ILab 300 Plus analyzer Instrumentation Laboratory, Milan, Italy“.

3.9. Ispitivani ishodi namanje jednu godinu od završetka lečenja

Ishod nakon završetka lečenja malignih bolesti primenom nefrotoksičnih citostatika (cisplatina i/ili ifosfamida) koji je proučavan uključivao je razvoj HBB. Hronična bolest bubrega je definisana prema KDIGO kriterijumima [201], na osnovu smanjenja pJGF ili prisustva albuminurije a težina je kategorizovana kako je prikazano u tabelama 2 i 3. Kod dece uzrasta starijeg od 2 godine, HBB je definisana pJGF < 90 mL/min/1,73m² (Tabela 3) ili odnosom albumin urina/kreatinin urina (uMa/uCr) ≥ 3 mg/mmol (Tabela 4) [201]. Kod dece mlađe od 2 godine, pJGF vršena je u odnosu na uzrastom prilagođene referentne vrednosti, imajući u vidu fiziološki niže vrednosti glomerulske filtracije u ranom postnatalnom periodu. (Tabela 2) [202]. S obzirom na to da ne postoje univerzalno prihvaćeni uzrastom specifični pragovi za definisanje povišene albuminurije u ovom uzrastu, interpretacija odnosa uMa/uCr vršena je u kontekstu uzrastom zavisne distribucije vrednosti, u skladu sa podacima iz pedijatrijskih populacionih studija [203, 204].

Tabela 2. Normalne vrednosti jačine glomerulske filtracije kod zdrave dece mlađe od dve godine procenjene plazmatskim klirensom ⁵¹Cr-EDTA [202]

Uzrast (meseci)	JGF (mL/min/1.73 m ²) Mean± SD
<1,2	52,0 ± 9,0
1,2–3,6	61,7 ± 14,3
3,6–7,9	71,7 ± 13,9
7,9–12	82,6 ± 17,3
12–18	91,5 ± 17,8
18–24	94,5 ± 18,1
>24	104,4 ± 19,9

Legenda Tabele 2.: JGF – jačina glomerulske filtracije; Mean – srednja vrednost; SD – standardna devijacija; ⁵¹Cr-EDTA (Cr-ethylenediaminetetraacetic acid clearance) - klirens hrom-etilendiamintetrasirćetne kiseline.

Tabela 3. Klasifikacija hronične bolesti bubrega

Stadijum HBB	JGF (ml/min/1,73m ²)	Opis
1	≥90	Oštećenje bubrega sa normalnom ili povećanom IGF
2	89-60	Oštećenje bubrega sa blagim smanjenjem JGF
3A	59-45	Oštećenje bubrega sa umerenim smanjenjem JGF
3B	44-30	Oštećenje bubrega sa umerenim smanjenjem JGF
4	29-15	Oštećenje bubrega sa teškim smanjenjem JGF
5	<15	Terminalna insuficijencija bubrega

Adaptirano prema KDIGO smernicama za HBB iz 2013. godine [201].

Legenda Tabele 3.: *HBB – hronična bolest bubrega; JGF – jačina glomerulske filtracije*

Albuminurija je prema svom obimu klasifikovana u tri stadijuma (Tabela 4).

Tabela 4. KDIGO podela albuminurije u tri stadijuma kod hronične bolesti bubrega

Stadijum albuminurije	Albumini urina/kreatinin urina (mg/mmol)	Oznaka
A1	<3	Normalna
A2	3-30	Visoka
A3	>30	Veoma visoka

Adaptirano prema KDIGO smernicama za HBB iz 2013. godine [201].

Hronična tubulska disfunkcija je definisana primenom kriterijuma Nacionalnog instituta za rak (NCI, National Cancer Institute) koji pružaju konzistentnu, jednostavnu i široko prihvaćenu klasifikaciju težine serumskih elektrolitnih poremećaja izazvanih primenom antitumorskih lekova (Tabela 5). Zajednički terminološki kriterijumi Nacionalnog instituta za rak za neželjene događaje (NCI-CTCAE, Common Terminology Criteria for Adverse Events) klasifikuje abnormalnosti serumskih elektrolita u pet stepena težine, pri čemu se definicije zasnivaju na odstupanju od normalnih vrednosti za uzrast, kliničkim manifestacijama i potrebama za terapijskim intervencijama. Ova klasifikacija omogućava preciznu procenu hipokalijemije, hipomagnezijemije i hipofosfatemije, koje predstavljaju ključne biomarkere tubulske disfunkcije izazvane lekovima kao što su cisplatin i ifosfamid (Tabela 5) [205].

Takođe, za definisanje hronične tubulske disfunkcije su pored serumskih kriterijuma korišćeni i urinarni markeri kao što su FeMg>4% [206], FeK≥20% [207] ili TRF>85% [208] kod bolesnika sa normalnom JGF i normalnim serumskim nivoima magnezijuma, kalijuma i fosfata.

Tabela 5. NCI klasifikacija težine elektrolitnih poremećaja

Neželjeni događaji	Stepen				
	1	2	3	4	5
Hipokalijemija K^+ (mmol/l)	<DGU-3,0	<DGU-3,0 simptomatska, zahteva lečenje	<3-2,5; zahteva hospitalizaciju	<2,5; životno ugrožavajuće posledice	Smrtni ishod
Hipomagnezijemija Mg^{++} (mmol/l)	<DGU-0,5	<0,5-0,4	<0,4-0,3	<0,3; životno ugrožavajuće posledice	Smrtni ishod
Hipofosfatemija PO_4^- (mmol/l)	<DGU-0,8	<0,8-0,6	0,6-0,3	<0,3; životno ugrožavajuće stanje	Smrtni ishod

Legenda Tabele 5.: NCI – Nacionalni institut za rak; DGU – donja granica referentne vrednosti za uzrast; K^+ - kalijum, Mg^{++} - magnezijum; PO_4^- - fosfati.

U skladu sa smernicama iz literature, hronična toksično oštećenje bubrega ≥ 1 godinu od izlečenja maligne bolesti je definisano sledećim kriterijumima:

- Smanjena JGF ili prisustvo albuminurije (KDIGO kriterijumi HBB)
- Prisustvo hipokalijemije, hipomagnezijemije ili hipofosfatemije stepena ≥ 1 prema NCI-CTCAE uprkos adekvatnoj nutritivnoj podršci
- Povećana FeK, FeMg ili smanjena TRF
- Udruženi kriterijumi

3.5. Statistička analiza

U statističkoj analizi podataka primenjene su deskriptivne i analitičke statističke metode. Kontinuirane varijable izražene su kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD) ili kao medijana sa interkvartilnim opsegom (IQR), u zavisnosti od normalnosti njihove distribucije. Normalnost distribucije je procenjena pomoću *Kolmogorov-Smirnov* testa sa *Lilliefors* korekcijom i *Shapiro-Wilk* testa. Kategoričke varijable prikazane su kao učestalosti i procenti.

Poređenja kontinuiranih varijabli među grupama izvršena su korišćenjem t-testa za nezavisne uzorke i *Mann-Whitney U* testa. Poređenja kontinuiranih varijabli među različitim tačkama merenja procenjena su pomoću *Friedman* testa sa post hoc poređenjima. Poređenje distribucije kategoričkih varijabli među grupama procenjeno je *Hi-kvadrat* testom i *Fisher* testom egzaktne verovatnoće.

Korelaciona analiza je sprovedena korišćenjem *Pearson* i *Spearman* testa korelacije. Nakon analize asocijacije, procenjena je uzročno-posledična veza korišćenjem univarijantne i multivarijantne binarne logističke regresione analize. Konačno, dijagnostički potencijal ispitivanih parametara procenjen je izvođenjem receiver operating characteristic (ROC) analize. Granica statističke značajnosti je postavljena na $p < 0,05$. Statistička analiza je sprovedena pomoću softvera SPSS for Windows v27.0 (IBM, Armonk, New York, USA) i GraphPad Prism for Windows v10.0 (GraphPad, San Diego, California, USA).

4. REZULTATI

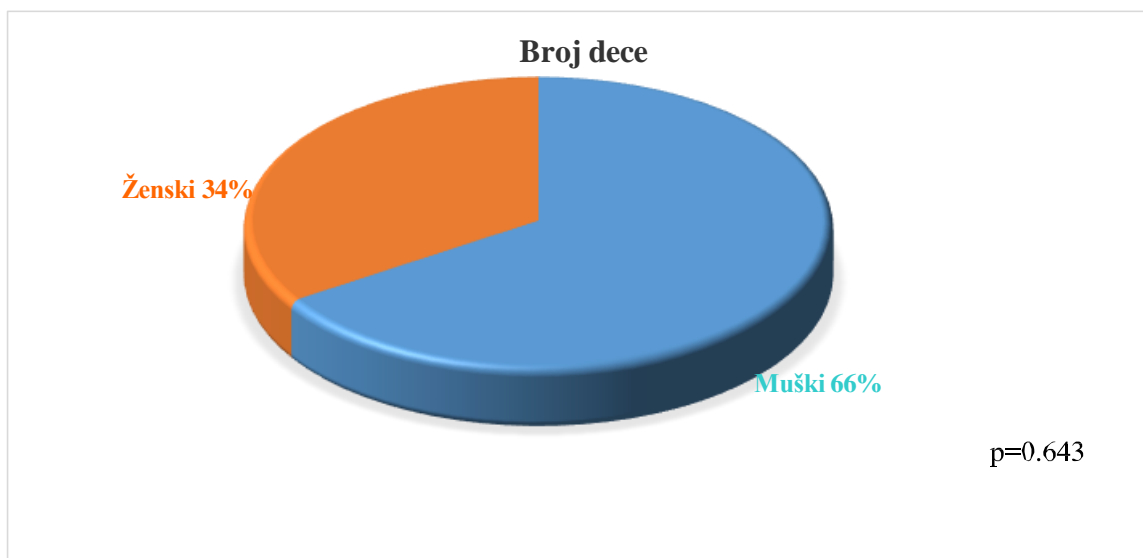
4.1. Bazične karakteristike ispitanika i demografski podaci

U ispitivanje je uključeno 38 bolesnika uzrasta 1 do 17 godina, medijana uzrasta 5 godina (Interkvartilni opseg - IQR 2-14 godina), koji su imali normalnu bubrežnu funkciju i koji su zbog prirode osnovne bolesti primali citotoksične lekove cisplatin i/ili ifosfamid. Najveći broj ispitanika je bilo uzrasta ispod od 5 godina. Raspodela dece po uzrastnim grupama i polu su prikazani u tabeli 6 i grafikonu 1.

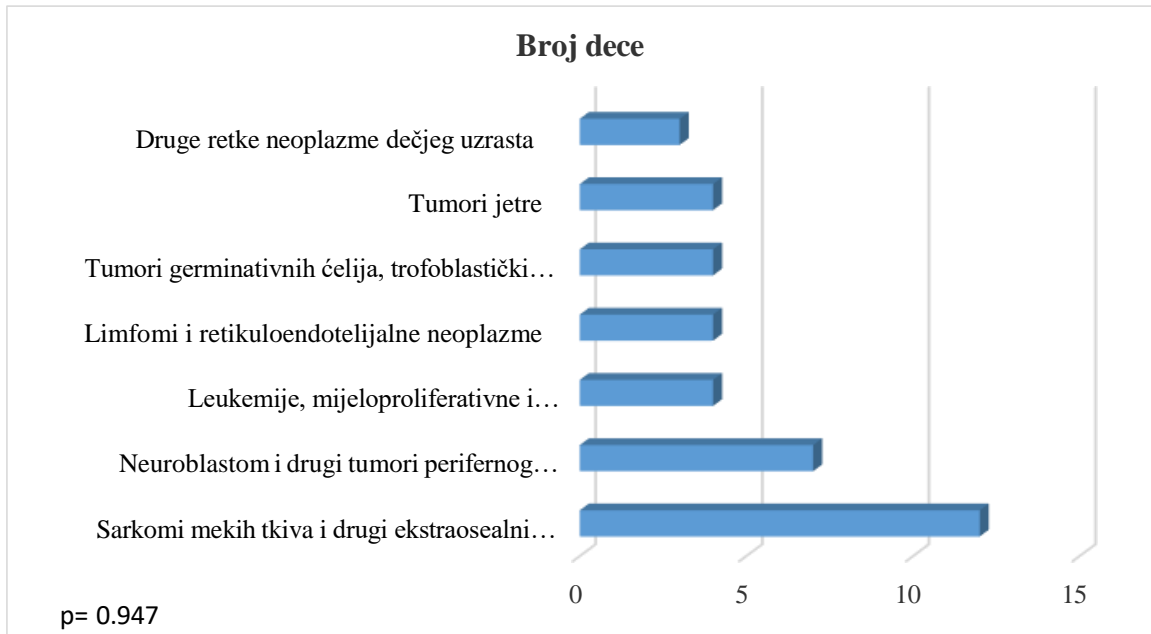
Najveći broj bolesnika (Grafikon 2) je lečen zbog sarkoma mekih tkiva, na prvom mestu rabdomiosarkoma i *Ewing*-ovog sarkoma (31,6%), dok su drugi najčešći uzroci primene hemioterapije u našoj grupi ispitanika bili neuroblastomi (18,4%). Ifosfamid je primalo 23 bolesnika, 13 bolesnika je lečeno primenom cisplatin dok je kod dva bolesnika primenjena kombinovana terapija - cisplatin + ifosfamid (Grafikon 3).

Tabela 6. Uzrastne grupe ispitanika

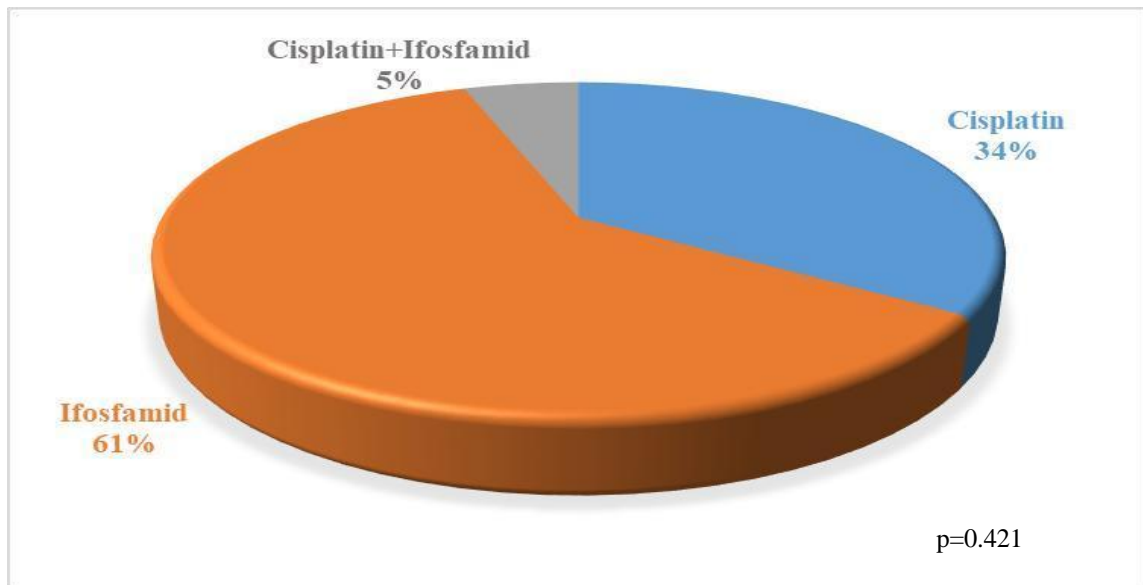
Uzrastna grupa	N	%
<5 godina	17	44,7
5-10 godina	8	21,1
>10 godina	13	34,2



Grafikon 1. Distribucija ispitanika u odnosu na pol



Grafikon 2. Dijagnoza maligne bolesti



Grafikon 3. Raspodela citostatika koji su pacijenti dobijali

4.2. Akutno bubrežno oštećenje uzrokovano hemioterapijom

Od 38 bolesnika uključenih u istraživanje, tokom prvog ili drugog ciklusa hemioterapije, 6 bolesnika (15,79%) je razvilo AOB dva dana od primene cisplatina i/ili ifosfamida. Demografske, kliničke i osnovne laboratorijske karakteristike grupa bolesnika koji su razvili AOB (AOB grupa) i bolesnika koji nisu razvili AOB (ne-AOB grupa) prikazane su u Tabeli 7. Prema KDIGO kriterijumima, 4/38 (10,5%) bolesnika je imalo stadijum 1 AOB dok je 2/38 (5,3%) bolesnika imalo stadijum 2 AOB. Medijalna uzrasta bolesnika koji su razvili hemioterapijom uzrokovano AOB je bila 1,50 godina (IQR 1,00-6,75 godina) i bili su mlađeg uzrasta od bolesnika koji nisu razvili AOB nakon primene cisplatina ili ifosfamida (medijalna uzrasta 6,00 godina; IQR 2,25-14,00 godina), ali ta razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,062$) (Tabela 7). Deca koja su razvila AOB su imala manju telesnu masu u poređenju sa bolesnicima koji nisu razvili AOB, ali ni ova razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,519$).

Tabela 7. Demografske i kliničke karakteristike bolesnika sa i bez AOB

Parametar	KDIGO		p	Test
	ne-AOB (n=32)	AOB (n=6)		
Pol (dečaci/devojčice) (n; (%))	20/12 (62,5/37,5)	5/1 (83,3/16,7)	0,643	Fisher test
Uzrast (godine)	6,00 (2,25-14,00)	1,50 (1,00-6,75)	0,064	Mann-Whitney test
ITM (kg/m ²)	16,20 (14,03-18,50)	15,65 (14,88-16,25)	0,749	Mann-Whitney test
HT režimi; n (%)				
CIS (n=13, 34,2)	11 (34,4)	2 (33,3)	0,388	Hi-kvadrat test
IFO (n=23, 60,5)	20 (62,5)	3 (50,0)		
CIS+IFO (n=2, 5,3)	1 (3,1)	1 (16,7)		
Tipovi maligniteta; n (%)				
RMS+ES (n=8, 21,1)	6 (18,8)	2 (33,3)	0,879	Hi-kvadrat test
NB (n=8, 21,1)	6 (18,8)	2 (33,3)		
ALL (n=4, 10,5)	4 (12,5)	0 (0,0)		
BL (n=4, 10,5)	4 (12,5)	0 (0,0)		
TGĆ (n=3, 7,9)	2 (6,3)	1 (16,7)		
HB+HCC (n=4, 10,6)	3 (9,4)	1 (16,6)		
NFK (n=1, 2,6)	1 (3,1)	0 (0,0)		
PPB (n=1, 2,6)	1 (3,1)	0 (0,0)		

Legenda Tabele 7.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; ITM – indeks telesne mase; sCr – serumski kreatinin; HT- hemioterapija; pJGF – procenjena jačina glomerulske filtracije Schwartz formulom; CIS – cisplatin; IFO – ifosfamid, SMT – sarkomi mekih tkiva; RMS – rabdomiosarkom; ES – Ewing- ov sarkom; NB – neuroblastom; ALL - akutna limfoblastna leukemija; BL – Burkitt-ov limfom; TGĆ – tumori germinativnih ćelija; HB – hepatoblastom; HCC – hepatocelularni karcinom; NFK – nazofaringealni karcinom; PPB - pleuropulmonalni blastom.

4.3. Serumski biomarkeri bubrežne funkcije i markeri oksidativnog stresa

4.3.1. Promene ispitivanih serumskih biomarkera bubrežne funkcije tokom studije

Statistički značajna razlika između AOB i ne-AOB grupa bolesnika utvrđena je za bazalne vrednosti kreatinina seruma kao i za procenjenu jačinu glomerulske filtracije 48h nakon završetka ciklusa hemioterapije. Naime, bolesnici koji nisu razvili AOB imali su statistički značajno više bazalne vrednosti kreatinina seruma u poređenju sa grupom bolesnika koja je ispunjavala KDIGO kriterijume za AOB ($p=0,043$) (Tabela 8). Četrdeset osam sati po isteku hemioterapije, bolesnici koji su razvili AOB su imali statistički značajno manju procenjenu JGF u poređenju sa grupom bolesnika koja nije razvila AOB ($p=0,002$) (Tabela 8).

Koncentracije novih serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23 i cistatin-a C) su se povećavale u odnosu na bazalne nivoe ovih biomarkera nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida u obe grupe ispitanika (Tabela 8, Grafikon 4 a-g). Najviše vrednosti serumskih biomarkera NGAL i cistatin C zabeležene su 24h nakon primene hemioterapije (Tabela 8, Grafikon 4a, Grafikon 4c). U grupi bolesnika koji su razvili AOB ($n=6$), za razliku od grupe bolesnika koji nisu imali kriterijume za AOB ($n=32$), registrovan je raniji porast serumskog FGF-23, sa pikom vrednosti već 2h od primene hemioterapije (Tabela 8, Grafikon 4b). Razlika u nivoima novih biomarkera seruma između grupa ispitanika (AOB i ne-AOB) nije dostigla statističku značajnost.

Najveći pad nivoa parametra TAS u odnosu na bazalne vrednosti ovog parametra se javio ranije kod bolesnika koji su ispunjavali KDIGO kriterijume za AOB (6h od primene hemioterapije) u poređenju sa ne-AOB grupom bolesnika (24h od primene hemioterapije) (Tabela 9, Grafikon 4d). Za razliku od bolesnika kod kojih nisu bili ispunjeni kriterijumi za AOB (ne-AOB grupa ispitanika) kod kojih se najveći porast pokazatelja TOS-a javio 24h od isteka hemioterapije, kod bolesnika sa AOB ovaj parametar se nije povećavao nakon primene hemioterapije (Tabela 9, Grafikon 4e). Takođe, u obe grupe ispitanika je zabeležen pad nivoa pokazatelja prooksidativno-antioksidativnog balansa nakon primene hemioterapije, sa najnižim nivoima 24h od isteka citostatske terapije (Tabela 9, Grafikon 4g). Najveći pad pokazatelja PON1 zabeležen je 6h od isteka hemioterapije u ne-AOB grupi bolesnika dok su najniži nivoi ovog parametra oksidativnog stresa kod bolesnika koji su razvili subkliničko AOB zabeleženi 24h od isteka hemioterapije (Tabela 9, Grafikon 4f). Razlika u nivoima parametara oksidativnog stresa (TAS; TOS, PON1 i PAB) između ove dve grupe ispitanika (AOB i ne-AOB) nije dostigla statističku značajnost (Tabela 9).

Kod bolesnika koji su ispunjavali KDIGO kriterijume za AOB, procentualno najveći porast (u odnosu na bazalne nivoe) serumskih biomarkera NGAL i FGF-23 zabeležen je 6h a cistatina C seruma 24h od primene citotoksičnih lekova. U grupi bolesnika koji nisu razvili AOB, procentualno najveći porast sva tri serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23 i cistatin C) u odnosu na bazalne nivoe registrovan je tek 24h od primene hemioterapije (Tabela 10).

Kod bolesnika koji nisu ispunjavali kriterijume za AOB, procentualno najveće povećanje u odnosu na bazalne nivoe pokazatelja totalnog oksidativnog statusa se javilo 2h od isteka hemioterapije. Za razliku od ove grupe ispitanika, kod bolesnika koji su ispunili kriterijume za AOB, procentualno najveći porast parametra ukupnog oksidativnog statusa je zabeležen tek 24h od primene cisplatina i/ili ifosfamida (Tabela 11). Kada je reč o pokazatelju ravnoteže između prooksidativnog i antioksidativnog sistema u organizmu (PAB), procentualno najveće povećanje ovog parametra u obe grupe ispitanika se javilo 2h od isteka hemioterapije (Tabela 11).

Procentualno najveće smanjenje nivoa paraoksonaze-1 se u obe grupe ispitanika javilo 6h od isteka hemioterapije, dok je najveći pad pokazatelja ukupne antioksidativne zaštite (TAS) u odnosu na bazalni nivo zabeležen 2h od isteka hemioterapije kod ne-AOB grupe ispitanika odnosno 6h od isteka hemioterapije za AOB grupu ispitanika (Tabela 11). Navedene procentualne promene parametara oksidativnog stresa nisu imale statističku značajnost ni u jednoj tački merenja u obe grupe ispitanika.

Tabela 8. Vrednosti parametara bubrežne funkcije i novih serumskih biomarkera pre i nakon primene hemioterapije u grupama bolesnika sa i bez AOB

Parametar	ne-AOB (n=32) (Mean±SD/Med (IQR))	AOB (n=6) (Mean±SD/Med (IQR))	P
Bazalni sCr (µmol/l)	43,09±14,62	29,33±15,29	0,043*
Bazalna pJGF Schwartz formula (ml/min/1,73 m ²)	150,13±34,20	169,60±46,39	0,234
sCr 2h od HT (µmol/l)	44,50 (28,50-53,00)	31,00 (22,50-62,00)	0,483
pJGF Schwartz formula 2h od HT (ml/min/1,73m ²)	153,63±44,31	140,75±58,72	0,538
sCr 6h od HT (µmol/l)	45,31±16,17	43,83±26,44	0,854
pJGF Schwartz formula 6h od HT (ml/min/1,73m ²)	146,73±40,12	137,36±73,78	0,773
sCr 24h od HT (µmol/l)	44,94±16,68	47,83±35,47	0,852
pJGF Schwartz formula 24h od HT (ml/min/1,73m ²)	147,28±38,61	135,42±69,92	0,701
Bazalni sNGAL (ng/ml)	26,70 (22,70-82,27)	48,20 (25,25-98,97)	0,400
Bazalni sFGF-23 (ng/mL)	0,36 (0,24-0,61)	0,28 (0,15-0,78)	0,660
Bazalni sCyC (ng/ml)	0,69±0,12	0,67±0,11	0,742
sNGAL 2h od HT (ng/ml)	58,15 (18,13-96,20)	70,55 (30,11-106,15)	0,423
sFGF-23 2h od HT (ng/ml)	0,57 (0,29-0,75)	0,81 (0,26-1,39)	0,603
sCyC 2h od HT (ng/ml)	0,81±0,12	0,79±0,07	0,704
sNGAL 6h od HT (ng/ml)	68,95 (29,00-132,00)	130,50 (50,73-747,35)	0,200
sFGF-23 6h od HT (pg/ml)	0,59 (0,30-0,86)	0,75 (0,28-0,93)	0,689
sCyC 6h od HT (ng/ml)	0,82±0,14	0,86±0,06	0,578
sNGAL 24h od HT (ng/ml)	75,90 (42,30-210,38)	171,00 (51,43-394,50)	0,298
sFGF-23 24h od HT (pg/ml)	0,78 (0,31-1,32)	0,71 (0,51-2,13)	0,575
sCyC 24h od HT (ng/ml)	0,87±0,14	0,91±0,06	0,550
sCr 48h nakon HT (µmol/l)	50,31±16,30	60,50±20,46	0,185
JGF 48h nakon HT (ml/min/1,73m ²)	130,03±31,13	83,18±37,94	0,002**

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 8.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; HT – hemioterapija; sNGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; sCr – kreatinin seruma; pJGF – procenjena jačina glomerulske filtracije; sFGF-23 – serumski fibroblastni faktor rasta-23; sCyC – cistatin C seruma.

Tabela 9. Promene nivoa parametara oksidativnog stresa nakon primene hemioterapije u u grupama bolesnika sa i bez AOB

Parametar	ne-AOB (n=32) (Mean±SD/Med (IQR))	AOB (n=6) (Mean±SD/Med (IQR))	p
Bazalni TAS seruma (µmol/L)	725,61±307,86	796,67±227,21	0,596
Bazalni TOS seruma (µmol/L)	61,07±32,79	49,87±27,97	0,441
Bazalni PON1 seruma (U/L)	101,50 (41,00-241,50)	108,50 (31,13-211,00)	0,684
Bazalni PAB seruma (HKU)	158,00 (113,28-197,25)	181,90 (112,25-195,25)	0,671
TAS seruma 2h od HT (µmol/l)	644,24±250,65	670,50±311,05	0,822
TOS seruma 2h od HT (µmol/l)	63,07±27,12	40,62±18,46	0,062
PON1 seruma 2h od HT (U/L)	104,50 (56,00-261,50)	71,00 (47,00-165,25)	0,416
PAB seruma 2h od HT (HKU)	148,37±55,27	161,33±68,03	0,616
TAS seruma 6h od HT (µmol/l)	696,00 (550,00-935,00)	800,00 (463,25-1100,50)	0,711
TOS seruma 6h od HT (µmol/l)	62,75 (36,73-84,86)	48,90 (27,29-60,20)	0,243
PON1 seruma 6h od HT (U/l)	90,00 (35,00-268,00)	47,00 (35,75-154,25)	0,526
PAB seruma 6h od HT (HKU)	143,84±64,68	157,50±70,41	0,644
TAS seruma 24h od HT (µmol/l)	629,47±226,56	708,33±188,60	0,431
TOS seruma 24h od HT (µmol/l)	65,70 (38,90-85,56)	45,52 (35,60-61,44)	0,303
PON1 seruma 24h od HT (U/l)	100,00 (32,00-291,00)	42,50 (14,50-144,50)	0,176
PAB seruma 24h od HT (HKU)	138,47±61,72	148,17±61,38	0,727

Legenda Tabele 9.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; HT – hemioterapija; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze-1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 10. Procenat promene nivoa novih serumskih biomarkera u odnosu na bazalne nakon primene hemioterapije u grupama bolesnika sa i bez AOB

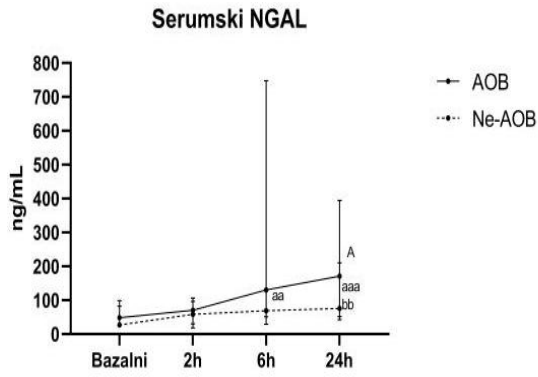
Parametar (% promene u odnosu na bazalne vrednosti)	ne-AOB (n=32) (Mean±SD/Med (IQR))	AOB (n=6) (Mean±SD/Med (IQR))	p
% promene sNGAL 2h od HT vrednosti	65,82 (-18,09-167,81)	6,93 (-8,73-93,95)	0,357
% promene sNGAL 6h od HT	66,18 (1,42-527,22)	395,06 (-5,78-768,28)	0,575
% promene sNGAL 24h od HT	131,99 (50,96-248,18)	194,23 (76,01-672,48)	0,496
% promene sFGF-23 2h od HT	11,13 (-20,07-115,35)	102,39 (37,40-396,50)	0,078
% promene sFGF-23 6h od HT	32,60 (-18,53-114,33)	144,16 (2,98-296,36)	0,150
% promene sFGF-23 24h od HT	77,86 (-3,86-218,57)	109,60 (38,76-2459,40)	0,262
% promene sCyC 2h od HT	13,14 (3,10-31,23)	19,76 (6,80-28,39)	0,741
% promene sCyC 6h od HT	18,56 (7,67-29,62)	22,64 (16,33-53,64)	0,295
% promene sCyC 24h od HT	22,19 (8,63-42,73)	31,74 (13,87-72,70)	0,408

Legenda Tabele 10.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; HT – hemioterapija; sNGAL – lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom seruma; sFGF-23 – serumski fibroblastni faktor rasta-23; sCyC – cistatin C seruma.

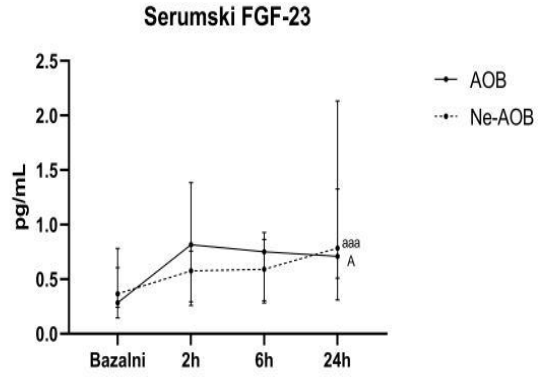
Tabela 11. Procenat promene nivoa parametara oksidativnog stresa u odnosu na bazalne nakon primene hemioterapije u obe grupe bolesnika

Parametar (% promene u odnosu na bazalne vrednosti)	ne-AOB (n=32) (Mean±SD/Med (IQR))	AOB (n=6) (Mean±SD/Med (IQR))	p
% promene TAS 2h od HT	-11,37 (-32,81-21,19)	-10,01 (-31,03-0,67)	0,742
% promene TAS 6h od HT	-6,68 (-27,19-52,34)	-15,27 (-23,87-36,92)	0,650
% promene TAS 24h od HT	-5,41 (-31,90-36,45)	0,04 (-34,76-9,21)	0,799
% promene TOS 2h od HT	5,26 (-21,64-47,09)	-13,22 (-45,19-36,01)	0,294
% promene TOS 6h od HT	2,17 (-25,88-35,43)	10,87 (-42,31-126,72)	0,865
% promene TOS 24h od HT	2,07 (-24,95-55,66)	10,92 (-37,32-87,04)	0,966
% promene PON1 2h od HT	14,55 (-22,98-39,39)	-15,66 (-40,83-0,15)	0,071
% promene PON1 6h od HT	1,12 (-30,00-35,00)	-41,82 (-56,04-6,56)	0,186
% promene PON1 24h od HT	13,07±44,13	-37,59±38,93	0,023
% promene PAB 2h od HT	5,26 (-19,64-23,34)	2,67 (-22,45-13,45)	0,702
% promene PAB 6h od HT	1,98 (-19,65-12,38)	2,41 (-19,54-7,29)	0,832
% promene PAB 24h od HT	0,57 (-30,82-12,41)	-14,59 (-44,47-79,05)	0,641

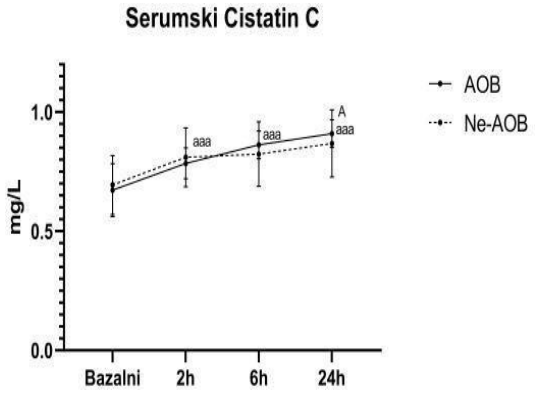
Legenda Tabele 11.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; HT – hemioterapija; TOS – totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze-1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.



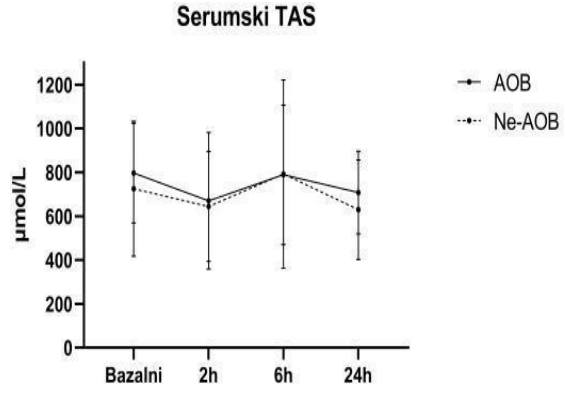
a) NGAL seruma



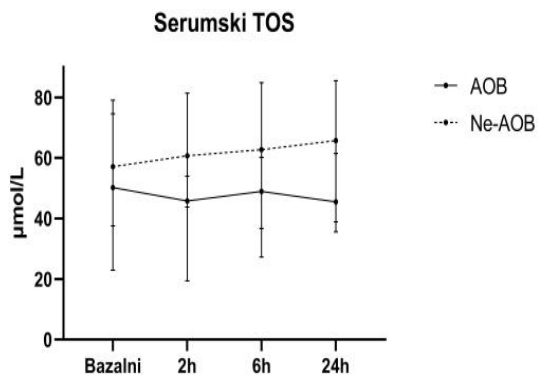
b) FGF-23 seruma



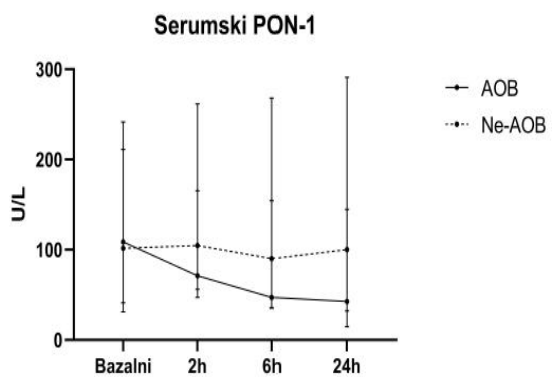
c) Cistatin C seruma



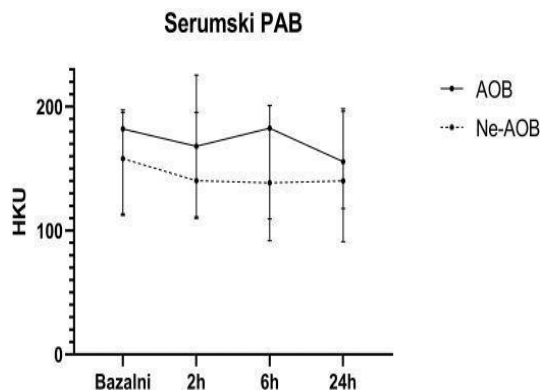
d) TAS seruma



e) TOS seruma



f) PON1 seruma



g) PAB seruma

Grafikon 4 (a-g). Vremenski zavisne promene u koncentracijama novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa kao odgovor na terapijsku primenu cisplatina i/ili ifosfamida u AOB (n=6) i ne - AOB grupama bolesnika (n=32)

(Legenda: *NGAL* – lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *FGF-23* – fibroblastni faktor rasta-23; *CyC* – cistatin C, *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* – totalni antioksidativni status; *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze 1; *PAB* - prooksidativno- antioksidativni balans)

Status AOB (AOB: n = 6; Ne - AOB: n = 32).

A - p<0,05, u poređenju sa bazalnim vrednostima u AOB grupi

aa - p<0,01, u poređenju sa bazalnim vrednostima u ne-AOB grupi

aaa - p<0,001, u poređenju sa bazalnim vrednostima u ne-AOB grupi

bb - p<0,01, u poređenju sa vrednostima 2 sata nakon terapije u ne-AOB grupi

4.3.2. Rana dijagnoza AOB izazvanog primenom nefrotoksičnih lekova i značaj novih serumskih biomarkera

U cilju procene dijagnostičkog potencijala ispitivanih serumskih biomarkera u odnosu na status akutnog oštećenja bubrega (AOB), sprovedena je ROC analiza, a detaljni rezultati prikazani su u Tabeli 12 i 13 i Grafikonima 5 i 6 a-b.

Procentualno povećanje serumskog biomarkera FGF-23 u odnosu na bazalni nivo zabeleženo 2h od isteka hemioterapije imalo je najveću površinu ispod krive (AUC) za predikciju nastanka AOB (AUC 0,729; 95% CI 0,509-0,950; $p < 0,05$; $Sn = 0,833$; $Sp = 0,562$; $cut-off = +20,79$) (Tabela 13, Grafikon 5). Dijagnostičku značaj za rano predviđanje AOB imale su vrednosti ovog novog serumskog biomarkera veće od definisane *cut-off* vrednosti od +20,79% (Tabela 13, Grafikon 5).

Dijagnostičku vrednost za predikciju AOB imali su i procentualno smanjenje nivoa enzima paraoksonaze-1 u odnosu na bazalne nivoe 2h i 24h od isteka terapije. Međutim, vrednosti površine ispod krive (AUC) za promena ovog parametra u odnosu na bazalne nivoe govore da su iste vrednosti manje od definisanih *cut-off* vrednosti imale dijagnostički potencijal za ranu predikciju AOB u našoj kohorti ispitanika. Stoga su procenjene dijagnostičke vrednosti ova dva parametra ROC analizom iznosile AUC 0,757; 95% CI 0,589- 0,925; $p < 0,01$; $Sn > 0,99$; $Sp = 0,393$; $cut-off = +8,28$ za procentualnu promenu PON1 2h nakon isteka terapije u odnosu na bazalne vrednosti i AUC 0,807; 95% CI 0,597- 1,018; $p < 0,01$; $Sn = 0,600$; $Sp = 0,037$; $cut-off = -50,53$ za procentualnu promenu PON1 24h nakon isteka terapije u odnosu na bazalne vrednosti (Tabela 13, Grafikon 6 a-b). Tako su procentualna promena PON1 2h nakon terapije u odnosu na njegove bazalne vrednosti manja od +8,28% (Grafikon 6a), kao i procentualna promena PON1 24h nakon terapije u odnosu na njegove bazalne vrednosti manja od -50,53% (Grafikon 6b) predstavljale pozitivan dijagnostički pokazatelj rizika za nastanak AOB.

Tabela 12. Dijagnostički potencijal novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa za rano otkrivanje AOB primenom ROC analize

Parametar	AUC	SE	P	95% CI
Bazalni sNGAL (ng/ml)	0,609	0,121	0,366	0,372-0,846
Bazalni sFGF-23 (ng/mL)	0,443	0,143	0,688	0,163-0,722
Bazalni TAS (μmol/L)	0,599	0,111	0,369	0,382-0,817
Bazalni TOS (μmol/L)	0,411	0,129	0,491	0,158-0,664
Bazalni PON1 (U/L)	0,446	0,129	0,678	0,194-0,699
Bazalni PAB (HKU)	0,556	0,122	0,648	0,317-0,794
Bazalni sCyC (ng/ml)	0,478	0,152	0,888	0,180-0,777
sNGAL 2h od HT (ng/ml)	0,604	0,117	0,372	0,376-0,833
sFGF-23 2h od HT (ng/ml)	0,568	0,140	0,629	0,293-0,842
TAS 2h od HT (μmol/l)	0,519	0,143	0,895	0,239-0,799
TOS 2h od HT (μmol/l)	0,300	0,105	0,058	0,094-0,506
PON1 2h od HT (U/L)	0,393	0,121	0,377	0,155-0,630
PAB 2h od HT (HKU)	0,581	0,134	0,547	0,319-0,842
sCyC 2h od HT (ng/ml)	0,418	0,108	0,448	0,207-0,629
sNGAL 6h od HT (ng/ml)	0,667	0,133	0,208	0,407-0,926
sFGF-23 6h od HT (pg/ml)	0,552	0,122	0,669	0,313-0,791
TAS 6h od HT (μmol/l)	0,548	0,147	0,742	0,260-0,837
TOS 6h od HT (μmol/l)	0,347	0,112	0,173	0,127-0,567
PON1 6h od HT (U/l)	0,417	0,115	0,470	0,190-0,643
PAB 6h od HT (HKU)	0,578	0,126	0,538	0,330-0,825
sCyC 6h od HT (ng/ml)	0,612	0,098	0,253	0,420-0,804
sNGAL 24h od HT (ng/ml)	0,635	0,115	0,238	0,410-0,861
sFGF-23 24h od HT (pg/ml)	0,573	0,117	0,533	0,344-0,802
TAS 24h od HT (μmol/l)	0,594	0,118	0,423	0,363-0,826
TOS 24h od HT (μmol/l)	0,366	0,125	0,282	0,121-0,611
PON1 24h od HT (U/l)	0,321	0,128	0,160	0,071-0,571
PAB 24h od HT (HKU)	0,575	0,125	0,547	0,330-0,820
sCyC 24h od HT (ng/ml)	0,625	0,104	0,229	0,422-0,828

Legenda Tabele 12.: AUC – površina ispod krive; SE – standardna greška; CI – interval poverenja; HT – hemioterapija; sNGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; sFGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23 u serumu; sCyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze-1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

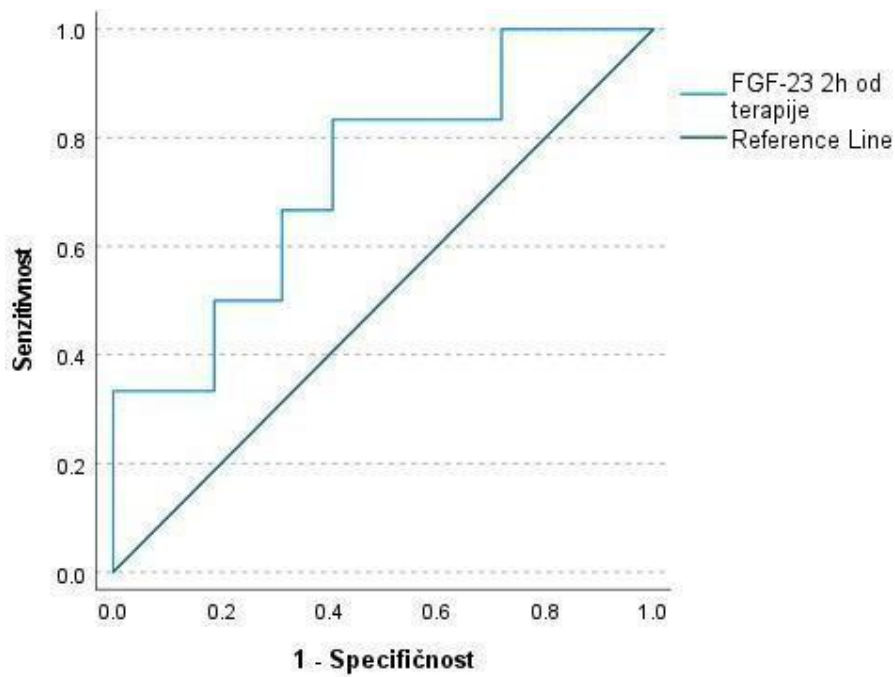
Tabela 13. Dijagnostički potencijal procentualnih promena novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa u odnosu na bazalne vrednosti za otkrivanje AOB

Parametar (%)	AUC	SE	P	95% CI
% promene sNGAL 2h nakon početka	0,380	0,104	0,251	0,176-0,585
% promene sNGAL 6h nakon početka HT	0,573	0,140	0,603	0,298-0,847
% promene sNGAL 24h nakon početka HT	0,589	0,116	0,447	0,361-0,817
% promene sFGF-23 2h nakon početka HT	0,729	0,113	0,042*	0,509-0,950
% promene sFGF-23 6h nakon početka HT	0,688	0,126	0,138	0,440-0,935
% promene sFGF-23 24h nakon početka HT	0,646	0,125	0,242	0,401-0,890
% promene TAS 2h nakon početka HT	0,457	0,117	0,713	0,228-0,686
% promene TAS 6h nakon početka HT	0,441	0,102	0,563	0,240-0,641
% promene TAS 24h nakon početka HT	0,467	0,103	0,746	0,265-0,668
% promene TOS 2h nakon početka HT	0,362	0,140	0,324	0,088-0,636
% promene TOS 6h nakon početka HT	0,522	0,157	0,887	0,215-0,829
% promene TOS 24h nakon početka HT	0,506	0,138	0,968	0,235-0,776
% promene PON1 2h nakon početka HT	0,757	0,086	0,003**	0,589-0,925
% promene PON1 6h nakon početka HT	0,311	0,121	0,120	0,073-0,549
% promene PON1 24h nakon početka HT	0,807	0,107	0,004**	0,597-1,018
% promene PAB 2h nakon početka HT	0,450	0,119	0,675	0,216-0,684
% promene PAB 6h nakon početka HT	0,472	0,118	0,813	0,242-0,703
% promene PAB 24h nakon početka HT	0,439	0,145	0,673	0,155-0,723
% promene sCyC 2h nakon početka HT	0,552	0,117	0,658	0,322-0,781
% promene sCyC 6h nakon početka HT	0,664	0,121	0,176	0,427-0,901
% promene sCyC 24h nakon početka HT	0,629	0,140	0,357	0,354-0,904

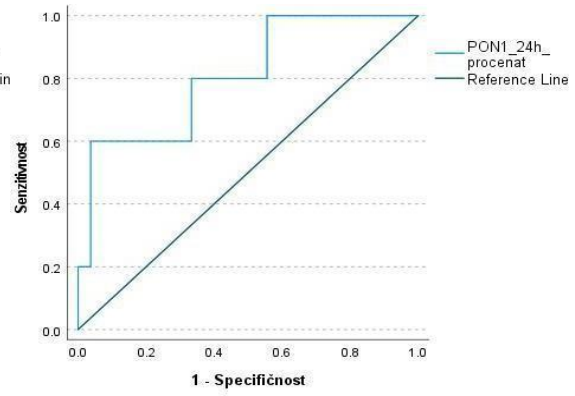
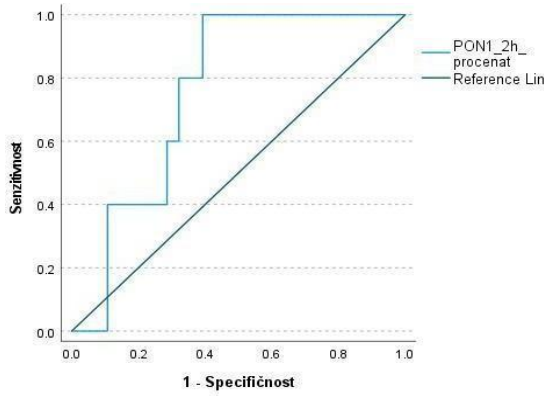
*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 13.: AUC – površina ispod krive; SE – standardna greška; CI – interval poverenja; HT – hemioterapija; sNGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; sFGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; sCyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status; TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze-1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

Smer testa za vrednosti procentualnih promena PON1 2h i 24h od isteka terapije u odnosu na bazalne vrednosti istog parametra, podešen je tako da manje vrednosti testa ukazuju na veću verovatnoću nastanka akutnog oštećenja bubrega.



Grafikon 5. Dijagnostički potencijal promene sFGF-23 2h nakon primene hemioterapije u odnosu na bazalne nivoe sFGF-23 u predikciji AOB
(Legenda: *FGF-23* – serumski fibroblastni faktor rasta-23)



a) PON1 2h nakon hemioterapije (% promene)

b) PON1 24h nakon hemioterapije (% promene)

Grafikon 6 (a i b). Dijagnostički potencijal promene PON1 2h (a) i 24h (b) nakon primene hemioterapije u odnosu na bazalne nivoe PON1 u predikciji AOB
(Legenda: *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze-1)

Da bi se konstruisao novi biomarker sa značajnom dijagnostičkom tačnošću u predikciji statusa AOB, koji bi imao izuzetan klinički značaj, napravljen je model integrisanih–kombinovanih parametara (izračunate verovatnoće za grupu parametara) primenom binarne logističke regresione analize. Na ovaj način definisane su četiri nove varijable, koje su integrisale svih sedam biomarkera seruma (NGAL, FGF-23, CyC, TAS, TOS, PON1 i PAB) izmerenih u istim vremenskim tačkama. Njihov dijagnostički potencijal za rano prepoznavanje subkliničkog AOB procenjen je primenom ROC analize. Rezultati su prikazani u Tabeli 14.

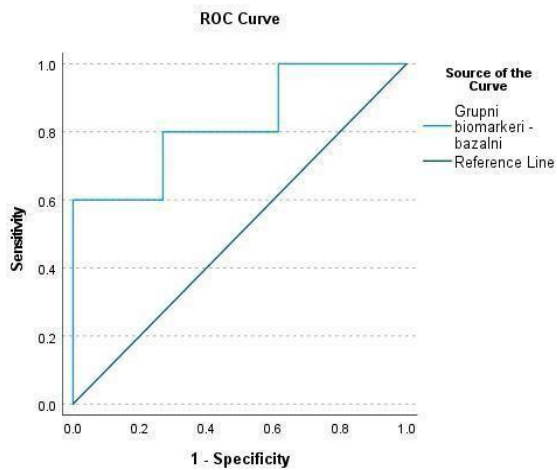
Najveća površina ispod ROC krive (AUC) dobijena je za kombinovane serumske biomarkere određene dva sata nakon primene hemioterapije, sa vrednošću od 0,949 (95% CI: 0,872–1,026) (Grafikon 7 a-d). Pored navedenog, kombinovani serumski biomarkeri određeni u ostalim vremenskim tačkama (bazalno, 6 i 24 časa nakon hemioterapije), takođe su pokazali statistički značajnu dijagnostičku vrednost u predikciji AOB kod bolesnika koji su primali terapiju cisplatinom i/ili ifosfamidom. (Tabela 14).

Tabela 14. Dijagnostička vrednost modela integrisanih serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23, CyC, TAS, TOS, PAB i PON1) za predikciju AOB (ROC analiza)

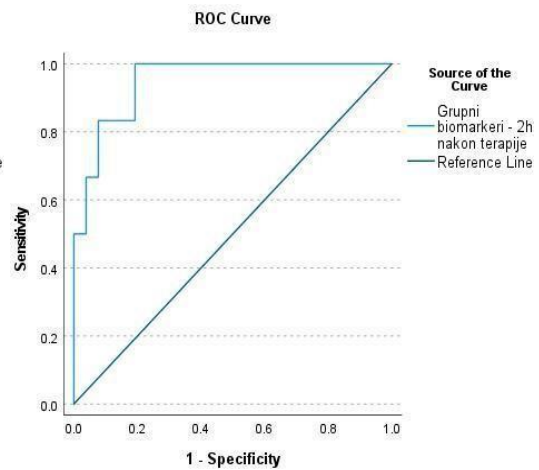
Varijable	AUC (95 th CI)	SE	p	95% CI
Bazalne vrednosti novih serumskih biomarkera	0,823	0,115	0,005**	0,598-1,049
Novi serumski biomarkeri izmereni 2h nakon primene HT	0,949	0,039	<0,001**	0,872-1,026
Novi serumski biomarkeri izmereni 6h nakon primene HT	0,744	0,115	0,034*	0,519-0,969
Novi serumski biomarkeri izmereni 24h nakon HT	0,814	0,084	<0,001**	0,649-0,980

*p <0,05; **p<0,01

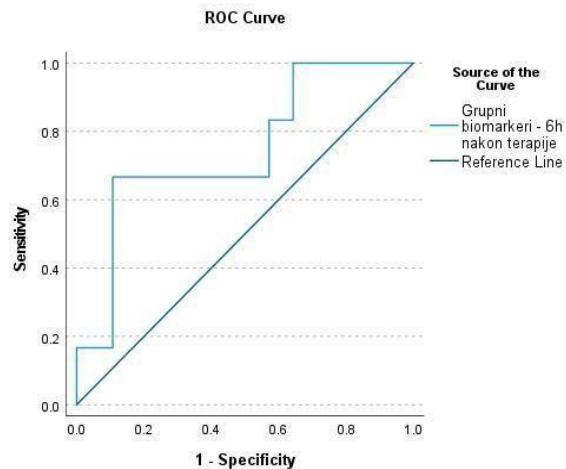
Legenda Tabele 14.: AUC- površina ispod krive; CI – interval poverenja; SE – standardna greška; HT – hemioterapija.



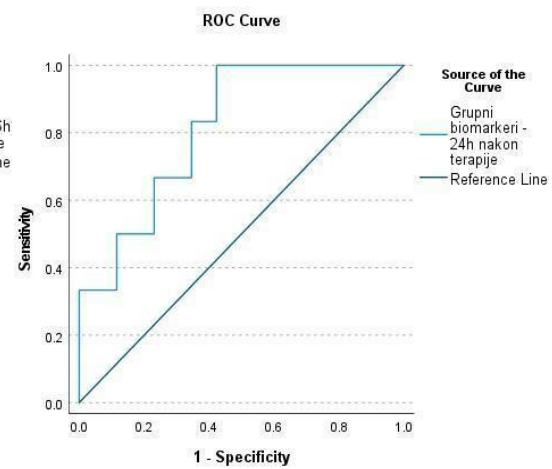
a) Bazalni nivoi biomarkera



b) Nivoi biomarkera 2h od hemioterapije



c) Nivoi biomarkera 6h od hemioterapije



d) Nivoi biomarkera 24h od hemioterapije

Grafikon 7 (a, b, c i d). Dijagnostički potencijal kombinovanih serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23, CyC, TAS, TOS, PAB i PON 1) merenih bazalno (a), 2h (b), 6h (c) i 24h (d) nakon primene hemioterapije u predikciji razvoja AOB

4.4. Vremenski zavisne promene biomarkera subkliničkog akutnog oštećenja bubrega i parametara oksidativnog stresa tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije

Poređenja nivoa novih biomarkera seruma (NGAL; FGF-23 i cystatin C) i parametara oksidativnog stresa (TAS, TOS, PON1 i PAB) po parovima sa post hoc analizom sprovedena su primenom Friedman-ovog testa, čiji su rezultati prikazani u Tabelama 15, 16 i 17. Tabele prikazuju komparaciju nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa među merenjima u različitim vremenskim tačkama za celokupnu kohortu ispitanika (n=38) tokom I ciklusa hemioterapije i dva sukcesivna ciklusa hemioterapije (II i III ciklus).

Kod bolesnika koji su primali cisplatin i/ili ifosfamid, tokom inicijalnog i narednog, II ciklusa hemioterapije, nivoi CyC izmereni 2h, 6h i 24h od primene hemioterapije su bili statistički značajno viši u poređenju sa bazalnim vrednostima ovog biomarkera (Tabele 15 i 16). U inicijalnom ciklusu hemioterapije, serumski NGAL se statistički značajno povećavao u odnosu na bazalne vrednosti 6h i 24h od isteka hemioterapije (Tabela 15). Značajne razlike ovog biomarkera u odnosu na bazalne nivoe uočene su u II ciklusu hemioterapije za nive NGAL-a izmerene 24h od isteka hemioterapije (Tabela 16). Značajno povećanje nivoa serumskog FGF-23 u odnosu na bazalne vrednosti zabeleženo je jedino u inicijalnom ciklusu hemioterapije 24h od primene lekova (Tabela 15). Takođe, tokom inicijalnog ciklusa hemioterapije, vrednosti sva tri ispitivana serumska biomarkera NGAL, FGF-23 i CyC izmerena 24h od isteka HT su bila statistički značajno veća u poređenju sa vrednostima ova tri biomarkera izmerena 2h od isteka citotoksičnih lekova (Tabela 15).

Poređenja markera oksidativnog stresa (TAS, TOS, PON1 i PAB) po parovima primenom Friedman-ovog testa nije pokazalo statistički značajnu razliku među ponavljanim merenjima u vrednostima ni jednog od ova četiri biomarkera u ispitivanoj grupi bolesnika (cela kohorta) zbog čega nije bilo moguće uraditi post-hoc analizu (Tabele 15-17).

Još jedan od ciljeva ovog istraživanja je bio sa se uporede vremenski zavisne promene nivoa novih serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23, CyC) i parametara oksidativnog stresa (TAS, TOS, PON1 i PAB) kod ispitanika tokom inicijalnog i narednih, sukcesivnih (II i III) ciklusa terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida (Tabele 18-21).

Pri ponavljanim (II i III) ciklusima hemioterapije, bazalne koncentracije serumskih biomarkera NGAL, FGF-23 i CyC su bile više u poređenju sa bazalnim nivoima ovih biomarkera u inicijalnom (prvom) ciklusu hemioterapije (Tabele 18-21, Grafikon 8 a-g). Razlike u nivoima ovih biomarkera seruma su dostigle statističku značajnost za bazalne nivoe FGF-23 u II i III ciklusu hemioterapije (Tabela 18, Grafikon 8b), što ukazuje na to da se nivoi ovog biomarkera ne vraćaju na bazalne vrednosti između uzastopnih ciklusa terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida. Takođe, nivoi serumskog NGAL-a izmereni 2h od isteka III ciklusa hemioterapije su bili značajno viši u poređenju sa vrednostima ovog serumskog biomarkera u istoj tački merenja inicijalnog (I) ciklusa hemioterapije (Tabela 19, Grafikon 8a). Statistički značajne vremenski zavisne promene parametara oksidativnog stresa tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije uočene su za bazalne nivoe PAB. Naime, nivoi ovog parametra oksidativnog stresa u III ciklusu terapijske primene

cisplatina i/ili ifosfamida su bile značajno niže od bazalnih nivoa PAB-a izmerenih pri inicijalnom ciklusu hemioterapije (Tabela 18, Grafikon 8g).

Tabela 15. Komparacija nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa među ispitivanim vremenskim tačkama inicijalnog ciklusa hemioterapije

I ciklus hemioterapije							
Biomarkeri	NGAL (ng/ml)	FGF-23 (ng/ml)	CyC (ng/ml)	TAS (umol/l)	TOS (umol/l)	PON1 (U/L)	PAB (HKU)
Poređenja grupa (p)	<0,001**	<0,001**	<0,001**	0,311	0,904	0,917	0,421
B vs. 2h	0,158	0,337	<0,001**	-	-	-	-
B vs. 6h	<0,001**	0,111	<0,001**	-	-	-	-
B vs. 24h	<0,001**	<0,001**	<0,001**	-	-	-	-
2h vs. 6h	0,411	>0,999	0,694	-	-	-	-
2h vs. 24h	<0,001**	0,040*	0,034*	-	-	-	-
6h vs. 24h	0,198	0,141	>0,999	-	-	-	-

*p < 0,05; **p < 0,01

Legenda Tabele 15.: B – bazalne vrednosti; sNGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; sFGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; sCyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze-1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 16. Komparacija nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa među ispitivanim vremenskim tačkama drugog ciklusa hemioterapije

II ciklus hemioterapije							
Biomarkeri	NGAL (ng/ml)	FGF-23 (ng/ml)	CyC (ng/ml)	TAS (umol/l)	TOS (umol/l)	PON1 (U/L)	PAB (HKU)
Poređenja među grupama (p)	0,049*	0,228	<0,001**	0,299	0,264	0,466	0,373
B vs. 2h	0,196	-	0,011*	-	-	-	-
B vs. 6h	0,790	-	<0,001**	-	-	-	-
B vs. 24h	0,050	-	<0,001**	-	-	-	-
2h vs. 6h	>0,999	-	>0,999	-	-	-	-
2h vs. 24h	>0,999	-	0,825	-	-	-	-
6h vs. 24h	>0,999	-	>0,999	-	-	-	-

*p < 0,05; **p < 0,01

Legenda Tabele 16.: B – bazalne vrednosti; sNGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; sFGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; sCyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze-1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 17. Komparacija nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa među ispitivanim vremenskim tačkama trećeg ciklusa hemioterapije

III ciklus hemioterapije							
Biomarkeri	NGAL	FGF-23	CyC	TAS	TOS	PON1	PAB
Poređenja među grupama (p)	0,284	0,152	0,345	0,095	0,457	0,472	>0,999
B vs. 2h nakon HT	-	-	-	-	-	-	-
B vs. 6h nakon HT	-	-	-	-	-	-	-
B vs. 24h nakon HT	-	-	-	-	-	-	-
2h vs. 6h nakon HT	-	-	-	-	-	-	-
2h vs. 24h nakon HT	-	-	-	-	-	-	-
6h vs. 24h nakon HT	-	-	-	-	-	-	-

*p <0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 17.: *B* – bazalne vrednosti; *HT* – hemioterapija; *sNGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *sFGF-23* – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; *sCyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze-1; *PAB* - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 18. Komparacija bazalnih nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa između 3 sukcesivna ciklusa hemioterapije

Serumski biomarkeri						
Biomarker	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
NGAL	I	29.14 (22.90-85.75)	0,042*	>0.999	0,063	0,13
	II	93.90 (78.80-109.90)				
	III	87.60 (72.20-103.70)				
FGF-23	I	0.35 (0.22-0.62)	0,011*	0,028*	0,028*	>0.999
	II	0.66 (0.51-1.21)				
	III	0.76 (0.57-2.37)				
TAS	I	706.00 (536.00-893.00)	0,779	/	/	/
	II	884.00 (703.00-1041.00)				
	III	767.00 (485.00-908.00)				
TOS	I	57.14 (32.15-77.26)	0,449	/	/	/
	II	47.80 (35.40-90.31)				
	III	56.60 (31.73-83.50)				
PON-1	I	101.50 (41.13-230.50)	0,717	/	/	/
	II	76.00 (40.25-129.00)				
	III	140.00 (86.00-259.25)				
PAB	I	163.00 (115.25-195.00)	0,05	0,662	0,043*	0,662
	II	143.00 (94.75-198.00)				
	III	24.00 (24.00-24.00)				
CyC	I	0.68 (0.59-0.80)	0,223	/	/	/
	II	0.79 (0.72-0.88)				
	III	0.90 (0.85-0.90)				

*p <0,05; **p <0,01

Legenda Tabele 18.: Med – medijana; IQR - interkvartilni opseg; NGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; FGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; CyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze 1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 19. Komparacija nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa izmerenih 2h od isteka hemioterapije između tri sukcesivna ciklusa hemioterapije

Serumski biomarkeri						
Biomarker	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
NGAL	I	58.15 (24.35-97.55)	0,03*	>0.999	0,028*	0,25
	II	114.60 (81.00-203.00)				
	III	100.20 (59.08-246.80)				
FGF-23	I	0.57 (0.30-0.87)	0,115	/	/	/
	II	1.07 (0.58-1.48)				
	III	0.54 (0.38-2.48)				
TAS	I	668.00 (448.50-811.00)	0,717	/	/	/
	II	729.00 (585.00-939.50)				
	III	590.00 (459.50-777.00)				
TOS	I	50.41 (39.20-78.11)	0,223	/	/	/
	II	72.36 (29.95-81.04)				
	III	63.25 (38.90-88.16)				
PON1	I	97.00 (53.25-252.50)	0,223	/	/	/
	II	63.00 (42.50-135.50)				
	III	122.50 (76.25-261.25)				
PAB	I	145.20 (112.00-199.75)	0,368	/	/	/
	II	127.00 (63.00-172.00)				
	III	149.00 (107.75-196.00)				
CyC	I	0.82 (0.70-0.89)	0,156	/	/	/
	II	0.87 (0.83-0.95)				
	III	0.92 (0.89-0.92)				

*p < 0,05; **p < 0,01

Legenda Tabele 19.: Med – medijana; IQR - interkvartilni opseg; NGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; FGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; CyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze 1; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 20. Komparacija nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa izmerenih 6h od isteka hemioterapije između tri sukcesivna ciklusa hemioterapije

Serumski biomarkeri						
Biomarker	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
NGAL	I	77.40 (32.00-169.00)	0,042*	>0.999	0,063	0,13
	II	105.70 (62.00-184.60)				
	III	75.90 (55.43-162.81)				
FGF-23	I	0.64 (0.31-0.85)	0,115	/	/	/
	II	0.60 (0.47-1.56)				
	III	0.68 (0.54-1.38)				
TAS	I	696.00 (536.00-955.50)	0,472	/	/	/
	II	821.50 (625.25-939.75)				
	III	698.00 (623.00-789.25)				
TOS	I	53.74 (36.18-80.99)	0,174	/	/	/
	II	48.50 (27.55-68.57)				
	III	54.79 (34.43-59.83)				
PON1	I	81.00 (37.00-265.00)	0,368	/	/	/
	II	66.50 (47.25-145.50)				
	III	65.00 (32.50-187.50)				
PAB	I	144.50 (94.73-198.25)	0,368	/	/	/
	II	117.00 (67.00-171.50)				
	III	118.50 (93.25-171.75)				
CyC	I	0.83 (0.71-0.94)	0,223	/	/	/
	II	0.95 (0.84-0.97)				
	III	0.94 (0.85-0.94)				

*p <0,05; **p<0,01

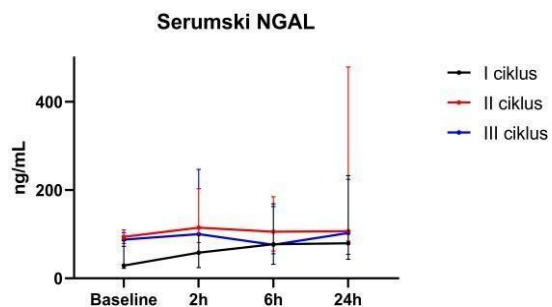
Legenda Tabele 20.: *Med* – medijana; *IQR* - interkvartilni opseg; *NGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *FGF-23* – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; *CyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze 1; *PAB* - prooksidativno-antioksidativni balans.

Tabela 21. Komparacija nivoa novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa izmerenih 24h od isteka hemioterapije između tri sukcesivna ciklusa hemioterapije

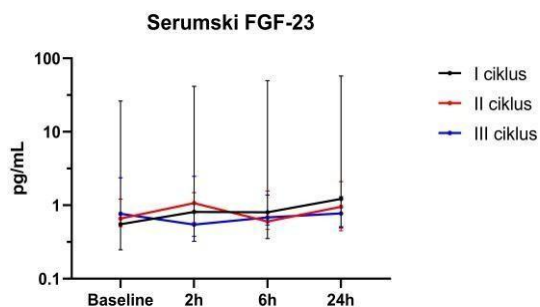
Serumski biomarkeri						
Biomarker	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
NGAL	I	79.35 (43.28-232.75)	0,042*	>0.999	0,063	0,13
	II	106.80 (84.40-479.00)				
	III	102.80 (54.55-224.20)				
FGF-23	I	0.75 (0.33-1.38)	0,042*	>0.999	0,063	0,13
	II	0.95 (0.45-2.10)				
	III	0.78 (0.49-1.31)				
TAS	I	640.00 (474.50-850.25)	0,368	/	/	/
	II	835.00 (498.50-977.50)				
	III	434.00 (234.50-713.00)				
TOS	I	62.48 (38.95-82.72)	0,097	/	/	/
	II	57.50 (38.15-81.89)				
	III	67.75 (28.65-96.12)				
PON1	I	90.00 (31.00-276.50)	>0.999	/	/	/
	II	78.00 (61.00-170.50)				
	III	140.50 (40.50-275.25)				
PAB	I	146.00 (92.00-196.60)	0,097	/	/	/
	II	136.00 (54.50-176.50)				
	III	152.00 (123.00-266.00)				
CyC	I	0.89 (0.79-0.96)	0,223	/	/	/
	II	0.97 (0.88-0.99)				
	III	0.97 (0.89-0.97)				

*p <0,05; **p <0,01

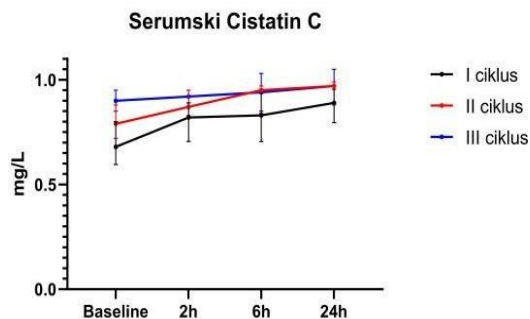
Legenda Tabele 21.: *Med* – medijana; *IQR* - interkvartilni opseg; *NGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *FGF-23* – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; *CyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze 1; *PAB* - prooksidativno-antioksidativni balans.



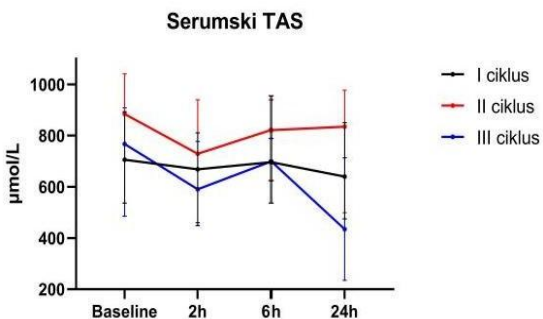
a) promene NGAL seruma kroz cikluse HT



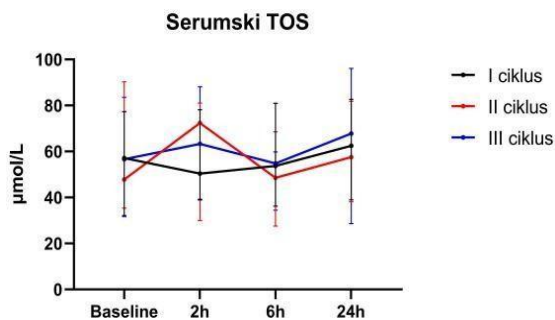
b) promene FGF-23 seruma kroz cikluse HT



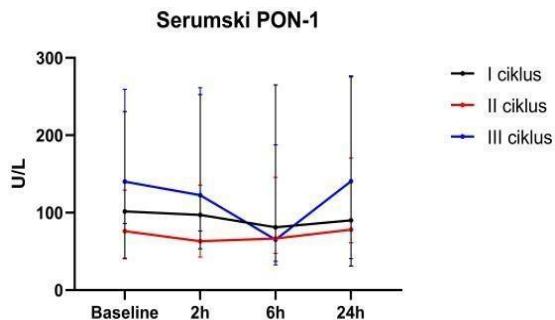
c) promene cistatina C seruma kroz cikluse HT



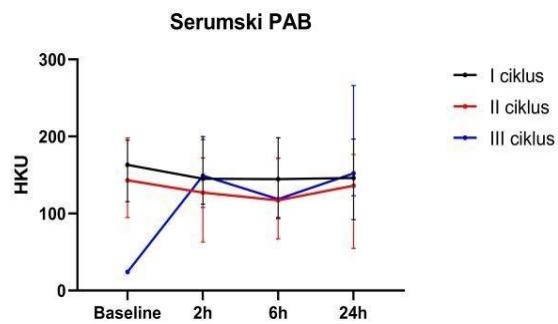
d) promene TAS seruma kroz cikluse HT



e) promene TOS seruma kroz cikluse HT



f) promene PON1 seruma kroz cikluse HT



g) promene PAB seruma kroz cikluse HT

Grafikon 8 (a-g). Grafički prikaz kretanja novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa kroz vreme tokom prva tri ciklusa hemioterapije (Med (IQR))

(Legenda: *Med* – medijana; *IQR* - interkvartilni opseg; *NGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *FGF-23* – fibroblastni faktor rasta-23 seruma; *CyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze 1; *PAB* - prooksidativni-antioksidativni balans)

4.5. Urinarni biomarkeri bubrežne funkcije

4.5.1. Promene ispitivanih urinarnih biomarkera bubrežne funkcije tokom studije

Nivoi sva 4 nova urinarna biomarkera (NGAL, KIM-1, L-FABP, Vanin-1) prilagođenih prema koncentraciji kreatinina u urinu su se kod svih bolesnika (n=38) postepeno povećavali nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida i bile su više u svim analiziranim vremenskim tačkama u poređenju sa bazalnim nivoima ovih biomarkera (Tabela 22, Grafikon 9 a-d). Značajna razlika u nivoima ovih urinarnih biomarkera između grupa bolesnika sa i bez AOB utvrđena je jedino za L-FABP urina (urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti) prilagođen prema koncentraciji kreatinina urina 24 sata nakon hemoterapije ($p=0,014$) (Tabela 22).

Medijana povećanja uNGAL/uCr iznosila je 517,3% (IQR 25,6–264287,2%) kod bolesnika sa AOB i 84,1% (IQR 17,4–580,8%) kod bolesnika bez AOB (ne-AOB grupa) tokom prvih 24h nakon hemioterapije ($p=0,261$) (Tabela 23, Grafikon 10a). Najveće povećanje ovog biomarkera od 1782,4% (IQR 244,7–19451,4%) kod bolesnika sa AOB i 321,1% (IQR 36,7–1222,5%) kod bolesnika bez AOB zabeleženo je 6h nakon primene hemioterapije ($p=0,136$) (Tabela 23, Grafikon 10a).

Medijana povećanja uKIM-1/uCr iznosila je 336,3% (IQR 71,8–1102,4%) kod bolesnika sa AOB i 214,4% (IQR 68,9–551,1%) kod bolesnika bez AOB tokom prvih 24h nakon hemioterapije ($p=0,740$) (Tabela 23, Grafikon 10b). Najveće povećanje ovog biomarkera od 529,8% (IQR 63,9–1835,2%) kod bolesnika sa AOB i 347,6% (IQR 98,2–1412,9%) kod bolesnika bez AOB uočeno je 6h nakon primene hemioterapije ($p=0,953$) (Tabela 23, Grafikon 10b).

Medijana povećanja uL-FABP/uCr iznosila je 732,9% (IQR 35,3–3476,0%) kod bolesnika sa AOB i 128,5% (IQR 1,6–738,8%) kod bolesnika bez AOB tokom prvih 24h nakon hemioterapije ($p=0,229$) (Tabela 23, Grafikon 10c). Najveće povećanje od 1086,1% (IQR 279,8–2544,1%) kod bolesnika sa AOB i 302,2% (IQR 146,7–1169,9%) kod bolesnika bez AOB registrovano je 6h nakon primene hemioterapije ($p=0,229$) (Tabela 23, Grafikon 10c).

Medijana povećanja uVNN-1/uCr iznosila je 463,7% (IQR 68,8–819,5%) kod bolesnika sa AOB i 111,6% (IQR 12,8–1127,5%) kod bolesnika bez AOB tokom prvih 24h nakon hemioterapije ($p=0,469$) (Tabela 23, Grafikon 10d). Najveće povećanje od 2194,0% (IQR 255,3–4695,5%) kod bolesnika sa AOB i 429,8% (IQR 156,5–1467,0%) kod bolesnika bez AOB zabeleženo je 6h nakon hemioterapije ($p=0,097$) (Tabela 23, Grafikon 10d).

Tabela 22. Promene novih urinarnih biomarkera bubrežne funkcije posle primene hemioterapije u AOB i ne-AOB grupama bolesnika

Parametar (ng/mg)	KDIGO		p
	ne-AOB (n=32)	AOB (n=6)	
Bazalni uNGAL/uCr	125,42 (40,66-390,69)	242,50 (37,03-442,85)	0,770
uNGAL/uCr 2h nakon HT	405,63 (151,83-1199,19)	1200,31 (181,63-4100,21)	0,297
uNGAL/uCr 6h nakon HT	509,33 (172,31-1211,00)	2940,67 (285,29-6786,42)	0,185
uNGAL/uCr 24h nakon HT	383,03 (82,59-844,84)	1255,89 (358,95-4352,41)	0,097
Bazalni uKIM-1/uCr	6,60 (2,77-11,10)	3,48 (0,78-11,23)	0,336
uKIM-1/uCr 2h nakon HT	34,99 (6,18-104,25)	17,25 (3,44-41,11)	0,316
uKIM-1/uCr 6h nakon HT	35,86 (11,74-122,17)	7,00 (4,67-41,75)	0,056
uKIM-1/uCr 24h nakon HT	24,18 (11,79-63,21)	14,81 (3,90-20,20)	0,116
Bazalni uL-FABP/uCr	12,83 (4,64-27,37)	10,75 (3,78-58,48)	0,953
uL-FABP/uCr 2h nakon HT	53,33 (27,38-97,69)	83,61 (26,52-224,75)	0,469
uL-FABP/uCr 6h nakon HT	62,67 (21,11-143,50)	124,34 (66,67-266,00)	0,199
uL-FABP /uCr 24h nakon HT	26,58 (12,51-62,72)	92,35 (49,33-228,91)	0,014*
Bazalni uVNN-1/uCr	9,15 (2,93-41,37)	5,35 (1,12-26,19)	0,336
uVNN-1/uCr 2h nakon HT	78,89 (11,56-195,32)	56,59 (21,92-273,29)	0,800
uVNN-1/uCr 6h nakon HT	71,29 (18,47-180,20)	87,50 (24,58-301,00)	0,800
uVNN-1/uCr 24h nakon HT	51,65 (5,65-80,43)	22,69 (5,68-108,69)	0,891

* p <0,05; **p<0,01

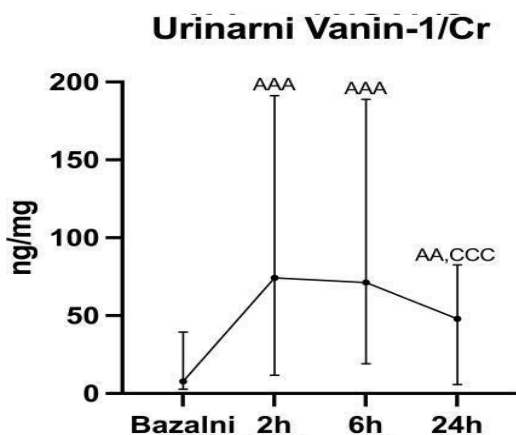
Legenda Tabele 22.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; HT – hemioterapija; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN- 1 – urinarni Vanin-1.

Tabela 23. Procenat povećanja koncentracija novih urinarnih biomarkera prilagođenih prema koncentraciji kreatinina urina u odnosu na bazalne vrednosti u grupama bolesnika sa i bez AOB 2, 6 i 24h nakon primene hemioterapije

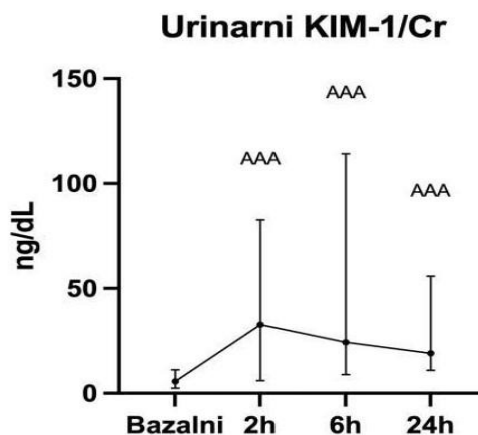
Parametar (% promene u odnosu na bazalne vrednosti)	Ne-AOB (n=32) Medijana (IQR)	AOB (n=6) Medijana (IQR)	p
uNGAL/uCr 2h od HT	276,47 (56,71-546,41)	449,23 (358,65-6484,77)	0,089
uNGAL/uCr 6h nakon HT	321,05 (36,69-1222,49)	1782,42 (244,70-19451,39)	0,136
uNGAL/uCr 24h nakon HT	84,06 (17,35-580,80)	517,30 (25,61-264287,18)	0,261
uL-FABP1/uCr 2h nakon HT	302,24 (114,56-561,21)	480,24 (274,60-933,08)	0,279
uL-FABP1/uCr 6h nakon HT	299,05 (146,71-1169,99)	1086,13 (279,81-2544,09)	0,229
uL-FABP1/uCr 24h nakon HT	128,50 (1,55-738,84)	732,87 (35,26-3476,02)	0,229
uKIM-1/uCr 2h nakon HT	293,09 (122,10-994,86)	235,55 (138,97-2413,21)	0,891
uKIM-1/uCr 6h nakon HT	347,56 (98,17-1412,85)	529,76 (63,85-1835,22)	0,953
uKIM-1/uCr 24h nakon HT	214,39 (68,93-551,11)	336,27 (71,77-1102,44)	0,740
uVNN-1/uCr 2h nakon HT	375,97 (215,37-759,06)	1147,37 (525,90-4384,19)	0,082
uVNN-1/uCr 6h nakon HT	429,79 (156,49-1466,95)	2194,00 (255,30-4695,46)	0,097
uVNN-1/uCr 24h nakon HT	111,56 (12,82-1127,54)	463,73 (68,80-819,46)	0,469

* p<0,05; **p<0,01

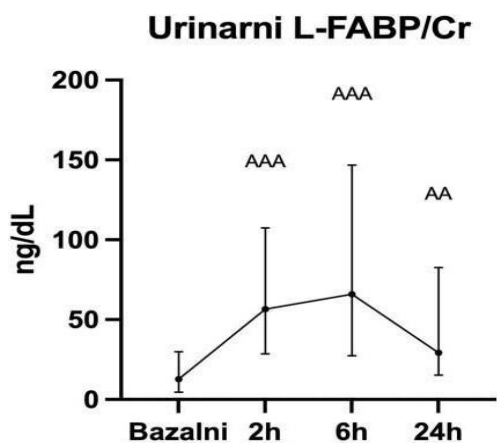
Legenda Tabele 23.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; HT – hemioterapija; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN- 1 – urinarni Vanin-1.



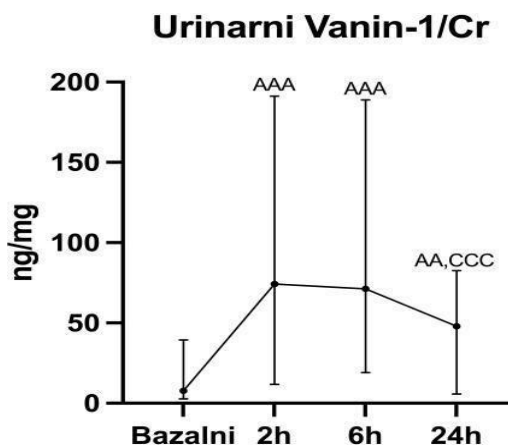
a) Urinary NGAL/creatinine urine



b) Urinary KIM-1/creatinine urine



c) Urinary L-FABP/creatinine urine



d) Urinary Vanin-1/creatinine urine

Grafikon 9 (a-d). Vremenski zavisne promene u koncentracijama novih urinarnih biomarkera korigovanih za vrednosti kreatinina urina kao odgovor na terapijsku primenu cisplatina i/ili ifosfamida u ispitivanoj kohorti (n=38)

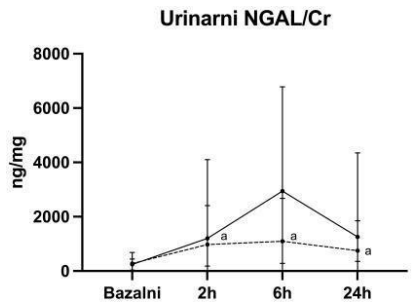
(Legenda: uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1)

AAA - $p < 0,001$, u poređenju sa bazalnim vrednostima

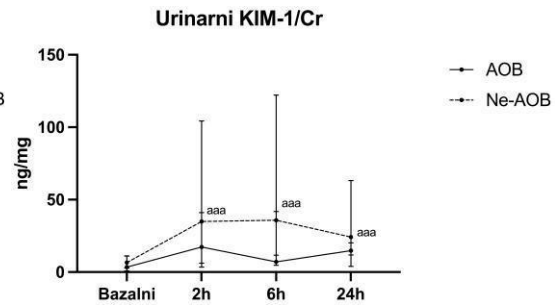
AA - $p < 0,01$, u poređenju sa bazalnim vrednostima

A – $p < 0,05$, u poređenju sa bazalnim vrednostima

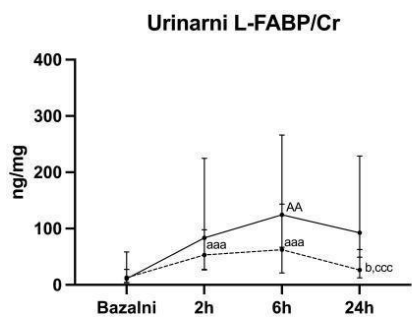
CCC – $p < 0,001$, u poređenju sa vrednostima merenim 6h nakon terapije



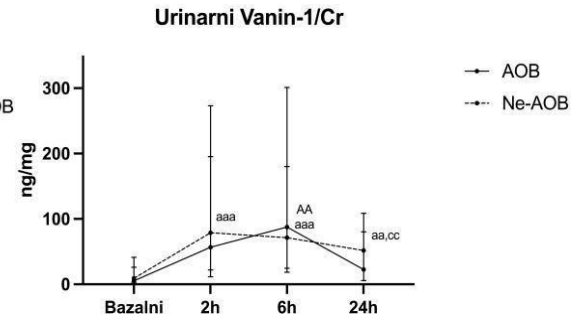
a) Urinarni NGAL/kreatinin urina



b) Urinarni KIM-1/kreatinin urina



c) Urinarni L-FABP/kreatinin urina



d) Urinarni Vanin-1/kreatinin urina

Grafikon 10 (a-d). Vremenski zavisne promene u nivoima novih urinarnih biomarkera korigovanih za vrednosti kreatinina urina kao odgovor na terapijsku primenu cisplatina i/ili ifosfamida u grupi bolesnika sa AOB (n=6) i bez AOB (n=32)

(Legenda: AOB – akutno bubrežno oštećenje; uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN- 1 – urinarni Vanin-1)

Status AOB (AOB: n = 6; Ne - AOB: n = 32)

AA – p<0,01, u poređenju sa bazalnim vrednostima u AOB grupi

aaa - p<0,001, u poređenju sa bazalnim vrednostima u ne-AOB grupi

aa - p<0,01, u poređenju sa bazalnim vrednostima u ne-AOB grupi

b – p<0,05, u poređenju sa vrednostima merenim 2h nakon terapije u ne-AOB grupi

ccc – p<0,001, u poređenju sa vrednostima merenim 6h nakon terapije u ne-AOB grupi

cc – p<0,01, u poređenju sa vrednostima merenim 6h nakon terapije u ne-AOB grupi

4.5.2. Rana dijagnoza AOB izazvanog primenom citoskičnih lekova i značaj novih urinarnih biomarkera

Radi procene dijagnostičkog potencijala ispitivanih urinarnih biomarkera (NGAL, L-FABP, KIM-1, VNN-1) za ranu predikciju AOB urađena je ROC analiza, a detaljni rezultati prikazani su u Tabeli 24. Najveće AUC vrednosti za predikciju nastanka AOB nakon primene citotoksične hemioterapije dobijene su za uL-FABP/uCr izmeren 24h nakon hemioterapije (AUC 0,813; 95% CI, 0,665–0,960; $p < 0,001$) (Grafikon 11a) i uKIM-1/uCr izmeren 6h nakon hemioterapije (AUC 0,750; 95% CI, 0,541–0,959; $p = 0,019$) (Grafikon 11c).

Vrednost uL-FABP/uCr od 31,78 ng/mg izmerena 24h nakon infuzije hemioterapije, imala je senzitivnost 1 i specifičnost 0,6 za predikciju AOB povezanog sa hemioterapijom (Grafikon 11a).

Signifikantni dijagnostički potencijal je uočen i kada su u pitanju vrednosti uKIM-1/uCr izmerene 6h i 24h nakon terapije (Grafikon 11 c-d) sa respektivnim cut-off vrednostima od 9,17 ng/mg (Sn 0,7; Sp 0,8) i 21,59 (Sn 1,0; Sp 0,5).

Takođe, *cut-off* vrednost uNGAL/uCr od 434,53 ng/mg, izmerena 24h nakon isteka hemioterapije imala je senzitivnost 0,8 i specifičnost 0,6 za predikciju AOB (Grafikon 11b). Ovakvi rezultati ukazuju na to da su nivoi uL-FABP/uCr 24h od isteka HT; uKIM-1/uCr 6h i 24h od isteka HT kao i nivo uNGAL/uCr 24 časa nakon primene nefrotoksične hemioterapije dobri prediktori za rano otkrivanje AOB.

Primenom binarne logističke regresione analize konstruisan je model kombinovanih urinarnih parametara (izračunate verovatnoće za grupu parametara). Skup od 4 nove varijable se sastojao od svih parametara (novi urinarni biomarkeri korigovani za vrednosti kreatinina urina) izmerenih u urinu u istim vremenskim tačkama, i te varijable su potom podvrgnute ROC analizi. Rezultati su prikazani u Tabeli 25.

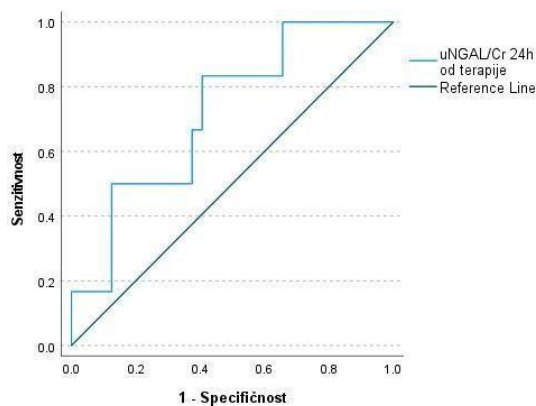
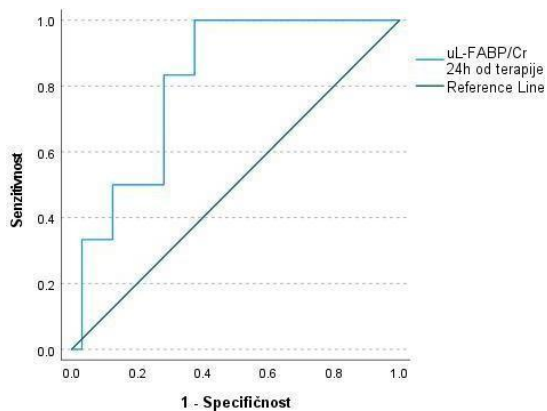
Najveća površina ispod krive (AUC) kombinovanih urinarnih biomarkera je iznosila 0,917 (95% CI 0,816-1,017), za urinarne biomarkere 24h nakon primene hemoterapije (Grafikon 12 A-C). Takođe, i nivoi urinarnih biomarkera 2 i 6h nakon primene hemoterapije su pokazali značajnu dijagnostičku tačnost za predviđanje AOB kod bolesnika lečenih primenom cisplatina i/ili ifosfamida (Tabela 25).

Tabela 24. Dijagnostički potencijal novih urinarnih biomarkera za ranu predikciju nastanka AOB nakon primene hemioterapije (ROC analiza)

Parametar (ng/mg)	KDIGO					
	AUC (95 th CI)	SE	Cut-off	Sn	Sp	p
Bazalni uNGAL/uCr	0,542 (0,276-0,807)	0,135	355,99	0,5	0,3	0,758
uNGAL/uCr 2h nakon HT	0,641 (0,367-0,914)	0,140	1373,50	0,5	0,2	0,313
uNGAL/uCr 6h nakon HT	0,677 (0,405-0,949)	0,139	4840,50	0,5	0,1	0,202
uNGAL/uCr 24h nakon HT	0,719 (0,513-0,925)	0,105	434,53	0,8	0,6	0,037*
Bazalni uKIM-1/uCr	0,628 (0,376-0,879)	0,128	4,62	0,7	0,6	0,320
uKIM-1/uCr 2h nakon HT	0,635 (0,432-0,838)	0,104	34,40	0,8	0,5	0,191
uKIM-1/uCr 6h nakon HT	0,750 (0,541-0,959)	0,107	9,17	0,7	0,8	0,019*
uKIM-1/uCr 24h nakon HT	0,708 (0,521-0,896)	0,096	21,59	1,0	0,5	0,029*
Bazalni uL-FABP/uCr	0,510 (0,230-0,791)	0,143	34,27	0,3	0,8	0,942
uL-FABP/uCr 2h nakon HT	0,583 (0,328-0,838)	0,130	66,12	0,7	0,6	0,522
uL-FABP/uCr 6h nakon HT	0,672 (0,468-0,876)	0,104	75,84	0,8	0,6	0,099
uL-FABP /uCr 24h nakon HT	0,813 (0,665-0,960)	0,075	31,78	1,0	0,6	<0,001**
Bazalni uVNN-1/uCr	0,630 (0,391-0,870)	0,122	6,48	0,8	0,4	0,287
uVNN-1/uCr 2h nakon HT	0,464 (0,231-0,696)	0,119	74,31	0,7	0,5	0,758
uVNN-1/uCr 6h nakon HT	0,464 (0,213-0,714)	0,128	42,67	0,5	0,6	0,775
uVNN-1/uCr 24 h nakon HT	0,521 (0,258-0,783)	0,134	39,72	0,7	0,6	0,876

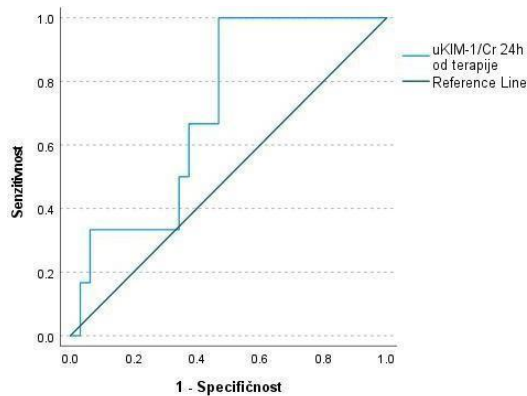
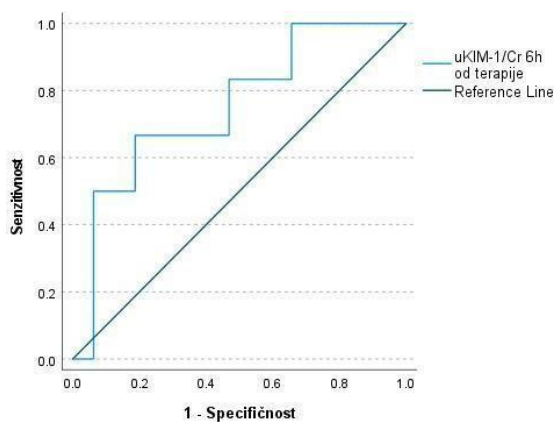
* p <0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 24.: AOB – akutno bubrežno oštećenje; AUC – površina ispod krive; CI – interval poverenja; SE – standardna greška; Sp – specifičnost; Sn – senzitivnost; uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; HT – hemioterapija; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1.



a) uL-FABP/uCr 24h od primene hemioterapije

b) uNGAL/uCr 24h od primene hemioterapije



c) uKIM-1/uCr 6h od isteka hemioterapije

d) uKIM-1/uCr 24h od isteka hemioterapije

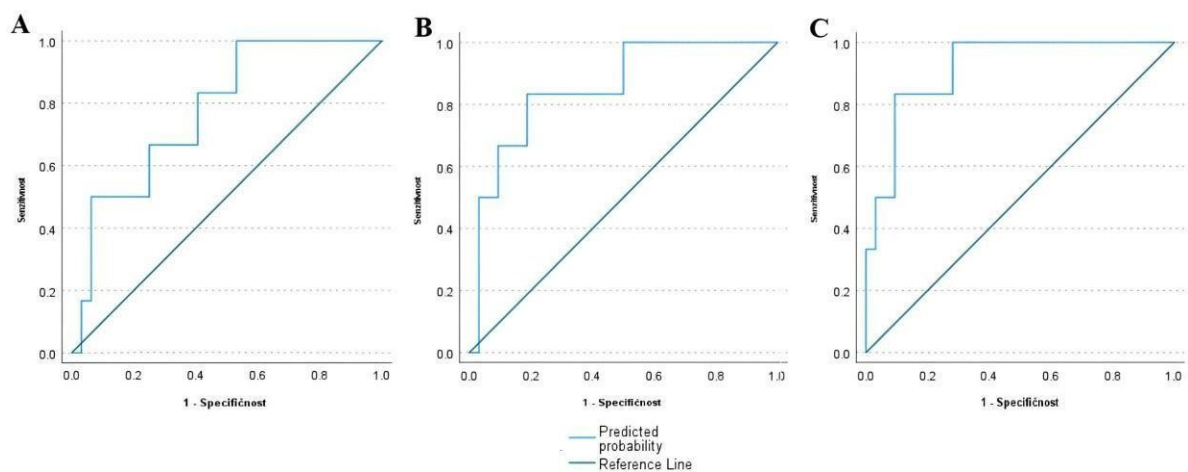
Grafikon 11 (a, b, c, d). ROC kriva - dijagnostički potencijal uL-FABP/uCr, uNGAL/uCr i uKIM-1/uCr u predikciji AOB

Tabela 25. Dijagnostička vrednost modela integriranih novih urinarnih biomarkera za predikciju AOB određena primenom ROC analize

Varijable	KDIGO		
	AUC (95 th CI)	SE	p
Bazalne vrednosti novih urinarnih biomarkera	0,729 (0,493-0,965)	0,121	0,057
Novi urinarni biomarkeri izmereni 2h nakon HT	0,776 (0,594-0,958)	0,093	0,003**
Novi urinarni biomarkeri izmereni 6h nakon HT	0,854 (0,698-1,011)	0,080	<0,001**
Novi urinarni biomarkeri izmereni 24h nakon HT	0,917 (0,816-1,017)	0,051	<0,001**

* p <0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 25.: AUC- površina ispod krive; CI – interval poverenja; SE – standardna greška, HT - hemioterapija.



Grafikon 12 (A, B i C). ROC kriva - dijagnostički potencijal kombinovanih novih urinarnih biomarkera izmerenih 24h (A), 2h (B) i 6h (C) nakon primene hemioterapije u predikciji razvoja AOB

4.6. Vremenski zavisne promene urinarnih biomarkera subkliničkog akutnog bubrežnog oštećenja tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije

Poređenja nivoa novih biomarkera urina koji su korigovani prema vrednostima kreatinina urina po parovima sa post hoc analizom sprovedena su primenom *Friedman*-ovog testa, čiji su rezultati prikazani u Tabelama 26-30. Tabele prikazuju komparaciju nivoa novih urinarnih biomarkera među merenjima u različitim vremenskim tačkama za celokupnu kohortu ispitanika (n=38) tokom inicijalnog (I ciklus hemioterapije) i dva sukcesivna ciklusa hemioterapije (II i III ciklus).

Kod bolesnika koji su primali cisplatin i/ili ifosfamid, tokom inicijalnog ciklusa hemioterapije uočena je statistički značajna razlika u bazalnim vrednostima NGAL-a u odnosu na vrednosti ovog biomarkera izmerene u sva tri preostala merenja (2 sata, 6 sati i 24 sata nakon hemioterapije). Tokom drugog ciklusa hemioterapije, značajna razlika je uočena u bazalnim vrednostima NGAL-a u odnosu na vrednosti izmerene 2 sata i 6 sati nakon hemioterapije, dok je tokom trećeg ciklusa hemioterapije za NGAL urina uočena signifikantna razlika samo u bazalnim vrednostima ovog biomarkera u odnosu na vrednosti izmerene 2 sata nakon hemioterapije (Tabela 26).

U vrednostima KIM-1 je i tokom prvog i tokom drugog ciklusa hemioterapije uočena značajna razlika u bazalnim nivoima ovog biomarkera u odnosu na njegove nivoe izmerene u sva tri preostala merenja (2 sata, 6 sati i 24 sata nakon hemioterapije). Tokom trećeg ciklusa hemioterapije bazalni nivoi KIM-1 su se značajno razlikovali jedino u odnosu na nivoe izmerene 6 sati nakon primene hemioterapije (Tabela 26).

U vrednostima L-FABP-a je i tokom prvog i tokom drugog ciklusa hemioterapije uočena značajna razlika u bazalnim vrednostima ovog biomarkera u odnosu na vrednosti izmerene u sva tri preostala merenja (2 sata, 6 sati i 24 sata nakon hemioterapije), kao i u vrednostima izmerenim 6 sati nakon terapije u odnosu na vrednosti izmerene 24 sata nakon terapije. Tokom trećeg ciklusa hemioterapije, statistički značajna razlika je uočena u vrednostima L-FABP-a izmerenim 24 sata nakon terapije u odnosu na bazalne vrednosti ovog biomarkera (Tabela 26).

U vrednostima VNN-1 je tokom prvog ciklusa hemioterapije uočena značajna razlika u bazalnim vrednostima ovog biomarkera u odnosu na sva tri preostala merenja (2 sata, 6 sati i 24 sata nakon hemioterapije), kao i u vrednostima VNN-1 izmerenim 24 sata nakon hemioterapije uz odnosu na vrednosti izmerene 2 sata i 6 sati nakon primenjene hemioterapije. Tokom drugog ciklusa hemioterapije, uočena je značajna razlika u bazalnim vrednostima VNN-1 u odnosu na sva tri preostala merenja (2 sata, 6 sati i 24 sata nakon terapije), dok je tokom trećeg ciklusa hemioterapije uočena statistički značajna razlika u bazalno izmerenim vrednostima VNN-1 u odnosu na vrednosti ovog biomarkera koje su izmerene 2 sata i 6 sati nakon primenjene hemioterapije (Tabela 26).

Uprkos odsustvu klinički manifestnog AOB, sva četiri urinarna proteinska biomarkera pokazala su vremenski zavisno povećanje nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida i tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije. Bazalne koncentracije svih urinarnih biomarkera tokom ponavljanih ciklusa hemioterapije su ostale povišene u poređenju sa bazalnim vrednostima ovih biomarkera u inicijalnom ciklusu, što može da ukazuje na perzistiranje tubulskog oštećenja, odnosno nekompletni oporavak tubulskih funkcija između ciklusa hemioterapije, a bez prisustva drugih laboratorijskih kriterijuma za AOB (Tabele 26, 27 i Grafikon 13 a-d).

Posebno su bile značajne vremenski zavisne promene koncentracija urinarnih biomarkera uočene u III ciklusu hemioterapije (Grafikon 13 a-d, Tabele 27-30). U poređenju sa I ciklusom HT, tokom III ciklusa hemioterapije zabeležene su značajno veće koncentracije novih urinarnih biomarkera. Značajna razlika u nivoima novih urinarnih biomarkera između I i III ciklusa hemioterapije utvrđena je u svim tačkama merenja za NGAL urina; u bazalnim nivoima VNN-1 ($p < 0,01$), nivoima VNN-1 2h ($p < 0,05$) i 24h od isteka hemioterapije ($p < 0,01$) kao i nivoima L-FABP 2h ($p < 0,05$) i 24h od isteka hemioterapije ($p < 0,01$). Nivoi KIM-1 urinarnog biomarkera su se između ova dva ciklusa hemioterapije značajno razlikovali samo u jednoj tački merenja, odnosno 24h od isteka hemioterapije ($p < 0,01$) (Tabela 30, Grafikon 13b).

Tabela 26. Rezultati komparacije nivoa urinarnih biomarkera korigovanih za vrednosti kreatinina urina među različitim merenjima tokom prva tri ciklusa hemioterapije

Ciklus		I			
Biomarkeri (ng/mg)		uNGAL/uCr	uKIM-1/uCr	uL-FABP/uCr	uVNN-1/uCr
Poređenja među grupama		<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001**
Poređenja u pojedinačnim parovima merenja	B vs. 2h	<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001**
	B vs. 6h	<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001**
	B vs. 24h	0.001**	<0.001**	0.004	0.002**
	2h vs. 6h	>0.999	>0.999	>0.999	>0.999
	2h vs. 24h	>0.999	>0.999	0.077	0.04*
	6h vs. 24h	>0.999	>0.999	0.004**	0.005**
Ciklus		II			
Biomarkeri (ng/mg)		uNGAL/uCr	uKIM-1/uCr	uL-FABP/uCr	uVNN-1/uCr
Poređenja među grupama		<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001**
Poređenja u pojedinačnim parovima merenja	B vs. 2h	<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001**
	B vs. 6h	<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001
	B vs. 24h	0.072	0.05	0.028*	0.007**
	2h vs. 6h	>0.999	>0.999	>0.999	>0.999
	2h vs. 24h	0.539	0.196	0.614	0.614
	6h vs. 24h	0.229	0.142	0.019	0.357
Ciklus		III			
Biomarkeri (ng/mg)		uNGAL/uCr	uKIM-1/uCr	uL-FABP/uCr	VNN-1/uCr
Poređenja među grupama		0.004**	0.022*	0.009**	0.002**
Poređenja u pojedinačnim parovima merenja	B vs. 2h	0.002	0.344	0.113	0.01*
	B vs. 6h	0.152	0.015*	0.061	0.005**
	B vs. 24h	>0.999	>0.999	0.01*	0.705
	2h vs. 6h	>0.999	>0.999	>0.999	>0.999
	2h vs. 24h	0.152	>0.999	>0.999	0.705
	6h vs. 24h	>0.999	0.561	>0.999	0.442

* p <0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 26.: B – bazalni nivo; uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1.

Tabela 27. Komparacija bazalnih nivoa novih urinarnih biomarkera korigovanih za vrednosti kreatinina urina između 3 sukcesivna ciklusa hemioterapije

Bazalni nivoi urinarnih biomarkera korigovani za kreatinin urina						
Biomarker (ng/mg)	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
uNGAL/uCr	I	97.71 (20.31-215.19)	0,016*	0,447	0,012*	0,447
	II	235.70 (42.31-429.77)				
	III	293.49 (162.27-1863.92)				
uKIM-1/uCr	I	6.20 (1.13-10.29)	0,513	/	/	/
	II	10.16 (3.56-27.06)				
	III	13.98 (1.88-34.15)				
uL-FABP-1/uCr	I	10.17 (4.23-17.17)	0,513	/	/	/
	II	15.54 (5.80-30.81)				
	III	28.54 (8.78-103.57)				
uVNN-1/uCr	I	5.30 (1.15-18.34)	0,002**	0,25	0,002**	0,25
	II	6.02 (1.84-23.15)				
	III	21.83 (6.89-65.48)				

* p <0,05; **p<0,01

Legenda tabele 27.: *B* – bazalni nivo; *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1.

Tabela 28. Komparacija nivoa novih urinarnih biomarkera korigovanih za kreatinin urina merenih 2h od isteka hemioterapije između 3 sukcesivna ciklusa hemioterapije

Nivoi urinarnih biomarkera korigovani za kreatinin urina 2h od isteka hemioterapije						
Biomarker (ng/mg)	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
uNGAL/uCr	I	214.11 (84.46-1064.26)	0,006**	0,745	0,004**	0,13
	II	433.54 (160.00-2004.00)				
	III	5210.84 (907.29-6980.00)				
uKIM-1/uCr	I	27.48 (5.50-64.38)	0,311	/	/	/
	II	52.00 (12.42-154.00)				
	III	35.17 (9.13-104.01)				
uL-FABP-1/uCr	I	52.00 (25.91-77.29)	0,019*	0,745	0,018*	0,337
	II	78.33 (29.09-134.33)				
	III	479.00 (120.33-725.19)				
uVNN-1/uCr	I	29.12 (11.46-164.68)	0,009**	>0.999	0,012*	0,063
	II	69.13 (16.67-128.00)				
	III	224.22 (141.38-277.75)				

* p <0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 28.: uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip I koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1.

Tabela 29. Komparacija nivoa novih urinarnih biomarkera korigovanih za kreatinin urina merenih 6h od isteka hemioterapije između 3 sukcesivna ciklusa hemioterapije

Nivoi urinarnih biomarkera korigovani za kreatinin urina 6h od hemioterapije						
Biomarker (ng/mg)	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
uNGAL/uCr	I	318.80 (84.17-918.13)	0,006**	0,745	0,004**	0,13
	II	740.00 (182.67-3059.00)				
	III	3116.59 (1020.58-5101.42)				
uKIM-1/uCr	I	16.50 (6.14-81.88)	0,846	/	/	/
	II	76.50 (12.42-187.00)				
	III	46.67 (9.71-217.67)				
uL-FABP/uCr	I	55.15 (24.92-138.00)	0,223	/	/	/
	II	121.67 (64.83-181.00)				
	III	595.34 (108.34-1126.42)				
uVNN-1/uCr	I	41.17 (15.21-158.17)	0,055	/	/	/
	II	110.61 (15.33-197.64)				
	III	218.50 (169.35-319.42)				

* p <0,05; **p<0,01

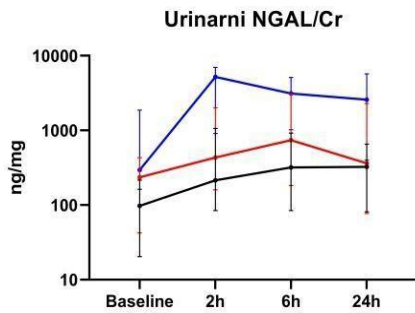
Legenda Tabele 29.: uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip I koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1.

Tabela 30. Komparacija nivoa novih urinarnih biomarkera korigovanih za kreatinin urina izmerenih 24h od isteka hemioterapije između 3 sukcesivna ciklusa hemioterapije

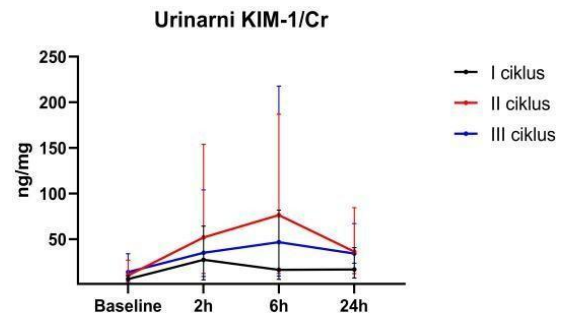
Nivoi urinarnih biomarkera korigovani za kreatinin urina 24h od hemioterapije						
Biomarker (ng/mg)	Ciklus	Med (IQR)	p (Friedman)	p (post-hoc poređenja ciklusa)		
				I vs. II	I vs. III	II vs. III
uNGAL/uCr	I	324.50 (80.89-653.30)	0,006**	0,745	0,004**	0,13
	II	362.30 (76.92-2281.79)				
	III	2570.40 (398.65-5691.55)				
uKIM-1/uCr	I	16.97 (7.53-40.70)	0,03*	>0.999	0,028*	0,25
	II	36.33 (12.40-84.54)				
	III	34.22 (23.66-67.04)				
uL-FABP-1/uCr	I	25.29 (13.38-58.68)	0,006**	0,745	0,004**	0,13
	II	38.49 (18.83-75.73)				
	III	142.09 (69.07-412.12)				
uVNN-1/uCr	I	34.80 (5.12-69.61)	0,006**	0,13	0,004**	0,745
	II	47.18 (22.92-87.38)				
	III	88.17 (64.17-182.29)				

* p <0,05; **p<0,01

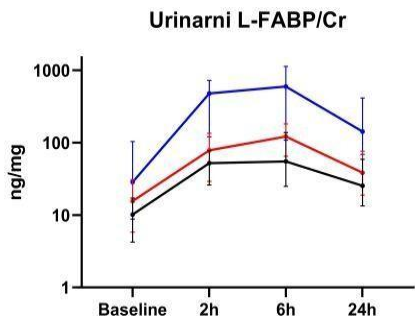
Legenda Tabele 30.: uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1.



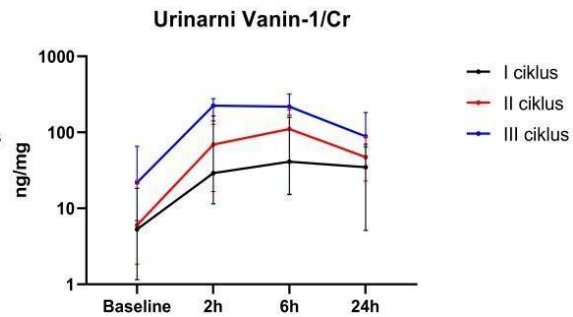
a) Nivoi urinarnog NGAL kroz cikluse HT



b) Nivoi urinarnog KIM-1 kroz cikluse HT



c) Nivoi urinarnog L-FABP kroz cikluse HT



d) Nivoi urinarnog VNN-1 kroz cikluse HT

Grafikon 13 (a-d). Grafički prikaz kretanja novih urinarnih biomarkera kroz vreme za prva tri ciklusa hemioterapije (medijane i interkvartilni opsezi)

(Legenda: *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1; HT – hemioterapija)

4.7. Predikcija nastanka hronične bolesti bubrega ≥ 1 godinu nakon završenog lečenja

4.7.1. Akutno oštećenje bubrega nastalo tokom primene cisplatina i/ili ifosfamida kao faktor rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja bubrega

Od ukupno 19 bolesnika kod kojih je uspešno završeno lečenje maligne bolesti, KDIGO kriterijum za postojanje hronične bubrežne bolesti je imalo 4 (21,1%) bolesnika. Svi bolesnici (n=19) su imali očuvanu JGF ali je kod 4 bolesnika godinu i više od završetka lečenja maligniteta bila prisutna visoka mikroalbuminurija (3–30 mg/mmol). Devet bolesnika (47,4%) je imalo znake hroničnog toksičnog oštećenja tubula. Hipomagneziemiju je imao 1 bolesnik (NCI-CTCAE kriterijumi), povišenu frakcionu ekskreciju kalijuma je imalo 2 bolesnika dok je 8 bolesnika imalo povišenu frakcionu ekskreciju magnezijuma.

Razvoj subkliničkog akutnog oštećenja bubrega tokom terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida nije bio statistički značajno povezan sa nastankom hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula) kod bolesnika koji su uspešno završili lečenje maligne bolesti (Tabele 31, 32 i 33).

Tabela 31. Distribucija učestalosti subkliničkog akutnog oštećenja bubrega tokom primene cisplatina i/ili ifosfamida među pacijentima sa i bez HBB (KDIGO kriterijumi) ≥ 1 godinu nakon primene terapije

%		HBB (KDIGO kriterijumi)	
		Ne (n=15)	Da (n=4)
AOB	Ne (n=16)	86,7	75,0
	Da (n=3)	13,3	25,0
	Ukupno (n=19)	100,0	100,0

P=0,530 (Fisher-ov test)

Legenda Tabele 31.: AOB- akutno oštećenje bubrega; HBB – hronična bolest bubrega; KDIGO - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*.

Tabela 32. Distribucija učestalosti subkliničkog akutnog oštećenja bubrega tokom primene cisplatina i/ili ifosfamida među pacijentima sa i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula ≥ 1 godinu nakon primene terapije

%		Hronično tubulsko oštećenje	
		Ne (n=10)	Da (n=9)
AOB	Ne (n=16)	90,0	78,8
	Da (n=3)	10,0	22,2
	Ukupno (n=19)	100,0	100,0

P=0,582 (Fisher-ov test)

Legenda Tabele 32.: *AOB* – akutno oštećenje bubrega.

Tabela 33. Distribucija učestalosti subkliničkog akutnog oštećenja bubrega tokom primene cisplatina i/ili ifosfamida među pacijentima sa i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hroničnog toksičnog oštećenja tubula) ≥ 1 godinu nakon primene terapije

%		HBB i/ili hronično tubulsko oštećenje	
		Ne (n=8)	Da (n=11)
AOB	Ne	7 (87,5%)	9 (81,8%)
	Da	1 (12,5%)	2 (18,2%)
	Ukupno	100,0%	100,0%

p>0,999 (Fisher-ov test)

Legenda Tabele 33.: *AOB* – akutno oštećenje bubrega; *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*.

4.7.2. Vrsta maligne bolesti i primenjene citostatske terapije kao faktori rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja bubrega

Vrsta maligne bolesti kao i primenjenog citostatika (cisplatin i/ili ifosfamid) u ispitivanoj kohorti nisu bili statistički signifikantno povezani sa nastankom hroničnog toksičnog oštećenja bubrega ≥ 1 godinu od završetka lečenja (HBB-KDIGO kriterijumi) i/ili hronično toksično oštećenje tubula) (Tabele 34, 35, 36, 37, 38 i 39).

Tabela 34. Vrsta maligne bolesti kao faktor rizika za nastanak HBB (KDIGO kriterijumi)

%		HBB (KDIGO kriterijumi)	
		Ne (n=15)	Da (n=4)
Dijagnoza	Hepatoblastom	1 (6,7%)	0 (0,0%)
	Neuroblastom	3 (20,0%)	1 (25,0%)
	HCC	1 (6,7%)	0 (0,0%)
	ALL	1 (6,7%)	1 (25,0%)
	RMS	1 (6,7%)	2 (50,0%)
	Burkitt-ov limfom	4 (26,7%)	0 (0,0%)
	Nediferentovani sarkom	1 (6,7%)	0 (0,0%)
	Tumor germinativnih ćelija	2 (13,3%)	0 (0,0%)
	Nazofaringealni karcinom	1 (6,7%)	0 (0,0%)
	Ukupno (n=4)	100,0	100,0

p=0,487 (Hi kvadrat test)

Legenda Tabele 34.: *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; *HCC* – hepatocelularni karcinom; *ALL* - akutna limfoblastna leukemija; *RMS* – rabdomiosarkom.

Tabela 35. Vrsta maligne bolesti kao faktor rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja tubula

%		Hronično tubulsko oštećenje	
		Ne (n=10)	Da (n=9)
Dijagnoza	Hepatoblastom	1 (10,0%)	0 (0,0%)
	Neuroblastom	1 (10,0%)	3 (33,3%)
	HCC	1 (10,0%)	0 (0,0%)
	ALL	2 (20,0%)	0 (0,0%)
	RMS	1 (10,0%)	2 (66,7%)
	Burkitt-ov limfom	3 (30,0%)	1 (11,1%)
	Nediferentovani sarkom	0 (0,0%)	1 (11,1%)
	Tumor germinativnih ćelija	0 (0,0%)	2 (66,7%)
	Nazofaringealni karcinom	1 (10,0%)	0 (0,0%)
	Ukupno	10 (100,0%)	9 (100,0%)

p=0,244 (Hi kvadrat test)

Legenda Tabele 35.: *HCC* – hepatocelularni karcinom; *ALL* - akutna limfoblastna leukemija; *RMS* – rabdomiosarkom.

Tabela 36. Vrsta maligne bolesti kao faktor rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula)

%		HBB i/ili hronično tubulsko oštećenje	
		Ne (n=8)	Da (n=11)
Dijagnoza	Hepatoblastom	1 (12,5%)	0 (0,0%)
	Neuroblastom	1 (12,5%)	3 (27,3%)
	HCC	1 (12,5%)	0 (0,0%)
	ALL	1 (12,5%)	1 (9,1%)
	RMS	0 (0,0%)	3 (27,3%)
	Burkitt-ov limfom	3 (37,5%)	1 (9,1%)
	Nediferentovani sarkom	0 (0,0%)	1 (9,1%)
	Tumor germinativnih ćelija	0 (0,0%)	2 (18,2%)
	Nazofaringealni karcinom	1 (12,5%)	0 (0,0%)
	Ukupno	8 (100,0%)	11 (100,0%)

p=0,214 (Hi kvadrat test)

Legenda Tabele 36.: *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; *HCC* – hepatocelularni karcinom; *ALL* - akutna limfoblastna leukemija; *RMS* – rabdomiosarkom.

Tabela 37. Distribucija učestalosti vrste primenjenog citostatika među pacijentima sa (n=4) i bez (n=15) HBB (KDIGO kriterijumi)

%		HBB (KDIGO kriterijumi)	
		Ne (n=15)	Da (n=4)
Lek	Cisplatin (n=1)	33,3	25,0
	Ifosfamid (n=3)	60,0	75,0
	Cisplatin + Ifosfamid (n=0)	6,7	0,0
	Ukupno (n=19)	100,0	100,0

p=0.799 (Hi kvadrat test)

Legenda Tabele 37.: *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*.

Tabela 38. Distribucija učestalosti vrste primenjenog citostatika među pacijentima sa (n=9) i bez (n=10) hroničnog toksičnog oštećenja tubula

%		Hronično tubulsko oštećenje	
		Ne (n=10)	Da (n=9)
Lek	Cisplatin (n=2)	40,0	22,2
	Ifosfamid (n=6)	60,0	66,7
	Cisplatin + Ifosfamid (n=1)	0,0	11,1
	Ukupno (n=19)	100,0	100,0

p=0.445 (Hi kvadrat test)

Tabela 39. Distribucija učestalosti vrste primenjenog citostatika među pacijentima sa (n=11) i bez (n=8) hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula)

		HBB i/ili hronično tubulsko oštećenje	
		Ne	Da
Lek	Cisplatin	4 (50,0%)	2 (18,2%)
	Ifosfamid	4 (50,0%)	8 (72,7%)
	Cisplatin + Ifosfamid	0 (0,0%)	1 (9,1%)
	Ukupno	8 (100,0%)	11 (100,0%)

p=0,274 (Hi kvadrat test)

Legenda Tabele 39.: *HBB – hronična bolest bubrega; KDIGO - Kidney Disease: Improving Global Outcomes.*

4.7.3. Demografske karakteristike, biomarkeri bubrežne funkcije, novi serumski i urinarni biomarkeri i parametri oksidativnog stresa kod ispitanika sa i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja bubrega

Kod bolesnika koji su razvili hronično toksično oštećenje bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula) (n=11), nivoi urinarnih biomarkera NGAL, L-FABP kao i VNN-1 korigovani za vrednosti kreatinina urina su bili značajno viši (p<0,05) u poređenju sa bolesnicima bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (n=8) (Tabela 42).

Tabela 40. Vrednosti ispitivanih parametara među grupama bolesnika sa (n=4) i bez znakova HBB (KDIGO kriterijumi) (n=15)

Parametri	Bez znakova HBB (KDIGO kriterijumi); Mean±SD/Med (IQR)	Sa znacima HBB (KDIGO kriterijumi); Mean±SD/Med (IQR)	p
Uzrast u vreme dijagnoze (godine)	9,20 (3,92-17,42)	7,01 (4,65-10,67)	0,616
Uzrast u vreme kontrole nakon završenog lečenja (godine)	12,16±6,11	8,73±3,19	0,300
Indeks telesne mase (kg/m ²)	16,30 (15,00-20,70)	15,66 (13,63-16,85)	0,368
Broj primenjenih ciklusa HT	4,00 (2,00-5,00)	6,50 (2,50-9,00)	0,381
sCr (umol/l)	53,67±18,63	49,00±19,80	0,665
pJGF (Schwartz formula) (ml/min/1,73m ²)	137,75±28,61	136,43±31,00	0,937
sNGAL (ng/ml)	25,06 (13,72-40,84)	29,00 (20,42-43,16)	0,721
sFGF-23 (ng/ml)	0,25 (0,18-0,34)	0,61 (0,20-1,23)	0,271
TAS (umol/l)	354,03±285,59	221,58±169,45	0,393
TOS (umol/l)	27,64±12,99	15,83±13,24	0,126
PAB (HKU)	143,33±46,40	121,48±56,19	0,432
CyC (ng/ml)	0,60±0,05	0,58±0,05	0,447
uNGAL/uCr (ng/mg)	19,77 (10,06-25,98)	75,69 (47,49-651,55)	0,021*
uKIM-1/uCr (ng/mg)	0,47 (0,24-0,67)	1,31 (0,04-14,73)	0,841
uL-FABP/uCr (ng/mg)	1,01 (0,55-1,54)	14,91 (3,02-705,75)	0,012*
uVNN-1/uCr (ng/mg)	2,61 (0,72-3,27)	13,15 (8,88-55,20)	0,016*

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 40.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; *sNGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *sCr* – kreatinin seruma; *pJGF* – procenjena jačina glomerulske filtracije; *FGF-23* – serumski fibroblastni faktor rasta-23; *sCyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PAB* - prooksidativni-antioksidativni balans; *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1; *HT* – hemioterapija.

Tabela 41. Vrednosti ispitivanih parametara među grupama bolesnika sa (n=9) i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula (n=10)

Parametri	Bez hroničnog tubulskog oštećenja; Mean±SD / Med (IQR)	Sa hroničnim tubulskim oštećenjem; Mean±SD / Med (IQR)	p
Uzrast u vreme dijagnoze maligne bolesti (godine)	7,21 (3,75-17,25)	9,20 (4,05-14,50)	0,838
Uzrast u vreme kontrole nakon završenog lečenja (godine)	11,43±6,02	11,44±5,75	0,997
Indeks telesne mase (kg/m ²)	16,50 (14,20-20,98)	15,90 (15,05-17,40)	0,624
Broj ciklusa HT	3,00 (2,00-5,25)	4,00 (3,50-9,00)	0,165
sCr (umol/l)	52,10±16,37	53,33±21,46	0,889
pJGF (Schwartz formula) (ml/min/1,73m ²)	140,37±19,37	134,26±36,73	0,651
sNGAL (ng/ml)	27,20 (12,00-35,56)	25,06 (16,55-43,64)	0,486
sFGF-23 (ng/ml)	0,24 (0,18-0,40)	0,26 (0,20-1,14)	0,462
TAS (umol/L)	401,87±285,09	242,01±232,08	0,201
TOS (umol/L)	23,59±12,86	26,89±14,95	0,612
PAB (HKU)	136,24±54,01	141,49±42,92	0,819
CyC (ng/ml)	0,60±0,06	0,60±0,05	0,862
uNGAL/uCr (ng/mg)	18,12 (8,25-61,80)	25,98 (16,69-75,88)	0,253
uKIM-1/uCr (ng/mg)	0,50 (0,11-0,97)	0,47 (0,16-1,34)	0,744
uL-FABP/uCr (ng/mg)	1,03 (0,54-2,53)	1,38 (0,86-15,65)	0,102
uVNN-1/uCr (ng/mg)	2,23 (0,54-9,03)	3,27 (1,91-16,31)	0,191

Legenda Tabele 41.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *sNGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *sCr* – kreatinin seruma; *pJGF* – procenjena jačina glomerulske filtracije; *FGF-23* – serumski fibroblastni faktor rasta-23; *sCyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PAB* - prooksidativni-antioksidativni balans; *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1; *HT* – hemioterapija.

Tabela 42. Vrednosti ispitivanih parametara među grupama bolesnika sa (n=11) i bez znakova (n=8) hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula)

Parametri	Bez hroničnog toksičnog oštećenja bubrega; Mean±SD / Med (IQR)	Sa hroničnim toksičnim oštećenjem bubrega; Mean±SD / Med (IQR)	p
Uzrast u vreme dijagnoze (godine)	9,54 (3,25-17,75)	8,42 (4,17-11,58)	0,901
Uzrast u vreme kontrole nakon završenog lečenja (godine)	12,17±6,56	10,91±5,31	0,650
Broj primenjenih ciklusa HT	3,00 (2,00-4,75)	4,00 (3,00-9,00)	0,137
Indeks telesne mase (kg/m ²)	18,20 (14,88-21,53)	15,90 (15,00-17,10)	0,215
sCr (μmol/l)	54,13±17,85	51,64±19,61	0,780
pJGF (Schwartz formula) (ml/min/1,73m ²)	140,71±21,63	135,12±33,05	0,682
sNGAL (ng/ml)	30,27 (8,55-39,85)	24,67 (17,70-40,84)	0,869
sFGF-23 (ng/ml)	0,26 (0,18-0,53)	0,26 (0,18-0,95)	0,680
TAS (μmol/l)	448,36±287,16	237,26±223,56	0,089
TOS (μmol/l)	25,23±11,52	25,10±15,49	0,985
PAB (HKU)	147,54±48,54	132,32±48,53	0,509
CyC (ng/ml)	0,60±0,06	0,60±0,04	0,868
uNGAL/uCr (ng/mg)	12,79 (7,68-23,89)	47,35 (19,77-94,74)	0,039*
uKIM-1/uCr (ng/mg)	0,50 (0,16-0,67)	0,47 (0,07-1,47)	0,741
uL-FABP/uCr (ng/mg)	0,75 (0,52-1,43)	2,48 (1,01-6,11)	0,021*
uVNN-1/uCr (ng/mg)	1,07 (0,47-3,13)	7,62 (2,61-13,62)	0,032*

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 42.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *sNGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *sCr* – kreatinin seruma; *pJGF* – procenjena jačina glomerulske filtracije; *FGF-23* – serumski fibroblastni faktor rasta-23; *sCyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PAB* - prooksidativni-antioksidativni balans; *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1; *HT* – hemioterapija.

4.7.4. Dijagnostički potencijal novih serumskih i urinarnih biomarkera za predikciju rizika za razvoj hroničnog toksičnog oštećenja bubrega

Nivoi novih serumskih biomarkera kao i parametara oksidativnog stresa tokom primene hemioterapije se nisu značajno razlikovali kod bolesnika koji su po završetku lečenja imali znake hronične bolesti bubrega prema KDIGO kriterijumima (n=4) u poređenju sa bolesnicima bez znakova HBB (n=15) (Tabela 43).

Cistatin C seruma meren 24h od primene hemioterapije je jedini među ispitivanim serumskim biomarkerima pokazao statistički značajnu razliku u svojim vrednostima između grupa ispitanika sa (n=9) i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula (n=10) (Tabela 44). U cilju ispitivanja značaja ovog biomarkera kao potencijalnog prediktora hroničnog toksičnog oštećenja tubula učinjena je regresiona analiza. Ovom analizom nije potvrđena prediktivna vrednost ($p=0.083$) cistatina C za hronično oštećenje tubula izazvano primenom nefrotoksičnih citostatika.

Novi urinarni biomarkeri nisu pokazali statistički značajnu razliku u svojim vrednostima u ispitivanim vremenskim tačkama tokom ciklusa hemioterapije između grupa ispitanika sa i bez znakova HBB (KDIGO kriterijumi) nakon završetka lečenja (Tabela 46).

Od svih ispitivanih urinarnih biomarkera, samo su urinarni L-FABP meren pre započinjanja hemioterapije i urinarni L-FABP meren 24h od završetka hemioterapije pokazali statistički značajnu razliku u svojim vrednostima između grupa ispitanika sa i bez znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula, pa su isti smatrani za potencijalne prediktore tubulskog oštećenja i uvršteni su u regresionu analizu (Tabele 47 i 48).

Univarijabilna regresiona analiza je pokazala da je urinarni L-FABP meren pre započinjanja hemioterapije značajan prediktor za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja tubula ≥ 1 godinu od završetka lečenja maligne bolesti (Tabela 48).

Nivoi urinarnog biomarkera L-FABP mereni pre započinjanja hemioterapije su bili statistički značajno viši u grupi bolesnika sa znacima hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (n=11) (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula) u poređenju sa grupom bolesnika koji nisu ispunjavali kriterijume za hronično oštećenje bubrega izazvano hemioterapijom (n=8). Regresionom analizom je potvrđen značaj ovog biomarkera za predikciju rizika za nastanak hroničnog toksičnog oštećenja bubrega izazvano primenom cisplatina i/ili ifosfamida (Tabele 49 i 50).

Tabela 43. Nivoi novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa u ispitivanim vremenskim tačkama tokom ciklusa hemioterapije u kod bolesnika sa (n=4) i bez (n=15) znakova HBB (KDIGO kriterijumi)

Parametri	Bez HBB (KDIGO kriterijumi); Mean±SD/Med (IQR)	Sa HBB (KDIGO kriterijumi); Mean±SD/Med (IQR)	p
Bazalni NGAL seruma (ng/ml)	37,10 (22,60-85,70)	28,05 (26,20-93,28)	0,764
Bazalni FGF-23 seruma (ng/mL)	0,33 (0,12-0,88)	0,32 (0,21-0,52)	0,841
Bazalni TAS (µmol/L)	779,27±264,06	761,75±317,52	0,924
Bazalni TOS seruma (µmol/L)	56,19±32,38	58,52±45,15	0,908
Bazalni PON1 seruma (U/L)	85,50 (38,38-254,50)	86,00 (50,50-313,50)	0,671
Bazalni PAB seruma (HKU)	143,36±59,49	140,50±67,59	0,935
Bazalni CyC seruma (ng/ml)	0,68±0,11	0,76±0,12	0,232
NGAL seruma 2h nakon HT (ng/ml)	46,90 (15,63-106,10)	28,20 (21,60-378,98)	0,920
FGF-23 seruma 2h nakon HT (ng/ml)	0,48 (0,09-0,87)	0,44 (0,30-0,71)	0,764
TAS seruma 2h nakon HT (µmol/l)	585,82±303,66	653,75±205,33	0,681
TOS seruma 2h nakon HT (µmol/l)	58,60±27,98	60,43±24,33	0,908
PON1 seruma 2h nakon HT (U/L)	93,50 (32,50-267,50)	119,00 (52,25-355,25)	0,750
PAB seruma 2h nakon HT (HKU)	159,79±58,97	156,60±49,45	0,923
CyC seruma 2h nakon HT (ng/ml)	0,79±0,12	0,85±0,08	0,381
NGAL seruma 6h nakon HT (ng/ml)	77,39 (18,80-96,60)	74,90 (35,88-146,70)	0,617
FGF-23 seruma 6h nakon HT (pg/ml)	0,38 (0,07-1,23)	0,48 (0,23-0,70)	0,920
TAS seruma 6h nakon HT (µmol/l)	648,00 (492,00-1060,00)	671,50 (444,75-788,75)	0,920
TOS seruma 6h nakon HT (µmol/l)	58,89±27,26	70,67±32,50	0,474
PON1 seruma 6h nakon HT (U/l)	79,00 (37,50-245,50)	130,00 (11,00-345,00)	>0,999
PAB seruma 6h nakon HT (HKU)	149,71±67,39	136,10±64,92	0,724
CyC seruma 6h nakon HT (ng/ml)	0,77±0,12	0,90±0,09	0,072
NGAL seruma 24h nakon HT (ng/ml)	73,10 (49,12-228,00)	63,30 (35,55-348,75)	>0,999
FGF-23 seruma 24h nakon HT (pg/ml)	0,70 (0,31-1,24)	0,35 (0,15-1,06)	0,484
TAS seruma 24h nakon HT (µmol/l)	616,51±261,68	651,50±220,11	0,811
TOS seruma 24h nakon HT (µmol/l)	62,76±23,74	51,75±35,08	0,464
PON1 seruma 24h nakon HT (U/l)	86,00 (31,50-269,25)	108,50 (21,25-381,75)	>0,999
PAB seruma 24h nakon HT (HKU)	138,31±63,46	130,25±45,26	0,816
CyC seruma 24h nakon HT (ng/ml)	0,89 (0,73-0,96)	0,89 (0,86-0,97)	0,504

Legenda Tabele 43.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; *NGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *FGF-23* – serumski fibroblastni faktor rasta-23; *sCyC* – *cistatin C* seruma; *TOS* - *totalni oksidativni status*, *TAS* - *totalni antioksidativni status*; *PON1* - *aktivnost enzima paraoksonaze 1*; *PAB* - *prooksidativni-antioksidativni balans*; *HT* - *hemioterapija*.

Tabela 44. Nivoi novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa u ispitivanim vremenskim tačkama tokom ciklusa hemioterapije u kod bolesnika sa (n=9) i bez (n=10) znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula

Parametri	Bez hroničnog tubulskog oštećenja; Mean±SD/Med (IQR)	Sa hroničnim tubulskim oštećenjem; Mean±SD/Med (IQR)	p
Bazalni NGAL seruma (ng/ml)	31,95 (18,76-93,45)	29,30 (25,69-69,80)	0,744
Bazalni FGF-23 seruma (ng/mL)	0,39 (0,09-0,95)	0,33 (0,15-0,40)	0,514
Bazalni TAS (μmol/L)	825,40±263,13	720,22±274,79	0,406
Bazalni TOS seruma (μmol/L)	49,16±22,36	64,26±42,92	0,368
Bazalni PON1 seruma (U/L)	85,50 (38,00-188,50)	91,00 (44,88-334,00)	0,594
Bazalni PAB seruma (HKU)	139,90±61,31	146,25±60,62	0,829
Bazalni CyC seruma (ng/ml)	0,72±0,12	0,67±0,10	0,446
NGAL seruma 2h nakon HT (ng/ml)	28,90 (14,00-108,23)	48,50 (23,20-109,20)	0,369
FGF-23 seruma 2h nakon HT (ng/ml)	0,59 (0,08-0,78)	0,30 (0,21-0,72)	0,514
TAS seruma 2h nakon HT (μmol/l)	641,40±292,66	554,26±279,55	0,517
TOS seruma 2h nakon HT (μmol/l)	56,66±24,55	61,35±29,68	0,720
PON1 seruma 2h nakon HT (U/L)	82,50 (48,25-246,25)	134,00 (39,00-270,50)	0,859
PAB seruma 2h nakon HT (HKU)	151,04±45,36	169,13±68,24	0,510
CyC seruma 2h nakon HT (ng/ml)	0,84±0,08	0,75±0,13	0,111
NGAL seruma 6h nakon HT (ng/ml)	68,15 (17,43-103,58)	77,39 (40,15-128,30)	0,624
FGF-23 seruma 6h nakon HT (pg/ml)	0,51 (0,07-1,26)	0,36 (0,15-0,81)	0,870
TAS seruma 6h nakon HT (μmol/l)	735,50 (462,50-1089,25)	651,00 (472,50-759,00)	0,744
TOS seruma 6h nakon HT (μmol/l)	62,96±22,59	60,05±33,80	0,833
PON1 seruma 6h nakon HT (U/l)	81,00 (15,50-280,50)	72,00 (36,50-232,50)	0,895
PAB seruma 6h nakon HT (HKU)	144,54±67,43	149,38±66,79	0,881
CyC seruma 6h nakon HT (ng/ml)	0,84±0,13	0,77±0,12	0,287
NGAL seruma 24h nakon HT (ng/ml)	50,95 (27,53-417,09)	74,40 (60,00-104,35)	0,568
FGF-23 seruma 24h nakon HT (pg/ml)	0,76 (0,17-1,35)	0,51 (0,22-0,99)	0,514
TAS seruma 24h nakon HT (μmol/l)	681,67±236,13	566,90±258,37	0,340
TOS seruma 24h nakon HT (μmol/l)	60,63±24,51	60,23±28,63	0,974
PON1 seruma 24h nakon HT (U/l)	65,00 (28,25-273,50)	140,00 (34,00-271,75)	0,657
PAB seruma 24h nakon HT (HKU)	150,54±53,42	121,13±64,19	0,291
CyC seruma 24h nakon HT (ng/ml)	0,95 (0,89-0,99)	0,81 (0,61-0,89)	0,005**

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 44.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *NGAL* – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *FGF-23* – serumski fibroblastni faktor rasta-23; *sCyC* – cistatin C seruma; *TOS* - totalni oksidativni status, *TAS* - totalni antioksidativni status; *PON1* - aktivnost enzima paraoksonaze 1; *PAB* - prooksidativni-antioksidativni balans; *HT* - hemioterapija.

Tabela 45. Nivoi novih serumskih biomarkera i parametara oksidativnog stresa u ispitivanim vremenskim tačkama tokom ciklusa hemioterapije u kod bolesnika sa (n=11) i bez (n=8) znakova hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula) ≥ 1 godinu nakon primene terapije

Parametri	Bez hroničnog toksičnog oštećenja bubrega; Mean \pm SD/Med (IQR)	Sa hroničnim toksičnim oštećenjem bubrega; Mean \pm SD/Med (IQR)	p
Bazalni NGAL seruma (ng/ml)	29,85 (16,99-81,58)	29,30 (26,00-85,70)	0,409
Bazalni FGF-23 seruma (ng/mL)	0,39 (0,04-1,09)	0,33 (0,18-0,40)	0,680
Bazalni TAS (μ mol/L)	882,88 \pm 212,98	697,55 \pm 283,37	0,139
Bazalni TOS seruma (μ mol/L)	49,80 \pm 20,12	61,10 \pm 40,98	0,448
Bazalni PON1 seruma (U/L)	85,50 (26,00-147,50)	91,00 (47,13-367,00)	0,374
Bazalni PAB seruma (HKU)	145,63 \pm 60,97	140,40 \pm 61,09	0,859
Bazalni CyC seruma (ng/ml)	0,70 \pm 0,11	0,70 \pm 0,12	0,933
NGAL seruma 2h nakon HT (ng/ml)	22,05 (14,00-91,30)	48,50 (26,40-124,00)	0,117
FGF-23 seruma 2h nakon HT (ng/ml)	0,56 (0,06-0,84)	0,33 (0,23-0,76)	0,934
TAS seruma 2h nakon HT (μ mol/l)	644,25 \pm 303,91	568,03 \pm 275,42	0,576
TOS seruma 2h nakon HT (μ mol/l)	55,87 \pm 25,30	61,00 \pm 28,31	0,702
PON1 seruma 2h nakon HT (U/L)	82,50 (34,25-198,75)	134,00 (47,00-286,75)	0,534
PAB seruma 2h nakon HT (HKU)	154,75 \pm 50,59	162,54 \pm 61,81	0,778
CyC seruma 2h nakon HT (ng/ml)	0,83 \pm 0,07	0,78 \pm 0,14	0,422
NGAL seruma 6h nakon HT (ng/ml)	68,15 (14,68-100,35)	77,39 (37,30-106,80)	0,563
FGF-23 seruma 6h nakon HT (pg/ml)	0,53 (0,06-1,32)	0,36 (0,16-0,75)	0,804
TAS seruma 6h nakon HT (μ mol/l)	791,50 (499,50-1147,75)	651,00 (395,00-823,00)	0,988
TOS seruma 6h nakon HT (μ mol/l)	61,37 \pm 17,69	61,59 \pm 33,74	0,509
PON1 seruma 6h nakon HT (U/l)	81,00 (27,00-271,00)	72,00 (32,00-237,00)	0,964
PAB seruma 6h nakon HT (HKU)	156,75 \pm 69,03	138,64 \pm 64,50	0,574
CyC seruma 6h nakon HT (ng/ml)	0,81 \pm 0,13	0,80 \pm 0,13	0,849
NGAL seruma 24h nakon HT (ng/ml)	50,95 (23,18-364,04)	74,40 (52,20-112,70)	0,457
FGF-23 seruma 24h nakon HT (pg/ml)	0,76 (0,20-1,53)	0,51 (0,19-1,24)	0,563
TAS seruma 24h nakon HT (μ mol/l)	740,00 \pm 232,09	550,65 \pm 237,23	0,116
TOS seruma 24h nakon HT (μ mol/l)	62,05 \pm 20,52	59,27 \pm 29,97	0,824
PON1 seruma 24h nakon HT (U/l)	65,00 (24,75-222,75)	140,00 (35,75-318,25)	0,374
PAB seruma 24h nakon HT (HKU)	160,18 \pm 49,52	119,47 \pm 61,56	0,142
CyC seruma 24h nakon HT (ng/ml)	0,95 (0,88-0,98)	0,85 (0,65-0,89)	0,050

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 45.: SD – standardna devijacija; IQR – interkvartilni opseg; NGAL – serumski lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; FGF-23 – serumski fibroblastni faktor rasta-23; sCyC – cistatin C seruma; TOS - totalni oksidativni status, TAS - totalni antioksidativni status; PON1 - aktivnost enzima paraoksonaze 1; PAB - prooksidativni-antioksidativni balans; HT - hemioterapija.

Tabela 46. Nivoi novih urinarnih biomarkera tokom ciklusa hemioterapije kod bolesnika sa (n=4) i bez (n=15) znakova HBB (KDIGO kriterijumi)

Parametri	Bez HBB (KDIGO kriterijumi); Mean±SD/Med (IQR)	Sa HBB (KDIGO kriterijumi); Mean±SD/Med (IQR)	p
Bazalni uNGAL/uCr (ng/mg)	152,86 (49,31-305,44)	236,94 (19,74-1142,81)	0,920
Bazalni uKIM-1/uCr (ng/mg)	4,81 (2,06-9,97)	8,93 (5,31-11,37)	0,162
Bazalni uL-FABP/uCr (ng/mg)	9,79 (4,18-29,43)	14,58 (12,09-17,68)	0,549
Bazalni VNN-1/uCr (ng/mg)	9,52 (1,33-52,00)	12,74 (6,12-30,33)	0,920
uNGAL/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	468,34 (344,33-1063,33)	943,25 (216,02-1755,29)	0,491
uKIM-1/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	10,66 (3,67-76,86)	27,32 (8,63-225,30)	0,689
uL-FABP/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	59,64 (29,30-136,53)	61,29 (31,40-505,75)	0,764
uVNN-1/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	80,17 (11,94-189,28)	138,48 (77,04-489,16)	0,230
uNGAL/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	646,67 (453,33-1718,00)	626,92 (127,47-3468,83)	0,689
uKIM-1/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	12,00 (5,36-57,33)	19,48 (7,82-375,17)	0,617
uL-FABP/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	79,67 (26,83-150,00)	49,84 (11,98-754,50)	0,764
uVNN-1/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	72,13 (19,33-224,17)	100,93 (16,79-267,17)	0,920
uNGAL/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	431,10 (93,54-896,67)	320,89 (36,40-1984,92)	0,841
uKIM-1/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	17,94 (8,24-54,18)	13,81 (9,35-33,58)	0,689
uL-FABP/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	27,56 (17,41-83,45)	29,32 (8,51-256,06)	0,920
uVNN-1/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	54,70 (5,85-85,00)	16,93 (5,17-64,17)	0,317

Legenda Tabele 46.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *HBB* – hronična bolest bubrega; *KDIGO* - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *HT* – hemioterapija; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1.

Tabela 47. Nivoi novih urinarnih biomarkera u ispitivanim vremenskim tačkama tokom ciklusa hemioterapije kod bolesnika sa (n=9) i bez (n=10) znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula

Parametri	Bez hroničnog tubulskog oštećenja; Mean±SD / Med (IQR)	Sa hroničnim tubulskim oštećenjem; Mean±SD / Med (IQR)	p
Bazalni uNGAL/uCr (ng/mg)	181,12 (34,22-287,11)	137,67 (61,36-409,46)	0,806
Bazalni uKIM-1/uCr (ng/mg)	5,75 (3,17-10,02)	4,83 (1,08-11,32)	0,870
Bazalni uL-FABP/uCr (ng/mg)	19,76 (10,22-33,46)	4,62 (3,38-13,10)	0,009**
Bazalni VNN-1/uCr (ng/mg)	29,53 (1,22-74,72)	5,55 (4,31-15,43)	0,327
uNGAL/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	768,67 (125,68-1101,83)	439,17 (405,63-1222,21)	0,839
uKIM-1/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	20,57 (3,67-82,65)	23,50 (4,62-164,09)	0,870
uL-FABP/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	56,99 (44,69-141,44)	68,24 (20,99-159,77)	0,935
uVNN-1/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	127,63 (11,87-201,79)	80,17 (21,31-198,81)	0,870
uNGAL/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	489,00 (73,20-1062,50)	902,33 (511,59-3610,08)	0,102
uKIM-1/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	19,48 (10,25-43,96)	9,33 (5,18-191,75)	0,775
uL-FABP/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	67,50 (16,99-146,75)	79,67 (38,17-637,97)	0,514
uVNN-1/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	103,73 (19,04-241,88)	51,06 (16,49-238,67)	0,683
uNGAL/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	107,73 (56,56-1075,95)	537,18 (338,17-1485,56)	0,102
uKIM-1/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	15,97 (7,18-23,77)	17,94 (9,12-94,50)	0,438
uL-FABP/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	20,24 (7,54-42,58)	61,55 (28,43-186,97)	0,011*
uVNN-1/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	31,67 (4,28-69,48)	76,00 (24,95-86,99)	0,142

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 47.: SD – standardna devijacija; IQR – interkvartilni opseg; uNGAL – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; uCr – kreatinin urina; HT – hemioterapija; uKIM-1 – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; uVNN-1 – urinarni Vanin-1.

Tabela 48. Dijagnostički potencijal urinarnog biomarkera L-FABP za predikciju nastanka hroničnog toksičnog oštećenja tubula ≥1 godinu nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida (regresiona analiza)

Potencijalni prediktori	p	OR	95% CI
Bazalni uL-FABP/uCr ng/mg	0,046*	0,847	0,719-0,997
uL-FABP/uCr 24h nakon HT ng/mg	0,109	1,018	0,996-1,040

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 48.: OR – odnos šansi; CI – interval poverenja; uCr – kreatinin urina; HT – hemioterapija; uL-FABP – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masne kiseline.

Tabela 49. Nivoi novih urinarnih biomarkera u ispitivanim vremenskim tačkama tokom ciklusa hemioterapije u kod bolesnika sa (n=11) i bez (n=8) znakova hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula) ≥ 1 godinu nakon primene terapije

Parametri	Bez hroničnog toksičnog oštećenja bubrega; Mean \pm SD/Med (IQR)	Sa hroničnim toksičnim oštećenjem bubrega; Mean \pm SD/Med (IQR)	P
Bazalni uNGAL/uCr (ng/mg)	181,12 (60,56-230,95)	137,67 (49,31-418,46)	0,804
Bazalni uKIM-1/uCr (ng/mg)	6,41 (3,10-10,11)	4,87 (2,06-11,23)	0,934
Bazalni uL-FABP/uCr (ng/mg)	25,17 (9,93-38,21)	5,61 (3,44-14,85)	0,021*
Bazalni VNN-1/uCr (ng/mg)	47,18 (1,02-97,73)	8,78 (5,23-16,69)	0,364
uNGAL/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	768,67 (144,45-1050,81)	439,17 (381,25-1299,67)	0,620
uKIM-1/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	26,47 (4,27-94,22)	23,50 (3,67-72,18)	0,804
uL-FABP/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	68,99 (51,84-153,37)	54,33 (23,75-136,53)	0,509
uVNN-1/uCr 2h nakon HT (ng/mg)	146,13 (11,74-226,82)	80,17 (25,11-144,28)	0,869
uNGAL/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	489,00 (131,53-956,12)	902,33 (510,33-4324,33)	0,117
uKIM-1/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	22,11 (6,86-52,87)	16,00 (5,36-117,67)	0,967
uL-FABP/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	96,00 (21,11-148,92)	72,00 (27,67-512,33)	>0,999
uVNN-1/uCr 6h nakon HT (ng/mg)	103,73 (25,08-210,58)	51,06 (16,64-293,67)	0,804
uNGAL/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	107,73 (74,36-773,44)	537,18 (245,24-2281,79)	0,099
uKIM-1/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	18,14 (7,07-27,31)	14,00 (8,24-83,15)	0,836
uL-FABP/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	20,24 (8,64-68,20)	34,23 (27,56-179,77)	0,058
uVNN-1/uCr 24h nakon HT (ng/mg)	40,93 (2,69-70,15)	54,70 (5,18-85,00)	0,457

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 49.: *SD* – standardna devijacija; *IQR* – interkvartilni opseg; *uNGAL* – urinarni lipokalin udružen sa neutrofilnom želatinazom; *uCr* – kreatinin urina; *HT* – hemioterapija; *uKIM-1* – urinarni molekul bubrežnog oštećenja-1; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masti; *uVNN-1* – urinarni Vanin-1.

Tabela 50. Dijagnostički potencijal urinarnog biomarkera L-FABP za predikciju nastanka hroničnog toksičnog oštećenja bubrega (HBB-KDIGO kriterijumi i/ili hronično toksično oštećenje tubula) ≥ 1 godinu nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida (regresiona analiza)

Potencijalni prediktori	p	OR	95% CI
Bazalni uL-FABP/uCr ng/mg	0,050*	0,882	0,776-1,002

*p<0,05; **p<0,01

Legenda Tabele 50.: *OR* – odnos šansi; *CI* – interval poverenja; *uCr* – kreatinin urina; *uL-FABP* – urinarni jetrin protein tip 1 koji vezuje masne kiseline.

5. DISKUSIJA

U našoj studiji, prevalencija AOB unutar 48 sati od primene cisplatina i/ili ifosfamida iznosila je 15,79%. Ovi nalazi potvrđuju da AOB predstavlja značajnu komplikaciju terapijske primene ovih citostatika kod dece. Posebno zabrinjava činjenica da čak 25% bolesnika ima znake hroničnog toksičnog bubrežnog oštećenja 5 i više godina nakon završenog lečenja [76], što naglašava potrebu za pažljivim praćenjem bubrežne funkcije ne samo tokom terapije već i nakon izlečenja maligne bolesti.

Povišeni nivoi serumskog kreatinina se javljaju 48 do 72 sata nakon primene cisplatina, zbog čega nefrotoksičnost ostaje neprepoznata u prvim satima od nastanka bubrežnog oštećenja. Većina bolesnika bude otpuštena sa bolničkog lečenja unutar 48-72 sata nakon primene citostatika, a biohemijske analize se obično ne rade rutinski pre narednog ciklusa hemioterapije, što može dovesti do propuštanja epizode AOB. Dodatno, koncentracije serumskog kreatinina mogu biti lažno niske kod dece sa malom telesnom težinom, kaheksijom ili gubitkom mišićne mase, što je često prisutno kod onkoloških bolesnika. Pored toga, protokoli hemoterapije uključuju hiperhidraciju 12 sati pre i tokom primene ovih citostatika, što može dovesti do volumnog opterećenja i dodatno niskih vrednosti serumskog kreatinina, kao i nemogućnosti adekvatne procene diureze. Uzimajući u obzir navedeno, trenutne definicije AOB zasnovane na vrednostima serumskog kreatinina i diurezi ne omogućavaju preciznu procenu bubrežne funkcije kod ovih bolesnika.

Zbog navedenih ograničenja serumskog kreatinina, cistatin C se razmatra kao precizniji pokazatelj JGF. Istraživanja ukazuju da je cistatin C superiorniji marker JGF u poređenju sa serumskim kreatininom kod bolesnika lečenih cisplatinom i/ili ifosfamidom [209].

Savremena literatura pokazuje da primena biomarkera strukturnog oštećenja bubrega u kliničkoj praksi omogućava rano otkrivanje bubrežnog oštećenja pre nego što se pojave klinički simptomi ili značajne promene u standardnim funkcionalnim parametrima. Ovakav pristup omogućava kliničarima blagovremeno donošenje terapijskih odluka usmerenih na prevenciju nepovoljnih ishoda AOB [210].

U potrazi za biomarkerom sa najboljim dijagnostičkim performansama za rano otkrivanje akutnog tubulskog oštećenja izazvanog primenom nefrotoksičnih lekova, sprovedena su brojna eksperimentalna i klinička ispitivanja kojima je obuhvaćen veći broj potencijalnih kandidata.

Među kandidatima koji su najintenzivnije proučavani su urinarni NGAL, interleukin-18 (IL-18) i KIM-1. Ovi biomarkeri su u brojnim studijama pokazali potencijal za detekciju bubrežnog oštećenja, pre porasta serumskog kreatinina, kod različitih tipova AOB uključujući i cisplatinom uzrokovano nefrotoksično oštećenje bubrega [211, 212]. Međutim, podaci o značaju urinarnog L-FABP-a kao biomarkera subkliničkog AOB u populaciji pedijatrijskih bolesnika su ograničeniji. Meta-analize i sistematski pregledi pokazuju da koncentracije urinarnog L-FABP-a mogu biti povišene u ranim fazama AOB i da su povezane sa nastankom i progresijom tubulskog oštećenja. Međutim, većina objavljenih studija o L-FABP-u kod dece se odnosi na opštu pedijatrijsku populaciju ili specifične kliničke okolnosti (npr. AOB nakon kardiopulmonalnog bajpasa) dok je broj studija koje su se fokusirale na pedijatrijske onkološke bolesnika lečene potencijalno

nefrotoksičnim citostaticima (kao što su cisplatin ili ifosfamid) mali [213]. Još uvek nema dovoljno objavljenih studija koje bi jasno potvrdile značaj urinarnog VNN-1 i serumskog FGF-23 kao specifičnih indikatora nefrotoksičnosti izazvane lekovima u pedijatrijskoj populaciji.

Neslaganja u učestalosti AOB u poređenju sa drugim studijama verovatno su posledica metodoloških razlika, uključujući veličinu uzorka, protokole ispitivanja i kriterijume koji su korišćeni za definisanje AOB [24].

Medijana uzrasta bolesnika koji su razvili AOB nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida iznosila je 1,5 godinu. Bolesnici koji su razvili AOB bili su mlađeg uzrasta u odnosu na one koji nisu razvili AOB, ali ta razlika nije bila statistički značajna. Jedno od mogućih objašnjenje ovakvog nalaza jeste relativno mala veličina uzorka, što je često posledica niže učestalosti malignih bolesti u pedijatrijskoj populaciji koje zahtevaju primenu ova dva citostatika. Iako u ovom uzorku nije potvrđena statistički značajna povezanost uzrasta bolesnika sa rizikom od AOB, podaci iz literature ukazuju da su mlađa deca, naročito odojčad i deca uzrasta ispod pet godina, potencijalno podložnija nefrotoksičnom oštećenju bubrežnih tubula izazvanom lekovima, usled nezrelosti bubrežne funkcije, razlika u farmakokinetici lekova, kao i manje efikasnih mehanizama detoksikacije i eliminacije nefrotoksičnih supstanci [23].

Snižena mišićna masa, praćena niskim koncentracijama serumskog kreatinina i posledično lažno povišenom procenjenom jačinom glomerulske filtracije, uz redukciju ukupne telesne vode, može doprineti postizanju toksičnih koncentracija lekova u cirkulaciji ukoliko se doze lekova ne prilagode aktuelnoj mišićnoj masi i stvarnom funkcionalnom kapacitetu bubrega [30].

Pet od šest bolesnika (83,3%) kod kojih je registrovano AOB bilo je mlađe od pet godina, što ukazuje na povećanu osetljivost ove uzrasne grupe na nefrotoksične efekte primenjene terapije.

Ostali faktori rizika koji povećavaju verovatnoću za nastanak nefrotoksičnosti su pojedinačna doza cisplatina >50 mg/m² po ciklusu hemioterapije, kao i kombinovana terapija cisplatinom i ifosfamidom [68]. Od 6 bolesnika koji su razvili AOB, dva bolesnika su lečena primenom visokih pojedinačnih doza cisplatina, dok je jedan primao kombinovanu terapiju cisplatinom i ifosfamidom. Pretpostavljamo da bi veći uzorak ispitanika omogućio postizanje statističke značajnosti ovih nalaza.

Kod naših bolesnika, primena cisplatina i/ili ifosfamida je bila praćena porastom koncentracija novih serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23 i cistatin C) u obe grupe ispitanika (AOB i non-AOB). Kod bolesnika koji su razvili AOB zabeležen je rani porast novih serumskih biomarkera, već 2 do 6h nakon primene hemioterapije (FGF-23 i NGAL), dok su najviše vrednosti ovih biomarkera kod bolesnika koji nisu ispunjavali kriterijume za AOB izmerene tek 24h nakon primene hemioterapije. Razlike u nivoima novih biomarkera seruma između AOB i ne-AOB grupa ispitanika nisu bile statistički značajne.

Nasuprot ovim nalazima, nivoi serumskog kreatinina nisu se značajnije povećavali tokom ciklusa primene ovih citostatika, što je u najvećoj meri posledica intenzivne parenteralne hidratacije primenjivane u cilju prevencije nefrotoksičnosti.

Dostupne studije kod bolesnika lečenih cisplatinom nisu ukazale na postojanje statistički značajne razlike u nivoima serumskog NGAL između bolesnika sa i bez akutnog oštećenja bubrega [214], dok su dokazi o njegovoj primeni u kontekstu ifosfamidom indukovanoj AOB i dalje ograničeni.

Ograničena dijagnostička vrednost serumskog NGAL za rano otkrivanje cisplatinom indukovanoj AOB objašnjava se uticajem većeg broja faktora. Prvo, NGAL se proizvodi u brojnim ekstrarenalnim tkivima [215]. Drugo, hronična sistemska inflamacija prisutna kod malignih bolesti nezavisno povećava serumske nivoe NGAL-a [158, 216]. Treće, intenzivna parenteralna hidratacija koja se primenjuje pre i tokom primene ovog citostatika u cilju prevencije nefrotoksičnosti, može dovesti do dilucije ovog biomarkera što onemogućava precizno određivanje njegovih koncentracija u krvi [140, 217]. Nasuprot tome, urinarni NGAL pokazuje superiornije dijagnostičke karakteristike u ovom kontekstu jer direktno odražava tubulsko oštećenje i u manjoj meri je podložan uticaju sistemskih faktora [218, 219].

Povećanje FGF-23 $\geq 20,79\%$ u odnosu na bazalne vrednosti 2h nakon primene hemioterapije pokazalo je statistički značajnu prediktivnu vrednost za rano otkrivanje AOB (AUC 0,729; 95% CI 0,509-0,950; $p < 0,05$; Sn 83,3%; Sp 56,2%). Visoka senzitivnost podržava upotrebu FGF-23 kao skrining testa, dok umerena specifičnost ukazuje na potrebu za kombinacijom sa drugim biomarkerima tubularnog oštećenja u cilju postizanja veće dijagnostičke tačnosti. Takođe, treba napomenuti da AUC vrednost od 0,729, iako statistički značajna, odgovara samo umereno dobroj diskriminativnoj sposobnosti prema standardnim kriterijumima, što naglašava potrebu za daljom validacijom ovog biomarkera u većim prospektivnim kohortama.

Prema našim saznanjima, ovo je prva studija koja je ispitivala značaj FGF-23 u ranoj predikciji hemioterapijom indukovanoj AOB kod pedijatrijskih bolesnika.

Dostupna literatura o dijagnostičkoj vrednosti ovog biomarkera u AOB različite etiologije pokazuje heterogene nalaze. Nekoliko prospektivnih kohortnih studija pokazalo je da su koncentracije FGF-23 u serumu značajno povišene kod bolesnika sa AOB u poređenju sa kontrolnim grupama [180, 220, 221]. Studija *Leaf-a* i saradnika koja je uključivala 307 adultnih bolesnika lečenih u jedinicama intenzivne terapije pokazala je da su bazalni serumski nivoi FGF-23 nezavisni prediktor za nastanak AOB, smrtnog ishoda i drugih nepovoljnih ishoda u ovoj populaciji [221].

Međutim, dijagnostičko-prediktivna vrednost FGF-23 u AOB ostaje predmet naučne debate, sa studijama koje prikazuju varijabilne dijagnostičke performanse. Naš nalaz (AUC 0,729) ukazuje na umereno dobru diskriminativnu sposobnost, što je konzistentno sa prijavljenim opsegom u literaturi [222]. Ova varijabilnost može biti posledica različitih faktora: etiološke heterogenosti AOB (sepsa, kardijalna hirurgija, nefrotoksični lekovi), razlika u ispitivanim kohortama (pedijatrijske vs odrasle populacije), različitih vremenskih tačaka merenja biomarkera (bazalni vs postproceduralni nivoi), metodoloških razlika u

laboratorijskim esejima (C-terminalni vs intaktni FGF-23), i primene različitih kriterijuma i definicija AOB (RIFLE, AKIN, KDIGO) [137, 223, 224]. Potrebne su veće kohortne studije kako bi se dodatno ispitao značaj FGF-23 u predikciji AOB različite etiologije.

Serumske koncentracije cistatina C su pokazale trend porasta u obe grupe ispitanika (AOB i non-AOB) nakon primene hemioterapije, sa maksimalnim procentualnim povećanjem u odnosu na bazalne vrednosti zabeleženim 24h nakon terapije. Međutim, nije uočena statistički značajna razlika u nivoima cistatina C između grupa ispitanika, što sugeriše da ovaj biomarker, iako osetljiviji od kreatinina u detekciji subkliničkih promena JGF, ne omogućava pouzdanu diskriminaciju između bolesnika koji će razviti klinički manifestno AOB i onih koji neće. Ovo može biti posledica relativno male veličine ispitivanog uzorka kao i blagog stepena bubrežnog oštećenja kod naših bolesnika. Za razliku od cistatina C, koncentracije serumskog kreatinina se nisu značajnije menjale tokom studije, što potvrđuje njegovu ograničenu senzitivnost u ranoj detekciji hemioterapijom indukovano g bubrežnog oštećenja kod pedijatrijskih bolesnika. Ovi nalazi su konzistentni sa izveštajima drugih autora koji pokazuju da cistatin C detektuje smanjenje glomerulske filtracije ranije od kreatinina, ali ne predviđa nužno progresiju ka klinički manifestnom AOB [210].

Primenom modela kombinovanih biomarkera, merenih u različitim vremenskim tačkama tokom studije, postignuta je umerena do visoka dijagnostička tačnost za ranu predikciju AOB kod naših bolesnika. Komparativna analiza je pokazala da model kombinovanih serumskih biomarkera (NGAL, FGF-23 i cistatin C), u kombinaciji sa markerima oksidativnog stresa (TAS, TOS, PON1 i PAB), postiže odličnu dijagnostičku tačnost, sa površinom ispod ROC krive (AUC) od 0,949 već 2 sata nakon primene citostatika, što omogućava ranu identifikaciju bolesnika sa povećanim rizikom za razvoj AOB. Nasuprot tome, model kombinovanih urinarnih biomarkera (NGAL, KIM-1, L-FABP i Vanin-1) ispoljio je visoku diskriminativnu sposobnost (AUC 0,917) za predikciju AOB tek 24 sata nakon primene citostatika.

Koncept kombinovanja biomarkera u cilju rane detekcije AOB različite etiologije dobio je na značaju poslednjih godina. Međutim, u dostupnoj literaturi modeli kombinovanih biomarkera za rano otkrivanje AOB kod bolesnika lečenih cisplatinom i/ili ifosfamidom su ograničeni, a većina studija je sprovedena u adultnoj populaciji i zasnivala se na relativno malom broju biomarkera. Shinke i saradnici su kod odraslih bolesnika sa karcinomom pluća ispitivali kombinaciju dva urinarna biomarkera – KIM-1 i MCP-1 – u cilju neinvazivnog otkrivanja cisplatinom indukovane nefrotoksičnosti. Autori su pokazali da model zasnovan na kombinovanju ova dva biomarkera ostvaruje bolju diskriminativnu sposobnost u odnosu na pojedinačne biomarkere (KIM-1 ili MCP-1) [160].

Ovi nalazi imaju važne kliničke implikacije, jer ukazuju da paneli koji kombinuju biomarkere različitih patofizioloških puteva tubulskog oštećenja mogu predstavljati osnovu za razvoj kliničkih algoritama za stratifikaciju rizika i ranu identifikaciju bolesnika koji bi imali korist od intenzivnijeg praćenja i pravovremenih preventivnih intervencija. Poseban značaj pristupa zasnovanog na kombinovanju više biomarkera ogleđa se u pedijatrijskoj hemato-onkološkoj populaciji, kod koje su rani stadijumi akutnog oštećenja bubrega često klinički tihi, a pravovremena identifikacija bolesnika sa povećanim rizikom od nefrotoksičnosti može omogućiti individualizaciju terapije, prilagođavanje nefroprotektivnih mera i smanjenje dugoročnih bubrežnih komplikacija.

Naši rezultati ukazuju na rane promene parametara oksidativnog stresa nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida, sa različitim vremenskom dinamikom u odnosu na razvoj AOB. Najizraženiji i najraniji pad ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAS) zabeležen je kod bolesnika sa AOB već 6 h nakon terapije, dok se kod bolesnika bez AOB najveći pad TAS-a javio 24 h nakon završetka hemioterapije. Ovakav nalaz ukazuje da rana deplecija antioksidativne rezerve može imati ulogu u patofiziologiji cisplatinom i/ili ifosfamidom indukovano oštećenja bubrega, što je u skladu sa podacima o brznoj indukciji mitohondrijske disfunkcije i povećane produkcije ROS kod cisplatinne nefrotoksičnosti [11].

Promene TOS su pokazale različit obrazac između grupa. Kod bolesnika bez AOB zabeležen je porast TOS-a 24 h nakon terapije, dok kod bolesnika sa AOB nije registrovan jasan postterapijski porast ovog parametra. Ovaj nalaz može ukazivati na dominantno lokalne oksidativne procese u bubrežnom tkivu kod bolesnika sa AOB, bez izraženog sistemskog porasta oksidansa. Ovo je u skladu sa eksperimentalnim podacima za cisplatin i ifosfamid [11, 77, 225].

Pad vrednosti prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) zabeležen je u obe grupe ispitanika, sa najnižim vrednostima 24 h nakon završetka hemioterapije, što potvrđuje postojanje opšteg pomeranja redoks ravnoteže ka prooksidativnom profilu tokom citostatske terapije [226].

U pogledu paraoksonaze-1 (PON1), uočeno je sniženje aktivnosti enzima nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida u obe grupe, sa kasnijim i izraženijim padom kod bolesnika koji su razvili AOB. S obzirom na to da je PON1 HDL-vezani enzim sa značajnom antioksidativnom ulogom, ovakav nalaz je u skladu sa podacima o smanjenoj PON1 aktivnosti kod malignih bolesti i tokom citotoksične terapije [227, 228].

Iako apsolutne vrednosti parametara oksidativnog stresa nisu pokazale statistički značajne razlike između AOB i ne-AOB grupe, analiza procentualnih promena PON1 u odnosu na bazalne vrednosti imala je dijagnostičku vrednost za ranu predikciju AOB. Ovi nalazi sugerišu da dinamičke promene biomarkera, a ne njihove apsolutne vrednosti, mogu imati potencijalno veći klinički značaj u ranoj identifikaciji bolesnika sa povećanim rizikom za AOB [229].

Terapijska primena cisplatina i/ili ifosfamida može dovesti do ireverzibilnog oštećenja bubrega. Blaga oštećenja bubrežne funkcije, praćena normalnim ili diskretno sniženim vrednostima procenjene jačine glomerulske filtracije, mogu ostati neprepoznata između pojedinačnih ciklusa hemioterapije. Zbog toga je od posebnog značaja kontinuirano praćenje i procena promena novih, osetljivih pokazatelja bubrežnog oštećenja, naročito biomarkera strukturnog oštećenja bubrega.

Koliko nam je poznato, ovo je prva studija koja je analizirala vremenski zavisne promene serumskih (NGAL i FGF-23) i urinarnih biomarkera (NGAL, KIM-1, L-FABP, i Vanin-1) kod istih bolesnika tokom inicijalnog i dva uzastopna ciklusa hemioterapije koja sadrži cisplatin i/ili ifosfamid kod pedijatrijskih hemato-onkoloških bolesnika.

Naša studija je pokazala jasne vremenski zavisne promene ispitivanih serumskih i urinarnih biomarkera tokom ciklusa hemioterapije. Koncentracije ispitivanih biomarkera, kako u serumu tako i u urinu, se nisu vraćale na početne bazalne vrednosti izmerene pre započinjanja lečenja, što ukazuje na nekompletan oporavak bubrežne funkcije između ciklusa hemioterapije, odnosno na perzistiranje subkličičkog oštećenja bubrega.

Za razliku od rezultata ranije objavljenih studija, amplituda porasta koncentracija urinarnih biomarkera nije bila ublažena u kasnijim ciklusima hemioterapije u poređenju sa inicijalnim ciklusom, pri čemu su najizraženije promene zabeležene tokom trećeg ciklusa [230]. U tom ciklusu hemioterapije, urinarni NGAL je bio značajno povišen u svim vremenskim tačkama merenja (2 h, 6 h i 24 h), dok su koncentracije Vanina-1 i L- FABP bile značajno povišene 2 h i 24 h nakon hemioterapije, a KIM-1 24 h nakon završetka infuzije. Takođe, pored razlika u bazalnim koncentracijama oba serumska biomarkera između sukcesivnih ciklusa, koncentracije serumskog NGAL-a izmerene 2 h nakon primene hemioterapije u trećem ciklusu bile su značajno više u poređenju sa odgovarajućim vrednostima u inicijalnom ciklusu.

George i saradnici su u studiji sprovedenoj kod 27 odraslih onkoloških bolesnika lečenih cisplatinom ispitivali vremenski zavisne promene urinarnih biomarkera KIM-1, kalbindina i TFF3 (trefoil faktor 3) tokom dva uzastopna ciklusa terapije [231]. I u toj studiji zabeležen je porast koncentracija svih ispitivanih biomarkera tokom inicijalnog ciklusa, ali su obrasci njihove sekrecije u narednim ciklusima bili različiti. Bazalne koncentracije KIM-1 u drugom ciklusu bile su više u odnosu na prvi ciklus, dok je, za razliku od naših nalaza, amplituda porasta KIM-1 u drugom ciklusu bila manja nego tokom inicijalnog ciklusa. Sličan „oslabljen odgovor“ tokom ponovljenih ciklusa terapije cisplatinom ranije je opisan i za beta-2-mikroglobulin i N-acetil- β -D-glukozaminidazu [230].

U studiji *George* i saradnika, koncentracije KIM-1 se nisu vraćale na početne bazalne vrednosti nakon narednog ciklusa terapije, dok su se koncentracije kalbindina i TFF3 normalizovale između ciklusa, što je delimično u skladu sa našim nalazima o perzistentnom subkličičkom oštećenju bubrega [231].

Trenutno ne postoje definisane referentne vrednosti serumskih i urinarnih koncentracija ovih biomarkera koje uzimaju u obzir uzrast ispitanika i prisustvo maligne bolesti. S obzirom na to da bazalne vrednosti ovih parametara kod onkoloških bolesnika mogu biti više nego kod zdravih pojedinaca, definisanje referentnih opsega predstavlja važan preduslov za klinički relevantnu interpretaciju rezultata.

Neophodne su veće, kontrolisane studije kako bi se precizno definisali normalni opsezi vrednosti pojedinačnih biomarkera, kao i pragovi apsolutnih ili relativnih promena koji bi mogli imati direktan klinički značaj.

U savremenoj kliničkoj praksi sve veći značaj se pridaje određivanju biomarkera u urinu. Ovakav pristup ima prednost u odnosu na serumske biomarkere zbog neinvazivne prirode, mogućnosti brzog i ponovljenog uzorkovanja, boljeg prihvatanja od strane pedijatrijskih bolesnika, kao i činjenice da urinarni biomarkeri direktno odražavaju strukturno oštećenje ćelija bubrežnih tubula [136, 232, 233, 234]. Ove karakteristike omogućavaju otkrivanje subkličičkog AOB, često pre nego što se jave promene u konvencionalnim parametrima

bubrežne funkcije, kao što su serumski kreatinin ili procenjena jačina glomerulske filtracije [232, 235, 236]. Stoga su urinarni biomarkeri naročito korisni kod pedijatrijskih bolesnika koji primaju potencijalno nefrotoksične citostatike, kod kojih su rani stadijumi bubrežnog oštećenja često klinički nemi [1, 136, 232, 234, 236].

Primena cisplatina i/ili ifosfamida kod naših bolesnika je bila praćena značajnim porastom nivoa svih ispitivanih urinarnih biomarkera bubrežnog oštećenja (uNGAL/uCr, uKIM-1/uCr, uL-FABP/uCr i uVNN-1/uCr), već dva sata nakon završetka ciklusa hemioterapije, što je u skladu sa savremenim konceptom da strukturni urinarni biomarkeri mogu registrovati oštećenje tubula pre porasta serumskog kreatinina i pre ispunjavanja funkcionalnih kriterijuma za AOB. Ovakav obrazac „ranog odgovora“ urinarnih biomarkera opisan je i u pedijatrijskoj onkologiji, gde se urinarni biomarkeri posmatraju kao osetljiviji pokazatelji rane nefrotoksičnosti u odnosu na konvencionalne pokazatelje bubrežne funkcije [56].

Međutim, uprkos izraženom porastu koncentracija urinarnih biomarkera u obe grupe bolesnika, statistički značajna razlika između AOB i ne-AOB grupe potvrđena je isključivo za uL-FABP/uCr, i to 24 časa nakon primene hemioterapije. Podaci o značaju ovog biomarkera za rano otkrivanje bubrežnog oštećenja kod pedijatrijskih bolesnika koji primaju hemioterapiju su i dalje ograničeni. U studiji *Yanishi* i saradnika, uL-FABP izmeren 6 sati nakon primene cisplatina pokazao je visoku prediktivnu vrednost za razvoj AOB (AUC 0,95) kod 42 odrasla bolesnika lečena cisplatinom, pri čemu je porast uL-FABP prethodio porastu serumskog kreatinina za više od dva dana [175].

Shahbazi i saradnici su ispitivali značaj urinarnog NGAL-a u predikciji cisplatinom indukovane nefrotoksičnosti. U njihovom istraživanju, kod bolesnika koji su razvili AOB, značajan porast nivoa NGAL-a urina u odnosu na bazalne vrednosti registrovan je 24 i 48 sati nakon primene cisplatina. Odnos uNGAL/kreatinin u urinu izmeren 24 sata nakon infuzije cisplatina pokazao je dobru diskriminativnu sposobnost za predikciju AOB, sa površinom ispod ROC krive (AUC) od 0,80 [237].

Ghadrdan i saradnici su kod 35 bolesnika sa različitim solidnim tumorima koji su lečeni cisplatinom pokazali da odnosi uKIM-1/kreatinin urina i uNGAL/kreatinin urina, mereni 24 sata nakon završetka hemioterapije u odnosu na bazalne vrednosti, predviđaju razvoj AOB sa AUC vrednostima od 0,78 i 0,77, respektivno. U ovoj studiji, nivoi oba urinarna biomarkera su se brzo povećavali tokom perioda praćenja, sa pikom koncentracija registrovanim 6 sati nakon primene cisplatina [238].

Naši nalazi u vezi sa značajem uNGAL-a kao biomarkera za rano otkrivanje AOB su u skladu sa prethodno navedenim studijama. Kod bolesnika koji su razvili AOB, koncentracije uNGAL-a su se brzo povećavale nakon hemioterapije i dostizale maksimalne vrednosti 6 sati nakon primene citostatika. Međutim, prema našim nalazima, uNGAL/uCr izmeren 24 sata nakon hemioterapije pokazao je nižu prediktivnu vrednost za razvoj AOB (AUC 0,719).

U poređenju sa nalazima *Ghadrdan*-a i saradnika [238], kod naših bolesnika nije potvrđena statistički značajna razlika u nivoima uKIM-1 korigovanim za vrednosti kreatinina urina ni u jednoj vremenskoj tački merenja između bolesnika sa AOB i bolesnika bez AOB.

Međutim, uKIM-1/uCr se pokazao kao koristan biomarker u predikciji subkliničkog akutnog oštećenja bubrega. Naime, uKIM-1/uCr izmeren 6 i 24 sata nakon primene citostatika predviđao je AOB sa umerenom (AUC = 0,750) odnosno nižom prediktivnom vrednošću (AUC = 0,708).

Nedavna istraživanja ukazuju da urinarni vanin-1 (VNN-1) predstavlja obećavajući biomarker tubulskog oštećenja, sa potencijalom za ranu detekciju AOB, naročito u kontekstu lekovima indukovano oštećenja bubrežnih tubula. U eksperimentalnim modelima nefrotoksičnog AOB, *Hosohata* i saradnici su pokazali da porast koncentracije uVNN-1 prethodi porastu serumskog kreatinina, kao i promenama drugih urinarnih biomarkera oštećenja bubrežnih tubula, uključujući N-acetil- β -D-glukozaminidazu (NAG), KIM-1 i NGAL, što ukazuje da uVNN-1 može otkriti ranu fazu tubulskog oštećenja pre razvoja manifestnog AOB [186].

Vanin-1 (VNN-1) je visoko eksprimiran u normalnom bubrežnom tkivu kod ljudi i eksperimentalnih životinja, pre svega u epitelnim ćelijama proksimalnih tubula, što ga čini biološki relevantnim kandidatom za praćenje tubulskog oštećenja [239]. Smatra se da u modelima AOB izazvanog nefrotoksičnim lekovima izvor urinarnog VNN-1 najverovatnije potiče iz oštećenog bubrežnog parenhima. U studiji *Hosohata-e* i saradnika, značajan porast koncentracije uVNN-1 zabeležen je u periodu od 2 do 5 dana nakon primene cisplatina, što ukazuje da u tom eksperimentalnom modelu dolazi do pojačanog izlučivanja VNN-1 urinom približno dva dana nakon izlaganja visokim dozama cisplatina, sa perzistiranjem povišenih vrednosti tokom narednih dana [186].

Najviši nivoi uVNN-1 korigovanog za kreatinin urina u grupama bolesnika sa i bez AOB registrovani su 6 sati nakon primene hemioterapije. Međutim, razlika između grupa nije dostigla statističku značajnost. U ostalim vremenskim tačkama ispitivanja, koncentracije uVNN-1 su bile više u grupi bolesnika bez AOB, što može ukazivati na prisustvo subkliničkog tubulskog oštećenja i kod bolesnika koji ne ispunjavaju KDIGO kriterijume za AOB, kao i na uticaj veličine uzorka i heterogenosti ispitivane populacije. Podaci o ulozi uVNN-1 u identifikaciji rane faze bubrežnog oštećenja kod pedijatrijskih hemato-onkoloških bolesnika koji primaju potencijalno nefrotoksičnu hemioterapiju su i dalje veoma ograničeni.

Razlike u rezultatima naše studije u poređenju sa prethodnim izveštajima o hemoterapijom indukovanom AOB mogu se objasniti malom veličinom uzorka, dizajnom studije, kratkim periodom praćenja (uzorci urina prikupljeni su samo do 24 h nakon primene hemoterapije), kao i kriterijumima korišćenim za definisanje AOB. Pored toga, prosečan uzrast ispitanika iznosio je 5 godina. Imajući u vidu uzrast i očekivano nižu mišićnu masu naših bolesnika, oslanjanje na serumski kreatinin kao funkcionalni marker bubrežne funkcije moglo je doprineti podcenjivanju učestalosti AOB. Takođe, povišene vrednosti urinarnih biomarkera tubularne povrede (L-FABP, KIM-1, NGAL i VNN-1) kod pojedinih bolesnika koji nisu ispunjavali KDIGO kriterijume za AOB mogle su odražavati subkliničko AOB, odnosno strukturno tubulsko oštećenje bez pratećeg porasta nivoa serumskog kreatinina. Konačno, na koncentracije serumskog kreatinina mogla je uticati i protokolarno sprovedena hiperhidracija pre i tokom primene cisplatina i/ili ifosfamida, potencijalno dovodeći do hemodilucije i dodatnog umanjenja detektabilnih promena serumskog kreatinina.

Ovo ograničenje je naročito izraženo u pedijatrijskoj populaciji, kod koje su bazalne vrednosti serumskog kreatinina niske, mišićna masa varijabilna u odnosu na uzrast, a terapijska hidratacija često intenzivna, što dodatno umanjuje osetljivost serumskog kreatinina kao funkcionalnog pokazatelja ranog bubrežnog oštećenja.

S obzirom na karakteristike testiranih urinarnih biomarkera, konstruisali smo model integrisanih kombinovanih parametara. Naš model, koji je kombinovao sva četiri urinarna biomarkera merena u svakoj vremenskoj tački studije, istražen je u više detalja. Ova analiza je pokazala umerenu (kombinovani urinarni biomarkeri mereni na 2h) do značajnu (kombinovani urinarni biomarkeri mereni na 6 i 24h) dijagnostičku tačnost kombinovanih urinarnih biomarkera prema predikciji AOB kod bolesnika lečenih hemoterapijom. Naši rezultati ukazuju da kombinacija urinarnih biomarkera (uključujući KIM-1, NGAL, L-FABP i VNN-1) može omogućiti ranu detekciju AOB nakon hemoterapije, ne samo bolje od serumskog kreatinina, već i od pojedinačnih biomarkera. Koliko znamo, nema objavljenih prospektivnih studija u literaturi koje su ispitale ulogu kombinacije tih četiri urinarnih biomarkera u predikciji AOB izazvanog hemoterapijom kod dece.

Tokom perioda praćenja, 14/38 (36,84%) bolesnika je preminulo, dok su 4/38 (10,53%) bolesnika izgubljena iz praćenja. Tri (21,43%) preminula bolesnika su ispunjavala KDIGO kriterijume za AOB. Najčešći uzrok smrti kod naših bolesnika je bila progresija osnovne onkološke bolesti (13 bolesnika). Nijedan bolesnik nije zahtevao terapiju zamene bubrežne funkcije dijalizom (TZBFD), niti je smrtni ishod bio direktno pripisan bubrežnom oštećenju; stoga mortalitet i TZBFD nisu korišćeni kao ishodi u ovoj analizi.

Dokazi o povezanosti AOB sa dugoročnim nepovoljnim bubrežnim ishodima kod dece lečene potencijalno nefrotoksičnim citostaticima su ograničeni i heterogeni, a dodatnu interpretaciju otežava činjenica da trajanje onkološkog lečenja varira od nekoliko meseci do nekoliko godina, što komplikuje definisanje optimalnog vremenskog okvira za procenu bubrežnih ishoda [57].

Dostupni podaci ukazuju da su nefrotoksični lekovi među ključnim faktorima rizika za nepovoljne dugoročne bubrežne ishode kod pedijatrijskih bolesnika koji su završili lečenje od malignih bolesti [240]. Cisplatin i ifosfamid dominantno dovode do tubulskog oštećenja, zbog čega praćenje biomarkera tubulskog oštećenja tokom hemioterapije potencijalno može unaprediti predikciju kasnih bubrežnih komplikacija. Pri tom, KDIGO definicija AOB zasnovana prvenstveno na serumskom kreatininu ne mora adekvatno da odrazi fenotip cisplatinom/ifosfamidom indukovano oštećenja, koji često uključuje elektrolitne poremećaje (npr. hipomagnezijemiju, hipokalemiju, hipofosfatemiju) i/ili tubularnu acidozu, uz relativno očuvanu procenjenu JGF. Ovo ukazuje na potrebu za konceptualno i fenotipski „specifičnijim“ pristupom definisanju i praćenju hemioterapijom indukovano bubrežno oštećenja.

Prema KDIGO kategorijama za HBB/albuminuriju, 4 (21,1%) bolesnika ispunjavala su kriterijume za HBB, pri čemu su sva četiri imala umereno povećanu albuminuriju (A2; ACR 3–30 mg/mmol) uz očuvanu procenjenu JGF [201]. Devet bolesnika (47,4%) je ispunjavalo kriterijume za hronično toksično oštećenje tubula, od kojih je hipomagnezijemiju i/ili povišenu frakcionu ekskreciju magnezijuma imalo 7 bolesnika

[205, 206, 207, 208]. Od 19 bolesnika kod kojih je lečenje uspešno završeno, 57,89% je imalo HBB definisanu KDIGO kriterijumima i/ili hronično toksično oštećenje tubula.

Kod naših bolesnika, razvoj subkliničkog akutnog oštećenja bubrega tokom lečenja maligne bolesti, uzrast u vreme lečenja, vrsta maligniteta, kao ni primenjeni citostatik (cisplatin i/ili ifosfamid), nisu bili statistički značajno povezani sa nastankom hroničnog toksičnog oštećenja bubrega kod bolesnika koji su uspešno završili onkološko lečenje. Međutim, kod bolesnika sa dokazanim hroničnim toksičnim oštećenjem bubrega zabeleženi su značajno viši nivoi serumskog cistatina C, kao i povišene vrednosti urinarnih biomarkera NGAL, L-FABP i vanin-1, korigovanih prema koncentraciji kreatinina u urinu, u poređenju sa bolesnicima bez znakova hroničnog tubularnog oštećenja. Iako su NGAL, KIM-1, L-FABP i vanin-1 prepoznati kao urinarni pokazatelji ranog strukturnog tubulskog oštećenja, podaci o njihovom prognostičkom značaju za razvoj kasnih bubrežnih ishoda, uključujući HBB, kod pedijatrijskih bolesnika lečenih cisplatinom i/ili ifosfamidom ostaju ograničeni [241].

Od svih ispitivanih biomarkera, jedino je urinarni L-FABP korigovan prema kreatininu urina izmeren pre započinjanja hemioterapije pokazao značajnu prediktivnu vrednost za razvoj hroničnog toksičnog oštećenja tubula ≥ 1 godinu nakon završetka lečenja maligne bolesti. Ovakav nalaz ukazuje na postojanje ranog tubulskog oštećenja, prisutnog već pre prve ekspozicije nefrotoksičnim citostaticima, što može odražavati smanjenu bubrežnu rezervu ili povećanu osetljivost epitela bubrežnih tubula na toksične stimulanse.

U pilot-studiji *McMahon* i saradnika, koja je obuhvatila 23 dece prosečnog uzrasta 5,7 godina sa uspešno završenim lečenjem, 32% bolesnika je razvilo hroničnu bubrežnu bolest definisanu KDIGO kriterijumima, dok je 48% imalo tzv. „elektrolitnu HBB“, pri čemu je ukupno 65% bolesnika imalo neki oblik hroničnog bubrežnog oštećenja [27]. Učestalost hroničnog toksičnog oštećenja tubula u našoj studiji bila je uporediva sa ovim nalazima, što dodatno potvrđuje da tubulski poremećaji predstavljaju dominantan oblik kasne nefrotoksičnosti nakon terapije cisplatinom i/ili ifosfamidom u pedijatrijskoj populaciji.

Slično tome, *Knijnenburg* i saradnici su kod 1442 onkološka bolesnika medijane uzrasta 19,3 godine pokazali da se bubrežno oštećenje može javlja kod približno 30% bolesnika >5 godina od završenog lečenja [242]. Za razliku od prethodnih izveštaja, u našoj kohorti nije registrovana snižena procenjena JGF, što se može objasniti relativno kratkim periodom praćenja, mlađim uzrastom bolesnika, kao i činjenicom da je tubulsko oštećenje često prisutno uz očuvanu glomerulsku funkciju [242, 243, 244].

Prema dostupnim podacima iz literature, prevalencija kasnih post-hemioterapijskih elektrolitnih abnormalnosti kod dece lečene cisplatinom i/ili ifosfamidom varira u širokom rasponu (14,5–71,4%), što odražava razlike u ispitivanim populacijama, primenjenim terapijskim protokolima, dužini praćenja i definicijama ishoda [68, 242]. U našoj studiji, hronična hipomagnezijemija i hipofosfatemija predstavljale su dominantna obeležja hroničnog toksičnog oštećenja bubrega, što je u skladu sa poznatim mehanizmima tubulske nefrotoksičnosti cisplatina i ifosfamida [25, 27].

Sveukupno, naši nalazi potvrđuju da se kasne posledice hemioterapije u pedijatrijskoj hemato-onkološkoj populaciji najčešće manifestuju kao perzistentni tubulski poremećaji, često uz očuvanu jačinu glomerulske filtracije. Ovakvi rezultati naglašavaju značaj dugoročnog praćenja dece lečene nefrotoksičnim citostaticima, uz uključivanje biomarkera tubulskog oštećenja u evaluaciju bubrežne funkcije, kako bi se omogućilo ranije prepoznavanje bolesnika sa povećanim rizikom od razvoja hroničnih bubrežnih komplikacija.

Potrebno je istaći i određena ograničenja sprovedenog istraživanja. Pre svega, radi se o studiji preseka koja je sprovedena u jednom centru. Incidencija malignih tumora u pedijatrijskoj populaciji je niska, a još niža za specifične tumorske entitete zastupljene u grupi bolesnika sa AOB, što je predstavljalo objektivnu poteškoću u formiranju većeg uzorka i obezbeđivanju potpuno uporedivih grupa. Takođe, finansijska ograničenja onemogućila su duže praćenje promena novih serumskih i urinarnih biomarkera kao i procenu njihove korelacije sa bubrežnom funkcijom tokom dužeg vremenskog perioda.

Navedena ograničenja potencijalno su mogla uticati na konačne rezultate i zahtevaju oprezniju interpretaciju prezentovanih nalaza. Buduća istraživanja bi trebalo da obuhvate veći broj ispitanika, duži period praćenja sa većom učestalošću uzorkovanja, čime bi se dobili pouzdaniji i klinički još relevantniji rezultati u ovoj izazovnoj oblasti pedijatrijske nefrologije i onkologije.

6. ZAKLJUČCI

U skladu sa postavljenim ciljevima istraživanja, a na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

1. Tokom inicijalnog ciklusa hemioterapije, primena cisplatina i/ili ifosfamida dovela je do izrazitog povećanja nivoa novih serumskih (NGAL, FGF-23 i cistatina C) i urinarnih biomarkera (NGAL, KIM-1, L-FABP i Vanin-1), bez značajnog uticaja na vrednosti serumskog kreatinina kao standardnog parametra bubrežne funkcije.
2. Kod bolesnika koji su razvili AOB prema KDIGO kriterijumima zabeležen je raniji porast novih serumskih i urinarnih biomarkera nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida (2-6h), u poređenju sa bolesnicima koji nisu razvili AOB (24h).
3. Statistički značajna razlika u nivoima novih biomarkera seruma i urina između grupa bolesnika sa i bez AOB utvrđena je samo za urinarni L-FABP prilagođen prema koncentraciji kreatinina urina, meren 24 sata nakon primene cisplatina i/ili ifosfamida.
4. Statistički značajnu dijagnostičku vrednost u predikciji AOB pokazala su procentualna povećanja sledećih biomarkera u odnosu na bazalne nivoe: serumskog FGF-23 (2h nakon primene hemioterapije), urinarnog KIM-1 (6h nakon primene hemioterapije), urinarnog L-FABP, NGAL i KIM-1 (24h nakon primene hemioterapije), kao i smanjenje PON1 (2h i 24h nakon primene hemioterapije).
5. Najveći dijagnostički potencijal za predikciju AOB imali su modeli kombinovanih biomarkera: serumski biomarkeri (NGAL, FGF-23, cistatin C, TAS, TOS, PON1, PAB) sa AUC 0,949 određeni 2h nakon primene hemioterapije, i urinarni biomarkeri (NGAL, KIM-1, L-FABP, Vanin-1) sa AUC 0,917 određeni 24h nakon primene hemioterapije.
6. Razlike u promenama nivoa parametara oksidativnog stresa između grupa bolesnika sa i bez AOB nisu dostigle statističku značajnost ni u jednoj vremenskoj tački merenja. Procentualno najveće smanjenje nivoa PON1 u odnosu na bazalne vrednosti javilo se u obe grupe 6h nakon hemioterapije. Procentualno najveće povećanje prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) zabeleženo je 2h nakon hemioterapije.
7. Pri ponavljanim ciklusima hemioterapije (II i III ciklus), bazalne koncentracije novih serumskih i urinarnih biomarkera bile su više u poređenju sa bazalnim nivoima u inicijalnom ciklusu. Statistički značajne razlike između I i III ciklusa potvrđene su za bazalne nivoe serumskog FGF-23 i PAB-a, kao i za nivoe serumskog NGAL-a merene 2h nakon hemioterapije. Takođe, u poređenju sa I ciklusom, tokom III ciklusa zabeležene su značajno veće koncentracije urinarnih biomarkera: NGAL-a (sve vremenske tačke), VNN-1 (bazalno, 2h i 24h), L-FABP-a (2h i 24h) i KIM-1 (24h nakon hemioterapije).

8. Hroničnu bolest bubrega ≥ 1 godinu od izlječenja maligne bolesti prema KDIGO kriterijumima imalo je 4/19 bolesnika (21,1%), dok je prisustvo znakova hroničnog toksičnog oštećenja tubula pronađeno kod 9/19 bolesnika (47,4%). Ukupno 11/19 bolesnika (57,9%) imalo je neki oblik hroničnog bubrežnog oštećenja.
9. Razvoj AOB prema KDIGO kriterijumima tokom terapijske primene cisplatina i/ili ifosfamida nije bio statistički značajno povezan sa nastankom hroničnog toksičnog oštećenja bubrega
10. Urinarni L-FABP izmeren pre započinjanja hemioterapije bio je značajan prediktor nastanka hroničnog toksičnog oštećenja bubrega ≥ 1 godinu od završetka lečenja maligne bolesti primenom cisplatina i/ili ifosfamida.

7. LITERATURA

1. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl.* 2012;2(1):1–138.
2. Peco-Antić A, Paripović D. Akutno oštećenje bubrega kod dece. *Srp Arh Celok Lek.* 2014;142(5–6):371–378.
3. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clin Pract.* 2012;120(4):c179–c184.
4. Macedo E, Malhotra R, Bouchard J, Wynn SK, Mehta RL. Oliguria is an early predictor of higher mortality in critically ill patients. *Kidney Int.* 2011;80(7):760–767.
5. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet.* 2005;365(9457):417–430.
6. Venkatachalam MA, Weinberg JM, Kriz W, Bidani AK. Failed tubule recovery, AKI–CKD transition, and kidney disease progression. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(8):1765–1776.
7. Raymakers-Janssen PAMA, Leitzinger N, van den Berg G, et al. Nephrotoxicity and kidney outcomes in pediatric oncology patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2025;gfaf169. doi:10.1093/ndt/gfaf169.
8. Park PG, Hong CR, Kang E, et al. Acute kidney injury in pediatric cancer patients. *J Pediatr.* 2019;208:243–250.e3.
9. Young J, Dahale D, Demmel K, et al. Reducing acute kidney injury in pediatric oncology patients: an improvement project targeting nephrotoxic medications. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(8):e28396.
10. Alkandari O, Eddington KA, Hyder A, et al. Acute kidney injury is an independent risk factor for pediatric intensive care unit mortality. *Crit Care.* 2011;15(3):R146.
11. Tang C, Livingston MJ, Safirstein R, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: new insights and therapeutic implications. *Nat Rev Nephrol.* 2023;19(1):53–72.
12. Selby NM, Fluck RJ, Taal MW. Long-term consequences of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(11):1785–1795.
13. Kim WY, Huh JW, Lim CM, et al. Association between acute kidney injury during invasive mechanical ventilation and ICU outcomes. *Crit Care Med.* 2022;50(7):1019–1028.
14. Sutherland SM, Zappitelli M, Alexander SR, et al. Fluid overload and mortality in children receiving continuous renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis.* 2010;55(2):316–325.
15. Singbartl K, Kellum JA. Kidney–immune system crosstalk in AKI. *Semin Nephrol.* 2019;39(1):96–106.
16. Rabb H, Griffin MD, McKay DB, et al. Inflammation in AKI: current understanding, key questions, and knowledge gaps. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(2):371–379.
17. Chawla LS, Eggers PW, Star RA, Kimmel PL. Acute kidney injury and chronic kidney disease as interconnected syndromes. *N Engl J Med.* 2014;371(1):58–66.
18. Ferenbach DA, Bonventre JV. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(5):264–276.

19. Raina R, Sethi S, Aitharaju V, et al. Epidemiology, cost, and outcomes of pediatric acute kidney injury. *Pediatr Res.* 2023;94(4):1385–1391.
20. Waikar SS, Curhan GC, Wald R, et al. Declining mortality in patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(4):1143–1150.
21. Smith MA, Seibel NL, Altekruze SF, et al. Declining childhood and adolescent cancer mortality. *Cancer.* 2014;120(16):2497–2506.
22. National Cancer Institute. Cancer in children and adolescents [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2024 [cited 2026 Jan 26]. Available from: <https://www.cancer.gov/types/childhood-cancers/child-adolescent-cancers-fact-sheet>
23. Ruggiero A, Ferrara P, Attinà G, et al. Renal toxicity and chemotherapy in children with cancer. *Br J Clin Pharmacol.* 2017;83(12):2605–2614.
24. Gavrilovici C, Luca A, Antoniu SA, et al. How nephrotoxic is cancer therapy in children? *Farmacia.* 2018;66:197–208.
25. Skinner R. Late renal toxicity of treatment for childhood malignancy: risk factors, long-term outcomes, and surveillance. *Pediatr Nephrol.* 2018;33(2):215–225.
26. Perazella MA. Onco-nephrology: renal toxicities of chemotherapeutic agents. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(10):1713–1721.
27. McMahan KR, Harel-Sterling M, Pizzi M, et al. Long-term renal follow-up of children treated with cisplatin, carboplatin, or ifosfamide. *Pediatr Nephrol.* 2018;33(12):2311–2320.
28. Lyrio RM da Cunha, Rocha BRA, Corrêa ALRM, et al. Chemotherapy-induced acute kidney injury. *Front Nephrol.* 2024;4:1436896. doi:10.3389/fneph.2024.1436896.
29. Małyszko J, Kozłowska K, Kozłowski L. Nephrotoxicity of anticancer treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(6):924–936.
30. Izzedine H, Perazella MA. Anticancer drug-induced acute kidney injury. *Kidney Int.* 2017;91(3):529–542.
31. Skinner R. Nephrotoxicity—what do we know and what don't we know? *J Pediatr Hematol Oncol.* 2011;33(2):128–134.
32. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014;740:364–378.
33. Klumpers MJ, Witte W, Gattuso G, et al. Genome-wide analyses of nephrotoxicity in platinum-treated cancer patients identify association with genetic variant in RBMS3 and acute kidney injury. *J Pers Med.* 2022;12(6):892.
34. Volarevic V, Djokovic B, Jankovic MG, et al. Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity. *J Biomed Sci.* 2019;26(1):25.
35. McSweeney KR, Gadanec LK, Qaradakhi T, et al. Mechanisms of cisplatin-induced acute kidney injury. *Cancers.* 2021;13:1572.
36. Zhang J, Ye ZW, Tew KD, Townsend DM. Cisplatin chemotherapy and renal function. *Adv Cancer Res.* 2021;152:305–327.
37. Santos NA, Catão CS, Martins NM, et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress. *Arch Toxicol.* 2007;81:495–504.
38. Manohar S, Leung N. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *J Nephrol.* 2018;31:15–25.
39. Rashed LA, Hashem RM, Soliman HM. Oxytocin inhibits oxidative pathways in cisplatin nephrotoxicity. *Pharmacol Rep.* 2011;65:474–480.
40. Ozkok A, Edelstein CL. Pathophysiology of cisplatin-induced acute kidney injury. *Biomed Res Int.* 2014;2014:967826.

41. Ciarimboli G. Membrane transporters as mediators of cisplatin side effects. *Anticancer Res.* 2014;34:547–550.
42. George B, You D, Joy MS, Aleksunes LM. Xenobiotic transporters and kidney injury. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;116:73–91.
43. Nieskens TTG, Peters JGP, Dabaghie D, et al. Organic anion transporters and cisplatin sensitivity. *Drug Metab Dispos.* 2018;46:592–599.
44. Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins.* 2010;2:2490–2518.
45. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, et al. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci.* 2007;334(2):115–124.
46. dos Santos NAG, Rodrigues MAC, Martins NM, dos Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection. *Arch Toxicol.* 2012;86:1233–1250.
47. Satoh M, Kashihara N, Fujimoto S, et al. Edarabone protects against cisplatin-induced acute renal damage. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;305:1183–1190.
48. Zsengellér ZK, Ellezian L, Brown D, et al. Cisplatin nephrotoxicity involves mitochondrial injury. *J Histochem Cytochem.* 2012;60:521–529.
49. Liu H, Baliga R. Cytochrome P450 2E1 null mice provide protection against cisplatin nephrotoxicity. *Kidney Int.* 2003;63:1687–1696.
50. Karasawa T, Steyger PS. An integrated view of cisplatin-induced nephrotoxicity and ototoxicity. *Toxicol Lett.* 2015;237:219–227.
51. Bardi E, Olah AV, Bartyik K, et al. Late effects on renal glomerular and tubular function in childhood cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer.* 2004;43(6):668–673.
52. Jiménez-Triana CA, Castelán-Martínez OD, Rivas Ruiz R, et al. Cisplatin nephrotoxicity and longitudinal growth in children with solid tumors. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(34):e1234.
53. Skinner R. Nephrotoxicity of cancer treatment in children. *Pediatr Health.* 2010;4(5):519–538.
54. Gietema JA, Meinardi MT, Messerschmidt J, et al. Circulating plasma platinum more than 10 years after cisplatin treatment. *Lancet.* 2000;355(9209):1075–1076.
55. Faught LN, Greff MJE, Rieder MJ, Koren G. Drug-induced acute kidney injury in children. *Br J Clin Pharmacol.* 2015;80(4):901–909.
56. Sterling M, Al-Ismaili Z, McMahan KR, et al. Urine biomarkers of acute kidney injury in children treated with chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(10):e26538.
57. Kooijmans ECM, Bökenkamp A, Tjahjadi NS, et al. Early and late adverse renal effects after nephrotoxic treatment for childhood cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;3:CD008944.
58. Tanaka H, Ishikawa E, Teshima S, Shimizu E. Histopathological study of human cisplatin nephropathy. *Toxicol Pathol.* 1986;14(2):247–257.
59. Ali BH, Al Moundhri MS. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds. *Food Chem Toxicol.* 2006;44:1173–1183.
60. Espeli V, Zucca E, Ghielmini M, et al. Weekly and 3-weekly cisplatin concurrent with IMRT in head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2012;48:266–271.
61. Sharbaf FG, Farhangi H, Assadi F. Prevention of chemotherapy-induced nephrotoxicity in children with cancer. *Int J Prev Med.* 2017;8:76.

62. Casanova AG, Hernández-Sánchez MT, López-Hernández FJ, et al. Efficacy of protectants of cisplatin nephrotoxicity: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2020;76:23–33.
63. Sikking C, van der Vorst MJDL, van der Wijst J, et al. Hydration methods for cisplatin-containing chemotherapy: a systematic review. *Oncologist.* 2024;29(2):e173– e182.
64. Kerbusch T, de Kraker J, Keizer HJ, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of ifosfamide and its metabolites. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40(1):41–62.
65. Sprangers B, Lapman S. The growing pains of ifosfamide. *Clin Kidney J.* 2020;13(4):500–503.
66. Highley MS, Landuyt B, Prenen H, et al. The nitrogen mustards. *Pharmacol Rev.* 2022;74(3):552–599.
67. Furlanut M, Franceschi L. Pharmacology of ifosfamide. *Oncology.* 2003;65(Suppl 2):2–6.
68. Fujieda M, Matsunaga A, Hayashi A, et al. Drug-induced renal injury in children: nephrotoxicity induced by cisplatin and ifosfamide. *J Toxicol Sci.* 2009;34(Suppl 2):SP251–SP257.
69. Ciarimboli G, Holle SK, Vollenbrocker B, et al. Preferential renal uptake of ifosfamide via human OCT2. *Mol Pharm.* 2011;8(1):270–279.
70. Troxell ML, Higgins JP, Kambham N. Antineoplastic treatment and renal injury. *Adv Anat Pathol.* 2016;23(5):310–329.
71. Kitterer D, Schwab M, Alscher MD, et al. Drug-induced acid–base disorders. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(9):1407–1423.
72. Boskabadi J, Yousefi-Mazhin E, Salehifar E. Ifosfamide-induced acute kidney injury: a case report. *Cancer Rep.* 2022;5(10):e1666.
73. Heidari R. Mitochondrial impairment in xenobiotic-induced nephrotoxicity. *Toxicology.* 2019;423:1–31.
74. García-Carro C, Draibe J, Soler MJ. Onconephrology: update in anticancer drug-related nephrotoxicity. *Nephron.* 2023;147(2):65–77.
75. Ensergueix G, Pallet N, Joly D, et al. Ifosfamide nephrotoxicity in adult patients. *Clin Kidney J.* 2020;13(4):660–665.
76. Oberlin O, Fawaz O, Rey A, et al. Long-term evaluation of ifosfamide-related nephrotoxicity in children. *J Clin Oncol.* 2009;27:5350–5355.
77. Hanly L, Chen N, Rieder M, Koren G. Ifosfamide nephrotoxicity in children. *Expert Opin Drug Saf.* 2009;8(2):155–168.
78. Skinner R, Cotterill SJ, Stevens MC. Risk factors for nephrotoxicity after ifosfamide treatment in children. *Br J Cancer.* 2000;82:1636–1645.
79. Le Deley MC, et al. Cyclophosphamide compared with ifosfamide in Ewing sarcoma. *J Clin Oncol.* 2014;32(23):2440–2448.
80. Skinner R, Parry A, Price L, et al. Glomerular toxicity persists 10 years after ifosfamide. *Pediatr Blood Cancer.* 2010;54(7):983–989.
81. Nissim I, Horyn O, Daikhin Y, et al. Ifosfamide-induced nephrotoxicity: mechanism and prevention. *Cancer Res.* 2006;66(15):7824–7831.
82. Gangireddy M, Nookala V. Ifosfamide. In: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2026 Jan 25].

83. Skinner R. Chronic ifosfamide nephrotoxicity in children. *Med Pediatr Oncol*. 2003;41(3):190–197.
84. Lee LK, Chen PM, Tzeng CH, et al. Ifosfamide-induced Fanconi syndrome. *J Cancer Res Pract*. 2014;1(1):46–49.
85. Martinez D, Rodelo J, Pelaez García S. Ifosfamide as a cause of Fanconi syndrome. *Cureus*. 2022;14(3):e22755.
86. Akilesh S, Juair N, Duffield JS, et al. Chronic ifosfamide toxicity: kidney pathology. *Am J Kidney Dis*. 2014;63(5):843–850.
87. Ingemi AI, Bota VM, Peguero A, et al. Fanconi syndrome and nephrogenic diabetes insipidus after ifosfamide. *Pharmacotherapy*. 2012;32(1):e12–e16.
88. Haque SK, Ariceta G, Batlle D. Proximal renal tubular acidosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(12):4273–4287.
89. Gupta S, Portales-Castillo I, Daher A, et al. Conventional chemotherapy nephrotoxicity. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2021;28(5):402–414.
90. Zaki EL, Springate JE, Taub M. Comparative toxicity of ifosfamide metabolites. *Toxicol In Vitro*. 2003;17:397–402.
91. Chen N, Aleksa K, Woodland C, et al. N-acetylcysteine and ifosfamide nephrotoxicity. *Transl Res*. 2007;150(1):51–57.
92. Tylicki L, Rutkowski B, Hörl WH. Antioxidants: a possible role in kidney protection. *Kidney Blood Press Res*. 2003;26:303–314.
93. Aleksa K, Halachmi N, Ito S, Koren G. Renal ontogeny of ifosfamide nephrotoxicity. *J Lab Clin Med*. 2004;144(6):285–293.
94. Sener G, Sehirli O, Yegen BC, et al. Melatonin attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome. *J Pineal Res*. 2004;37(1):17–25.
95. Hanly L, Rieder MJ, Huang SHS, et al. N-acetylcysteine rescue protocol. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. 2013;20(2):e132–e145.
96. Dobrek L, Nalik-Iwaniak K, Fic K, et al. Acetylcysteine in ifosfamide-induced cystitis. *Curr Urol*. 2020;14(3):150–162.
97. El-Sisi AEDE, El-Syaad ME, El-Desoky KI, et al. Protective effects of alpha-lipoic acid versus N-acetylcysteine on ifosfamide-induced nephrotoxicity. *Toxicol Ind Health*. 2015;31(2):97–107.
98. Kamt SF, Liu J, Yan LJ. Renal-protective roles of lipoic acid in kidney disease. *Nutrients*. 2023;15(7):1732.
99. Hartmann JT, Fels LM, Knop S, et al. Nephrotoxicity of cisplatin/ifosfamide with amifostine. *Invest New Drugs*. 2000;18(3):281–289.
100. Chiruvella V, Annamaraju P, Guddati AK. Management of chemotherapy nephrotoxicity. *Am J Cancer Res*. 2020;10(12):4151–4164.
101. Loebstein R, Koren G. Predictive risk factors for ifosfamide nephrotoxicity. *Pediatrics*. 1998;101(6):e8.
102. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol*. 2008;4(7):386–394.
103. Ostermann M, Zarbock A, Goldstein S, et al. Biomarkers in acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Ann Intensive Care*. 2024;14:32.
104. Makris K, Spanou L. Acute kidney injury: diagnostic approaches and controversies. *Clin Biochem Rev*. 2016;37(4):153–175.

105. Prowle JR, Kirwan CJ, Bellomo R. Fluid management for the prevention and attenuation of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(1):37–47.
106. Delanaye P, Cavalier E, Pottel H. Serum creatinine: not so simple! *Nephron.* 2017;136(4):302–308.
107. Seegmiller JC, Burns BE, Schinstock CA, Lieske JC, Larson TS. Discordance between creatinine assays and estimated glomerular filtration rate: implications for clinical care. *Clin Chem.* 2019;65(9):1122–1131.
108. Castro-Castro MJ, Crego-Lasheras A, González-Calle D, et al. Metamizole interference in enzymatic creatinine assays: clinical impact and laboratory recommendations. *Clin Chem Lab Med.* 2024;62(3):e65–e68.
109. Saenger AK, Lockwood CM, Snozek CLH, et al. Catecholamine interference in enzymatic creatinine assays. *Clin Biochem.* 2017;50(18):1062–1068.
110. Wada N, Sakurabayashi I, Kawai T. Interference by monoclonal immunoglobulins in enzymatic creatinine assays. *Clin Chim Acta.* 2015;446:235–240.
111. Malbrain M, Van Regenmortel N, Saugel B, et al. Principles of fluid management and stewardship in acute kidney injury. *Ann Intensive Care.* 2018;8:66.
112. Macisaac RJ, Premaratne E, Jerums G. Estimating glomerular filtration rate in diabetes using serum cystatin C. *Clin Biochem Rev.* 2011;32(2):61–67.
113. Yong K, Dogra G, Boudville N, Pinder M, Lim W. Acute kidney injury: controversies revisited. *Int J Nephrol.* 2011;2011:762634.
114. Herget-Rosenthal S, Feldkamp T, Volbracht L, Kribben A. Measurement of urinary cystatin C by particle-enhanced nephelometric immunoassay: precision, interferences, stability and reference range. *Ann Clin Biochem.* 2004;41(Pt 2):111–118.
115. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, et al. Cystatin C as a marker of GFR—history, indications, and future research. *Clin Biochem.* 2005;38:1–8.
116. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med.* 2012;367(1):20–29.
117. Bhosale SJ, Kulkarni AP. Biomarkers in acute kidney injury. *Indian J Crit Care Med.* 2020;24(3):S90–S93.
118. Pozzoli S, Simonini M, Manunta P. Predicting acute kidney injury: current status and future challenges. *J Nephrol.* 2018;31(2):209–223.
119. Spencer S, Desborough R, Bhandari S. Should cystatin C eGFR become routine clinical practice? *Biomolecules.* 2023;13:1075.
120. Pianta TJ, Pickering JW, Succar L, et al. Dexamethasone modifies cystatin C-based diagnosis of acute kidney injury during cisplatin-based chemotherapy. *Kidney Blood Press Res.* 2017;42:62–75.
121. Karademir LD, Dogruel F, Kocyigit I, et al. The efficacy of theophylline in preventing cisplatin-related nephrotoxicity. *Ren Fail.* 2016;38:806–814.
122. Benohr P, Grenz A, Hartmann JT, Muller GA, Blaschke S. Cystatin C—a marker for assessment of GFR in cisplatin chemotherapy. *Kidney Blood Press Res.* 2006;29:32–35.
123. Kos FT, Sendur MA, Aksoy S, et al. Evaluation of renal function using cystatin C in cisplatin-based chemotherapy. *Ren Fail.* 2013;35:705–710.
124. Lin HY, Lee SC, Lin SF, et al. Urinary NGAL predicts cisplatin-induced AKI better than albuminuria or cystatin C. *Kaohsiung J Med Sci.* 2013;29:304–318.
125. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function—measured and estimated GFR. *N Engl J Med.* 2006;354:2473–2483.

126. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM, Spitzer A. A simple estimate of GFR in children. *Pediatrics*. 1976;51:259–263.
127. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. Use of plasma creatinine for estimating GFR in children. *Pediatr Clin North Am*. 1987;34(3):571–590.
128. Schwartz GJ, Munoz A, Schneider MF, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:629–637.
129. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, et al. Improved equations estimating GFR using cystatin C. *Kidney Int*. 2012;82(4):445–453.
130. Blufpand HN, Tromp J, Abbink FC, et al. Cystatin C detects mild renal impairment better than creatinine. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;57:262–267.
131. Costa e Silva VT, Gil LA, Inker LA, et al. Estimated GFR from creatinine and cystatin C in adults with solid tumors. *Kidney Int*. 2022;101:607–614.
132. Inker LA, Eneanya ND, Coresh J, et al. New creatinine- and cystatin C–based equations to estimate GFR without race. *N Engl J Med*. 2021;385(19):1737–1749.
133. Pottel H, Björk J, Rule AD, et al. Cystatin C-based equation to estimate GFR without race and sex. *N Engl J Med*. 2023;388:333–343.
134. Titan SM, Lieske JC, Meeusen JW, et al. Performance of creatinine and cystatin-based equations on estimating measured GFR in people with hematological and solid cancers. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2025;20(3):358–366.
135. Kitchlu A, Silva VTCE, Anand S, et al. Assessment of GFR in patients with cancer. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2024;19:1061–1072.
136. Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Curr Opin Pediatr*. 2011;23(2):194–200.
137. Kellum JA, Lameire N; KDIGO AKI Guideline Work Group. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary. *Crit Care*. 2013;17(1):204.
138. Ostermann M, Zarbock A, Goldstein S, et al. Recommendations on acute kidney injury biomarkers from the Acute Disease Quality Initiative Consensus Conference. *Intensive Care Med*. 2020;46:343–354.
139. Ronco C, Kellum JA, Haase M. Subclinical AKI is still AKI. *Crit Care*. 2012;16(3):313.
140. Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A, et al. The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin–positive subclinical acute kidney injury. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(17):1752–1761.
141. Perazella MA. Drug-induced acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2022;17(8):1220–1233.
142. Dennen P, Douglas IS, Anderson R. Acute kidney injury in the intensive care unit: an update and primer for the intensivist. *Crit Care Med*. 2010;38(1):261–275.
143. Yousif ZK, Koola JD, Macedo E, et al. Clinical characteristics and outcomes of drug-induced acute kidney injury cases. *Kidney Int Rep*. 2023;8(8):1542–1552.
144. Zdziechowska M, Gluba-Brzózka A, et al. Serum NGAL, KIM-1, IL-18, L-FABP: new biomarkers in the diagnostics of acute kidney injury. *Int Urol Nephrol*. 2020;52:2135–2143.
145. De Chiara L, et al. Molecular mechanisms and biomarkers associated with cisplatin-induced nephrotoxicity. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5):2638.

146. Leaf DE, Christov M, Jüppner H, et al. Fibroblast growth factor 23 levels are associated with acute kidney injury and mortality in the critically ill. *Kidney Int.* 2016;89(4):939–948.
147. Hosohata K, Ando H, Fujimura A. Urinary vanin-1 is an early biomarker for detecting acute kidney injury induced by nephrotoxic drugs. *Toxicol Sci.* 2011;124(2):389–397.
148. Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1482(1–2):46–56.
149. Le Cabec V, Cowland JB, Calafat J, Borregaard N. Targeting of gelatinase-associated lipocalin to granules and secretion by neutrophils. *Blood.* 1997;90(6):2305–2313.
150. Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem.* 2000;275(13):10455–10461.
151. Yang J, Goetz D, Li JY, et al. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell.* 2002;10(5):1045–1056.
152. Mori K, Lee HT, Rapoport D, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest.* 2005;115(3):610–621.
153. Lima C, Macedo E, Mehta RL. Biomarkers of acute kidney injury: the role of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Clin Chim Acta.* 2020;508:82–91.
154. Hirsch R, Dent C, Pfriem H, et al. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatrics.* 2007;119(4):e834–e842.
155. Zhao Y, Li Z, Zhang L, et al. The role of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *J Cell Mol Med.* 2021;25(6):2913–2925.
156. Yoon SY, Kim YH, Lee YH, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for acute kidney injury: recent advances. *Kidney Res Clin Pract.* 2022;41(1):15–27.
157. Gaspari F, Cravedi P, Mandalà M, et al. Predicting cisplatin-induced acute kidney injury by urinary biomarkers. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(11):3793–3801.
158. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(2):337–344.
159. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002;62(1):237–244.
160. Shinke H, Masuda S, Togashi Y, et al. Urinary kidney injury molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 are noninvasive biomarkers of cisplatin-induced nephrotoxicity in lung cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;76(5):989–996.
161. Hosohata K, Washino S, Kubo T, et al. Early prediction of cisplatin-induced nephrotoxicity by urinary vanin-1 in patients with urothelial carcinoma. *Toxicology.* 2016;359–360:71–75.

162. George B, Wen X, Mercke N, et al. Profiling of kidney injury biomarkers in patients receiving cisplatin: time-dependent changes in the absence of clinical nephrotoxicity. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;101(4):510–518.
163. Parikh CR, Thiessen-Philbrook H, Garg AX, et al. Performance of kidney injury molecule-1 and liver fatty acid-binding protein and combined biomarkers of AKI after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013;8(7):1079–1088.
164. Westhoff JH, Seibert FS, Waldherr S, et al. Urinary calprotectin, kidney injury molecule-1, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of adverse outcome in pediatric acute kidney injury. *Eur J Pediatr.* 2017;176(6):745–755.
165. McWilliam SJ, Antoine DJ, Sabbisetti V, et al. Mechanism-based urinary biomarkers to identify aminoglycoside-induced nephrotoxicity in premature neonates. *PLoS One.* 2012;7(8):e43809.
166. Carvalho Pedrosa D, Macedo de Oliveira Neves F, Cavalcante Meneses G, et al. Urinary kidney injury molecule-1 in children undergoing nephrotoxic antineoplastic treatment: a prospective cohort study. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(12):2207–2213.
167. Spector AA. Fatty acid binding to plasma albumin. *J Lipid Res.* 1975;16:165–179.
168. Veerkamp JH, van Kuppevelt THMSM, Maatman RGHJ, Prinsen CFM. Structural and functional aspects of cytosolic fatty acid-binding proteins. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 1993;49:887–906.
169. Veerkamp JH, Peeters RA, Maatman RGHJ. Structural and functional features of different types of cytoplasmic fatty acid-binding proteins. *Biochim Biophys Acta.* 1991;1081:1–24.
170. Simon N, Hertig A. Alteration of fatty acid oxidation in tubular epithelial cells: from acute kidney injury to renal fibrogenesis. *Front Med.* 2015;2:52.
171. Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, et al. Urinary free fatty acids bound to albumin aggravate tubulointerstitial damage. *Kidney Int.* 2002;62:1628–1637.
172. González J, Jatem E, Roig J, et al. Usefulness of urinary biomarkers to estimate the interstitial fibrosis surface in diabetic nephropathy with normal kidney function. *Nephrol Dial Transplant.* 2022;37:2102–2110.
173. Chiang TH, Yo CH, Lee GH, et al. Accuracy of liver-type fatty acid-binding protein in predicting acute kidney injury: a meta-analysis. *J Appl Lab Med.* 2022;7:421–436.
174. Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, et al. Urinary fatty acid-binding protein as a new clinical marker of the progression of chronic renal disease. *J Lab Clin Med.* 2004;143:23–30.
175. Yanishi M, Kinoshita H. Urinary L-type fatty acid-binding protein is a predictor of cisplatin-induced acute kidney injury. *BMC Nephrol.* 2022;23:125.
176. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res.* 2004;19(3):429–435.
177. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest.* 2011;121(11):4393–4408.
178. Leaf DE, Waikar SS. Biomarkers in AKI. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13(4):241–256.
179. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest.* 2007;117:4003–4008.
180. Christov M, Waikar SS, Pereira RC, et al. Plasma FGF23 levels increase rapidly after acute kidney injury. *Kidney Int.* 2013;84(4):776–785.

181. Pitari G, Malergue F, Martin F, et al. Pantetheinase activity of membrane-bound Vanin-1: lack of free cysteamine in tissues of Vanin-1 deficient mice. *FEBS Lett.* 2000;483:149–154.
182. Aurrand-Lions M, Galland F, Bazin H, et al. Vanin-1, a novel GPI-linked perivascular molecule involved in thymus homing. *Immunity.* 1996;5:391–405.
183. Naquet P, Pitari G, Duprè S, Galland F. Role of the Vnn1 pantetheinase in tissue tolerance to stress. *Biochem Soc Trans.* 2014;42:1094–1100.
184. Kessler A, Biasibetti M, da Silva Melo DA, et al. Antioxidant effect of cysteamine in brain cortex of young rats. *Neurochem Res.* 2008;33:737–744.
185. Yoshida T, Kurella M, Beato F, et al. Monitoring changes in gene expression in renal ischemia-reperfusion in the rat. *Kidney Int.* 2002;61:1646–1654.
186. Hosohata K, Ando H, Fujimura A. Urinary vanin-1 as a novel biomarker for early detection of drug-induced acute kidney injury. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;341:656–662.
187. Hosohata K, Ando H, Fujiwara Y, Fujimura A. Vanin-1: a potential biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Toxicology.* 2011;290:82–88.
188. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(7):363–383.
189. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2007;87(1):245–313.
190. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:715–748.
191. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438.
192. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103–1111.
193. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta.* 2003;329(1–2):23–38.
194. Azqueta A, Collins AR. The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. *Arch Toxicol.* 2013;87(6):949–968.
195. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004;37(2):112–119.
196. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res.* 2010;44(5):479–496.
197. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int.* 2008;73(9):994–1007.
198. Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vasc Health Risk Manag.* 2018;14:137–143.
199. Kumon Y, Suehiro T, Ikeda Y, Hashimoto K. Human paraoxonase-1 gene expression by HepG2 cells is downregulated by interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but is upregulated by interleukin-6. *Life Sci.* 2003;73(22):2807–2815.
200. Ferretti G, Bacchetti T, Saturni L, et al. Alterations of paraoxonase activity in childhood cancer. *Nutr Cancer.* 2008;60(3):387–394.

201. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3(1):1–150.
202. Piepsz A, Tondeur M, Ham H. Revisiting normal (51)Cr-ethylenediaminetetraacetic acid clearance values in children. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;33:1477–1482.
203. Kwak BO, Yoon AJ, Shin JI. Microalbuminuria in normal Korean children. *Yonsei Med J.* 2011;52(3):476–481.
204. Larkins NG, Kim S, Carlin JB, Grobler AC, Burgner DP, Lange K, Craig JC, Wake M. Albuminuria: population epidemiology and concordance in Australian children aged 11–12 years and their parents. *BMJ Open.* 2019;9(Suppl 3):75–84.
205. National Cancer Institute (NCI). Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v6.0 (MedDRA 28.0). Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2025 Jul 22.
206. Awazu M, Matsumura K. Utility of fractional excretion of magnesium in diagnosing renal magnesium wasting in pediatric nephrology practice. *Clin Biochem.* 2024;131–132:110807.
207. Becue C, Ceuleers B, den Brinker M, Somers I, Ledeganck KJ, Dotremont H, Trouet D. Screening for an underlying tubulopathy in children with growth failure: simply maths? *Front Pediatr.* 2022;10:902252.
208. Kruse K, Kracht U, Gopfert G. Renal threshold phosphate concentration (TmPO₄/GFR). *Arch Dis Child.* 1982;57:217–223.
209. Lambert M, White-Koning M, Alonso M, et al. Plasma cystatin C is a marker of renal glomerular injury in children treated with cisplatin or ifosfamide. *Pediatr Blood Cancer.* 2021;68(1):e28747.
210. Yoon SY, Kim JS, Jeong KH, Kim SK. Acute kidney injury: biomarker-guided diagnosis and management. *Medicina (Kaunas).* 2022;58(3):340.
211. Strauß C, Booke H, Forni L, Zarbock A. Biomarkers of acute kidney injury: from discovery to the future of clinical practice. *J Clin Anesth.* 2024;95:111458.
212. Szumilas D, Owczarek AJ, Brzozowska A, et al. The value of urinary NGAL, KIM-1, and IL-18 measurements in the early detection of kidney injury in oncologic patients treated with cisplatin-based chemotherapy. *Int J Mol Sci.* 2024;25(2):1074.
213. Wilnes B, Castello-Branco B, Branco BC, et al. Urinary L-FABP as an early biomarker for pediatric acute kidney injury following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci.* 2024;25(9):4912.
214. Kos FT, Sendur MAN, Aksoy S, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(2):1111–1114.
215. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology (Carlton).* 2010;15(4):419–428.
216. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med.* 2010;36(3):452–461.
217. Mårtensson J, Bellomo R. The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. *Blood Purif.* 2014;37(4):304–310.

218. Bennett M, Dent CL, Ma Q, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(3):665–673.
219. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2009;54(6):1012–1024.
220. Leaf DE, Wolf M, Waikar SS, et al. FGF-23 levels in patients with acute kidney injury and risk of adverse outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(8):1217–1223.
221. Leaf DE, Jacob KA, Srivastava A, et al. Fibroblast growth factor 23 levels associate with AKI and death in critical illness. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(6):1877–1885.
222. Wu PP, Kor CT, Hsieh MC, Hsieh YP. Association between fibroblast growth factor 23 and acute kidney injury: a meta-analysis. *Nephron*. 2020;144(3):139–149.
223. Wolf M, White KE. Coupling fibroblast growth factor 23 production and cleavage. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014;23(4):411–419.
224. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370–1378.
225. Quiroz-Aldave JE, Durand-Vásquez MDC, Chávez-Vásquez FS, et al. Ifosfamide-induced nephrotoxicity in oncological patients. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2024;24(1–2):5–14.
226. Alamdari DH, Paletas K, Pegiou T, Sarigianni M, Befani C, Koliakos G. A novel assay for the evaluation of the prooxidant-antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clin Biochem*. 2007;40(3–4):248–254.
227. Arenas M, Rodríguez E, Sahebkar A, et al. Paraoxonase-1 activity in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018;127:6–14.
228. Medina-Díaz IM, et al. The relationship between cancer and paraoxonase-1. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(4):697.
229. Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, et al. Acute kidney injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7:52.
230. Tirelli AS, Colombo N, Cavanna G, Mangioni C, Assael BM. Follow-up study of enzymuria and beta 2 microglobulinuria during cis-platinum treatment. *Eur J Clin Pharmacol*. 1985;29(3):313–318.
231. George B, Wen X, Mercke N, et al. Time-dependent changes in kidney injury biomarkers in patients receiving multiple cycles of cisplatin chemotherapy. *Toxicol Rep*. 2020;7:571–576.
232. Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4210–4221.
233. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury. *Kidney Int*. 2008;73(9):1008–1016.
234. Askenazi DJ, Ambalavanan N, Goldstein SL. Acute kidney injury in critically ill newborns. *Clin Perinatol*. 2014;41(3):487–502.
235. Devarajan P. Emerging biomarkers of acute kidney injury. *Contrib Nephrol*. 2007;156:203–212.
236. Schrezenmeier EV, Barasch J, Budde K, et al. Biomarkers in acute kidney injury. *Acta Physiol (Oxf)*. 2017;219(3):554–572.

237. Shahbazi F, Sadighi S, Dashti-Khavidaki S, et al. Urine ratio of neutrophil gelatinase-associated lipocalin to creatinine as a marker for early detection of cisplatin-associated nephrotoxicity. *Iran J Kidney Dis.* 2015;9:306–310.
238. Ghadrhan E, Ebrahimpour S, Sadighi S, et al. Evaluation of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and urinary kidney injury molecule-1 as biomarkers of renal function in cancer patients treated with cisplatin. *J Oncol Pharm Pract.* 2020;26:1643–1649.
239. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F552–F563.
240. Green DM, Wang M, Krasin M, et al. Kidney function after treatment for childhood cancer: a report from the St. Jude Lifetime Cohort Study. *J Am Soc Nephrol.* 2021;32(4):983–993.
241. Huang RS, McMahon KR, Wang S, et al. Tubular injury biomarkers to predict CKD and hypertension at 3 months post-cisplatin in children. *Kidney360.* 2024;5(6):821–833.
242. Knijnenburg SL, Jaspers MW, van der Pal HJ, Schouten-van Meeteren AY, Bouts AH, Lieverst JA, Bökenkamp A, Koning CCE, Oldenburger F, Wilde JCH, van Leeuwen FE, Caron HN, Kremer LC. Renal dysfunction and elevated blood pressure in long-term childhood cancer survivors. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(9):1416–1427.
243. Knijnenburg SL, Mulder RL, Schouten-van Meeteren AY, Bökenkamp A, Blufpand H, van Dulmen-den Broeder E, Veening MA, Kremer LC, Jaspers MW. Early and late renal adverse effects after potentially nephrotoxic treatment for childhood cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;10(10):CD008944.
244. Stefanowicz J, Owczuk R, Sierota D, et al. Does antineoplasia treatment decrease the glomerular filtration rate in children? *Kidney Blood Press Res.* 2009;32(3):194–199.

SPISAK SKRAĆENICA

ALL – akutna limfoblastna leukemija

AOB – akutno oštećenje bubrega

AOPP – proizvodi uznapredovale oksidacije proteina (Advanced Oxidation Protein Products)

ATP-aza – adenzin-trifosfataza

AUC – površina ispod krive

BAX – Bcl-2-asocirani X protein, proapoptotski protein

Bcl-2 – B-ćelijski limfom-2 antiapoptotski protein

BL – Burkitt-ov limfom

CAA – hloroacetaldehid

cFGF-23 – C-terminalni fragment fibroblastnog faktora rasta-23

CIS – cisplatin

cm – centimetar

CoA – koenzim A

CYP2B6 – enzim citohroma P450 2B6

CYP3A4 – enzim citohroma P450 3A4

CYP24A1 – citohrom P450 24A1 (25-hidroksi-vitamin D-24-hidroksilaza)

CYP27B1 – citohrom P450 27B1 (25-hidroksi-vitamin D-1 α -hidroksilaza)

CYP450 – citohrom P450

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

DGU – donja granica referentne vrednosti za uzrast

ES – Juingov sarkom (Ewing sarcoma)

FeK⁺ – frakciona ekskrecija filtriranog kalijuma

FeMg²⁺ – frakciona ekskrecija filtriranog magnezijuma

FeNa⁺ – frakciona ekskrecija filtriranog natrijuma

FGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23

FSGS – fokalna segmentalna glomeruloskleroza

GPI – glikozilfosfatidilinozitol

HAVCR1 – gen za receptor ćelije za virus hepatitisa A 1 (Hepatitis A virus cellular receptor 1)

HB – hepatoblastom

HBB – hronična bolest bubrega

HCC – hepatocelularni karcinom

HDL – lipoproteini velike gustine

H₂O₂ – vodonik-peroksid

HT – hemioterapija

IFO –
ifosfamid IL –
interleukin
FGF-23 – fibroblastni faktor rasta-23
iFGF-23 – intaktni oblik fibroblastnog faktora rasta-
23
iNOS – indukovana sintaza azot-monoksida
ITM – indeks telesne
mase IQR –
interkvartilni opseg

JGF – jačina glomerulske filtracije
JPIN – jedinica pedijatrijske intenzivne nege

kDa – kilodalton
KDIGO – Kidney Disease: Improving Global
Outcomes kg/m² – kilogram po metru kvadratnom
KIM-1 – molekul oštećenja bubrega-1 (Kidney Injury
Molecule-1) K⁺ – kalijum

L-FABP – jetrin protein tip 1 koji vezuje masti (Liver-type Fatty Acid-Binding

Protein) MCP-1 – monocitni hemotaktički protein-1
MDA – malondialdehid
MESNA – natrijum-2-merkaptotanesulfonat
Mg²⁺ – magnezijum
MPO – mijeloperoksidaza
mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina

NADPH-oksidge – nikotinamid-adenin-dinukleotid-fošfat
oksidge NAG – N-acetil-β-D-glukozaaminidge
NaPi-2a – natrijum-fošfatni kotransporter tip
2a NaPi-2c – natrijum-fošfatni kotransporter
tip 2c NB – neuroblastom
NCI – Nacionalni institut za rak
NCI-CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse
Events NF-κB – nuklearni faktor kappa B
NFK – nazofaringealni karcinom
NGAL – lipokalin udružen sa neutrofilnom
želatinazom OCT2 – organski katjonski transporter 2
OR – odnos šansi
OS – oksidativni stres

PAB – prooksidativno-antioksidativni balans
p38 MAPK – p38 mitogen-aktivirana protein-
kinaza p53 – tumor-supresorski protein
PON1 – paraoksonaza-1
PO₄³⁻ – fošfati
PPB – pleuropulmonalni blastom
pJGF – procenjena jačina glomerulske filtracije

PTH – parathormon
PUMA- α – p53-indukovani modulator apoptoze- α

RMS – rabdomiosarkom
RNK – ribonukleinska
kislina ROS – reaktivne
kiseonične vrste

sAOB – subkliničko akutno oštećenje
bubrega sCr – serumski kreatinin
SD – standardna
devijacija SE –
standardna greška SMT
– sarkomi mekih tkiva
Sn – senzitivnost
Sp – specifičnost

TAS – ukupni antioksidativni status
TFF3 – trefoil faktor 3
TIM-1 – T-ćelijski protein sa imunoglobulinskim i mucinskim domenom-1
TMA – trombotička mikroangiopatija
TNF- α – faktor tumorske nekroze
alfa TOS – ukupni oksidativni status
TP – telesna površina
TRF – tubulska reapsorpcija fosfata
TZBFD – terapija zamene bubrežne funkcije dijalizom

uCr – kreatinin urina
uKIM-1/uCr – urinarni KIM-1 korigovan za
kreatinin uL-FABP/uCr – urinarni L-FABP
korigovan za kreatinin uMa/uCr – albumin
urina/kreatinin urina
uNGAL/uCr – urinarni NGAL korigovan za
kreatinin uVNN-1/uCr – urinarni vanin-1
korigovan za kreatinin

VNN-1 –
vanin-1 vs –
naspram

γ -GT – γ -glutamil-transpeptidaza

μ mol/L – mikromol po litru
ng/mg – nanogram po
miligramu ng/mL – nanogram
po mililitru

4-HNE – 4-hidroksinonenal
⁵¹Cr-EDTA – klirens hrom-etilendiamintetrasirćetne kiseline

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Gordana Miloševski-Lomić je rođena 24.01.1971. godine u Beogradu. Medicinski fakultet u Beogradu je završila 2000. godine sa prosečnom ocenom 8,97. Zaposlena je na Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu od 2005. godine. Specijalistički ispit iz pedijatrije je položila 2007. godine sa odličnim uspehom. Magistarsku tezu pod nazivom "Značaj proteinurije i arterijske hipertenzije u progresiji refluksne nefropatije kod dece" je odbranila 2010. godine sa odličnim uspehom. Rad iz uže specijalizacije pod nazivom "Cistatin C kao mera jačine glomerulske filtracije kod dece sa hroničnom bolešću bubrega" je odbranila 2014. godine sa odličnim uspehom. Izabrana je u zvanje kliničkog asistenta za predmet pedijatrija na Medicinskom fakultetu u Beogradu 2020. godine.

Autor je i koautor u 124 naučna rada od kojih je 47 radova publikovano u celini u međunarodnim i domaćim časopisima a ostali radovi su štampani kao izvodi u publikacijama inostranih i domaćih kongresa. Koautor je dva poglavlja u udžbeniku iz pedijatrije za studente medicine i dva poglavlja u knjigama za postdiplomsko usavršavanje lekara. Član je Srpskog lekarskog društva, Evropskog udruženja za pedijatrijsku nefrologiju i Internacionalnog udruženja za dijalizu kod dece.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Гордана Милошевиќи-Ломић

Број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

“Рана детекција субклиничког акутног оштећења бубрега код деце лечене од малигних болести цисплатином и ифосфамидом“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 27.04.2026.

Гордана Милошевиќи-Ломић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Гордана Милошевски-Ломић

Број индекса _____

Студијски програм _____

Наслов рада “Рана детекција субклиничког акутног оштећења бубрега код деце лечене од малигних болести цисплатином и ифосфамидом“

Ментор проф. др Душан Париповић _____

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 27.04.2026.

Гордана Милошевски-Ломић

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

“Рана детекција субклиничког акутног оштећења бубрега код деце лечене од малигних болести цисплатином и ифосфамидом“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 27.04.2026.

Торзана Милошевић-Ковачић
