
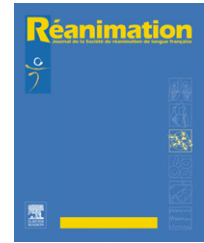




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

www.em-consulte.com



MISE AU POINT

Les nouveaux marqueurs biologiques de l'insuffisance rénale aiguë

New biomarkers for diagnosis and prognosis of acute kidney injury

D. du Cheyron*, N. Terzi, P. Charbonneau

Service de réanimation médicale, CHU de Caen, avenue Côte-de-Nacre, 14033 Caen, France

Disponible sur Internet le 26 septembre 2008

MOTS CLÉS

Insuffisance rénale aiguë ;
 Biomarqueurs ;
 Diagnostic ;
 Pronostic

KEYWORDS

Acute renal failure;
 Renal injury;
 Biomarker;
 Diagnosis;
 Prognosis

Résumé L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est fréquente en réanimation et est associée à une morbi-mortalité élevée. Le seul traitement efficace, en dehors de l'épuration extrarénale, repose sur la prévention par l'optimisation des thérapeutiques visant à limiter les effets des facteurs de risque associés à la survenue d'une IRA : hypotension, hypovolémie, sepsis, toxicité des médicaments, anémie. . . Le diagnostic de l'IRA est basé sur l'analyse de marqueurs tels que la créatinine sérique et la diurèse horaire pour apprécier le débit de filtration glomérulaire et permettre d'estimer la fonction rénale selon la classification RIFLE. Toutefois, ces marqueurs sont peu sensibles et peu spécifiques et la constatation d'une altération de la fonction rénale sur ces critères est souvent trop tardive pour permettre d'optimiser les thérapeutiques visant à prévenir la survenue d'une IRA. Au cours des dernières années, de nombreux travaux sur la recherche de biomarqueurs sériques et/ou urinaires, sur le modèle de la troponine I dans le syndrome coronarien aigu, ont été publiés dans la littérature. Si aucun marqueur n'a atteint la sensibilité/spécificité de la troponine à ce jour, certains marqueurs comme l'interleukine-18 (IL-18), la *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL) et la cystatine C laissent entrevoir des perspectives encourageantes pour l'avenir. L'objet de cet article est de faire le point sur les avancées scientifiques dans le domaine de la recherche de nouveaux biomarqueurs de l'IRA. © 2008 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary Acute kidney injury (AKI) is frequent in the intensive care unit and is associated with a high morbi-mortality. The only effective treatment, except renal replacement therapy, is based on AKI prevention by optimization of therapeutics that limit the effects of the identified risk factors associated with AKI: low blood pressure, hypovolemia, sepsis, drug toxicity, anemia . . . The diagnosis of AKI is based on the analysis of markers such as serum creatinine and diuresis to appreciate the glomerular filtration rate and to allow to estimate renal function according to RIFLE classification. However these markers have a poor sensitivity and specificity, and changes of these criteria are often too late to allow practitioners to optimize therapeutics

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : ducheyron-d@chu-caen.fr (D. du Cheyron).

that could prevent AKI. During the last years, numerous works focusing on the identification of new serum or urinary biomarkers of AKI have been published in the literature. To date, if no marker have reached accurate sensitivity/specificity to predict AKI, such as troponin for the diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction, some of them, such as interleukine-18 (IL-18), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and cystatine C offer encouraging perspectives for the future. The purpose of this article is to review the scientific headways in the field of research for the new biomarkers of AKI.

© 2008 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est une complication fréquente et grave en réanimation qui peut être isolée ou survenir dans un contexte de défaillance multiviscérale. Plus de 80 % des IRA en réanimation sont la conséquence de lésions tubulaires ischémiques responsables d'une nécrose tubulaire aiguë (NTA) [1] prolongée et réversible.

L'IRA est associée à une forte morbi-mortalité qui varie en fonction des études et des types de définition utilisée. Il n'existe pas de véritable consensus quant à la définition de l'IRA mais du point de vue général, on peut la définir comme une altération aiguë de la fonction rénale en réponse à une situation d'agression, qui se caractérise par une diminution rapide du débit de filtration glomérulaire (DFG). Le diagnostic de l'IRA est basé sur une élévation de la créatinine sérique et/ou sur une chute de la diurèse. Toutefois, cette appréciation de la fonction rénale demeure imparfaite par les critères mêmes qu'elle utilise. En effet, le niveau de créatinine sérique est un mauvais marqueur de la fonction rénale. Son élévation ne dépend pas uniquement de la filtration glomérulaire mais également du taux de production (catabolisme), du volume de distribution et de la sécrétion tubulaire rénale de la créatinine. Ainsi, la concentration sérique de la créatinine est fortement influencée par des facteurs extrarénaux tels que l'âge, le poids, le sexe, la race, le métabolisme musculaire, les médicaments...

En réanimation, les patients ne sont pas dans un état clinique et catabolique stables et les paramètres usuels de surveillance de la fonction rénale tels que la créatinine sérique ou la clairance de la créatinine estimée par la formule *modification of diet in renal disease* (MDRD [2]) ou de Gault et Cockcroft [3] sont inadaptés pour apprécier le degré d'altération du DFG. Une élévation de la créatinine sérique peut ainsi se voir plusieurs heures à plusieurs jours après la survenue des premières lésions tubulaires rénales. De plus, une altération significative de la fonction rénale peut être associée à des variations minimes de la créatinine sérique dans certaines situations du fait, par exemple, d'une augmentation de la sécrétion tubulaire de créatinine. Il apparaît donc nécessaire de rechercher et d'identifier de nouveaux biomarqueurs d'IRA, comme par exemple la troponine Ic dans le syndrome coronarien, qui répondent aux principes biochimiques suivants :

- faisabilité et faible coût ;
- reproductibilité ;
- sensibilité et spécificité ;
- valeur pronostique.

Les données historiques sur les marqueurs biologiques urinaires spécifiques de lésions tubulaires

Les indices urinaires, notamment la fraction d'excrétion du sodium, FeNa, qui est l'examen biologique actuellement le plus discriminatif, mais peu précoce, ne permettant pas toujours de différencier l'IRA fonctionnelle de la NTA, de nombreuses études ont cherché, au cours des dernières années, à mettre en évidence des marqueurs biologiques non invasifs de l'IRA pour affirmer l'origine tubulaire, donc réversible, de certaines formes atypiques d'IRA, et pour limiter le recours à la ponction biopsie rénale. Ces marqueurs biologiques urinaires pourraient également servir à la surveillance de certains traitements potentiellement néphrotoxiques, comme les aminosides ou la cisplatine. Comme le tubule proximal est le segment du néphron le plus sensible aux agressions ischémiques dans les modèles animaux [4], des protéines membranaires des cellules épithéliales, spécifiques du tubule proximal et libérées dans les urines au cours de lésions tubulaires d'origine ischémique, ont été testées comme marqueur biologique urinaire de la NTA sur des modèles animaux puis chez l'homme. Cela a été initialement montré dans certaines situations particulières, comme la chimiotoxicité [5] ou l'hypertension artérielle [6,7].

Mutti et al. ont montré que l'excrétion urinaire d'antigènes spécifiques de la bordure en brosse des tubules proximaux de rein de lapin, d'un poids moléculaire de 50 kDa environ, détectés à l'aide d'anticorps monoclonaux, serait un marqueur biologique très sensible et spécifique pour détecter les néphropathies toxiques à la cisplatine [8]. De même Gatta et al. ont démontré, sur des rats intoxiqués par l'intermédiaire de solution buvable de chlorure de cadmium (CdCl₂, à la dose de 16 ppm) pendant quatre, 16, 40 et 60 semaines, l'existence d'une corrélation directe entre la dose de chlorure de cadmium ingérée et les lésions tubulaires rénales anatomiques (visualisées en microscopie optique et électronique et par la mesure des fractions d'excrétion urinaire de la gamma-glutamyl transférase et de l'alpha-glucosidase), et fonctionnelles (observation d'une diminution de la clairance de la créatinine et d'une augmentation de la clairance du lysozyme, indice fonctionnel des lésions tubulaires) [9]. Plus les lésions tubulaires proximales rénales dues au cadmium étaient importantes, plus la fraction de clairance du lysozyme était élevée. Ce marqueur permettait donc de détecter précocement des lésions tubulaires rénales. L'alpha-1-microglobuline a également été rapportée comme pouvant être un marqueur

biologique urinaire de dysfonctions tubulaires induites par le cadmium [10]. Mais aucune étude n'a démontré par la suite l'intérêt de ces tests biologiques non invasifs en pratique clinique. Zimmerhackl et al. ont rapporté qu'une élévation de l'excrétion urinaire de la protéine de Tamm-Horsfall était corrélée précocement à l'existence de lésions tubulaires au niveau de la branche large ascendante de l'anse de Henlé chez les patients porteurs d'un diabète de type I [11]. D'autres protéines urinaires ont été décrites comme marqueurs précoces de lésions tubulaires rénales dans différentes pathologies: la β 2-microglobuline et la *N*-acétyl- β -d-glucosaminidase (NAG) chez des nouveaux-nés malades [12] ou encore la β 2-microglobuline, la NAG, la gamma-glutamyl transpeptidase (γ GT) dans l'IRA induite par les produits de contraste iodés [13].

Quelques situations particulières

L'IRA liée à la néphrotoxicité des antibiotiques. Un certain nombre de marqueurs urinaires ont également été étudiés dans l'IRA induite par les aminosides (qui sont les antibiotiques le plus souvent responsables de NTA par toxicité tubulaire directe; 10 à 25% des cas): l'aminocidurie est augmentée chez les rats *male Wistar* traités par des doses toxiques de gentamycine pour induire une NTA (40 mg/kg par jour pendant 14 j) [14]. Une augmentation de l'enzymurie a été observée chez le rat [15] et chez l'homme [16] au cours de traitement par des antibiotiques. Dans l'étude de Whiting et Brown [15], l'élévation des taux urinaires de l'alanine aminopeptidase (AAP) et de la γ GT témoignait d'une perte d'intégrité de la bordure en brosse des cellules épithéliales proximales due à la néphrotoxicité induite par de fortes doses de gentamycine (50 mg/kg par jour en intrapéritonéal), alors que l'élévation de l'activité enzymatique urinaire de la NAG était le reflet de lésions tubulaires proximales plus avancées correspondant à de la NTA. De plus, la mesure de l'activité enzymatique urinaire (incluant l'activité de l'AAP, de la γ GT et de la NAG) a permis de graduer la néphrotoxicité des antibiotiques dans l'ordre suivant: vancomycine associée à la gentamycine supérieure à gentamycine seule, elle-même supérieure à la vacomycine seule [17].

Malgré ces données spécifiques, l'IRA étant le plus souvent d'origine multifactorielle en unités de soins intensifs, la mesure de l'activité enzymatique urinaire ne permet pas véritablement en pratique courante d'établir la part de la chimiotoxicité des antibiotiques dans la survenue de l'IRA. Cette chimiotoxicité est liée en partie à des résiduelles sériques trop élevées, mais est surtout corrélée à la dose cumulée reçue [18]. La surveillance des ces médicaments doit donc essentiellement s'appuyer sur le monitoring des taux sériques résiduels et sur des dosages répétés de la créatinine.

L'IRA liée à la transplantation rénale. Dans le cadre particulier de la transplantation rénale, les travaux de recherche en cours s'orientent dans la même direction, à savoir la mise en évidence de marqueurs biologiques urinaires non invasifs de lésions tubulaires post-transplantation ou de rejet du greffon rénal, marqueurs qui permettraient d'éviter la réalisation itérative de biopsies de l'allogreffon. Matteucci et al. ont montré en post-transplantation, qu'en plus du taux normal de lipoprotéines du donneur et d'un temps d'ischémie froide court, un taux faible d'excrétion urinaire de NAG et

une forte diurèse dans les premières heures suivant la greffe rénale étaient associés à un pronostic favorable immédiat du greffon rénal [19]. Dans une étude récente sur une cohorte de 22 sujets avec rejet rénal (confirmé par ponction biopsie rénale) et un groupe témoin comprenant 63 receveurs sans rejet, Li et al. ont montré que la mesure des ARN messagers codant pour des protéines cytotoxiques dans les cellules urinaires permettait le diagnostic non invasif des rejets aigus de greffe rénale [20].

De même, dans une étude clinique incluant 40 patients bénéficiant de transplantation rénale, 30 greffons issus de donneurs décédés et dix greffons issus de donneurs vivants, Kwon et al. ont analysé sur échantillons urinaires, prélevés deux heures après la transplantation puis tous les jours pendant sept jours, la concentration urinaire de l'actine, la γ -glutamyl transpeptidase (GGTP), la lactate deshydrogénase (LDH), l'interleukine 6 (IL-6), l'interleukine 8 (IL-8) et le *tumor necrosis factor* α (TNF- α) [21]. L'objectif principal de l'étude était d'étudier l'intensité des lésions tubulaires rénales induites par l'ischémie froide et d'identifier des marqueurs précoces non invasifs de dysfonction rénale en période post-transplantation. La dysfonction rénale était définie comme une clairance de créatinine inférieure à 25 ml/mn au septième jour post-transplantation. Les principaux résultats étaient qu'une augmentation des concentrations urinaires de l'actine, l'IL-6 et l'IL-8 pourraient être utilisés comme marqueur précoce de la survenue d'une dysfonction rénale en période postopératoire d'une transplantation rénale.

Les études réalisées sur des malades hospitalisés en réanimation. Chez des patients hospitalisés en réanimation, seule l'équipe de Dehne et al. s'est attachée à mettre en évidence des marqueurs biologiques d'IRA. Premièrement, une augmentation précoce de l'excrétion urinaire de la protéine de Tamm-Horsfall et des protéines α 1 et β 2-microglobulines a été rapportée chez des patients de réanimation présentant une dysfonction rénale en période postopératoire de chirurgie cardiaque [22]. Deuxièmement, dans une étude plus récente, comprenant 14 malades hospitalisés en unité de soins intensifs et présentant une IRA, une augmentation précoce (un à deux jours après le début de l'agression tubulaire ou glomérulaire) de l' α 1-microglobuline, de l'angiotensinase A et de la protéine de Tamm-Horsfall était observée [23]. Toutefois, dans ces deux études, les auteurs avaient inclus tous les patients présentant une IRA, sans discrimination étiologique, ni différenciation entre IRA fonctionnelle et NTA. De plus, ils concluaient que ces marqueurs avaient une bonne sensibilité et spécificité, mais que leur valeur prédictive était faible, rendant leur utilisation en pratique courante difficile. Dans une étude prospective plus récente portant sur 26 malades admis en réanimation, Westhuyzen et al. ont étudié à l'aide de courbes *receiver operating characteristics* (ROC) l'intérêt de mesurer la présence d'un certain nombre d'enzymes tubulaires dans les urines, isolées ou en association, pour prédire la survenue d'une IRA [24]. Il en ressort que la présence combinée de gammaglutamyl transférase (γ GT) et de la phosphatase alcaline (PAL), dont le dosage urinaire est aisé et peu coûteux, pourrait être particulièrement utile pour prédire les patients à fort risque de développer une IRA (aire sous la courbe [AUC] ROC: 0,938; sensibilité: 100%; spécificité: 85%;

Tableau 1 Les principaux biomarqueurs prédictifs de la survenue de l'insuffisance rénale aiguë en réanimation.

	Références	Nombre de sujets	Sensibilité/spécificité	Prélèvement	Moyen diagnostique
γ GT et PAL	Westhuyzen et al. [24]	26	Sensible et peu spécifique	Urines	Auto-analyseur
NHE3	du Cheyron et al. [26]	68	Spécifique	Urines	Western blot
IL-18	Parikh et al. [34]	138	Spécifique et peu sensible	Urines	Elisa
NGAL	Zappitelli et al. [40] Wheeler et al. [41]	140 143	Précoce++ Sensible et spécifique dans les urines Peu spécifique dans le sang	Urines Sang	Elisa
Cystatine C	Ahlström et al. [50] Villa et al. [47] Herget-Rosenthal et al. [51]	202 50 85	Précoce+ Sensible et spécifique	Sang	Immunonéphélométrie

γ GT : gammaglutamyl transférase ; PAL : phosphatases alcalines ; NHE3 : échangeur sodium/proton isoforme 3 ; IL-18 : interleukine-18 ; NGAL : *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*.

valeurs prédictives négative et positive : 100% et 57%) (Tableau 1).

Les nouveaux biomarqueurs de l'IRA (Tableaux 1 et 2)

La protéine urinaire Na⁺/H⁺ isoforme 3 (NHE3)

NHE3 joue un rôle majeur dans la réabsorption rénale de NaCl, au niveau du tubule proximal. Une augmentation de la natriurèse lors de la NTA, et la notion de *down-régulation* de NHE3 au niveau rénal lors de la NTA ont été démontrées au cours d'études expérimentales. De plus, il a été démontré chez le rat en conditions normales que NHE3 est détectable par Western blot dans les urines, au même titre que d'autres transporteurs de sodium (NKCC2 et NCC) présents normalement le long du néphron [25]. Dans une cohorte de 54 patients admis en unités de soins intensifs avec IRA et de 14 patients témoins sans IRA, la protéine NHE3 urinaire a été quantifiée (et normalisée à la créatinine urinaire) puis comparée à la fraction d'excrétion du sodium, et au *retinol binding protein* (RBP)

qui est connu comme étant associé à l'IRA organique [26]. NHE3 urinaire était en quantité six fois plus importante dans les urines des patients avec NTA en comparaison avec les urines des patients en IRA fonctionnelles. Une discrète augmentation de l'abondance de la protéine NHE3 urinaire était constatée chez ces patients en IRA pré-rénale comparativement aux sujets témoins. L'élévation de NHE3 urinaire était corrélée avec celle de la FeNa. Inversement NHE3 urinaire n'était pas détectée dans les urines des patients témoins ou en IRA d'origine organique autre que la NTA. Ces données suggèrent que NHE3 urinaire pourrait être un excellent marqueur non invasif de NTA. Les principales limites de cette étude sont l'absence de biopsies rénales systématiques pour confirmer le diagnostic de NTA et le petit nombre de patients étudiés. De plus, la technique d'immunoblot utilisée, bien que très spécifique comme le montrent les expériences utilisant le peptide spécifique de NHE3, est trop longue pour être utilisée en pratique courante. Enfin, les sensibilités/spécificités et les valeurs prédictives négatives et positives n'ont pas été étudiées. Le développement de tests plus rapides de type Elisa est nécessaire à l'avenir pour confirmer ces résultats et

Tableau 2 Les principaux biomarqueurs prédictifs de recours à l'épuration extrarénale ou de décès en réanimation.

	Références	Nombre de sujets	Sensibilité/spécificité	Prélèvement	Moyen diagnostique
IL-18	Parikh et al. [34]	138	NR	Urines	Elisa
NGAL	Zappitelli et al. [40]	140	NR	Urines	Elisa
Cystatine C	Ahlström et al. [50] Herget-Rosenthal et al. [51]	202 85	NR Sensible et spécifique	Sang	Immunonéphélométrie

IL-18 : interleukine-18 ; NGAL : *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* ; NR : non reportée.

rendre ce biomarqueur urinaire accessible à la « routine clinique ».

La protéine urinaire *kidney injury molecule-1* (KIM-1)

Ichimura et al. ont récemment cloné une nouvelle molécule appelée KIM-1. KIM-1 est une protéine transmembranaire de type 1 avec un domaine immunoglobuline et un domaine mucine, dont l'expression tissulaire semble fortement augmentée après agression ischémique de rein de rats [27]. La réalisation de biopsies rénales chez six patients souffrant d'IRA d'origine ischémique confirme ces résultats en montrant une forte expression de la protéine KIM-1 dans les cellules tubulaires proximales [28]. Par ailleurs, l'ectodomaine de KIM-1 humaine est détecté à taux élevés dans les urines de patients avec lésions rénales d'origine ischémique, en comparaison avec les urines de patients ayant une IRA d'autre origine ou une insuffisance rénale chronique. Plus récemment, il a été montré que KIM-1 est également un indicateur sensible de lésions tubulaires rénales dans trois autres formes d'IRA chez le rat, induite par des toxiques : le cisplatine, l'acide folique et le S-(1,1,2,2-tétrafluoroéthyl)-l-cystéine (TFEC) [29]. Il faut noter que KIM-1 n'est pas exprimée dans le rein humain en conditions basales, ce qui renforce le fait que KIM-1 est un marqueur spécifique de lésions rénales tissulaires. Par ailleurs, les auteurs ont montré que KIM-1 est détectable précocement dans les urines d'un patient ayant subi un clampage transitoire de l'aorte, responsable de lésions tubulaires rénales modérées, avant même l'apparition des casts dans les urines, puis retourne rapidement au niveau basal. Ces résultats suggèrent que la forme soluble de KIM-1 pourrait être utile comme marqueur précoce de l'IRA d'origine ischémique, avant même que d'autres marqueurs deviennent détectables. C'est ainsi que le dosage de cette protéine urinaire semble plus discriminatif que d'autres marqueurs urinaires tels que la protéinurie totale, la γ GT ou la phosphatase alcaline [28]. Toutefois, Rosen et Heyman [30] ont exprimé récemment des réserves sur les résultats concernant KIM-1, telles que l'absence de marquage de KIM-1 dans la pars recta (segment S3 du tubule proximal), zone connue comme fortement sensible à l'ischémie rénale, la classification par les auteurs de lésions de néphropathie interstitielle ou de néphropathie membraneuse induite par les anti-inflammatoires non stéroïdiens dans les nécroses tubulaires aiguës ou encore le manque de données issues des biopsies de patients avec IRA autre que la NTA.

L'interleukine-18 (IL-18)

L'équipe de Parikh et al. [31] a rapporté dans une étude clinique humaine incluant 72 patients, dans un schéma similaire à celui de l'équipe de Ichimura et al. sur KIM-1 et à celui de l'étude sur NHE3, que l'abondance de l'IL-18 urinaire était plus élevée dans les urines des patients avec NTA et ischémie postgreffe rénale que dans les insuffisances rénales aiguës d'autre origine. Par analyse de courbe ROC, la puissance discriminative de l'IL-18 pour le diagnostic de NTA était excellente, avec une aire sous la courbe ROC de 0,95 et une valeur seuil à 500 pg/ml obtenue par technique Elisa sur le surnageant urinaire (sensibilité : 0,85 ; spécificité : 0,88 ; valeur prédictive positive : 0,75 ; valeur prédictive négative : 0,93). Les auteurs soulignent l'intérêt

clinique de ce marqueur car il s'agit d'un test sensible, reproductible et peu coûteux. Toutefois, il faut noter que l'IL-18 urinaire n'a pas été comparée avec un autre marqueur validé tel que la *retinol binding protein* (RBP) et surtout que les auteurs n'ont pas pratiqué de biopsies rénales au cours de leur étude, or la validité d'un nouveau test ne peut s'évaluer qu'en comparaison avec les lésions rénales microscopiques et donc avec les résultats de biopsies. Ces limites de l'étude tempéraient les résultats. La même équipe a présenté en 2005 les résultats d'une étude cas-témoin (52 patients avec survenue d'une IRA et 86 patients sans IRA) basée sur la population de la grande étude multicentrique américaine de l'ARDS Network comparant différentes stratégies ventilatoires dans le traitement du syndrome de détresse respiratoire aiguë de l'adulte [32,33]. Dans leur étude où l'IRA est définie comme une ascension de plus de 50% de la créatininémie par rapport à la valeur de base, Parikh et al. ont identifié une augmentation de l'IL-18, mesurée par technique Elisa, comme prédicteur indépendant de survenue d'une IRA dans les 24–48 heures, après ajustement sur les données démographiques, le score APACHE III de sévérité de la maladie, l'existence d'un sepsis et les valeurs de créatinine sériques et de la diurèse des 24 heures le jour précédant le diagnostic d'IRA [34]. Une valeur seuil de 100 pg/ml de l'IL-18 urinaire était associée avec une augmentation du risque de survenue de l'IRA dans les 48 heures suivantes (*odds ratio* : 6,5 ; intervalle de confiance 95% : 2,1–20,4 ; $p=0,0009$). Cette valeur seuil, obtenue par analyse de courbe ROC, a une bonne valeur discriminative avec une aire sous la courbe de 0,731. De plus, les auteurs identifiaient une différence significative en analyse univariée des valeurs de l'IL-18 urinaire le jour de l'inclusion entre patients survivants et patients décédés. Une analyse multivariée à la recherche de facteurs indépendants de mortalité identifiait la concentration de l'IL-18 urinaire à j0 comme facteur indépendant associé à la mortalité. Les auteurs concluaient que l'IL-18 urinaire est un marqueur précoce de la survenue d'une IRA, et un prédicteur de mortalité chez les patients qui présentent un syndrome de détresse respiratoire aiguë. Toutefois, les résultats des études précitées sont issus des travaux d'une seule équipe et il semble que la reproductibilité inter-équipe soit difficile comme le montrent les résultats négatifs de l'étude de Haase et al. qui ont montré que la présence d'IL-18 dans les urines était un témoin de l'inflammation systémique faisant suite à une chirurgie cardiaque mais n'était pas un marqueur prédictif de survenue d'IRA dans ce contexte [35].

La *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL)

Un dernier marqueur urinaire de l'IRA a été décrit en 2005 par Mishra et al. sur des enfants ayant bénéficié de chirurgie cardiaque : la NGAL [36]. La stratégie « pas-à-pas » d'investigation de cette équipe mérite que l'on s'y attarde. En effet, par une technique d'analyse génomique sur des cellules rénales de modèles animaux, les auteurs ont montré une expression stimulée précocement d'un certain nombre de gènes codant pour des protéines après induction expérimentale d'une ischémie-reperfusion rénale. Le gène le plus exprimé après ischémie était alors le gène *LCN2* qui code pour la NGAL [37]. La NGAL est une protéine humaine de bas poids moléculaire (25 kDa) liée à la gélatinase des polynucléaires neutrophiles [38]. Elle est naturellement exprimée

à faible concentration dans les tissus tels que le rein, la trachée et les poumons, l'estomac et le colon. Son expression tissulaire est stimulée par les lésions épithéliales, ainsi sa concentration est augmentée dans le serum en cas d'infection bactérienne ou dans les sécrétions bronchiques en cas d'asthme ou de bronchopneumopathies chroniques obstructives. Dans le rein, elle est surexprimée dans le tubule rénal après agression ischémique et colocalisée dans les cellules épithéliales proliférantes [39]. Ces données suggéraient que la NGAL pouvait être une protéine favorisant la régénération épithéliale. Secondairement, la même équipe a démontré sur des échantillons d'urines de rats et de souris que la NGAL était facilement détectable dans les urines par Western blot et technique Elisa après ischémie expérimentale par clampage aortique [39]. Enfin, cette équipe a montré, sur 71 enfants subissant une chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle, que la concentration de NGAL urinaire et sérique pouvait être un biomarqueur précoce, sensible et spécifique prédictif de la survenue d'une IRA [36]. L'IRA était définie comme une ascension de la créatinine sérique de plus de 50 % par rapport à la créatininémie de base. Pour les techniques de Western blot et d'Elisa, une NGAL humaine recombinante a été utilisée comme standard. Cette NGAL humaine recombinante est produite par amplification par PCR de la région codante *LCN2* moins la séquence leader et le codon stop à partir d'un ADN complémentaire *LCN2*. Puis, les produits de PCR ont été clonés dans le système vecteur d'expression pGEX-4T-3, puis exprimés comme protéine de fusion avec la glutathion S-transférase dans des bactéries et enfin purifiés par affinité avec des billes de sépharose. Pour les western blots, un anticorps polyclonal purifié de chèvre, dirigé contre la NGAL humaine, a été utilisé, alors une technique « sandwich » a été utilisée avec un anticorps monoclonal de souris anti-NGAL humain pour les Elisa. Le principal résultat était que le dosage urinaire de NGAL était fortement modifié chez les sujets développant une IRA, sans chevauchement dans les valeurs mesurées chez les enfants développant une IRA et les enfants ne développant pas une IRA. Une valeur seuil de 50 µg/L de NGAL urinaire, deux heures après la chirurgie, était définie par analyse de courbe ROC avec une sensibilité de 98 %, une spécificité de 100 % et une aire sous la courbe de 0,998 témoignant d'un excellent pouvoir discriminant. Enfin, par analyse multivariée, la concentration urinaire de NGAL, deux heures après la circulation extracorporelle, était le prédicteur indépendant le plus puissant de la survenue d'une IRA. Depuis ces études princeps, de nombreuses études ont montré que la NGAL sérique et/ou urinaire pouvait être un bon marqueur urinaire pour prédire la survenue et la sévérité d'une IRA chez l'enfant :

- admis en unité de soins intensifs quel qu'en soit la cause [40] ;
- présentant un choc septique [41] ;
- après chirurgie cardiaque ;
- présentant un lupus érythémateux disséminé [42].

Il faut alors noter que la NGAL urinaire est prédictive dans le dernier cas de la survenue de la néphropathie interstitielle lupique et qu'elle n'est donc pas spécifique de la NTA ! Des données similaires existent dorénavant chez l'adulte :

- après chirurgie cardiaque [43,44] ;
- dans une population générale [45] ;
- après injection de produit de contraste iodé pour angiographie percutanée [46].

La cystatine C

En plus des biomarqueurs urinaires de l'IRA précédemment cités, une autre protéine a été testée comme marqueur de dysfonction rénale aiguë chez l'adulte hospitalisé en unités de soins intensifs : la cystatine C sérique [47]. La cystatine C est une protéine non glycosylée, de bas poids moléculaire (13,3 kDa), qui appartient à la famille des inhibiteurs de la protéase de la cystéine. Ces protéines jouent un rôle important dans la régulation des lésions protéolytiques induites par les protéases de la cystéine. La cystatine C est produite à taux constant par les cellules nucléées, avec des concentrations élevées dans certains liquides tels que le liquide synovial, le liquide sérial et le liquide céphalo-rachidien [48]. Elle est entièrement éliminée par le rein. Ainsi, de par son bas poids moléculaire et sa synthèse endogène constante, sa concentration sérique est le reflet de la filtration glomérulaire [49]. Dans leur étude incluant 50 patients de soins intensifs, Villa et al. ont montré que la cystatine C sérique mesurée par immunophérométrie apparaît comme un marqueur très sensible aux variations du taux de filtration glomérulaire, avec un pouvoir discriminant qui pourrait être supérieur à celui de la créatininémie, comme le montre la comparaison des aires sous la courbe ROC pour les deux paramètres biochimiques (AUC : 0,927 ; intervalle de confiance 95 % : 0,861–0,994 pour la cystatine C versus AUC : 0,694 ; intervalle de confiance 95 % : 0,541–0,846 pour la créatinine). Le rapport 1/cystatine C sérique avait une meilleure corrélation avec les variations de la clairance de la créatinine que le rapport 1/créatinine. D'un point de vue plus clinique, parmi les 25 patients qui développaient une IRA, seulement 20 % avaient une élévation de la créatinine sérique, alors que la cystatine C sérique augmentait significativement dans 76 % des cas. D'autres études ont confirmé ces résultats sur des populations de patients admis en réanimation en montrant que la cystatine C sérique augmentait chez les patients qui développaient une IRA un à deux jours avant la créatinine [50,51]. Ces résultats qui renforcent les données issues d'expériences animales doivent maintenant être confirmés par une grande étude clinique avant que le dosage de la cystatine C sérique devienne routinier en pratique clinique.

Conclusion

Même s'il est difficile de réaliser des études expérimentales in vivo chez l'homme, avec de larges effectifs et des biopsies itératives, permettant de conclure à une spécificité/sensibilité maximale du nouveau marqueur testé, comme le disent Rosen et Heyman [30,52] et Rabb [53,54], tous ces travaux réalisés chez l'homme laissent entrevoir des perspectives intéressantes, dans un avenir proche, dans le développement de tests non invasifs de diagnostic de l'IRA. Toutefois, aucun de ces marqueurs ne peut être proposé pour une utilisation routinière en pratique clinique à ce jour et des études complémentaires sont nécessaires pour valider ces nouveaux biomarqueurs.

Plus que la présence dans le sang et/ou les urines d'un seul biomarqueur, il semble que la recherche de la présence dans les urines de plusieurs marqueurs augmentent la sensibilité des tests pour prédire la survenue d'une IRA et sa sévérité, comme cela a été démontré par Westhuyzen et al. avec l'association de γ GT et PAL [24], ou plus récemment par Parikh et al. qui ont montré que la présence combinée de NGAL et d'IL-18 dans les urines avait une excellente valeur prédictive et pronostique de l'IRA après chirurgie cardiaque [55] ou après transplantation rénale [56].

Conflit d'intérêt

Aucun.

Références

- [1] Liano F, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int* 1996;50:811–8.
- [2] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;130:461–70.
- [3] Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31–41.
- [4] Sheridan AM, Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000;9:427–34.
- [5] Kohli MM, Ganguly NK, Kaur S, Sharma VK. Urinary excretion of renal brush border membrane enzymes in leprosy patients: effect of multidrug therapy. *Experientia* 1996;52:127–30.
- [6] Zuppi C, Baroni S, Scribano D, Di Salvo S, Musumeci V. Choice of time for urine collection for detecting early kidney abnormalities in hypertensives. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 4): 373–8.
- [7] Komatsuda A, Wakuil H, Imai H, Itoh H, Yasuda T, Miura AB. Expression of 90 kDa heat shock protein within regenerative tubular cells in a patient with acute oliguric renal failure due to malignant hypertension. *Ren Fail* 1999;21:113–7.
- [8] Mutti A, Lucertini S, Valcavi P, Neri TM, Fornari M, Alinovi R, et al. Urinary excretion of brush-border antigen revealed by monoclonal antibody: early indicator of toxic nephropathy. *Lancet* 1985;2:914–7.
- [9] Gatta A, Bazzlerla G, Amodio P, Menon F, Angeli P, Schiaffino E, et al. Detection of the early steps of cadmium nephropathy: comparison of light- and electron-microscopical patterns with the urinary enzymes excretion. An experimental study. *Nephron* 1989;51:20–4.
- [10] Pless-Mulloli T, Boettcher M, Steiner M, Berger J. alpha-1-Microglobulin: epidemiological indicator for tubular dysfunction induced by cadmium? *Occup Environ Med* 1998;55:440–5.
- [11] Zimmerhackl LB, Pflaiderer S, Kinne R, Manz F, Schuler G, Brandis M. Tamm-Horsfall protein excretion as a marker of ascending limb transport indicates early renal tubular damage in diabetes mellitus type I. *J Diabet Complications* 1991;5:112–4.
- [12] Chen JY, Lee YL, Liu CB. Urinary beta 2-microglobulin and N-acetyl-beta-d-glucosaminidase (NAG) as early markers of renal tubular dysfunction in sick neonates. *J Formos Med Assoc* 1991;90:132–7.
- [13] Duan SB, Wu HW, Luo JA, Liu FY. Assessment of renal function in the early stages of nephrotoxicity induced by iodinated contrast media. *Nephron* 1999;83:122–5.
- [14] Macpherson NA, Moscarello MA, Goldberg DM. Aminoaciduria is an earlier index of renal tubular damage than conventional renal disease markers in the gentamicin-rat model of acute renal failure. *Clin Invest Med* 1991;14:101–10.
- [15] Whiting PH, Brown PA. The relationship between enzymuria and kidney enzyme activities in experimental gentamicin nephrotoxicity. *Ren Fail* 1996;18:899–909.
- [16] Flandrois C, Flandrois JP, Coullioud D, Maire I. Value of enzymuria during antibacterial therapy. *Pathol Biol (Paris)* 1989;37:657–63.
- [17] Fauconneau B, Favreliere S, Pariat C, Genevriev A, Courtois P, Piriou A, et al. Nephrotoxicity of gentamicin and vancomycin given alone and in combination as determined by enzymuria and cortical antibiotic levels in rats. *Ren Fail* 1997;19:15–22.
- [18] Koo J, Tight R, Rajkumar V, Hawa Z. Comparison of once-daily versus pharmacokinetic dosing of aminoglycosides in elderly patients. *Am J Med* 1996;101:177–83.
- [19] Matteucci E, Carmellini M, Bertoni C, Boldrini E, Mosca F, Giampietro O. Urinary excretion rates of multiple renal indicators after kidney transplantation: clinical significance for early graft outcome. *Ren Fail* 1998;20:325–30.
- [20] Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med* 2001;344:947–54.
- [21] Kwon O, Molitoris BA, Pescovitz M, Kelly KJ. Urinary actin, interleukin-6, and interleukin-8 may predict sustained ARF after ischemic injury in renal allografts. *Am J Kidney Dis* 2003;41:1074–87.
- [22] Dehne MG, Boldt J, Heise D, Sablotzki A, Hempelmann G. Tamm-Horsfall protein, alpha-1- and beta-2-microglobulin as kidney function markers in heart surgery. *Anaesthesist* 1995;44:545–51.
- [23] Dehne MG, Sablotzki A, Muhling J, Papke G, Kuntzsch U, Hempelmann G. Acute kidney failure. Non-invasive diagnosis of acute kidney failure in operative intensive care patients. *Anaesthesist* 1998;47:193–201.
- [24] Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:543–51.
- [25] McKee JA, Kumar S, Ecelbarger CA, Fernandez-Llama P, Terris J, Knepper MA. Detection of Na(+) transporter proteins in urine. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:2128–32.
- [26] du Cheyron D, Daubin C, Poggioli J, Ramakers M, Houillier P, Charbonneau P, et al. Urinary measurement of Na+/H+ exchanger isoform 3 (NHE3) protein as new marker of tubule injury in critically ill patients with ARF. *Am J Kidney Dis* 2003;42:497–506.
- [27] Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem* 1998;273:4135–42.
- [28] 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;62:237–44.
- [29] 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:F552–563.
- [30] Rosen S, Heyman S. Concerns about KIM-1 as a urinary biomarker for acute tubular necrosis (ATN). *Kidney Int* 2003;63:1955.
- [31] Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *Am J Kidney Dis* 2004;43:405–14.
- [32] TheARDSNetwork. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and

- the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 2000;342:1301–8.
- [33] The ARDS Network. Ketoconazole for early treatment of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. The ARDS Network. *JAMA* 2000;283:1995–2002.
- [34] Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3046–52.
- [35] Haase M, Bellomo R, Story D, Davenport P, Haase-Fielitz A. Urinary interleukin-18 does not predict acute kidney injury after adult cardiac surgery: a prospective observational cohort study. *Crit Care* 2008;12:R96.
- [36] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231–8.
- [37] Supavekin S, Zhang W, Kuchelapati R, Kaskel FJ, Moore LC, Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2003;63:1714–24.
- [38] Kjeldsen L, Cowland JB, Borregaard N. Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin and homologous proteins in rat and mouse. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482:272–83.
- [39] Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2534–43.
- [40] Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA, Loftis L, Ma Q, Devarajan P, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care* 2007;11:R84.
- [41] Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, Harmon K, Monaco M, Cvijanovich N, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med* 2008;36:1297–303.
- [42] Brunner HI, Mueller M, Rutherford C, Passo MH, Witte D, Grom A, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:2577–84.
- [43] Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes MM, Barasch J, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care* 2007;11:R127.
- [44] Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery. *Am J Kidney Dis* 2008;52:425–33.
- [45] Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med* 2008;148:810–9.
- [46] Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko JS, Dobrzycki S. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) correlations with cystatin C, serum creatinine and eGFR in patients with normal serum creatinine undergoing coronary angiography. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:295–6.
- [47] Villa P, Jimenez M, Soriano MC, Manzanares J, Casanovas P. Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care* 2005;9:R139–143.
- [48] Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvback M, Lundwall A, Jensson O, et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990;268:287–94.
- [49] Nilsson-Ehle P, Grubb A. New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int Suppl* 1994;47:S17–19.
- [50] Ahlstrom A, Tallgren M, Peltonen S, Pettila V. Evolution and predictive power of serum cystatin C in acute renal failure. *Clin Nephrol* 2004;62:344–50.
- [51] Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 2004;66:1115–22.
- [52] Rosen S, Heyman SN. Difficulties in understanding human "acute tubular necrosis": limited data and flawed animal models. *Kidney Int* 2001;60:1220–4.
- [53] Rabb H. Novel urinary markers for early diagnosis of ARF. *Am J Kidney Dis* 2003;42:599–600.
- [54] Rabb H. Evaluation of urinary markers in acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998;7:681–5.
- [55] Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C, et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2006;70:199–203.
- [56] Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006;6:1639–45.