



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

ΛΑΖΑΡΙΔΟΥ ΔΗΜΗΤΡΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ:

**«Οξεία νεφροτοξικότητα από χρήση σκιαγραφικών: ο
ρόλος του οξειδωτικού στρες»**



Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Τσιτσιμπίκου Χριστίνα

ΛΑΡΙΣΑ 2017

Τριμελής Επιτροπή:

- 1) **Τσιτσιμπίκου Χριστίνα**, MSc, PhD, ERT, Χημικός στο Γενικό Χημείο του Κράτους, Επιτροπή Αξιολόγησης Κινδύνου (ECHA).
- 2) **Τσαρούχας Κωνσταντίνος**, MD, MSc, PhD, ERT, Καρδιολόγος, Επιμελητής Α΄ Ε.Σ.Υ., Καρδιολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.
- 3) **Δημήτριος Κουρέτας**: Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών - Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ευχαριστίες

Η μελέτη διεξήχθη στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Ειδίκευσης στην Τοξικολογία του τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη της κυρίας Τσιτσιμπίκου Χριστίνας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα την κυρία Τσιτσιμπίκου για τη συμβολή της, τη βοήθεια της και την κατανόηση της καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Χωρίς τις πολύτιμες συμβουλές και την αμέριστη συμπαράστασή της, δεν θα κατάφερα να φέρω εις πέρας την εργασία αυτή και την περάτωση του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τον κύριο Τσαρούχα για τις σημαντικές υποδείξεις του ως προς σημαντικά σημεία της μελέτης και ειδικότερα για τη βοήθεια του στο θεωρητικό μέρος, καθώς και τον καθηγητή κ. Κουρέτα που με φιλοξένησε στο εργαστήριο του για τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κουρέτα για την επιμονή του να κατανοήσω την τόσο σημαντική έννοια του οξειδωτικού στρες στον ανθρώπινο οργανισμό.

Τέλος, θα ήταν παράλειψή μου να μην ευχαριστήσω θερμά τη συνοδοιπόρο μου σε αυτή την μελέτη την Χρυσούλα Παπαντώνη για την άριστη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων και των παρουσιάσεων, και την Θάλεια Κερασιώτη για την πολύτιμη βοήθεια της.

Δήμητρα Λαζαρίδου,

Σεπτέμβριος 2017.

Περίληψη

Η οξεία νεφροτοξικότητα από χρήση σκιαγραφικών (CIN) θεωρείται η τρίτη αιτία νεφρικής βλάβης στα ενδονοσοκομειακά νοσήματα. Η οδός χορήγησης του σκιαγραφικού, καθώς και το οξειδωτικό στρες (δημιουργία ελευθέρων ριζών), φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της CIN.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διευκρίνιση του ρόλου του οξειδωτικού στρες στην CIN, καθώς και ο ρόλος της οδού χορήγησης του σκιαγραφικού μέσου (CM). Στη μελέτη συμμετείχαν 17 νεφρολογικά υγιείς ασθενείς, στους οποίους χορηγήθηκε ενδοφλέβια σκιαγραφικό μέσο πριν υποβληθούν σε αξονική τομογραφία. Αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν τη χορήγηση του σκιαγραφικού, 1-2 ώρες μετά και 12-24 ώρες μετά. Για την αξιολόγηση της νεφρικής λειτουργίας μετρήθηκαν οι δείκτες ουρία και κρεατινίνη. Για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες μετρήθηκαν οι δείκτες ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), πρωτεϊνικά καρβονύλια, ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), TBARS και καταλάση.

Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή σε κάποιον από τους δείκτες του οξειδωτικού στρες ή της νεφρικής λειτουργίας. Παρατηρήθηκε ότι η ενδοφλέβια χορήγηση σκιαγραφικού μέσου δεν συμβάλει στην ανάπτυξη CIN και δεν επηρεάζει σημαντικά τους δείκτες του οξειδωτικού στρες, με αποτέλεσμα να μη δημιουργείται οξειδωτικό στρες.

Λέξεις κλειδιά: CIN, σκιαγραφικό μέσο, οξειδωτικό στρες

Ευχαριστίες.....	2
Περίληψη	3
1. Εισαγωγή.....	5
1.1 Ορισμός της CIN.....	9
1.2 Συχνότητα εμφάνισης της CIN	10
1.3 Παθοφυσιολογία της CIN	13
1.4 Παράγοντες κινδύνου στην CIN	18
1.5 Στρατηγικές πρόληψης της CIN.....	22
1.5.1 Fluid therapy	22
1.5.2 Αντιοξειδωτικά	26
1.6 Σκοπός.....	40
2. Υλικά και Μέθοδοι	40
2.1 Επεξεργασία Αίματος	41
2.2 Προσδιορισμός Δεικτών Οξειδωτικού Στρες.....	42
2.3 Μέθοδοι.....	43
2.3.1 Προσδιορισμός των επιπέδων της GSH στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα.....	43
2.3.2 Δραστικότητα της Καταλάσης.....	46
2.3.3 Ολική Αντιοξειδωτική ικανότητα (Total Antioxidant Capacity, TAC).....	49
2.3.4 Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS)	53
2.3.5 Πρωτεϊνικά καρβονύλια.....	55
3.1 Αποτελέσματα	59
3.1.1 Αξιολόγηση νεφρικής λειτουργίας.....	59
3.1.2 Αξιολόγηση των δεικτών του οξειδωτικού στρες	60
3.2 Συζήτηση	64

1. Εισαγωγή

Η νεφροπάθεια που προκαλείται από σκιαγραφικό μέσο είναι μια αναστρέψιμη οξεία νεφρική ανεπάρκεια, η οποία προκαλείται ύστερα από την χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου κατά τη διάρκεια μιας ιατρικής διαδικασίας όπως είναι η αγγειογραφία ή η αξονική τομογραφία, και ορίζεται ως η εμφάνιση οξείας νεφρικής ανεπάρκειας ύστερα από 2 έως 7 ημέρες μετά την χορήγηση ιωδιούχου σκιαγραφικού μέσου (McCullough PA et al.). Η αναμενόμενη αύξηση της κρεατινίνης ορού (sCr) εμφανίζεται γενικά εντός 48 ωρών μετά την έκθεση στο CM, φθάνοντας σε μέγιστη τιμή εντός των επόμενων 5 ημερών. Η αυξημένη νοσηρότητα, η παραμονή στο νοσοκομείο και η θνησιμότητα σχετίζονται συχνά με την CIN (Golshahi, Nasri, & Gharipour, 2014, Rewa & Bagshaw, 2014). Η CIN έχει σημαντική επικράτηση που φτάνει το 15% σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (βλ. Παρακάτω, Τμήμα 6. Παράγοντες κινδύνου CIN), ενώ στους συνηθισμένους ασθενείς η συχνότητα εμφάνισης δεν υπερβαίνει το 1% (Rancic, 2016).

Τα CM είναι μη-επαναπορροφούμενες διαλυμένες ουσίες υψηλής, χαμηλής ή ισοομοριακής οσμωτικότητας, οι οποίες δρουν ως οσμωτικά διουρητικά, μειώνοντας την επαναπορρόφηση ηλεκτρολυτών κατά μήκος του νεφρώματος και προκαλώντας έτσι αύξηση της παραγωγής ούρων (Solomon, 2014). Το ιωδιούχο CM μπορεί να είναι ιοντικό ή μη ιοντικό, ανάλογα με τη διαλυτότητα του στο νερό. Η πρώτη γενιά CM έχει πραγματικά υψηλές οσμωτικότητες (περίπου 1000-2500 mOsm / kg) σε σύγκριση με το πλάσμα (290 mOsm / kg), λόγω του γεγονότος ότι η οσμωτικότητα, η μοριακή συγκέντρωση και ιοντική ισχύς είναι ευθέως ανάλογες ποσότητες (Pannu, Wiebe, Tonelli & Alberta Kidney Disease, 2006). Η δεύτερη γενιά CM χαρακτηρίστηκε κυρίως από μικρότερη οσμωτικότητα διαλύματος περίπου 400-800 mOsm / kg, μέσω σχηματισμού ιοντικών διμερών (ioxaglate) ή μη ιοντικών μονομερών (iopromide,

ioramidol, iohexol, ioversol) (Pannu et al., 2006) . Το τελικό βήμα στην εξέλιξη ήταν η ανάπτυξη ισοοσμωτικού CM, όπως η ιωδιζανόλη και η ιωτρόλη, τα οποία είναι μη ιονικές διμερείς ενώσεις. Τα καθαρά χαμηλά οσμωτικά διαλύματα CM είναι στην πραγματικότητα υποοσμωτικά. Επομένως, για να φθάσουν στην οσμωτικότητα του πλάσματος προστίθενται ηλεκτρολύτες (Jost et al., 2011).

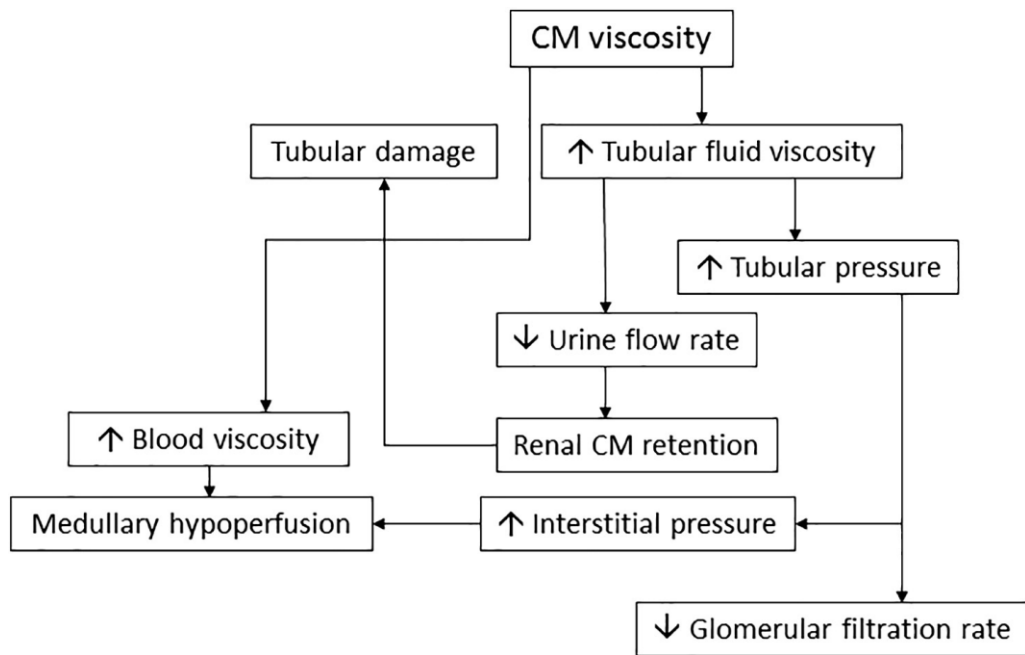
Οι οσμωτικές ιδιότητες του CM θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε πολυάριθμες αιμοδυναμικές αλλοιώσεις, συμπεριλαμβανομένης της αγγειοδιαστολής, αύξησης του όγκου του κυκλοφορικού αίματος και της ροής του περιφερικού αίματος, και μειώσεις στη συστηματική αντίσταση (υπόταση) (McClennan, 1990). Τα αποτελέσματα αιμοδιάλυσης προκύπτουν από μετατοπίσεις ύδατος στο αίμα που συμβάλλουν σε ορισμένες από τις αιμοδυναμικές διαταραχές που σχετίζονται με τη χορήγηση υψηλής οσμωτικότητας CM. Οι αλλαγές των ερυθρών αιμοσφαιρίων (καύση και ακαμψία) και η ενδοθηλιακή βλάβη απευθείας στο σημείο της ένεσης, συνοδευόμενη από την απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών, όπως η σεροτονίνη, η ισταμίνη, οι προσταγλανδίνες, οι φρινολυσίνες, οι καλλικρεΐνες, τα λευκοτριένια, η βραδυκινίνη κλπ., μπορεί να οδηγήσουν σε αιμοδυναμικά τροποποιημένη μικροκυκλοφορία ή άλλες φυσιολογικές αλλαγές που μπορεί να προκαλέσουν παρενέργειες. Ορισμένες αιμοδυναμικές επιδράσεις μπορεί να σχετίζονται με την ωσμωτικότητα και σε μικρότερο βαθμό με τις χημειοτοξικές ιδιότητες του CM. Αυτά περιλαμβάνουν αρνητικές ινοτροπικές επιδράσεις και μείωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου μετά από ενδοκαρδιακές ενέσεις. Μειωμένη καρδιακή παροχή και αυξημένη πνευμονική αρτηριακή πίεση μπορεί να συμβεί μαζί με τις αλλαγές όγκου πλάσματος που σημειώθηκαν προηγουμένως. Οι επιδράσεις στο σύστημα καρδιακής αγωγιμότητας μπορεί να προκαλέσουν μη φυσιολογικά πρότυπα

ηλεκτροκαρδιογραφήματος, μερικά από τα οποία μπορεί να είναι κλινικά σημαντικά ανάλογα με την υποκείμενη καρδιαγγειακή κατάσταση.

Η μείωση της οσμωτικότητας στα μοντέρνα CM βελτίωσε το προφίλ ασφαλείας τους (Caiazza, Russo, Sabbatini, & Russo, 2014) εις βάρος του αυξημένου ιξώδους (Jost et al., 2011). Το ιξώδες εξαρτάται έντονα από τη συγκέντρωση ιωδίου στο διάλυμα, αυξάνοντας εκθετικά (Seeliger et al., 2007) και επηρεάζει έντονα τις νεφρικές παρενέργειες. Το CM με υψηλότερο ιξώδες αυξάνει το ιξώδες των ούρων οδηγώντας σε υψηλότερη σωληνωτή πίεση που προκαλεί χαμηλή ταχύτητα ροής ούρων και κάθαρση, γεγονός που με τη σειρά του παρατείνει τη βιοδιαθεσιμότητα, οδηγώντας σε πιο έντονο σωληνωτό τραυματισμό (Seeliger et al., 2010, Ueda, Nygren, Hansell & Ulfendahl, 1993). Η υψηλή οσμωτικότητα μπορεί στην πράξη να μειώσει την έκθεση μέσω οσμωτικής διούρησης και *in vitro* αραίωσης (Lenhard et al., 2012). Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι κατά τη διάρκεια της χορήγησης ισοοσμωτικού CM υψηλού ιξώδους λείπει η οσμωτική διούρηση και ο χρόνος παραμονής του CM στους σωληνίσκους των ούρων και συνεπώς η βιοδιαθεσιμότητά του είναι υψηλότερη (Jost, Pietsch, Lengsfeld, Hutter, & Sieber, 2010)

Για να μετριαστεί αυτή η επίδραση, η τρέχουσα πρακτική επιβάλλει α) σωστή επιλογή του παράγοντα, β) θέρμανση του χαμηλοοσμωτικού / ισοοσμωτικού CM πριν από τη χρήση επειδή το ιξώδες είναι αντιστρόφως ανάλογο με τη θερμοκρασία και γ) επιθετική ενυδάτωση κοντά στον χρόνο έκθεσης για την αραίωση των παραγόντων και του ιξώδους τους (Dorval et al., 2013). Τα περισσότερα ιατρικά κέντρα δεν χρησιμοποιούν πλέον ενδοαγγειακά, CM με υψηλή οσμωτικότητα ώστε να αποφευχθούν διάφορες αρνητικές επιπτώσεις που συνδέονται με τη χρήση τους (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Μία μετα-ανάλυση έδειξε ότι σε ασθενείς με υποκείμενη νεφρική ανεπάρκεια, η νεφροτοξικότητα του CM με χαμηλή

οσμωτικότητα είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με τα υψηλής οσμωτικότητας CM (Barrett & Carlisle, 1993). Δεν είναι ακόμη σαφές κατά πόσο η ενδοφλέβια χαμηλής οσμωτικότητας ή ισοοσμωτικό CM (ιωδιζανόλη) είναι λιγότερο επιζήμια όσον αφορά την CIN (Dong, Jiao, Liu, Guo, & Li, 2012, McCullough & Brown, 2011). Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τους Καρδιο-θωρακικής χειρουργικούς (Authors/Task Forcemembers, 2014), για ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή χρόνια νεφρική νόσο που υποβάλλονται σε στεφανιαία αγγειογραφία ή αξονική τομογραφία πολλαπλών ανιχνευτών, ο όγκος του CM θα πρέπει να ελαχιστοποιείται και η ισοοσμωτικότητα θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε ουσίες με χαμηλή οσμωτικότητα στη συνιστώμενη δόση και για τα δύο $<350\text{mL}$ ή $<4\text{mL} / \text{kg}$ ή συνολικός όγκος CM / ρυθμός πειραματικής διήθησης (GFR) <3.4 . Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Αμερικανικής Ακαδημίας Ακτινολογίας (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016), η εξωγενής θέρμανση της θερμοκρασίας του ανθρώπινου σώματος (37°C) του ιωδιούχου CM μπορεί να ελαχιστοποιήσει τις επιπλοκές και να βελτιώσει την αγγειακή αδιαφάνεια σε ορισμένες εφαρμογές, ($>5\text{ mL/s}$) ενδοφλέβιες ενέσεις χαμηλής οσμωτικής ισχύος CM, ενέσεις με ιζώδεις ιωδιούχοι παράγοντες (π.χ., iopamidol 370) και άμεσες αρτηριακές ενέσεις με τη χρήση μικρών καθετήρων ($\leq 5\text{ Fr}$). Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Αμερικανικής Ακαδημίας Ακτινολογίας και της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας / Ευρωπαϊκής Ένωσης για τις Καρδιο-θωρακική χειρουργική, η ενδοφλέβια επέκταση όγκου με ισοτονικά υγρά πριν από την εφαρμογή του CM θα μπορούσε να αποτρέψει τον κίνδυνο CIN (βλ. Παρακάτω) (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016; Authors/Task Force members, 2014).



Εικόνα 1. Απλοποιημένο σχήμα που απεικονίζει τον βασικό μηχανισμό της βλάβης που προκαλείται από ιζώδες CM (Seeliger et al., 2012).

1.1 Ορισμός της CIN

Η CIN περιγράφει μια ξαφνική επιδείνωση της λειτουργίας των νεφρών που εμφανίζεται εντός 48 ωρών μετά από ενδοαγγειακή χορήγηση ιωδιούχου CM, η οποία οφείλεται στο CM. Από την άλλη πλευρά, μετά-σκιαγραφικού οξεία νεφρική βλάβη (AKI) περιγράφει μια ξαφνική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας που εμφανίζεται εντός 48 ωρών μετά από ενδοαγγειακή χορήγηση ιωδιούχου CM ανεξάρτητα από την αιτία (Baumgarten & Ellis, 2008, Davenport, Cohan, Khalatbari & Ellis, 2014, Davenport et al., 2013, Katzberg & Newhouse, 2010, McDonald et al., 2013, 2014, Newhouse & RoyChoudhury, 2013). Ως εκ τούτου, το CIN αποτελεί αιτιολογική διάγνωση, ενώ το μετά-σκιαγραφικού AKI είναι μια συσχετιστική διάγνωση και οι δύο όροι δεν είναι ούτε συνώνυμοι ούτε εναλλάξιμοι (ACR Committee on Drugs and ContrastMedia, 2016). Συνεπώς, το CIN είναι μια υποομάδα του μετά-σκιαγραφικού

AKI, αλλά μερικές μελέτες θα μπορούσαν να επιτρέψουν τη διαφοροποίηση του κυρίως λόγω της επιλογής ομάδας ελέγχου (Baumgarten & Ellis, 2008, Davenport et al., 2013, 2014, Katzberg & Newhouse, 2010, McDonald et al. , 2014, Newhouse & RoyChoudhury, 2013). Ως αποτέλεσμα, η συχνότητα εμφάνισης περιπτώσεων που αναφέρθηκαν σε κλινικές μελέτες και παρατηρήθηκε στην κλινική πρακτική πιθανώς συνδυάζει CIN (δηλ. AKI που προκαλείται από χορήγηση CM) και άλλες περιπτώσεις AKI που δεν προκαλείται από τη χορήγηση CM.

1.2 Συχνότητα εμφάνισης της CIN

Η CIN γενικά θεωρείται αναστρέψιμη μορφή οξείας νεφρικής ανεπάρκειας που αρχίζει αμέσως μετά την χορήγηση ιωδιούχου σκιαγραφικού μέσου (CM) κατά τη διάρκεια αγγειογραφιών ή άλλων διαδικασιών όπως η ουρογραφία και αναγνωρίζεται ως αύξηση του επιπέδου sCr που εμφανίζεται γενικά στις πρώτες 48 ώρες μετά την έκθεση στον CM και φθάνει στην κορυφή μέσα στις επόμενες 5 ημέρες (Wi et al., 2011). Η CIN σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα, νοσηλεία και θνησιμότητα (Golshahi et al., 2014, Rewa & Bagshaw, 2014). Δεν υπάρχουν τυποποιημένα κριτήρια για την CIN ή μετά από σκιαγραφικό AKI διάγνωση. Στο παρελθόν η sCr έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως, είτε ως αύξηση κατά 25% έως 50% των επιπέδων sCr από την μέρα χορήγησης του σκιαγραφικού και / ή σε απόλυτη αύξηση από 0,5 έως 2,0 mg / dL από την αρχική τιμή (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Ωστόσο, η sCr δεν είναι ένας βιοδείκτης σε πραγματικό χρόνο για τη μεταβολή της νεφρικής λειτουργίας. Τα επίπεδα της αυξάνονται αργά, σε σχέση με την πτώση λειτουργίας της διήθησης στο νεφρό σε ασθενείς με νεφροπάθεια που προκαλείται από το σκιαγραφικό, καθυστερώντας έτσι τη διάγνωση κατά μέσο όρο 48-72 ώρες. Οι μεταβολές της συγκέντρωσης sCr δεν είναι ευαίσθητες ή συγκεκριμένες για μικρές

μεταβολές στο GFR (Sterling, Tehrani, & Rudnick, 2008). Η μείωση της λειτουργίας των νεφρών συμβαίνει συνήθως 1 έως 3 ημέρες μετά τη διαδικασία. Η νεφρική λειτουργία συνήθως επιστρέφει σε προϋπάρχοντα επίπεδα εντός 7 ημερών (Barrett & Parfrey, 2006).

Η έγκαιρη αναγνώριση των ασθενών με AKI που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων μπορεί να επηρεάσει τη φαρμακευτική αγωγή. Γενικά, η CIN μπορεί να παρακολουθείται είτε με βιοδείκτες που αντιπροσωπεύουν αλλαγές στη νεφρική λειτουργία (π.χ. sCr ή κυστατίνη C και ρυθμό ροής ούρων) είτε από εκείνους που αντικατοπτρίζουν νεφρική βλάβη (π.χ. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), ιντερλευκίνη-18, κλπ.). Το KIM-1 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που δεν εκφράζεται σε έναν φυσιολογικό νεφρό, αλλά ρυθμίζεται αυξητικά σε αποδιαφοροποιημένα κύτταρα εγγύς σωληναρίων μετά από ισχαιμικό ή νεφροτοξικό AKI. Ορός ουδετερόφιλης ζελατινάσης- συνδεδεμένη με λιποκαλίνη (NGAL), μια πανταχού παρούσα πρωτεΐνη 25kDa, ομοιοπολικά δεσμευμένη στη ζελατινάση από ανθρώπινα ουδετερόφιλα, είναι ένας δείκτης της σωληνωτής βλάβης (Briguori, Quintavalle, Donnarumma & Condorelli, 2014). Το KIM-1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την έγκαιρη διάγνωση και την έγκαιρη έναρξη της θεραπείας, καθώς και για το NGAL, το οποίο αρχίζει να αυξάνεται 6 ώρες μετά την έκθεση σε CM (Akdeniz et al., 2015, Briguori, Donnarumma, Quintavalle, Fiore & Condorelli, 2015 · Han, Bailly, Abichandani, Thadhani & Bonventre, 2002). Επιπρόσθετα, το ουρικό KIM-1 μπορεί να είναι χρήσιμο για την πρόβλεψη νεφρικής βλάβης, ενώ το NGAL στο ούρο έχει καλή διαγνωστική απόδοση στην πρόβλεψη θνησιμότητας σε παιδιατρικούς ασθενείς με CIN ετερογενούς αιτιολογίας (Westhoff et al., 2017). Από την άλλη πλευρά, σε πρόσφατη μελέτη η έκκριση KIM-1 και NGAL δεν επηρεάστηκε από ενδοφλέβια

χορήγηση CM (Kooiman et al., 2015). Συμπερασματικά, εξακολουθούν να υπάρχουν ανοικτά ζητήματα στον τομέα της πρόβλεψης και της παρακολούθησης της CIN, όπως το βέλτιστο βιολογικό δείγμα που συλλέγεται (ούρα έναντι αίματος), ο χρόνος δειγματοληψίας, η τιμή αποκοπής (ή το κατώτατο όριο) διάφορων νέων δεικτών και η κλινική και προγνωστική σημασία του βιολογικού δείκτη νεφρικής βλάβης στη ρύθμιση της CIN.

Οι αναφερόμενες περιπτώσεις μετά-σκιαγραφικού AKI ποικίλουν σημαντικά, καθώς το αριθμητικό κριτήριο της μεταβολής sCr ποικίλλει επίσης. Επιπλέον, λόγω της χαμηλής ευαισθησίας / εξειδίκευσης, η αύξηση του sCr δεν μπορεί να διαφοροποιήσει την CIN από το γενικό AKI (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016), είτε σε ομάδες μελετών με προβληματικές ομάδες ελέγχου είτε κατά τη διάρκεια κλινικών αξιολογήσεων μεμονωμένων ασθενών (Davenport et al. 2013, 2014, McDonald et al., 2013, 2014, Newhouse & RoyChoudhury, 2013). Η ομάδα συναίνεσης του Acute Kidney Network εξέτασε τους μεταβλητούς ορισμούς του AKI που προσπαθούν να τυποποιήσουν τη διάγνωση/σταδιοποίηση ανεξάρτητα από την αιτιολογία (Mehta et al., 2007). Σύμφωνα με τα κριτήρια που αναπτύσσονται, το AKI διαγιγνώσκεται εάν εντός 48 ωρών μετά από νεφροτοξικό συμβάν (π.χ., ενδοαγγειακή έκθεση σε ιωδιούχο CM), παρατηρείται ένα από τα ακόλουθα (Mehta et al., 2007): i) απόλυτη αύξηση sCr ≥ 0.3 mg / dL (>26.4 μ mol / L). ii) % αύξηση σε sCr $\geq 50\%$ ($\geq 1,5$ φορές υψηλότερη από την αρχική τιμή). iii) η παραγωγή ούρων μειώθηκε σε $\leq 0,5$ mL / kg / h για τουλάχιστον 6 ώρες.

Τα κριτήρια του Acute Kidney Injury Network μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθορισμό των παραμέτρων τόσο του AKI μετά και του CIN. Ωστόσο, μόνο πρόσφατα έχουν χρησιμοποιηθεί επιστημονικά στην έρευνα της CIN (Baumgarten & Ellis, 2008 · Chousterman et al., 2013 · Davenport et al., 2013 · Endre & Pickering,

2010 · Lakhali et al., 2011). Η επίπτωση και η κλινική σημασία της CIN δικαιολογεί σαφέστατα περαιτέρω αποσαφήνιση με μελλοντικές έρευνες με βάση πρόσφατες μεθοδολογικές προόδους (Davenport et al., 2013, de Caestecker et al., 2015, McDonald et al., 2013, 2014), γιατί οι δημοσιευμένες μελέτες μέχρι σήμερα έχουν επηρεαστεί σοβαρά από μεροληψία και εμπλοκή (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016).

1.3 Παθοφυσιολογία της CIN

Η ακριβής παθοφυσιολογία της CIN είναι πολύπλοκη και όχι πλήρως κατανοητή, καθώς υπάρχουν πολλοί μηχανισμοί που εμπλέκονται και αλληλεπιδρούν (Azzalini L. et al, 2016). Κάποιοι από τους παράγοντες που εμπλέκονται στην CIN είναι η νεφρική ισχαιμία, ιδιαίτερα στον μυελό, ο σχηματισμός δραστικών μορφών οξυγόνου, μείωση της παραγωγής νιτρικού οξειδίου, και σωληνοειδές επιθηλιακό και αγγειακό ενδοθηλιακό τραυματισμό (Andreucci, Faga, Pisani, Sabbatini, & Michael, 2014; Scoditti, Massaro, & Montinari, 2013).

Τα σκιαγραφικά μέσα (CM) εξάγουν τα νεφροτοξικά αποτελέσματα με διάφορους τρόπους. Αιμοδυναμικές αλλοιώσεις που έχουν ως αποτέλεσμα νεφρική μυελική υποξία και άμεση τοξικότητα στα νεφρικά σωληνοειδή επιθηλιακά κύτταρα φαίνεται να είναι σημαντικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην CIN (Caiazza et al., 2014). Όλοι οι τύποι των σκιαγραφικών μέσων επιδεικνύουν κυτταροτοξικές επιδράσεις in vitro και τα νεφρικά σωληνοειδή επιθηλιακά κύτταρα παρουσιάζουν σημάδια σοβαρής βλάβης ή απόπτωσης των κυττάρων όταν εκτίθενται σε σκιαγραφικό μέσο (Romano et al., 2008, Seeliger, Sendeski, Rihal, & Persson, 2012). Το σκιαγραφικό μέσο προκαλεί νεφρική αγγειοσύσπαση μέσω της αύξησης της αδενοσίνης και της ενδοθηλίνης, και εκτρέπει τη ροή του αίματος από το μυελό στον

φλοιό. Συνεπώς, μειώνεται η νεφρική ροή αίματος στο μυελό και το GFR, ακολουθούμενη από νεφρική μυελοειδή ισχαιμία (Persson, Hansell, & Liss, 2005).

Η μείωση της ροής του νεφρικού αίματος μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει την απελευθέρωση των ROS μέσω οξειδωτικού στρες και οσμωτικής νέκρωσης ή κενотоπισμού που προκαλείται άμεσα από το CM σε σωληνοειδή κύτταρα, οδηγώντας σε οξεία σωληνοειδή νέκρωση (Keaney, Hannon, & Murray, 2013, Tumlin et al., 2006). Οι ROS συστέλλουν τη νεφρική μικροκυκλοφορία και επηρεάζουν έμμεσα τον νεφρικό αγγειακό τόνο με τη μεσολάβηση άλλων αγγειοσυσταλτικών, διεγείροντας την παραγωγή αγγειοσυσταλτικών και ρυθμίζοντας τις δράσεις των αγγειοδιασταλτικών, όπως το νιτρικό οξείδιο (Briguori, Quintavalle, De Micco, & Condorelli, 2011). Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία ως αποτέλεσμα της άμεσης σωληνοειδής τοξικότητας, σε συνδυασμό με την παραγωγή ROS, καταστρέφει τα πειραματικά κύτταρα με αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης που οδηγεί σε απόπτωση (Goldenberg & Matetzky, 2005, Romano et al., 2008). Η απόπτωση, μετά τη χορήγηση του CM, μπορεί επίσης να προκληθεί από την ενεργοποίηση κινάσεων του στρες και από το ενδογενές μονοπάτι απόπτωσης (Ramponi, Grotti, Morisetti, Vultaggio, & Lorusso, 2007).

Πιο συγκεκριμένα, η νεφρική υποξία στη ρύθμιση της χορήγησης CM θεωρείται κρίσιμος παράγοντας στην παραγωγή ROS στα νεφρά (Pisani et al., 2013). Ωστόσο, υπάρχουν αντικρουόμενες αναφορές κατά πόσο το οξειδωτικό στρες είναι αποτέλεσμα της νεφρικής βλάβης μέσω CM ή στην πραγματικότητα συμβάλλει στην ανάπτυξη της νεφροπάθειας. Οι υποστηρικτές της αιτιώδους εμπλοκής των ROS στην παθοφυσιολογία του CIN θεωρούν ότι η χορήγηση CM είναι υπεύθυνη για το τοξικό νεφρικό παρεγχυματικό τραυματισμό, το οποίο υποτίθεται ότι διαμεσολαβείται από ROS. Η τρέχουσα έρευνα επικεντρώνεται στην οριοθέτηση της εμπλοκής των ROS στην παθοφυσιολογία του CIN και στην ενδεχόμενη παρέμβαση στη βελτίωση της.

Οι ROS, όπως το υπεροξείδιο (O_2^-), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και η ρίζα υδροξυλίου (OH^-), συμμετέχουν ενεργά στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Οι ROS δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της νεφρικής παρεγχυματικής υποξίας που επάγεται από το CM προκαλώντας άμεση σωληναριακή και αγγειακή ενδοθηλιακή βλάβη. Αυτό με τη σειρά του μπορεί να επιδεινώσει την νεφρική παρεγχυματική υποξία αυξάνοντας την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την δυσλειτουργία της σωληνωτής μεταφοράς (Pisani et al., 2013). Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου οδηγούν στη συσσώρευση υπεροξυνιτρίτη, που είναι ιδιαίτερα οξειδωτικός και αποτελεί ένα πολύ δραστικό νιτροδωτικό είδος, ικανό να μειώσει περαιτέρω τη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου. Η δυσμενή επίδραση που εμφανίζεται μέσω της νιτροποίησης των υπολειμμάτων τυροσίνης των ενζύμων, όπως είναι η συνθάση της προστακυκλίνης και η συνθάση του νιτρικού οξειδίου, τα οποία εμπλέκονται στη σύνθεση μυελοειδών αγγειοδιασταλτικών. Ως αποτέλεσμα, μπορεί να παρατηρηθεί μεγαλύτερη αγγειοσυστολή και αυξημένη βλάβη ιστών (Detrenis, Meschi, Musini, & Savazzi, 2005).

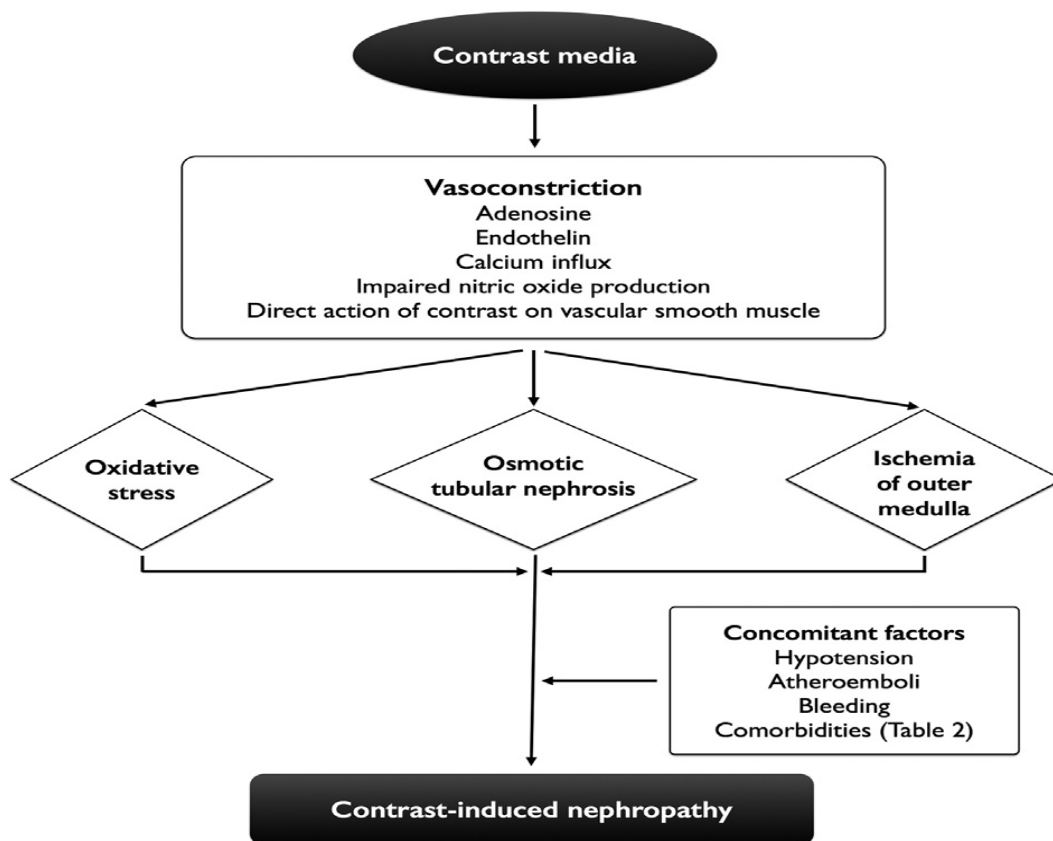
Από την άλλη πλευρά, οι ROS ενεργοποιούν τις κινάσες c-Jun N-terminal (JNKs) και τις κινάσες stress p38MAPK, οι οποίες συμβάλλουν στην ενεργοποίηση της κασπάσης-9 και της κασπάσης-3 (Briguori et al., 2015). Η επαγωγή της απόπτωσης σχετίζεται με την ενεργοποίηση των ασπαρτάτη-ειδικών κυστεϊνικών πρωτεασών. Τα μιτοχόνδρια παίζουν ρόλο σε ορισμένες μορφές απόπτωσης απελευθερώνοντας το κυτόχρωμα c και ενεργοποιώντας την κασπάση-9, η οποία ενεργοποιεί την κασπάση-3. Η κασπάση-3, ως ένα κοινό συστατικό της αποπτωτικής σηματοδότησης, μεσολαβεί στα αποπτωτικά μονοπάτια τόσο στα εξαρτώμενα από μιτοχόνδρια όσο και στους εξαρτώμενους υποδοχείς για κυτταρικό θάνατο (Rezaee et al., 2016).

Η ικανότητα προσαρμογής στην οξειδωτική βλάβη μειώνεται με την ηλικία και πιστεύεται ότι συμβάλλει στον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης CIN σε ηλικιωμένους ασθενείς, ενώ αυξημένο οξειδωτικό στρες υπάρχει επίσης στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και στον διαβήτη, γνωστοί παράγοντες κινδύνου για CIN (Tumlin et al. 2006). Η νεφρική μυελός έχει μια μοναδική ανατομία του κυκλοφορικού συστήματος (Liu, Schmerbach, et al., 2014), η οποία προκαλεί μεμβρανώδη παχιά ανερχόμενα άκρα του βρόχου της Henle για να επιτελέσει ενεργειακή ζήτηση μεταφοράς ιόντων σε κατάσταση σχετικής υποξίας σε σύγκριση με το νεφρικό φλοιό. Θεωρείται ότι μια αναντιστοιχία μεταξύ των μεταβολικών απαιτήσεων των παχών ανερχόμενων άκρων του βρόχου του Henle και της μυελικής παροχής αίματος θα μπορούσε να προκαλέσει ένα πλεόνασμα σουπεροξειδίου (O₂⁻), οδηγώντας σε οξειδωτική σωληνωτή βλάβη που υπερκαλύπτεται πάνω στην ισχαιμική βλάβη (Liu, Schmerbach et al., 2014). Η σωληνοειδής μεταφορά σχετίζεται με τον σχηματισμό ROS, κυρίως στο παχύ αναρρόφιο μέλος του νεφρικού μοσχεύματος. Ο περιφερειακός εξαιρετικά πυκνός μιτοχονδριακός πληθυσμός αντιπροσωπεύει εκεί μια σημαντική πηγή για την παραγωγή σουπεροξειδικών ανιόντων (O₂⁻) και ριζών υδροξυλίου (OH⁻) από την NAD(P)H-οξειδάση [νικοτιναμιδική αδενίνη διουκλεοτιδική (φωσφορική)] (Pisani et al., 2013).

Η οξειδωτική βλάβη του DNA στα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα λόγω της χορήγησης CM μπορεί να οδηγήσει σε νέκρωση ή απόπτωση αυτών των κυττάρων. Η βλάβη του DNA προκαλεί απελευθέρωση του συμπλέγματος πρωτεΐνης p53 που, εκτός από την αντικαρκινική του λειτουργία, παίζει ρόλο στην απόπτωση, στη γονιδιωματική σταθερότητα και στην αναστολή της αγγειογένεσης. Σε περιπτώσεις που εντοπίζεται γονιδιοτοξικό στρες, η p53 επάγει την έκφραση του BIK (BCL2 Interacting Killer), ενός προ-αποπτωτικού BH3, μέλους της οικογένειας πρωτεϊνών BCL-2. Το BIK

εμπλέκεται έντονα στην ενδογενή αποπτωτική οδό που οδηγεί τελικά σε δυσλειτουργία των μιτοχονδριακών μεμβρανών, στον κατακερματισμό των μιτοχονδρίων και στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος c (Mathai, Germain, & Shore, 2005). Πρόσφατα σε πειραματόζωα AKI, παρατηρήθηκε υπερέκφραση p53 και ένας διαφορούμενος ρόλος του εν λόγω μορίου προτάθηκε, στην απόπτωση των νεφρικών κυττάρων ή στην αυτοφαγία (Ishihara et al., 2013). Από την άλλη πλευρά, μια άμεση τοξική επίδραση του CM σε σωληνοειδή κύτταρα οδηγεί σε στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, το οποίο μπορεί να προκαλέσει συσσώρευση κυτοσολικού Ca^{2+} και ενεργοποίηση καλπαϊνης-1 και -2 που οδηγεί είτε σε ενεργοποίηση κασπασών ή ρήξη λυσοσώματος, απελευθέρωση καθεψίνης ή διάσπαση PARP-1 και τελικά νέες βλάβες του DNA (Naziroglu, Yoldas, Uzgur, & Kayan, 2013). Στο πλαίσιο αυτό, η ενεργοποίηση της καλπαϊνης βρέθηκε ότι προάγει τη σπειραματονεφρίτιδα (Peltier et al., 2006) ενώ η χορήγηση του καλπαϊνης αναστολέα-1 μείωσε τις νεφρικές προσβολές σε ένα μοντέλο αρουραίου με νεφρική ισχαιμία / βλάβη επαναιμάτωσης (Chatterjee et al., 2001).

Μια νέα και ενδιαφέρουσα οδός αντιοξειδωτικής άμυνας στην CIN που ερευνήθηκε πρόσφατα περιλαμβάνει έναν μεταγραφικό παράγοντα, τον Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2). Ο Nrf2, όταν μετατοπίζεται στον πυρήνα, διεγείρει τη μεταγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν τα αποτοξινωτικά και αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως NADPH-κινόνη οξειδορεδοκτάση 1 (NQO1) και GSH (γλουταθειόνη) και υπεροξυρεδοξίνη I. Όλα αυτά τα ένζυμα συμβάλλουν στην κυτταρική προστασία με απομάκρυνση σουπεροξειδικών ανιόντων, υπεροξείδιο του υδρογόνου και ρίζες υδροξυλίου (Saito, 2013). Σε αυτό το πλαίσιο, η σουλφοραφάνη, που είναι ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος ενεργοποιητής του Nrf2, δοκιμάστηκε πρόσφατα για CIN προστασία. Προ-θεραπεία με σουλφοραφάνη εξασθένησε τη νεφρική βλάβη και βελτίωσε την συγκέντρωση sCr σε ζωικό μοντέλο CIN (Zhao et al., 2016).



Εικόνα 2. Παθοφυσιολογία της CIN (Azzalini et al., 2016)

1.4 Παράγοντες κινδύνου στην CIN

Έχουν προταθεί πολλαπλοί παράγοντες κινδύνου για την CIN, συμπεριλαμβανομένου των: σακχαρώδη διαβήτη, αφυδάτωση, καρδιαγγειακή νόσο, διουρητική χρήση, πολλαπλό μύελωμα, υπέρταση, υπερουριχαιμία και πολλαπλές δόσεις ιωδιούχου CM σε σύντομο χρονικό διάστημα (<24 ώρες), θηλυκό φύλο, προχωρημένη ηλικία, η ποσότητα και ο τύπος του σκιαγραφικού μέσου καθώς και τον τύπο της παρέμβασης για τον οποίο χρησιμοποιείται (Abujudeh, Gee, & Kaewlai, 2009· ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016· Davenport et al., 2013· Heyman, Rosenberger Rosen, & Khamaisi, 2013· Katsiki, Athyros, Karagiannis, & Mikhailidis, 2015· Russo, Aurelio, & Durante, 2014; Stacul et al., 2011· Trivedi & Foley, 2010· Weisbord & Palevsky, 2015). Εντούτοις, δεν έχουν επιβεβαιωθεί αυστηρά

όλοι οι παράγοντες και ίσως λειτουργήσουν ως παράγοντες σύγχυσης (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Από την άλλη πλευρά, υπάρχει μια γενική συμφωνία ότι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση CIN είναι η προϋπάρχουσα σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια (Davenport et al., 2013, Stacul et al., 2011).

Η CIN μπορεί σπάνια να εμφανιστεί στα παιδιά (Ajami et al., 2010, Senthilnathan, Gauvreau, Marshall, Lock, & Bergersen, 2009), και από την άλλη πλευρά η προχωρημένη ηλικία (> 65 έτη) συνδέεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης CIN (Nicola et al., 2015). Παρ'όλα αυτά, υπήρξε μια συζήτηση για το αν η ηλικία είναι ένας πραγματικός παράγοντας κινδύνου, καθώς τα ηλικιωμένα άτομα πολύ συχνά έχουν μειωμένη νεφρική λειτουργία και άλλες συν-νοσηρότητες (Stacul et al., 2011).

Η ποσότητα και ο τύπος του CM που χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της στεφανιαίας αγγειογραφίας ή της διαδερμικής στεφανιαίας παρέμβασης έχει επίσης αναφερθεί ότι επηρεάζει τη συχνότητα εμφάνισης CIN. Η νεφροτοξική επίδραση του ιωδιούχου CM μπορεί να είναι ανάλογη της δόσης για την καρδιακή αγγειογραφία, ενώ δεν υπάρχουν ενδείξεις για σχέση δόσης-τοξικότητας μετά από ενδοφλέβια χορήγηση όταν χορηγούνται σε συνηθισμένες διαγνωστικές δόσεις (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Η χορήγηση υψηλότερων όγκων CM συσχετίζεται με αυξημένο ρυθμό CIN και θνησιμότητα, αλλά με την απουσία χρόνιας νεφρικής νόσου και σακχαρώδους διαβήτη, η επίπτωση της CIN παραμένει χαμηλή ((Aguiar-Souto et al., 2010; Kahn et al., 1990; Kane et al., 2008). Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του CM, κυρίως οσμωτικότητα και ιξώδες, παίζουν σημαντικό ρόλο στην νεφρική τοξικότητα τους, όπως συζητήθηκε παραπάνω. Η μείωση της οσμωτικότητας του CM μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης CIN. Όμως, το ζήτημα του "ιδανικού CM" παραμένει αμφιλεγόμενο, επειδή όσο χαμηλότερη είναι η οσμωτικότητα του CM, τόσο υψηλότερο

είναι το ιξώδες -το ιξώδες αυξάνεται όταν η οσμωτικότητα του CM μετατοπίζεται από υψηλή σε χαμηλή και ισοοσμωτική (Azzalini, Spagnoli & Ly, 2016, Seeliger et al, 2012). Η χορήγηση ενός CM με υψηλό ιξώδες έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ιξώδους του νεφρικού υπερδιηθήματος και συνεπώς την παράλληλη αυξημένη αντίσταση στη νεφρική σωληνοειδή ροή, που τελικά οδηγεί σε σωληνωτή βλάβη (Persson et al, 2005). Σκιαγραφικά μέσα με βάση το γαδολίνιο δεν προκαλούν CIN, ή εξαιρετικά σπάνια, εκτός αν χορηγούνται σε ακραίες δόσεις πάνω τις FDA δόσεις για την επίτευξη αποτελεσμάτων εξασθένισης ακτίνων X κατά τη διάρκεια της αγγειογραφίας (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Στην περίπτωση αυτή, το CM που βασίζεται σε γαδολίνιο είναι περισσότερο νεφροτοξικό από τις απομονωμένες δόσεις ιωδιούχου CM (Briguori et al., 2006, Elmstahl et al., 2004, Erley et al., 2004).

Πρόσφατα, η βιβλιογραφία για το CIN κυριαρχείται από αναφορές για καρδιακή αγγειογραφία με ιωδιούχο CM. Ωστόσο, στην καρδιακή αγγειογραφία η ένεση είναι ενδοαρτηριακή και υπερ-νεφρική, απαιτεί έναν καθετήρα που μπορεί να απομακρύνει αθηροεμβολικές και η δόση CM στους νεφρούς είναι πιο απότομη και συγκεντρωμένη (Davenport et al., 2014, Karlsberg et al., 2011, Katzberg & Newhouse, 2010, Nyman, Almen, Jacobsson, & Aspelin, 2012) σε σύγκριση με παρεμβάσεις που χρησιμοποιούν ενδοφλέβια CM. Δεδομένου ότι η οδός χορήγησης CM έχει αναφερθεί ως παράγοντας κινδύνου (ενδοαρτηριακή σε σύγκριση με την ενδοφλέβια χορήγηση γενικά συσχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο CIN) (Dong et al., 2012), η συνολική επίπτωση του AKI μετά το μελέτες καρδιακής αγγειογραφίας είναι υψηλότερες από ότι σε μελέτες ενδοφλέβιας χορήγησης ιωδιούχου CM. Συνεπώς, τα δεδομένα από μελέτες καρδιακής αγγειογραφίας πιθανώς υπερεκτιμούν τον κίνδυνο CIN για ασθενείς που

υποβάλλονται σε ενδοφλέβιες αντισταθμισμένες μελέτες (Davenport et al., 2014, Katzberg & Newhouse, 2010).

Οι ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο CIN, πιθανώς λόγω μειωμένης προσαρμοστικής ικανότητας αλλά πιθανώς και λόγω της αυξημένης κυτταρικής έκθεσης. Εάν η ίδια ποσότητα CM είναι φιλτράρεται από λιγότερους νεφρώνες, η έκθεση του μεμονωμένου νεφρώνα προφανώς θα αυξηθεί αναλογικά (Hogstrom & Ikei, 2015, Stacul et al., 2011). Η συχνότητα εμφάνισης CIN σε ασθενείς με προϋπάρχουσα χρόνια νεφρική νόσο που υποβλήθηκαν σε τυπικές διαδερμικές στεφανιαίες επεμβάσεις έχει αναφερθεί τόσο υψηλές όσο 55% (Rihal et al., 2002). Έχει επίσης αποδειχθεί ότι παρόλο που η χορήγηση της CM δεν προκαλεί πάντα CIN σε περιπτώσεις προϋπάρχουσας νεφρικής ανεπάρκειας, οι μεγάλες επιπλοκές όπως θάνατος ή νεφρική ανεπάρκεια που απαιτεί αιμοκάθαρση, συνέβησαν πιο συχνά σε ασθενείς με μακροχρόνια παρακολούθηση και έκθεση σε CM παρά σε αυτούς που δεν είχαν έκθεση (Abaci et al., 2015).

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Αμερικανικού Κολλεγίου Ακτινολογίας (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016), παράγοντες κινδύνου που μπορεί να εγγωγηθούν αξιολόγηση της νεφρικής λειτουργίας πριν από τη ενδοαγγειακή χορήγηση ιωδιούχου CM είναι: 1) ηλικία >60 έτη, 2) ιστορικό νεφρικής νόσου (αιμοκάθαρση, μεταμόσχευση νεφρού, ένας νεφρός, καρκίνος νεφρού, νεφρική χειρουργική), 3) ιστορικό υπέρτασης που απαιτεί ιατρική θεραπεία, 4) ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη. και 5) μετορμίνη ή συνδυασμοί φαρμάκων που περιέχουν μετορμίνη (η μετορμίνη δεν προσδίδει αυξημένο κίνδυνο CIN, αλλά οι ασθενείς που λαμβάνουν μετορμίνη και αναπτύσσουν AKI μπορεί να είναι ευαίσθητοι στην ανάπτυξη γαλακτικής οξέωσης). Οι ασθενείς χωρίς έναν από τους παραπάνω παράγοντες κινδύνου δεν απαιτούν προσδιορισμό των αρχικών επιπέδων sCr (baseline)

πριν από τη χορήγηση ιωδιούχου CM για μια ενδοαγγειακή μελέτη ρουτίνας. Η αναγνώριση αυτών των σημαντικών παραγόντων κινδύνου διευκολύνει τον προσδιορισμό των ασθενών με αυξημένο κίνδυνο για CIN και βοηθά τις ερευνητικές προσπάθειες να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των δυνητικών στρατηγικών πρόληψης.

1.5 Στρατηγικές πρόληψης της CIN

Όλοι οι ασθενείς που λαμβάνουν CM θα πρέπει να αξιολογούνται για τον κίνδυνο εμφάνισης CIN και οι ασθενείς υψηλού κινδύνου θα πρέπει να εξετάζονται για στρατηγικές πρόληψης που υποστηρίζονται από κλινικές ενδείξεις. Επειδή η CIN είναι μία κλινική κατάσταση που μπορεί να αποφευχθεί, αυξημένη γνώση για τη CIN θα μπορούσε συμβάλει στην μείωση της πιθανότητας εμφάνισής της. Σε ασθενείς χωρίς παράγοντες κινδύνου, η συχνότητα εμφάνισης CIN φαίνεται μικρότερη του <1%, αλλά σε ασθενείς υψηλού κινδύνου η συχνότητα εμφάνισης φαίνεται να είναι υψηλή (έως και 15%) (Rancic, 2016).

Κάποιες σημαντικές στρατηγικές για την πρόληψη της εμφάνισης της CIN είναι η αύξηση του όγκου των υγρών στον ανθρώπινο οργανισμό (ενδοφλέβια ή από το στόμα χορήγηση), δηλαδή ο ασθενής να κάνει θεραπεία υγρών (fluid therapy) ή να κάνει χρήση φαρμακευτικών παραγόντων που περιέχουν αντιοξειδωτικές ουσίες.

1.5.1 Fluid therapy

Η ενυδάτωση προκαλεί αύξηση της παροχής ούρων, μειώνει τη συγκέντρωση του CM στο σωληνάριο και επιταχύνει την απέκκριση του, μειώνοντας έτσι τη βιοδιαθεσιμότητα του στα σωληνοειδή κύτταρα. Με αυτή την έννοια,

ελαχιστοποιούνται οι ανεπιθύμητες τοξικές επιδράσεις (Ellis & Cohan, 2009). Η ενυδάτωση μειώνει τη δραστηριότητα του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης προκαλώντας μείωση των αγγειοσυσταλτικών ορμονών, όπως της ενδοθηλίνης. Η διούρηση του νατρίου αυξάνεται, ενώ η μειώνεται η σωληνο-σπειραματική ανατροφοδότηση παρεμποδίζει περαιτέρω την σωληνωτή απόφραξη (Sterling et al., 2008). Η διούρηση οδηγεί επίσης σε αγγειοδιαστολή της ευάλωτης περιοχής του νεφρικού μυελού πιθανώς μέσω της αύξησης της παραγωγής προστακυκλίνης (Ellis & Cohan, 2009).

Η χρήση της ενυδάτωσης είναι ευρέως αποδεκτή, λόγω του χαμηλού κόστους και του κινδύνου. Η ενυδάτωση (ενδοφλέβια αύξηση όγκου) πριν από τη χορήγηση του CM είναι η παρέμβαση που αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική για τη μείωση του κινδύνου CIN. Έχει γίνει ρουτίνα και είναι το πρότυπο κατά του οποίου συγκρίνονται όλοι οι άλλοι δυνητικοί προληπτικοί χειρισμοί όσον αφορά την αποτελεσματικότητα για την πρόληψη CIN σε ασθενείς με κίνδυνο (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016).

Ισοτονικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου (ή ισοτονικό διττανθρακικό νάτριο) είναι η καλύτερη επιλογή για την πρόληψη της CIN. Οι λόγοι δεν είναι καθορισμένοι, αλλά ο μηχανισμός πιθανότατα σχετίζεται κυρίως με τους αυξημένους ρυθμούς ροής που παράγονται με την αύξηση όγκου και συνεπώς με μειωμένη συγκέντρωση του φιλτραρισμένου CM κατά τη διάρκεια της διαμετακόμισης μέσω των νεφρικών σωληναρίων και ελαφρά αύξηση του pH του σωληνοειδούς που προκύπτει από σταθερή έκκριση οξέος σε έναν αυξημένο σωληνοειδή όγκο που παράγεται από τους αυξημένους ρυθμούς σωληναριακής ροής (Tasanarong, Burgess, et al., 2014).

Για την ενδοφλέβια ενυδάτωση έχει αναφερθεί ισοτονικό αλατούχο διάλυμα πιο αποτελεσματικό από το μισό-ισότονο αλατούχο διάλυμα (αλατούχος γλυκόζη)

(Ellis & Cohan, 2009, Pattharanitima & Tasanarong, 2014). Η χορήγηση υγρού ενδοφλεβίως εντός 12 ωρών πριν και 12 ωρών μετά την χορήγηση CM είναι ανώτερη από την δόση ταχείας έγχυσης ή άμεση δόση (bolus) κατά τη στιγμή της έγχυσης του σκιαγραφικού (Ludwig & Keller, 2014). Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Αμερικάνικου Κολλεγίου Ακτινολογίας (ACR Committee on Drugs and ContrastMedia, 2016), ο ιδανικός ρυθμός έγχυσης-όγκου δεν είναι γνωστός, αλλά προτιμώνται ισοτονικά υγρά (Lactated Ringer's ή 0,9% NaCl). Ένα πιθανό πρωτόκολλο θα ήταν το 0,9% NaCl στα 100 mL / h, αρχίζοντας 6-12 ώρες πριν και συνεχίζοντας 4-12 ώρες μετά, αλλά αυτό είναι πρακτικό μόνο για τη ρύθμιση των ασθενών στο νοσοκομείο (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Ουρογενετικής Ακτινολογίας συνιστούν ένα ενδοφλέβιο σχήμα 1,0-1,5 mL / kg / h για τουλάχιστον 6 ώρες πριν και μετά τη χορήγηση σκιαγραφικού μέσου (Stacul et al.,2011). Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας/Ευρωπαϊκής Ένωσης για Καρδιοθωρακική χειρουργική, όλοι οι ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (ειδικά εάν η εκτιμώμενη GFR είναι $<40 \text{ mL/min/1,73 m}^2$), οι οποίοι υποβάλλονται σε διαγνωστική στεφανιογραφία πρέπει να λαμβάνουν προληπτική ενυδάτωση με ισοτονικό αλατούχο ορό, ξεκινώντας περίπου 12 ώρες πριν από την αγγειογραφία και συνεχίζοντας για τουλάχιστον 24 ώρες μετά, για να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης CIN (Authors/Task Force members, 2014).

Εκτός από την ενδοφλέβια χορήγηση, η ενυδάτωση μπορεί να χορηγηθεί από το στόμα. Δεν έχει διεξαχθεί επαρκής έρευνα σε αυτό το θέμα και τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα (Stacul et al., 2011). Μία μικρή πρόσφατη μετα-ανάλυση έξι τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων δοκιμών κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η στοματική οδός είναι τόσο αποτελεσματική όσο η ενδοφλέβια οδός για αύξηση του όγκου των

υγρών για την πρόληψη της CIN. Ωστόσο, οι συγγραφείς αναγνώρισαν ότι πρέπει να εκτελούνται επαρκώς δοκιμασμένες δοκιμές με σκληρά τελικά σημεία (Hiremath, Akbari, Shabana, Fergusson, & Knoll, 2013). Με βάση τα συνολικά τρέχοντα διαθέσιμα στοιχεία, η ενυδάτωση από το στόμα θεωρείται λιγότερο αποτελεσματική (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016).

Η ενυδάτωση μερικές φορές χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με αρκετές ενώσεις όπως διουρητικά (μαννιτόλη ή φουροσεμίδη) ή παράγοντες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Μία επιδείνωση της νεφρικής δυσλειτουργίας παρατηρείται όταν χρησιμοποιείται φουροσεμίδη εκτός από το ενδοφλέβιο φυσιολογικό ορό (Kwok, Pang, Yeong, & Loke, 2013). Ούτε η μαννιτόλη ούτε η φουροσεμίδη συνιστώνται για τη μείωση του κινδύνου CIN (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016). Ωστόσο, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας / Ευρωπαϊκής Ένωσης για Καρδιο-Θωρακική χειρουργική (Authors/Task Force members, 2014), η φουροσεμίδη με ταιριασμένη ενυδάτωση μπορεί να θεωρηθεί σε σχέση με την τυπική ενυδάτωση υψηλού κινδύνου για CIN ή σε περιπτώσεις όπου η προφυλακτική ενυδάτωση πριν από τη διαδικασία δεν μπορεί να επιτευχθεί. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο είναι αρχικά ενδοφλέβια στιγμιαία χορήγηση «bolus» 250 mL κανονικού φυσιολογικού ορού σε διάστημα 30 λεπτών (μειωμένο στα 150 mL σε περίπτωση δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας) ακολουθούμενο από ενδοφλέβιο «bolus» (0,25-0,5 mg/kg) φουροσεμίδης. Όταν ο ρυθμός εξόδου ούρων είναι >300 mL/h, οι ασθενείς υποβάλλονται στη στεφανιαία επέμβαση. Η αντιστοίχιση αντικατάστασης υγρού διατηρείται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας και για 4 ώρες μετά τη θεραπεία.

Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων δοκιμών που αξιολογούσε τη συγκριτική αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων (χορήγηση NAC,

διττανθρακικό νάτριο, στατίνες ή βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ)) που χρησιμοποίησαν ενδοφλέβια ή ενδοαρτηριακά CM για τη μείωση της CIN σε ενήλικες, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού της CIN παρατηρήθηκε με την ενδοφλέβια χορήγηση αλατούχο διαλύματος NAC σε ασθενείς που έλαβαν CM χαμηλής οσμωτικότητας και ενδοφλέβια χορήγηση αλατούχο διαλύματος NAC και στατινών (Subramaniam, Suarez-Cuervo et al., 2016).

1.5.2 Αντιοξειδωτικά

Όπως συζητήθηκε προηγουμένως, η χορήγηση CM μπορεί να προκαλέσει αύξηση της παραγωγής των ROS στα ευθέα αγγεία «vasa recta» και στα κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων, προκαλώντας έτσι ενεργοποίηση της απόπτωσης. Πολλές ενώσεις με αντιοξειδωτικές ιδιότητες έχουν διερευνηθεί συμπεριλαμβανομένης της διαστολής όγκου χρησιμοποιώντας διττανθρακικό νάτριο, καθώς επίσης και φαρμακολογικούς παράγοντες όπως NAC, ασκορβικό οξύ, στατίνες και πρόσφατα αναστολείς φωσφοδιεστεράσης τύπου 5.

1.5.2.1 Διττανθρακικό νάτριο (*Sodium bicarbonate*)

Έχει προταθεί ως αποτελεσματική μέθοδος ενυδάτωσης, κυρίως λόγω των αλκαλικών ιδιοτήτων του (Ellis & Cohan, 2009, Tasanarong, Burgess, et al., 2014). Μείωση του οξειδωτικού στρες στα κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων μπορεί να αποτελέσει τον βασικό μηχανισμό νεφροπροστασίας από διττανθρακικό νάτριο. Το διττανθρακικό είναι ικανό να επιβραδύνει την αντίδραση Haber-Weiss που δημιουργεί ελεύθερες ρίζες. Επίσης, μπορεί να καθарίσει απευθείας το υπεροξείδιο του νατρίου που παράγεται από το οξείδιο του αζώτου. Η αλκαλοποίηση του ουροποιητικού

συστήματος και η ενδο-σωληνοειδής αύξηση του pH, ως άμεση επίδραση της ενδοφλέβιας χορήγησης διττανθρακικού νατρίου, μπορεί να μειώσει την εξαρτώμενη από το pH παραγωγή μεθεμοσφαιρίνης (Fe^{3+}) στο σωληνωτά εκμαγεία, την παραγωγή ελεύθερων ριζών καταλυμένων από ιόντα σιδήρου, όπως και την πρωτεϊνουρία που προκαλεί οξειδωτική βλάβη. Έτσι, η εξασθένηση του οξειδωτικού στρες μέσω αλκαλοποίησης των ούρων με διττανθρακικό νάτριο μπορεί να εξασθενήσει την CIN. Ο μηχανισμός δράσης του διττανθρακικού νατρίου προέκυψε κυρίως από μελέτες σε ζώα, αλλά υπάρχουν επίσης στοιχεία για την αποτελεσματικότητά του στους ανθρώπους (Pavlidis, Jones, Sirker, Mathur, & Smith, 2015, Schiffli, 2015).

Παρά τον μεγάλο αριθμό κλινικών μελετών και μετα-αναλυτικών μελετών που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα, ο αποτελεσματικός τύπος ενδοφλέβιας διαστολής όγκου (ισοτονικό διττανθρακικό νάτριο έναντι χλωριούχου νατρίου) και το όφελος του NAC (βλέπε κατωτέρω, NAC) για την πρόληψη της CIN εξακολουθεί να είναι ασαφής. Η προσεκτική επανεξέταση των δημοσιευθέντων δοκιμών αποκαλύπτει αρκετούς μεθοδολογικούς περιορισμούς που συμβάλλουν στα αδιάβλητα ευρήματά τους. Μια προσεκτικά σχεδιασμένη μεγάλη πολυκεντρική διπλά-τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή (δοκιμή PRESERVE) βρίσκεται σε εξέλιξη με φιλοδοξία να δοθεί οριστική απάντηση σε αυτά τα ερωτήματα σχετικά με την πρόληψη σοβαρών ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων που σχετίζονται με την CIN σε ασθενείς υψηλού κινδύνου που υποβάλλονται σε στεφανιαία ή μη στεφανιαία αγγειογραφία (Weisbord et al., 2013).

Ορισμένες μετα-αναλύσεις μέχρι σήμερα έχουν δείξει ενδοφλέβια αύξηση όγκου με διττανθρακικό νάτριο να είναι ανώτερη τακτική από το κανονικό φυσιολογικό ορό (Jang et al., 2012, Merten et al., 2004, Navaneethan, Singh, Appasamy, Wing, & Sehgal, 2009), αλλά αυτά τα αποτελέσματα αμφισβητήθηκαν από

άλλες μετα-αναλύσεις (Subramaniam, Wilson, et al., 2016, Zoungas et al., 2009) και δεν μπορεί να θεωρηθεί οριστικό αυτή τη στιγμή. Η ενδοφλέβια χορήγηση διττανθρακικού νατρίου που δόθηκε 1 ώρα πριν από την έκθεση σε CM αναφέρθηκε πιο αποτελεσματική στην πρόληψη της CIN από το ισοτονικό αλατούχο διάλυμα και από του στόματος NAC χορηγηση μετά από τη διαδικασία (Kagan & Sheikh-Hamad, 2010). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι το διττανθρακικό νάτριο είναι ανώτερο του φυσιολογικού ορού για την πρόληψη της CIN σε ασθενείς με προϋπάρχουσα νεφρική ανεπάρκεια (Zhang, Liang, Chen, Liang, & Zhang, 2015), ωστόσο αυτή η θεωρία παραμένει αμφιλεγόμενη (Caixeta & Mehran, 2010, Ellis & Cohan, 2009). Τέλος, η συχνότητα εμφάνισης CIN έχει αναφερθεί ότι είναι σημαντικά χαμηλότερη στην ενυδάτωση διττανθρακικού νατρίου με NAC σε σύγκριση με αλατούχα ενυδάτωση με ασκορβικό οξύ συν NAC (Andreucci, Faga, Pisani, Sabbatini, Russo et al., 2014; Pattharanitima & Tasanarong, 2014).

Οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Ουρογεννητικής Ακτινολογίας αναφέρουν ότι η ενυδάτωση με ισοτονικό αλατούχο ή διττανθρακικό νάτριο (3 mL/kg/h για 1 ώρα πριν την χορήγηση σκιαγραφικού μέσου και ακολουθούμενη από 1 mL/kg/h για 6 ώρες μετά) μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης CIN (Stacul et al., 2011). Ωστόσο, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας / Ευρωπαϊκής Ένωσης Καρδιο-θωρακικής χειρουργικής για ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή χρόνια νεφρική νόσο που υποβάλλονται σε στεφανιαία αγγειογραφία ή πολλαπλής αντίθεσης αξονική τομογραφία, η έγχυση 0,84% διττανθρακικού νατρίου αντί της συνήθους ενυδάτωσης δεν ενδείκνυται ((Authors/Task Force members, 2014).

1.5.2.2 NAC

Η NAC είναι ένα ακετυλιωμένο παράγωγο του αμινοξέος κυστεΐνη. Το δυναμικό της NAC ως προστατευτικού παράγοντα του νεφρού είναι πολλά υποσχόμενο επειδή η NAC έχει τόσο αντιοξειδωτικές όσο και αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες όπως παρουσιάζονται σε μελέτες σε ζώα, γι' αυτό και έχει ερευνηθεί ως προληπτικός παράγοντας της CIN σε ανθρώπους (Fishbane,2008, Hosseinjani, Moghaddas, Khalili,2013). Έχει σημαντικά προστατευτικά / βελτιωτικά αποτελέσματα κατά της νεφρικής βλάβης που προκαλείται από φάρμακα σε πειραματικά μοντέλα, που αποδίδεται σε αρκετούς μηχανισμούς σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες, συμπεριλαμβανομένης της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της αποκατάστασης της μειωμένης ενδοκυτταρικής δεξαμενής της φυσικής αντιοξειδωτικής γλουταθειόνης, άμεση απομάκρυνση ελεύθερων ριζών, και / ή αλληλεπίδραση με τις ROS, καθώς και πρόληψη της απόπτωσης των νεφρικών κυττάρων που προκαλείται από το CM (Briguori et al.,2011, Hosseinjani et al.,2013). Εκτός από τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες, η NAC παρουσιάζει άλλες βιολογικές δράσεις που μπορεί να έχουν σχέση με την πρόληψη της CIN. Μπορεί να έχει αγγειοδιασταλτικές επιδράσεις σε ορισμένες καταστάσεις σταθεροποιώντας το οξειδίο του αζώτου (Fishbane,2008) ή ακόμα και αυξάνοντας την παραγωγή οξειδίου του αζώτου μετά τη χορήγηση του CM (Briguori et al.,2011). Επιπλέον, η σουλφυδρυλική ομάδα της NAC μπορεί να αναστείλει το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής αγγειοτενσίνης II (Fishbane, 2008).

Η NAC είναι διαθέσιμη σε από του στόματος και ενδοφλέβιες συνθέσεις, αν και η βιοδιαθεσιμότητα είναι πολύ χαμηλή. Μετά από χορήγηση από το στόμα, η βιοδιαθεσιμότητα της αναφέρεται σε <5%, πιθανώς λόγω του εκτεταμένου ηπατικού μεταβολισμού πρώτου σταδίου (μόνο στην οξειδωμένη μορφή- δεν υπάρχει ελεύθερο

φάρμακο- ανιχνεύσιμο σε πολύ μικρές ποσότητες στην κυκλοφορία). Μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, το φάρμακο βρίσκεται συνδεδεμένο σε υψηλό ποσοστό στις πρωτεΐνες πλάσματος/ιστού σχηματίζοντας διάφορες ενώσεις δισουλφιδίου, ανιχνεύοντας όμως μόνο μικρές ποσότητες στην κυκλοφορία (Fishbane, 2008).

Λόγω των φαρμακολογικών ιδιοτήτων της NAC, ιδίως της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητάς της, οι *in vivo* επιδράσεις πρέπει να εξετάζονται ξεχωριστά από τις *in vitro* δράσεις της. Οι αντιοξειδωτικές επιδράσεις της NAC μπορεί να είναι έμμεσες στους ανθρώπους, καθώς αποκαθιστά τη βλάβη μέσω της επαγωγής για σύνθεση γλουταθειόνης ενδοκυτταρικά λόγω της μειωμένης συγκέντρωσης της, που έχει βασικό ρόλο στην άμυνα του σώματος έναντι της κυτταρικής οξειδωτικής βλάβης (Rushworth & Megson, 2014). Οι κυστεΐνες του κυκλοφορικού εισέρχονται στα νεφρικά κύτταρα που χρησιμεύοντας ως πρόδρομο βήμα για την παραγωγή γλουταθειόνης.

Η NAC έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως, κυρίως στην τυπική δόση των 600 mg από του στόματος δύο φορές την ημέρα για 24 ώρες πριν την χορήγηση σκιαγραφικού και την ημέρα της διαδικασίας (Stacul et al., 2011), για την πρόληψη της CIN σε πληθυσμούς που κινδυνεύουν, μετά από τη δημοσίευση μιας τυχαιοποιημένης ελεγχόμενης με εικονικό φάρμακο δοκιμής (Terpel et al., 2000). Η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η NAC (στα 600 mg από του στόματος δύο φορές ημερησίως, πριν και μετά τη χορήγηση CM) μαζί με την ενυδάτωση (0,45% φυσιολογικό ορό ενδοφλεβίως) εμποδίζει τη μείωση της νεφρικής λειτουργίας που προκαλείται από μη ιοντικούς χαμηλής ωσμωτικότητας σκιαγραφικούς παράγοντες σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (Terpel et al., 2000). Στη συνέχεια, η NAC μελετήθηκε σε υψηλότερες δόσεις από το στόμα (1200 mg δύο φορές την ημέρα για 48 ώρες) και ενδοφλεβίως (συνολική δόση που κυμαίνεται από 2400 mg έως 150 mg / kg), αλλά υπήρξαν ευρέως αντιφατικά αποτελέσματα σε μεγάλο αριθμό κλινικών δοκιμών και

μετα-αναλύσεων και η αποτελεσματικότητά της για τη μείωση της συχνότητας εμφάνισης της CIN παραμένει αμφιλεγόμενη, κυρίως λόγω των μεθοδολογικών περιορισμών που συμβάλλουν στα αδιάσειστα ευρήματα (Owen, Hiremath, Myers, Fraser-Hill, & Barrett, 2014, Weisbord et al., 2013). Μια προσεκτικά σχεδιασμένη πολυκεντρική διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη (δοκιμή PRESERVE) είναι σε εξέλιξη με τη φιλοδοξία να απαντήσει οριστικά σε αυτό το θέμα μεταξύ άλλων (βλέπε παραπάνω, διττανθρακικό νάτριο) σε ασθενείς υψηλού κινδύνου που υποβάλλονται σε στεφανιαία ή μη στεφανιαία αγγειογραφία (Weisbord et al., 2013).

Υπήρξαν επίσης αμφιβολίες σχετικά με μια δυνητική τεχνητή επίδραση στη συγκέντρωση sCr που μπορεί να είναι υπεύθυνη για τα θετικά αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν επειδή η NAC μειώνει τη συγκέντρωση sCr σε υγιείς εθελοντές χωρίς να αλλάζει το cystatin-C (ένας καλύτερος δείκτης GFR από το sCr), αυξάνοντας την πιθανότητα απλά να μειώνει τη συγκέντρωση της sCr χωρίς ουσιαστικά να προλαμβάνει από την εμφάνιση της CIN (Anderson, Park, & Patel, 2011).

Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι η NAC μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης CIN σε ασθενείς με προϋπάρχουσα νεφρική ανεπάρκεια, αλλά όχι σε ασθενείς με διαβήτη (Kang, Hu, Li, Ai, & Peng, 2015). Μια μεγάλη πρόσφατη μετα-ανάλυση (Subramaniam, Wilson, et al., 2016) έδειξε ότι η χαμηλή δόση (1200 mg/ημερησίως ή χαμηλότερη) και η υψηλή δόση NAC (>1200 mg / ημέρα) είχε ένα οριακά σχετικό κλινικά αποτέλεσμα και ένα μικρό μη κλινικά σχετικό αποτέλεσμα, αντίστοιχα, στη μείωση της CIN σε σύγκριση με την ενδοφλέβια χορήγηση φυσιολογικού ορού. Μία κλινικά σημαντική και στατιστικά σημαντική μείωση της CIN παρατηρήθηκε όταν η NAC συγκρίθηκε με την ενδοφλέβια χορήγηση φυσιολογικού ορού σε ασθενείς που λαμβάνουν χαμηλής ωσμωτικότητας αλλά όχι ισοωσμωτικά CM, με τις εκτιμήσεις του λόγου κινδύνου να μην διαφέρουν μεταξύ των ενδοφλέβιων και

ενδοαρτηριακών οδών χορήγησης CM (Subramaniam, Wilson, et al., 2016). Τέλος, μια άλλη μεγάλη πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε αντίστροφη και σημαντική συσχέτιση μεταξύ συμπληρωμάτων NAC και του κινδύνου CIN σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε στεφανιαία αγγειογραφία και αξονική τομογραφία, ενώ δεν ήταν εμφανής ο προστατευτικός ρόλος σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε περιφερική (Xu, Tao, Bai, Deng, & Chen, 2016).

Η NAC είναι φθηνή, άμεσα διαθέσιμη, εύκολα χορηγούμενη και δεν συνδέεται με σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες (εκτός από την υψηλή ενδοφλέβια δόση και τον κίνδυνο για αναφυλακτική αντίδραση, Anderson et al., 2011) και η χρήση της γενικά δεν αντενδείκνυται επειδή σπάνια προκαλεί φαρμακευτικές αλληλεπιδράσεις (Owen et al., 2014; Wu et al., 2013). Παρόλα αυτά, σήμερα τα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα της δεν επαρκούν ώστε να προτείνουν τη χρήση της και δεν πρέπει να θεωρηθεί ως ένα κατάλληλο υποκατάστατο για την προκλινική εξέταση του ασθενούς και την επαρκούς αύξησης του όγκου υγρών (ACR Committee on Drugs and Contrast Media, 2016, Authors/Task Force members, 2014, Owen et al., 2014). Η μελλοντική έρευνα είναι απαραίτητη για τον περαιτέρω καθορισμό συγκεκριμένων πλαισίων στα οποία οι ασθενείς θα μπορούσαν να επωφεληθούν από τη χρήση της (Subramaniam, Wilson, et al., 2016).

1.5.2.3. Ασκορβικό οξύ

Λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του ασκορβικού οξέος, η αποτελεσματικότητά του στην πρόληψη ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες έχει μελετηθεί εκτενώς. Το ασκορβικό οξύ είναι ένα ασφαλές, καλά ανεκτό και εύκολα διαθέσιμο αντιοξειδωτικό, το οποίο έχει αποδειχθεί ότι εξασθενεί τη νεφρική βλάβη σε ένα μοντέλο CIN αρουραίου (McCullough, Wolyn, Rocher, Levin & O'Neill,

1997). Εκτός από την απομάκρυνση ελεύθερων ριζών οξυγόνου που μεσολαβούν στην κυτταρική νέκρωση μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου και μετά από αγγειοπλαστική, το ασκορβικό οξύ μπορεί επίσης να δρα ως αντιοξειδωτικό για την αναστολή του ισχαιμικού κυτταρικού θανάτου στους νεφρούς (Zhou & Chen, 2012). Ωστόσο, έχουν προκύψει αντικρουόμενα αποτελέσματα στον άνθρωπο. Έχει αναφερθεί ότι η προφυλακτική χορήγηση από το στόμα ασκορβικού οξέος μπορεί να προστατεύσει έναντι της CIN σε δόση 3 g από το στόμα 2 ώρες πριν τη διαδικασία και 2 g κατά τη διάρκεια της νύχτας και το πρωί μετά τη διαδικασία (Spargias et al., 2004). Σε μια άλλη μελέτη, οι ασθενείς που έλαβαν ασκορβικό οξύ είχαν 33% χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης CIN (Sadat, Usman, Gillard, & Boyle, 2013). Επιπλέον, όταν οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε αγγειογραφία με χαμηλής ωσμωτικότητας CM με επαρκή ενυδάτωση συν ασκορβικό οξύ, η επίπτωση της CIN μειώθηκε σημαντικά (Ali-Hassan-Sayegh et al., 2016). Από την άλλη πλευρά, σε ασθενείς με προϋπάρχουσα νεφρική δυσλειτουργία, δεν έχει αποδειχθεί κανένα αποτέλεσμα (Boscheri et al., 2007). Από το στόματος υψηλές δόσεις ασκορβικού οξέος, συν την ενυδάτωση θα μπορούσαν να έχουν αντιοξειδωτικές επιδράσεις στη νεφρική λειτουργία, σε ασθενείς που λαμβάνουν χαμηλής ωσμωτικότητας CM, αλλά δεν μειώνουν την συγκέντρωση sCr και δεν είναι αποτελεσματικές σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια (Zhou & Chen, 2012). Μια άλλη μελέτη δεν έδειξε κανένα όφελος έναντι του εικονικού φαρμάκου, όταν οι συνήθεις δόσεις ασκορβικού οξέος χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως την προηγούμενη ημέρα και την ημέρα της έκθεσης στο CM σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια που υποβάλλονται σε καρδιακή στεφανιογραφία (Ali-Hassan-Sayegh et al., 2016).

1.5.2.4 Στατίνες

Αυξανόμενες αποδείξεις κατέδειξαν ότι οι στατίνες μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο CIN μέσω μειωτικών (λιποτροπικών) επιδράσεων στους παράγοντες που συμβάλλουν στην εξέλιξη της CIN, όπως η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, η διατήρηση της παραγωγής νιτρικού οξειδίου, η μείωση των φλεγμονωδών και ανοσορυθμιστικών διεργασιών, το οξειδωτικό στρες και η προσκόλληση των αιμοπεταλίων, που μπορεί να συμβάλλουν τόσο στην καρδιακή όσο και στη νεφρική προστασία, ακόμη και βραχυπρόθεσμα (Leoncini, Toso, Maioli, Tropeano, & Bellandi, 2013, Yang, Wu, & Hu, 2015).

Ωστόσο, οι δράσεις διαφορετικών στατινών (όπως η ροσουβαστατίνη και η atorβαστατίνη) δεν είναι οι ίδιες. Οι διαφορές μπορεί να συσχετίζονται με αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα, με χαμηλή πυκνότητα λιποπρωτεϊνικής χοληστερόλης, με νεφροπροστασία και με τις επιδράσεις στην μυοκαρδιακή λειτουργία (Liu, Liu, et al., 2014). Η αποτελεσματικότητα των στατινών για την πρόληψη της CIN φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τη λιποφιλικότητα της δοκιμαζόμενης στατίνης (σιμβαστατίνη, atorβαστατίνη και ροσουβαστατίνη) (Akyuz, Yaylak, Altay, Kasikcioglu, & Cam, 2015). In vitro, οι στατίνες αύξησαν την παραγωγή της πρωτεΐνης αιμα-οξυγενάση-1, παρεμπόδισαν τη δραστηριότητα της οξειδάσης NADPH, μείωσαν την έκφραση του μορίου προσκόλλησης και μείωσαν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών (Pattharanitima & Tasanarong, 2014). Η προ-θεραπεία των αρουραίων με στατίνη φάνηκε να εξασθενεί την αύξηση των επιπέδων της sCr και μείωσε την εμφάνιση δυσμενών ιστολογικών ευρημάτων σε μοντέλο τραυματισμού από ισχαιμία και επαναιμάτωση. Επιπλέον, οι στατίνες μπορούν να εξασθενήσουν την CIN σε ένα μοντέλο αρουραίων μέσω της τροποποίησης του οξειδωτικού στρες και των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (Pattharanitima & Tasanarong, 2014).

Επί του παρόντος, τα πρωτόκολλα για την πρόληψη της CIN στις Ηνωμένες Πολιτείες δεν περιλαμβάνουν τη χρήση στατινών. Μπορεί να είναι η στιγμή για να επανεκτιμηθεί ο ρόλος των στατινών στην παρεμπόδιση της CIN, ειδικότερα επειδή είναι άμεσα διαθέσιμες, εύκολο να χορηγηθούν και σχετικά ανέξοδες. Η θεραπεία με στατίνη παρεμποδίζει την ανάπτυξη CIN σε ασθενείς που υποβάλλονται σε στεφανιαία αγγειογραφία ή διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση. Όλοι οι τύποι στατίνης που δοκιμάστηκαν είχαν παρόμοια ευεργετική δράση, ενώ η προληπτική δράση ήταν πιο σημαντική σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο, διαβήτη, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, εκείνους που έλαβαν μεγάλους όγκους CM, ασθενείς παρθένοι στις στατίνες και ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (Gandhi, Mosleh, Abdel-Qadir & Farkouh, 2014). Ασθενείς που έλαβαν ροσουβαστατίνη είχαν 51% χαμηλότερο κίνδυνο για CIN σε σύγκριση με τους μάρτυρες, ωστόσο σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο που υποβλήθηκαν σε έκθεση σε CM, η θεραπεία με ροσουβαστατίνη δεν έδειξε κανένα αποτέλεσμα στην πρόληψη της CIN (Yang et al., 2015). Οι στατίνες μπορεί να μειώσουν τον κίνδυνο της CIN σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου με φυσιολογική ή ελαφρώς ανώμαλη νεφρική λειτουργία, αλλά όχι σε ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή νεφρική δυσλειτουργία (Davenport, Cohan, & Ellis, 2015, Ukaigwe et al., 2014). Η εφαρμογή της στατίνης υψηλής δόσης πριν από τον διαγνωστική στεφανιογραφία μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης CIN και θα πρέπει να θεωρείται ως πρόσθετο προληπτικό μέτρο σε ασθενείς χωρίς αντενδείξεις (Authors/Task Force members, 2014).

Σύμφωνα με όλες τις πρόσφατες μετα-αναλύσεις σχετικά με τη σύγκριση των στατινών έναντι του ενδοφλέβιου φυσιολογικού ορού (Li, Liu, Fu, Mei, & Dai, 2012, Li et al., 2016, Michael et al., 2014, Pappy, Stavrakis, Hennebry, & Abu-Fadel, 2011, Takagi & Umemoto, 2011, Zhang, Li, et al., 2011, Zhou, Yuan, Zhu, & Wang, 2011)

εκτός από ένα (Zhang, Shen, et al., 2011), μια μεγάλη πρόσφατη μετα-ανάλυση (Subramaniam, Wilson, et al., 2016) ανίχνευσε μια κλινικά σημαντική προστατευτική επίδραση έναντι της CIN σε πληθυσμούς με χρόνια νεφρική νόσο, σακχαρώδη διαβήτη, καρδιακή νόσο και γενικά πληθυσμούς που οι στατίνες χορηγήθηκαν σε συνδυασμό με ενδοφλέβια υγρά σε σύγκριση με χορήγηση ενδοφλέβιων υγρών μόνο ή σε συνδυασμό με NAC σε σύγκριση με NAC μόνο, αλλά το αποτέλεσμα ήταν μόνο στατιστικά σημαντικό στην τελευταία σύγκριση. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι εκτός από το γεγονός ότι τα ευρήματά τους έχουν μέτρια δύναμη, υπάρχουν λόγοι να προχωρήσουν με προσοχή με τις στατίνες, καθώς όλες οι μελέτες που αξιολογούν την επίδρασή τους για μείωση της επίπτωσης της CIN έχουν διεξαχθεί για ενδοαρτηριακή χορήγηση CM και, ως εκ τούτου, το προστατευτικό αποτέλεσμα κατά της CIN για ενδοφλέβια χορήγηση CM είναι άγνωστο. Επίσης, είναι πιθανό τα ευρήματα που αναφέρθηκαν στις μελέτες των στατινών να εξηγηθούν εν μέρει από μια άμεση επίδραση στο GFR που είναι ανεξάρτητο από προστατευτική επίδραση στη νεφρική λειτουργία (Subramaniam, Wilson, et al., 2016).

Συνοπτικά, τα τρέχοντα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των στατινών στην προφύλαξη της CIN είναι ασαφή και δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για τη γενική υποστήριξη της χρήσης τους στην ακτινολογία. Η μελλοντική έρευνα είναι απαραίτητη για να διαπιστωθεί εάν οι στατίνες μπορούν να μειώσουν την CIN σε ασθενείς που λαμβάνουν ενδοφλέβια CM (Subramaniam, Wilson, et al., 2016). Ωστόσο, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας / Ευρωπαϊκής Ένωσης για Καρδιο-θωρακική Χειρουργική (Authors/Task Force members, 2014), για ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή χρόνια νεφρική νόσο που υποβάλλονται σε στεφανιαία αγγειογραφία ή αξονική τομογραφία πολλαπλών

ανιχνευτών, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η θεραπεία με υψηλές δόσεις με ροσουβαστατίνη 40/20 mg ή ατορβαστατίνη 80 mg ή σιμβαστατίνη 80 mg.

1.5.2.5 Αναστολείς φωσφοδιεστεράσης 5

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη θεραπεία της στυτικής δυσλειτουργίας σε ανθρώπους ενισχύουν την αγγειοδιασταλτική επίδραση του απελευθερούμενου νιτρικού οξειδίου (σιλδεναφίλη, ταδαλαφίλη, βαρδεναφίλη και αβαναφίλη) θα μπορούσαν να προσφέρουν προστασία έναντι της CIN διατηρώντας το αγγειοδιασταλτικό αποτέλεσμα του νιτρικού οξειδίου. Αυτά τα φάρμακα δρουν με επιλεκτική αναστολή του ενζύμου κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP)-ειδική φωσφοδιεστεράση τύπου 5 που μεταβολίζει την cGMP, ο κύριος μεσολαβητής της επαγόμενης από νιτρικό οξείδιο χαλάρωσης του λείου μυός και της αγγειοδιαστολής στο σπυράκι, όπου είναι γνωστές ως αναστολείς φωσφοδιεστεράσης 5. Ωστόσο, το ενδογενές αγγειοδιασταλτικό νιτρικό οξείδιο είναι ζωτικής σημασίας και για την οξυγόνωση του μυελού καθώς και για την ενίσχυση της περιφερειακής ροής αίματος (Morcos, 2014). Η διέλευση του CM μέσω του νεφρού συνδέεται με την αύξηση της μεταβολικής δραστηριότητας του νεφρικού εξωτερικού μυελού και η μυελώδης αγγειοδιασταλτική απόκριση προκαλείται από την απελευθέρωση των προστανοειδών και του οξειδίου του αζώτου. Η μείωση της διαθεσιμότητας του οξειδίου του αζώτου μπορεί να εντείνει την υποξική προσβολή και να συμβάλει στην ανάπτυξη CIN. Η προφυλακτική χορήγηση ενός αναστολέα φωσφοδιεστεράσης 5, ιδιαίτερα της μακράς δράσης ταδαλαφίλη, πριν και μετά τη χορήγηση του CM, προσφέρει μια απλή και ορθολογική προσέγγιση για τη μείωση του κινδύνου της προκαλούμενης CIN. Αυτή η υπόθεση απαιτεί έρευνα για τον προσδιορισμό της κλινικής συνάφειάς της (Morcos, 2014).

Η προστατευτική επίδραση τέτοιων φαρμάκων (κυρίως της σιλденаφίλης και πρόσφατα της ταδαλαφίλης) κατά της CIN έχει μέχρι σήμερα διερευνηθεί σε μερικές μελέτες σε ζώα (Choi et al., 2009, de Almeida et al., 2016, Lauver, Carey, Bergin, Lucchesi & Gurm, 2014, Oruc et al., 2010, Ozbek et al., 2015). Οι επιδράσεις της σιλденаφίλης σε νεφρική βλάβη μέσω ισχαιμίας-επαναιμάτωσης έχουν διερευνηθεί σε μερικά ζωικά μοντέλα. Σε μια πειραματική μελέτη νεφρικής βλάβης λόγω ισχαιμίας-επαναιμάτωσης σε αρσενικούς Sprague-Dawley αρουραίους (Choi et al., 2009), η σιλденаφίλη έδειξε αντι-αποπτωτικά αποτελέσματα μέσω φωσφορύλιωσης ERK, διέγερση παραγωγής iNOS και eNOS και μείωση στην αναλογία Bax / Bcl-2. Σε μια άλλη μελέτη σε αρσενικούς Wistar albino αρουραίους, αποδείχθηκε ότι η προ-ισχαιμική θεραπεία με σιλденаφίλη μπορεί να εξασθενήσει σημαντικά την νεφρική βλάβη λόγω ισχαιμίας /επαναιμάτωσης μειώνοντας τη διήθηση των λευκοκυττάρων (Oruc et al., 2010).

Επιπλέον, το προστατευτικό αποτέλεσμα της σιλденаφίλης έχει αξιολογηθεί σε μοντέλο κουνελιού (λευκά κουνέλια της Νέας Ζηλανδίας) του AKI που προκαλείται από σκιαγραφικό μέσο (Lauver et al., 2014). Το φάρμακο χορηγήθηκε πριν από την έγχυση CM και επανειλημμένα στη συνέχεια. Τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία μετά από 48 ώρες. Η ενδοφλέβια χορήγηση CM προκάλεσε σημαντική νεφρική βλάβη. Οι συγκεντρώσεις της sCr αυξήθηκαν μέσα σε 2 ώρες από την έγχυση και παρέμειναν αυξημένες στη συνέχεια. Η ιστολογική αξιολόγηση των νεφρών αποκάλυψε σημαντική σωληνωτή νέκρωση. Οι επιδράσεις του CM ήταν εξαρτώμενες από τη δόση. Η θεραπεία με σιλденаφίλη συσχετίστηκε με χαμηλότερο βαθμό ιστολογικής βλάβης, εξασθένηση στους δείκτες του AKI και μείωση της διακύμανσης του ηλεκτρολύτη (K^+). Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν έναν πιθανό ρόλο της σιλденаφίλης στη

θεραπεία του AKI που προκαλείται από CM, απαιτώντας περαιτέρω αξιολόγηση για τον προσδιορισμό του ακριβούς μηχανισμού προστασίας.

Σε μια πρόσφατη μελέτη σε ζώα, αρσενικοί αρουραίοι Wistar διαιρέθηκαν σε 3 ομάδες: σε ομάδα ελέγχου, σε αρουραίους με CIN και αρουραίους με CIN με προ-θεραπεία με σιλδεναφίλη (de Almeida et al., 2016). Η νεφρική λειτουργία αξιολογήθηκε (GFR, νεφρική ροή αίματος, sCr, ουρεμία και πρωτεϊνουρία) και το οξειδωτικό στρες αξιολογήθηκε με κυτταρομετρία ροής για ύπαρξη ROS ενδοκυτταρικά. Η θεραπεία με σιλδεναφίλη στην ομάδα με CIN μείωσε σημαντικά το GFR και τη νεφρική ροή αίματος, μείωσε την sCR, την ουραιμία και την πρωτεϊνουρία, ενώ η κυτταρομετρία ροής έδειξε εξασθένηση της παραγωγής ROS. Αυτά τα δεδομένα προτείνουν ότι η σιλδεναφίλη μπορεί να είναι ένας νέος θεραπευτικός παράγοντας για την πρόληψη της CIN προστατεύοντας τη νεφρική λειτουργία και εξασθενίζοντας το οξειδωτικό στρες.

Τέλος, μια άλλη μελέτη πρόσφατα διερεύνησε την επίδραση της ταδαλαφίλης στην πρόληψη της CIN σε θηλυκούς αρουραίους Wistar albino (Ozbek et al., 2015). Μετά από 48 ώρες αφυδάτωσης, χορηγήθηκε στην πρώτη ομάδα CM (megluminediatrozoate), στη δεύτερη ομάδα χορηγήθηκε CM με ταδαλαφίλη, ενώ η τρίτη ομάδα ήταν η ομάδα ελέγχου (controls). Δείγματα αίματος και ιστού λήφθηκαν 48 ώρες μετά τη διαδικασία. Οι τιμές στον ορό των κυστατίνη C, sCr και BUN ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην δεύτερη ομάδα (CM και ταδαλαφίλη) σε σύγκριση με την πρώτη ομάδα (χορήγηση CM μόνο). Οι συγκεντρώσεις της μαλονιαλδιαλδεϋδης στον ορό και στους ιστούς ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην δεύτερη ομάδα από ότι στην πρώτη ομάδα. Αυτά τα αποτελέσματα κατέδειξαν το προστατευτικό αποτέλεσμα της ταδαλαφίλης στην πρόληψη της CIN σε αρουραίους.

1.6 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διευκρίνιση του ρόλου του οξειδωτικού στρες στην οξεία νεφροτοξικότητα μέσω της μέτρησης δεικτών οξειδωτικού στρες, όπως TBARs, TAC, GSH, CAT, Carbonyls, καθώς και δεικτών νεφρικής λειτουργίας (ουρία, ουρικό, κρεατινίνη) σε νεφρολογικά υγιείς ασθενείς που υποβάλλονται σε προγραμματισμένη αξονική τομογραφία.

2. Υλικά και Μέθοδοι

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν δεκαεφτά (n=17) μη ισχαιμικοί ασθενείς που προσήλθαν στο Αμαλία Φλέμινγκ Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών για προγραμματισμένη αξονική τομογραφία για μυοσκελετικούς λόγους. Οι συμμετέχοντες αποτελούνταν από 12 άνδρες και 5 γυναίκες με μέσο όρο ηλικίας τα 72 έτη και μέσο βάρος τα 73 κιλά. Όλοι είχαν στατιστικά παρόμοιο προφίλ όσον αφορά την παθολογία και παρόμοιο μεταβολικό και βιοχημικό προφίλ. Εξαιρούνταν όσοι συμμετέχοντες είχαν κάποια παθολογία σχετικά με τους νεφρούς, την καρδιακή και ηπατική λειτουργία, νεοπλασματική νόσο, φλεγμονώδη νόσο και συστηματικό ερυθματώδη λύκο (SLE).

Για τη διεξαγωγή της μελέτης όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν έγγραφη συγκατάθεση για την συμμετοχή τους. Σε κάθε συμμετέχοντα, στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν τρεις αιμοληψίες σε τρεις διαφορετικές χρονικές περιόδους για την αξιολόγηση του γενικού μεταβολικού προφίλ, καθώς και για τους δείκτες οξειδωτικού στρες.

Η πρώτη αιμοληψία έλαβε χώρα κατά την εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο 20-60 λεπτά πριν από την χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου (t=0), η

δεύτερη αιμοληψία πραγματοποιήθηκε 2 ώρες μετά από την έγχυση του σκιαγραφικού μέσου και η τρίτη αιμοληψία σε 12-24 ώρες μετά από την χορήγηση του σκιαγραφικού κατά το εξιτήριο του ασθενούς. Σε όλους τους ασθενείς χορηγήθηκε ενδοφλέβια το ίδιο σκιαγραφικό μέσο, το οποίο ήταν το Ultravist sol 62.34% (30% ιώδιο, ιοπρομίδη), σε ποσότητες από 50 έως 100ml.

Στη συνέχεια από τα δείγματα που συλλέχθηκαν, εφόσον πρώτα επεξεργάστηκαν, διαχωρίστηκαν τα erpendorfs που περιείχαν το πλάσμα και τα δείγματα με το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα, και καταψύχθηκαν στους -80oC για έναν μήνα.

2.1 Επεξεργασία Αίματος

Στο εργαστήριο αμέσως μετά από κάθε αιμοληψία γινόταν η επεξεργασία των δειγμάτων για την συλλογή αιμόλυματος και πλάσματος. Το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα χρειαζόταν για τον προσδιορισμό της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) και της καταλάσης και το πλάσμα για τον προσδιορισμό των TBARS, των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Περιγραφή Μεθόδου:

1. Τοποθετούμε τα σωληνάρια συλλογής αίματος στην φυγόκεντρο και φυγοκεντρούμε στα 1370 g, για 10 λεπτά, στους 4 oC.
2. Συλλέγουμε το υπερκείμενο (πλάσμα) και το χωρίζουμε σε φιαλίδια erpendorf, ανάλογα με τις μετρήσεις που θα γίνουν.
3. Προσθέτουμε απιονισμένο νερό (1:1 v/v) στα ερυθροκύτταρα, τα οποία μετά τη φυγοκέντρηση βρίσκονται στο κάτω μέρος του falcon.
4. Ανακινούμε βίαια και φυγοκεντρούμε στα 4020 g, για 15 λεπτά, στους 4 oC.

5. Συλλέγουμε το υπερκείμενο, που είναι το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Οι μεμβράνες των ερυθροκυττάρων μένουν ως ίζημα πολύ μικρού όγκου (10-20 μL).
6. Χωρίζουμε σε eppendorf το αιμόλυμα ανάλογα με τις μετρήσεις που θα γίνουν και το διατηρούμε στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Στην συνέχεια καθαρίζεται το αιμόλυμα για τον προσδιορισμό της γλουταθειόνης.

1. Προσθέτουμε 500 μL αιμόλυματος σε 500 μL 5% TCA σε eppendorf και ανακινούμε στο vortex.
2. Φυγοκεντρούμε στα 20.000 g για 5 min στους $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Συλλέγουμε το υπερκείμενο σε eppendorf και προσθέτουμε 5% TCA με την εξής αναλογία: 300 μL αιμόλυματος / 90 μL 5% TCA και ανακινούμε στο vortex.
4. Φυγοκεντρούμε στα 20.000 g για 5 min στους $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
5. Μεταφέρουμε το καθαρό υπερκείμενο σε eppendorfs, τα οποία αποθηκεύονται στον καταψύκτη και θα χρησιμοποιηθούν για την μέτρηση της γλουταθειόνης.

2.2 Προσδιορισμός Δεικτών Οξειδωτικού Στρες

Για την αξιολόγηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των ερυθροκυττάρων προσδιορίζεται η συγκέντρωση της ανηγμένης γλουταθειόνης καθώς και η δραστηριότητα της καταλάσης. Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας συχνά προσδιορίζεται η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος του αίματος. Για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες, ένας από τους δείκτες που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσις των λιπιδίων είναι οι

ουσίες που αντιδρούν με τοθειοβαρβιτουρικό οξύ, ενώ για την καταστροφή των πρωτεϊνών χρησιμοποιούνται τα πρωτεϊνικά καρβονύλια.

2.3 Μέθοδοι.

Για να πραγματοποιηθεί η μέτρηση των δεικτών του οξειδωτικού στρες χρησιμοποιήθηκαν πέντε διαφορετικοί μέθοδοι, οι οποίοι στηρίζονταν στη φασματοφωτομετρική μέτρηση.

2.3.1 Προσδιορισμός των επιπέδων της GSH στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα.

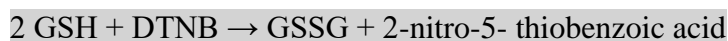
Η γλουταθειόνη (γ-γλουταμιλοκυστείνογλυκίνη) είναι η πιο άφθονηθειόλη (SH) στους ιστούς των ζώων και του ανθρώπου. Είναι ένα τριπεπτίδιο που αποτελείται από γλουταμινικό οξύ, γλυκίνη και κυστεΐνη. Οι αναγωγικές (αντιοξειδωτικές) της ιδιότητες παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια όπως και στο αντιοξειδωτικό σύστημα των περισσότερων αερόβιων κυττάρων. Η γλουταθειόνη απαντάται κυρίως στην ανηγμένη (GSH) και λιγότερο στην οξειδωμένη της μορφή (δισουλφίδιο της γλουταθειόνης, GSSG). Συνήθως, η GSSG είναι το 10% της GSH. Η GSH χρησιμοποιείται ως δείκτης της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Η GSH λειτουργεί ως συνένζυμο σε πολλά ένζυμα. Ενδεικτικά αναφέρονται η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης και ηθειολτρανσφεράση. Παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των φαρμάκων και του ασβεστίου καθώς και στη λειτουργία των αιμοπεταλίων και των κυτταρικών μεμβρανών. Είναι επίσης ζωτική η συμμετοχή της στην απομάκρυνση των ξενοβιοτικών ουσιών από τον οργανισμό, στην απομάκρυνση των υπεροξειδίων και

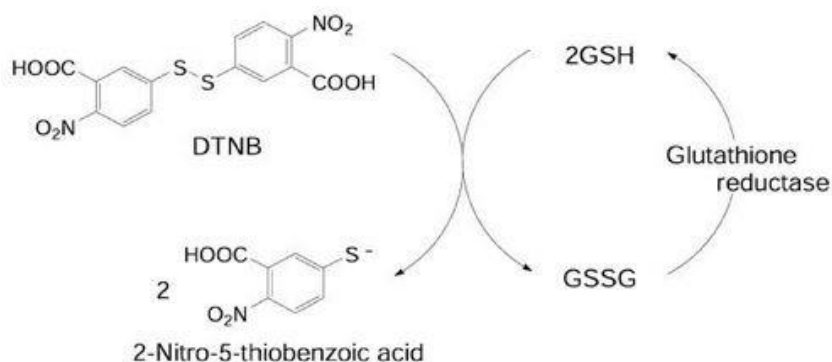
των ελεύθερων ριζών αλλά και στη μεταφορά των αμινοξέων διαμέσου των μεμβρανών.

Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην οξείδωση της GSH από το διθειόδικο νιτροβενζοϊκό οξύ (DTNB) και μετρείται σε αιμόλυμα. Η GSH αντιδρά με το DTNB παράγοντας GSSG και 2-νιτρο-5-θειοβενζοϊκό οξύ σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση, το οποίο είναι έγχρωμο προϊόν που απορροφάει στα 412 nm. (Y.N. Reddy, et al. 2004).



Η GSH παράγεται από την GSSG μέσω της δράσης της αναγωγάσης της γλουταθειόνης.



Εικόνα 3. Ανακύκλωση και αρχή προσδιορισμού της γλουταθειόνης.

Αντιδραστήρια.

•Phosphate buffer 67 mM (pH 7.95). MB (KH₂PO₄): 136 MB (Na₂HPO₄): 178. Για να δημιουργήσουμε 500 mL από το phosphate buffer φτιάχνουμε 25 mL KH₂PO₄ (67 mM) και 500 mL Na₂HPO₄ (67 mM). Για το KH₂PO₄ ζυγίζουμε 0.227 g και τα διαλύουμε σε 25 mL νερού. Για το Na₂HPO₄ ζυγίζουμε 5.94 g και τα

διαλύουμε σε 475 mL νερού. Σε ένα ποτήρι ζέσεως αναμιγνύουμε τα δύο διαλύματα. Διορθώνουμε με NaOH or HCl, 1 N μέχρι το pH να φτάσει την τιμή 7.95.

•DTNB (1mM) σε 1% κιτρικό νάτριο (sodium citrate) σε νερό. (39.6 mg DTNB σε 100 ml του 1% διαλύματος του κιτρικού νατρίου, για να δώσει μία συγκέντρωση του 1 mM). DTNB [5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)], MB:396.35

•Κιτρικό Νάτριο. (C₆H₅Na₃O₇*2H₂O, διένυδρο τρινάτριο, tri-sodium dihydrate), MB: 294.10. Το DTNB διαλύεται σε κιτρικό νάτριο το οποίο εμποδίζει σημαντικές αλλαγές στο pH.

Πειραματικό πρωτόκολλο.

Προθέτουμε τις παρακάτω ποσότητες σε φιαλίδια eppendorf:

	Blank	Sample
Phosphate buffer 67 mM, pH 7.95	660 μL	660 μL
DTNB 1 mM	330 μL	330 μL
Απεσταγμένο νερό	20 μL	-
Αιμόλυμα	-	20 μL

Υπολογισμοί.

Δραστικότητα της GSH (mmol/L) = (Absδείγματος – ΔAbstυφλού / 13.6) x 262.6, όπου το 262.6 είναι ο συντελεστής αραίωσης, που προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο (1010 μL) με τον όγκο του αιμόλυματος (20 μL) (1010 / 20 = 50.5), πολλαπλασιάζοντας με 2 για να συνυπολογίσουμε την 1:1 αραίωση που έγινε για τη λύση των ερυθροκυττάρων και με 2 x 1.3 για να συνυπολογίσουμε την πρώτη (500 μL αιμολ. / 500 μL 5% TCA) και τη δεύτερη αραίωση (390 μL / 300 μL) που έγιναν από το TCA 5%. Το 13.6 είναι ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DTNB. Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης μιας ουσίας ισούται με την απορρόφηση της ουσίας αυτής σε συγκέντρωση 1 mol/L.

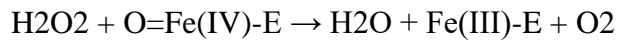
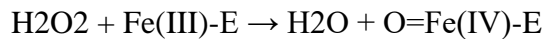
Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της GSH εκφράζεται ως προς την αιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός kit και πρέπει να εκφραστεί σε g/L ώστε η μονάδα αυτή να είναι σε συμφωνία με τη συγκέντρωση της GSH που υπολογίστηκε προηγουμένως (mmol/L). Έτσι, μετά τη φωτομέτρηση η τιμή της αιμοσφαιρίνης υπολογίζεται σε g/dL. Πολλαπλασιάζοντας την τιμή αυτή με 10 x 2, τη μετατρέπουμε σε g/L και ταυτόχρονα λαμβάνουμε υπόψη την 1:1 αραίωση κατά τη λύση των ερυθροκυττάρων. Έτσι λαμβάνουμε την συγκέντρωση της GSH ανά γραμμάριο αιμοσφαιρίνης. GSH (mmol/ g Hb).

2.3.2 Δραστικότητα της Καταλάσης.

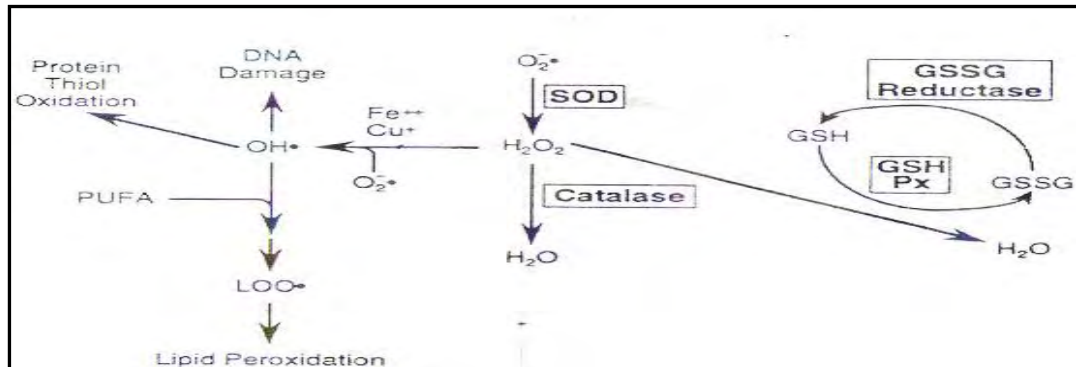
Αρχή της μεθόδου.

Η καταλάση είναι ένα κοινό ένζυμο, το οποίο απαντάται σε όλους σχεδόν τους ζωντανούς οργανισμούς που έρχονται σε επαφή με το οξυγόνο. Το υπεροξειδίου υδρογόνου διαμορφώνεται ως προϊόν μεταβολισμού σε πολλούς οργανισμούς. Είναι τοξικό και πρέπει να μετατραπεί γρήγορα σε άλλο, λιγότερο επικίνδυνη χημική ουσία. Για να διαχειριστεί αυτό το πρόβλημα, η ενζυμική καταλάση χρησιμοποιείται συχνά για να καταλύσει γρήγορα την αποσύνθεση του υπεροξειδίου υδρογόνου σε αβλαβή οξυγόνο και νερό. Chelikani P, et. al., (2004). Ένα μόριο καταλάσης μπορεί να μετατρέψει 83.000 μόρια H₂O₂ το δευτερόλεπτο σε νερό και οξυγόνο. Βρίσκεται στα υπεροξεισώματα, στα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα. Είναι ένα τετραμερές με 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες μεγέθους τουλάχιστον 500 αμινοξέων. Boon EM, et. al. (2007). Στο τετραμερές αυτό υπάρχουν 4 πορφυρινικές ομάδες αίμης, οι οποίες επιτρέπουν στην καταλάση να αντιδρά με το H₂O₂. Το ιδανικό της pH είναι το ουδέτερο. Η αντίδραση διάσπασης του H₂O₂ από την καταλάση είναι η ακόλουθη:
$$2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$$

Η αντίδραση πραγματοποιείται σε 2 στάδια:



(Όπου το σύμπλοκο Fe-E αντιπροσωπεύει το κέντρο με το σίδηρο της ομάδας της αίμης που είναι προσδεδεμένη στο ένζυμο).



Εικόνα 4. Μονοπάτι αναγωγής του H_2O_2 σε H_2O

Επίσης η καταλάση μπορεί να χρησιμοποιήσει το H_2O_2 για την απομάκρυνση τοξικών ουσιών (H_2A) με τη χρησιμοποίηση υποστρώματος (αιθανόλη), σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Για τον προσδιορισμό της δραστηρότητας της Καταλάσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του Aebi et al., (1984).

Αντιδραστήρια.

-Phosphate buffer 67mM (pH 7.4) MB (KH_2PO_4): 136 και MB (Na_2HPO_4): 178. Για να παρασκευάσουμε 500 mL του phosphate buffer ξεκινάμε πρώτα με 100 mL KH_2PO_4 (67 mM) και 400 mL Na_2HPO_4 (67 mM). Για το KH_2PO_4 ζυγίζουμε 0.91 g και τα διαλύουμε σε 100 mL νερού. Για το Na_2HPO_4 ζυγίζουμε 4.77 g και τα διαλύουμε σε 400 mL νερού. Σε ένα ποτήρι ζέσεως αναμιγνύουμε τα διαλύματα. Αν

χρειαστεί προσθέτουμε NaOH ή HCl, 1 N ώστε το pH του παραγόμενου διαλύματος να είναι 7.4.

30% υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂): Το διάλυμα H₂O₂ είναι έτοιμο προς χρήση.

Πειραματικό πρωτόκολλο.

Προσθέτουμε τους παρακάτω όγκους σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες:

	Δείγμα
Phosphate buffer 67 mM, pH 7.4	2991 μL
Αιμόλυμα αραιωμένο 1/10	4 μL

Πίνακας 5. Διαδοχική σειρά προσθήκης και οι ποσότητες των αντιδραστηρίων, για την μέτρηση της Καταλάσης.

Αναδεύουμε στο vortex και επωάζουμε στον κλίβανο στους 37 οC για 10 λεπτά. Είναι πιο πρακτικό να επωάζουμε 2 δείγματα κάθε φορά ώστε να είμαστε σίγουροι ότι τα δείγματα φωτομετρώνται αμέσως μετά την επώαση. Κατόπιν, μεταφέρουμε το περιεχόμενο του πλαστικού κυλίνδρου σε μία κυψελίδα για μέτρηση στο υπεριώδες (UV). Τέλος, προσθέτουμε 5 μL 30% H₂O₂ στην κυψελίδα, την ανακινούμε τρεις φορές χρησιμοποιώντας παραφίλμ στην κορυφή της και μετράμε την απορρόφηση στα 240 nm για 130 δευτερόλεπτα.

Υπολογισμοί

Δραστικότητα της καταλάσης (U/mg Hb) = (ΔAbs_{sample per min} / 40) x (750 x 1000 x 10 x 2) / Conc. Hb (mg/mL).

Όπου, το 40 (mol/L) είναι ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του H₂O₂ πολλαπλασιαζόμενος με 1000 για τη μετατροπή του σε μmol/mL. Το 750 είναι ο

παράγοντας αραίωσης που προκύπτει από τη διαίρεση του τελικού όγκου του κυλίνδρου (3000 μL) με τον όγκο του αιμολύματος (4 μL) ($3000 / 4 = 750$), το 10 προκύπτει από την 1:10 αραίωση του δείγματος και το 2 από την 1:1 λύση των ερυθροκυττάρων.

Ο υπολογισμός της δραστηριότητας της καταλάσης εκφράζεται ως προς την αιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός kit και πρέπει να εκφραστεί σε g/L . Έτσι, μετά τη φωτομέτρηση η τιμή της αιμοσφαιρίνης υπολογίζεται σε g/dL . Πολλαπλασιάζοντας την τιμή αυτή με 10 x 2, την μετατρέπουμε σε g/L και ταυτόχρονα λαμβάνουμε υπόψη την 1:1 αραίωση κατά τη λύση των ερυθροκυττάρων.

$\Delta \text{Abs (min)}$ = η μεταβολή της απορρόφησης σε ένα λεπτό. Η συγκέντρωση του H_2O_2 στην κυψελίδα είναι περίπου 16 mM .

$U = \mu\text{mol/min}$. $\Delta \text{Abs blank}$ είναι πάντοτε μηδέν και έτσι δεν απαιτείται μέτρηση του τυφλού.

2.3.3. Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (Total Antioxidant Capacity, TAC).

Ο όρος ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) αναφέρεται στην ικανότητα των συστατικών του πλάσματος του αίματος να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες. Κάθε συστατικό του πλάσματος έχει αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, κάθε ένα συνεισφέρει με διαφορετικό τρόπο στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, η οποία είναι γενικά ένα μέτρο της αντιοξειδωτικής κατάστασης ολόκληρου του οργανισμού.

Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τρόποι προσέγγισης της ποσοτικοποίησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος. Ο πρώτος είναι το άθροισμα της αντιοξειδωτικής ικανότητας του κάθε συστατικού του πλάσματος ξεχωριστά. Αυτός είναι ο πιο επίπονος τρόπος επειδή υπάρχουν πολλά μόρια που συνεισφέρουν στην

αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος. Ο δεύτερος τρόπος είναι η μέτρηση της TAC ως σύνολο.

Το ουρικό οξύ φαίνεται να είναι το μόριο που έχει τον πιο ισχυρό ρόλο στον καθορισμό της τιμής της TAC στο πλάσμα (55-60%) προκαλώντας μεγάλη αύξησή της όταν η συγκέντρωσή του αυξάνεται. Το ουρικό οξύ βρίσκεται σε πολύ πιο υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα σε σχέση με άλλα μόρια με εξαίρεση τις θειόλες. Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι το δεύτερο πιο ισχυρό μόριο στον καθορισμό της τιμής της TAC και ακολουθούν κατά σειρά οι βιταμίνες E και A. Οι βιταμίνες C και E μάλιστα είναι πιθανό να αποτελούν το 25 % της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος.

Αρχή της μεθόδου

Η TAC του ορού στη συγκεκριμένη μέθοδο υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Παρουσία ενός δότη υδρογόνων που υπάρχει στον ορό, η παραπάνω ρίζα (DPPH•) ανάγεται προς σχηματισμό της αντίστοιχης υδραζίνης (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine). Ο προσδιορισμός της TAC βασίστηκε στη μέθοδο των Janaszweska και Bartosz, (2002). Η μετατροπή της ρίζας υπολογίζεται με φωτομέτρηση στα 520 nm.

Αντιδραστήρια

•**Phosphate buffer** 10 mM (pH 7.4). MB (KH_2PO_4): 136 και MB (Na_2HPO_4): 178. Για να φτιάξουμε 500 mL του phosphate buffer φτιάχνουμε 100 mL KH_2PO_4 (10 mM) και 400 mL Na_2HPO_4 (10 mM). Για το KH_2PO_4 ζυγίζουμε 0.136 g και τα διαλύουμε σε 100 mL νερό. Για το Na_2HPO_4 ζυγίζουμε 0.712 g και τα διαλύουμε σε 400 mL νερό. Σε ένα ποτήρι ζέσεως χύνουμε τα διαλύματα και προσθέτουμε NaOH ή HCl, 1 N μέχρι το pH να φτάσει την τιμή 7.4.

•**DPPH** 0.1 mM. MB: 394.32

Διαλύουμε 0.02 g DPPH σε 5 mL μεθανόλης και τα αναμιγνύουμε με μαγνητάκι (10 mM). Μετά αραιώνουμε 100 φορές με μεθανόλη και τα αναμιγνύουμε ξανά με μαγνητάκι. Για παράδειγμα, αραιώνουμε 200 μL του 10 mM διαλύματος του DPPH σε 19.8 mL μεθανόλης (ποσό αρκετό για 10 δείγματα, συν το τυφλό και τον θετικό έλεγχο). Εξαιτίας της αραιώσης, ο αρχικός όγκος των 5 mL είναι πάντα αρκετός για πολλούς προσδιορισμούς. Καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο το ποτήρι ζέσεως, στο οποίο φτιάχνουμε το DPPH για να αποφύγουμε τη φωτόλυση. Το συγκεκριμένο διάλυμα φτιάχεται τη μέρα του πειράματος.

• **Ασκορβικό οξύ 10 mM.** Είναι έτοιμο προς χρήση.

Φυσιολογικά, η τιμή της απορρόφησης για το δείγμα που περιέχει το ασκορβικό οξύ (Positive Control) θα πρέπει να είναι χαμηλότερη και από την τιμή των δειγμάτων αλλά και του τυφλού. Ο λόγος είναι η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος (ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό μόριο) που έχουμε επιλέξει. Η τιμή της απορρόφησης των δειγμάτων, θα πρέπει να βρίσκεται ανάμεσα στις τιμές του τυφλού (η μεγαλύτερη τιμή) και του θετικού ελέγχου (η μικρότερη τιμή).

Πειραματικό πρωτόκολλο.

Προσθέτουμε τις ακόλουθες ποσότητες στα Eppendorfs:

	Blank	Θετικός control	Δείγμα
Phosphate buffer 10 mM, pH 7.4	500 μL	495 μL	480 μL
DPPH 0.1 mM	500 μL	500 μL	500 μL
Ασκορβικό Οξύ 10 mM	-	5 μL	-
Πλάσμα	-	-	20 μL

Πίνακας 6. Διαδοχική σειρά προσθήκης και οι ποσότητες των αντιδραστηρίων, για την μέτρηση της TAC.

Ανακινούμε τα Erppendorfs μερικές φορές και τα επωάζουμε στο σκοτάδι για 60 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της επώασης η αντιοξειδωτικές ουσίες του ορού εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH μετατρέποντάς τη στην πιο σταθερή ένωση υδραζίνη. Φυγοκεντρούμε για 3 λεπτά στα 20000 g στους 25 οC (για την καταβύθιση σωματιδίων που θα αυξήσουν την απορρόφηση). Μεταφέρουμε 900 mL από το υπερκείμενο με πιπέτα σε πλαστική κυψελίδα και μετράμε την απορρόφηση στα 520 nm. Επειδή είναι πιθανό η απορρόφηση του τυφλού να αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου, είναι σκόπιμη η επανάληψη της μέτρησης του τυφλού κάθε 5 περίπου δείγματα.

Υπολογισμοί.

Τα αποτελέσματα μπορούν να εκφραστούν ως:

i) % μείωση της απορρόφησης (Abs) σε σχέση με το τυφλό, πχ,

$$\% \text{ Abs μείωση} = (\text{Abs τυφλού} - \text{Abs δείγματος}) / \text{Abs τυφλού} \times 100$$

ii) $\mu\text{mol DPPH που απομακρύνθηκαν} / \text{mL πλάσματος} = [(\% \text{ Abs μείωση} / 100) \times 50 \times 50] / 1000.$

α) Διαιρούμε με το 100 με σκοπό να μετατρέψουμε την ποσοστιαία μείωση της απορρόφησης σε απλή μείωση της απορρόφησης.

β) Πολλαπλασιάζουμε με το 50 διότι η συγκέντρωση του DPPH στην κυψελίδα είναι 50 $\mu\text{mol/L}$ της κυψελίδας.

γ) Πολλαπλασιάζουμε με το 50 διότι η αραίωση του πλάσματος στην κυψελίδα είναι 50-πλάσια (1000 μL στην κυψελίδα / 20 μL πλάσματος του δείγματος στην κυψελίδα = 50).

δ) Διαιρούμε με το 1000 για να μετατρέψουμε τα L του πλάσματος σε mL ορού.

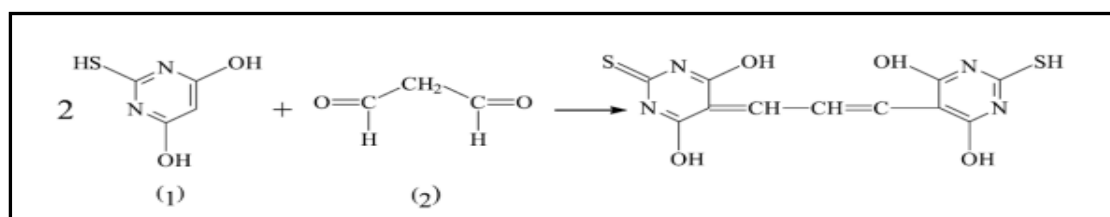
Παράδειγμα. Αν η % μείωση της απορρόφησης είναι 20, τα μmol του DPPH που απομακρύνθηκαν / mL πλάσματος είναι: $20 / 100 \times 50 \times 50 / 1000 = 0.5 \mu\text{mol DPPH}$

που απομακρύνθηκαν / mL πλάσματος ή 0.5 mmol DPPH που απομακρύνθηκαν / L πλάσματος ή 0.5 mmol DPPH/L.

2.3.4. Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS)

Αρχή της μεθόδου.

Το οξειδωτικό στρες στο κυτταρικό περιβάλλον έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό άκρων ενεργών και ασταθών υπεροξειδίων των λιπιδίων από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Προϊόν της διάσπασης αυτών των ασταθών μορίων είναι η μαλονδιαλδεΐδη. Η μαλονδιαλδεΐδη μπορεί να προσδιοριστεί μέσω της αντίδρασής της με το θειοβαρβιτουρικό οξύ. Έτσι, τα TBARS εκφράζονται σαν ισοδύναμα της μαλονδιαλδεΐδης, η οποία σχηματίζει μία ένωση με το θειοβαρβιτουρικό οξύ με αναλογία μαλονδιαλδεΐδης προς θειοβαρβιτουρικό οξύ 1/2. Η μέτρηση της μαλονδιαλδεΐδης είναι μία φωτομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό του βαθμού υπεροξείδωσης των λιπιδίων.



Εικόνα 7. Αντίδραση TBA (1) με MDA (2), που οδηγεί στην παραγωγή του μορίου TBA-MDA.

Για τον προσδιορισμό των TBARS χρησιμοποιήθηκε μια ελαφρά τροποποιημένη μέθοδος του Keles et al., (2001). Πριν ξεκινήσει η πειραματική διαδικασία ρυθμίζουμε το υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 95 οC.

Αντιδραστήρια.

•**Tris-HCl 200 mM (pH 7.4).** MB (Tris): 121.14. MB (HCl): 36.46 (stock 37%) [10.1 N]. Για να παρασκευάσουμε \approx 100 mL του Tris-HCl buffer φτιάχνουμε 25 mL Tris (200 mM) και 42 mL HCl (0.1 N). Για το Tris ζυγίζουμε 0.61 g και τα διαλύουμε σε 25 mL νερού. Για το HCl διαλύουμε 0.42 mL του stock 37% HCl (10.1 N) σε 42 mL νερού. Σε ένα ποτήρι ζέσεως ρίχνουμε τα 25 mL από το Tris και προσθέτουμε αργά τα 42 mL του HCl και μετά προσθέτουμε νερό ως τα 100 mL. Ελέγχουμε το pH αν είναι στο 7.4. Το Tris είναι συντομογραφία του τρισυδροξυμεθυλαμινομεθάνιου (trishydroxymethylaminomethane). Το Tris είναι κατάλληλο για τη δημιουργία ρυθμιστικών διαλυμάτων με pH από 6,5 μέχρι 9,7.

•**Διάλυμα Na₂SO₄ (2 M) – TBA (55 mM).** MB (TBA): 144.1 και MB (Na₂SO₄): 142.04. Για την παρασκευή 10 mL διαλύματος, ζυγίζουμε 2.84 g Na₂SO₄ και 0.08 g θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Τα μεταφέρουμε σε ένα ποτήρι ζέσεως και προσθέτουμε 10 mL νερού. Θερμαίνουμε και ανακατεύουμε με το μαγνητάκι μέχρι να διαλυθούν τα συστατικά πλήρως. Το συγκεκριμένο διάλυμα πρέπει να φτιάχνεται πάντοτε την ημέρα του πειράματος.

•**TCA 35%:** Ζυγίζουμε 35 g TCA και τα διαλύουμε σε απεσταγμένο νερό ώστε ο τελικός όγκος να φτάσει τα 100 mL νερού (σε θερμοκρασία δωματίου).

•**TCA 70%:** Ζυγίζουμε 70 g TCA και τα διαλύουμε σε απεσταγμένο ώστε ο τελικός όγκος να φτάσει τα 100 mL νερού (σε θερμοκρασία δωματίου).

Πειραματικό Πρωτόκολλο.

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες Falcon (15 ml) προσθέτουμε 100 μ L πλάσματος (για τα δείγματα) ή απεσταγμένο νερό (για το τυφλό). Προσθέτουμε 500 μ L TCA 35% και 500 μ L Tris-HCl και αναδεύουμε. Επιδράζουμε για 10 min σε θερμοκρασία

δοματίου. Προσθέτουμε 1 mL Na₂SO₄ – TBA και επωάζουμε στους 95 °C για 45 min στο υδατόλουτρο. Κατόπιν, μεταφέρουμε τους Falcon στον πάγο και τους αφήνουμε να κρυώσουν για 5 min. Προσθέτουμε 1 mL TCA 70% και αναδεύουμε. Μεταφέρουμε 1 mL σε eppendorfs και φυγοκεντρούμε στα 11200 g (10000 rpm) στους 25°C για 3 min. Τέλος, μεταφέρουμε με πιπέτα 900 μL από το υπερκείμενο σε κυψελίδα και μετράμε την απορρόφηση στα 530 nm.

Υπολογισμοί

Η συγκέντρωση των TBARS (μmol/L) = (Abs δείγματος – Abs τυφλού) / 0.156 x 31, όπου το 31 είναι ο συντελεστής αραίωσης, που προέρχεται από τη διαίρεση του τελικού όγκου (3100 μL) με τον όγκο του πλάσματος (100 μL) (3100 / 100 = 31). Το 0.156 προέρχεται από το συντελεστή μοριακής απόσβεσης* της MDA που είναι 156000 (mol/L) διαιρούμενου με 10⁻⁶ με σκοπό να μετατραπούν τα mol/L to μmol/L.

* Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης μιας ουσίας ισούται με την απορρόφηση της ουσίας αυτής σε συγκέντρωση 1 mol/L.

2.3.5. Πρωτεϊνικά καρβονύλια.

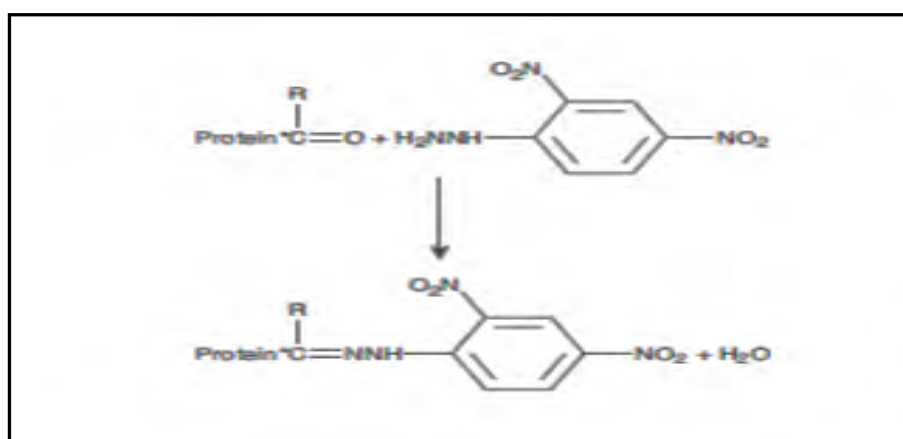
Αρχή της μεθόδου

Οι πρωτεΐνες και τα αμινοξέα είναι ευαίσθητα σε βλάβες προκαλούμενες από τις ελεύθερες ρίζες. Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια είναι ένας δείκτης της οξειδωσης των πρωτεϊνών και χρησιμοποιείται ευρέως. Οι καρβονυλικές ομάδες (αλδεϋδες και κετόνες) που αποτελούνται από ένα άτομο άνθρακα σε διπλό δεσμό με ένα άτομο οξυγόνου C = O, ως συνήθως αποτελούν μέρος σε άλλες μεγαλύτερες λειτουργικές ομάδες. Παράγονται κυρίως στις προσθετικές ομάδες της προλίνης (pro), της αργινίνης

(arg), της λυσίνης (lys) και της θρεονίνης (thr). Είναι ένας αξιόπιστος δείκτης οξείδωσης των πρωτεϊνών καθώς τα καρβονύλια είναι σταθερά μόρια.

Οι πρωτεΐνες που καρβονυλιώνονται υφίστανται μη αναστρέψιμες βλάβες καθώς εκτρέπονται από τη φυσιολογική τους λειτουργία. Οι καρβονυλιωμένες πρωτεΐνες σε μέτριο βαθμό, διασπώνται από το πρωτεόσωμα αλλά αν υποστούν πολύ δριμείες βλάβες τότε δεν μπορούν να διασπαστούν και συγκεντρώνονται σε συσσωματώματα υψηλού μοριακού βάρους.

Η καρβονυλίωση των πρωτεϊνών όχι μόνο επηρεάζει τη δική τους λειτουργία αλλά και τον τρόπο με τον οποίο λειτουργούν και άλλα βιομόρια. Για παράδειγμα, αν υποστούν καρβονυλίωση ένζυμα όπως εκείνα που επισκευάζουν το DNA ή οι DNA πολυμεράσες, το DNA δε θα επιδιορθώνεται ούτε θα αντιγράφεται με την απαραίτητη πιστότητα. Ο σχηματισμός των καρβονυλίων συνήθως ανιχνεύεται με την αντίδρασή τους με το DNPH (2,4-δίνιτροφαινυλδραζίνη) προς σχηματισμό του 2,4-δίνιτροφαινυλδραζονίου. Ο προσδιορισμός των καρβονυλίων βασίστηκε στη μέθοδο Patsoukis et. al., (2004).



Εικόνα 8. Σύνδεση πρωτεΐνης με την DNPH (δίνιτροφαινυλδραζίνη) και σχηματισμός του δίνιτροφαινυλδραζονίου.

Αντιδραστήρια

•**Διάλυμα HCl 2.5 N.** HCl: MB 36.46; stock 37% (10.1 N)

Για να παρασκευάσουμε 100 mL διαλύματος 2.5 N HCl, προσθέτουμε αργά 24.6 mL του 37% HCl (ίσο με 10.1 N HCl) σε ≈ 70 mL απεσταγμένου νερού και το φέρνουμε σε τελικό όγκο 100 mL με απεσταγμένο νερό. Κατά την παρασκευή του διαλύματος του 2,5 N HCl χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή επειδή το διάλυμα του 37 % είναι πολύ καυστικό. Πάντα η παρασκευή γίνεται κάτω από τον απαγωγό και φορώντας γάντια.

•**DNPH 14 mM.** (MB: 198.1)

Για να φτιάξουμε 100 mL 14 mM DNPH διαλύουμε 0.2833 g DNPH σε 100 mL 2.5 N HCl. Το διάλυμα αυτό φτιάχνεται πάντα τη μέρα του πειράματος. Όταν το ετοιμάσουμε το καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο γιατί είναι φωτοευαίσθητο. Απαιτούνται 0.5 mL για κάθε δείγμα. Φτιάχνουμε και ένα τυφλό για κάθε δείγμα.

•**Ουρία 5 M (pH 2.3).** (MB: 60.06): Για να φτιάξουμε 100 mL 5 M ουρίας (pH 2.3, το οποίο ρυθμίζεται με 2N HCl), διαλύουμε 30 g ουρίας in ≈ 70 mL απεσταγμένου νερού και το φέρνουμε σε τελικό όγκο 100 mL με απεσταγμένο νερό.

Πειραματικό πρωτόκολλο.

Σε 50 μ L πλάματος προσθέτουμε 50 μ L 20% TCA σε eppendorfs και αναδεύουμε στο vortex (κάθε δείγμα έχει το τυφλό του)*. Το 20% TCA προστίθεται με σκοπό να κατακρημνιστούν οι πρωτεΐνες του πλάσματος. Το TCA (τριχλωροξικό οξύ) χρησιμοποιείται ευρέως στη βιοχημεία για την κατακρήμιση μακρομορίων όπως πρωτεΐνες, DNA και RNA.

Επιάζουμε στον πάγο για 15 λεπτά και φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 5 λεπτά στους 4 oC και απομακρύνουμε το υπερκείμενο. Κατόπιν, προσθέτουμε στο ίζημα (πελέτα) 0.5 mL του 14 mM DNPH (διαλυμένο σε 2.5 N HCL) για τα δείγματα

ή 0.5 mL 2.5 N HCL για τα τυφλά (κάθε δείγμα έχει το δικό του τυφλό), διαλύουμε με την πιπέτα το ίζημα, αναδεύουμε και επωάζουμε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα με ενδιάμεση ανάδευση στο vortex κάθε 15 λεπτά. Μετά την πάροδο της μίας ώρας, φυγοκεντρούμε στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 οC.

Απομακρύνουμε το υπερκείμενο και προσθέτουμε 1 mL από το 10% TCA, αναδεύουμε (διαλύουμε με την πιπέτα το ίζημα αν χρειάζεται) και φυγοκεντρούμε στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 οC.

Απομακρύνουμε το υπερκείμενο και προσθέτουμε 0.5 mL αιθανόλης και 0.5 mL οξικού ειθυλεστέρα (αναλογία μίγματος, 1:1 v/v), κάνουμε vortex και φυγοκεντρούμε στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 οC. Το ίζημα πλένεται με 10% TCA και με μίγμα αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα για να απομακρυνθεί το DNPH που δεν έχει αντιδράσει. Αυτήν την διαδικασία την επαναλαμβάνουμε άλλες δύο (2) φορές και απομακρύνουμε το υπερκείμενο.

Προσθέτουμε 1 mL 5 M ουρία (pH 2.3), αναδεύουμε και επωάζουμε στους 37 οC για 15 λεπτά. Η ουρία προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών (διασπώντας τους ομοιοπολικούς δεσμούς) αυξάνοντας έτσι τη διαλυτότητά τους. Φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 3 λεπτά στους 4 οC. Τέλος, μεταφέρουμε με την πιπέτα 900 mL σε μία κυψελίδα και μετράμε την απορόφηση στα 375 nm.

*(Κάθε δείγμα έχει το τυφλό του. Το τυφλό περιέχει τα πάντα εκτός από τα 0.5 mL DNPH, τα οποία αντικαθίστανται 0.5 mL HCL 2.5 N).

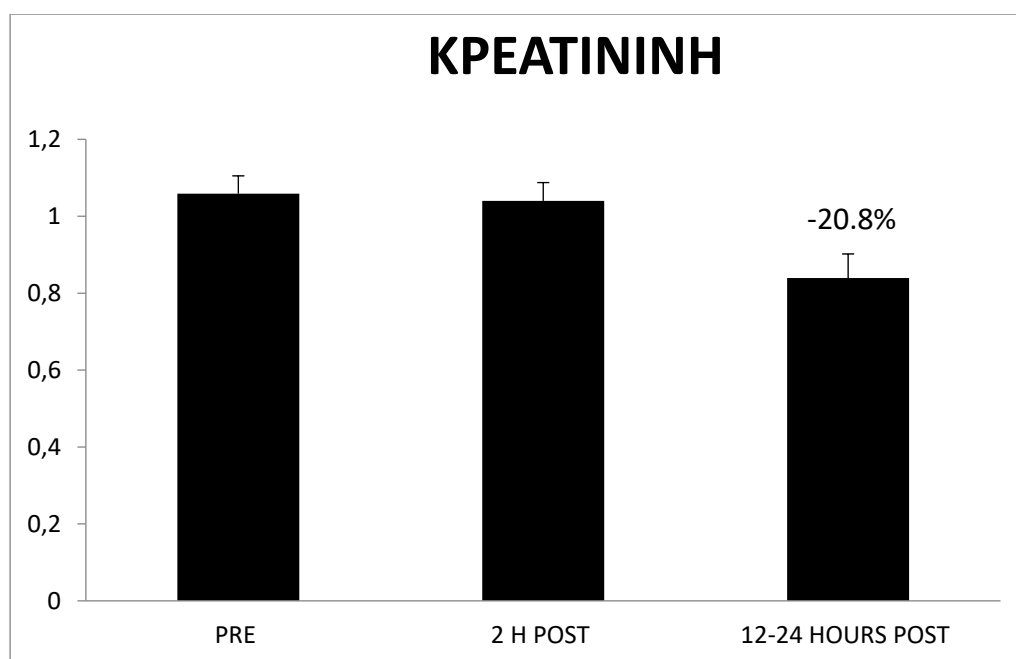
Υπολογισμοί.

Συγκέντρωση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol/mL) = Αδείγματος – Ατυφλού/0.022 x 1000/50. Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DNPH είναι 22mM x cm⁻¹. Το 1000/50 είναι ο συντελεστής αραίωσης (1000 μL στην κυψελίδα /50 μL δείγματος).

3.1 Αποτελέσματα

3.1.1 Αξιολόγηση νεφρικής λειτουργίας

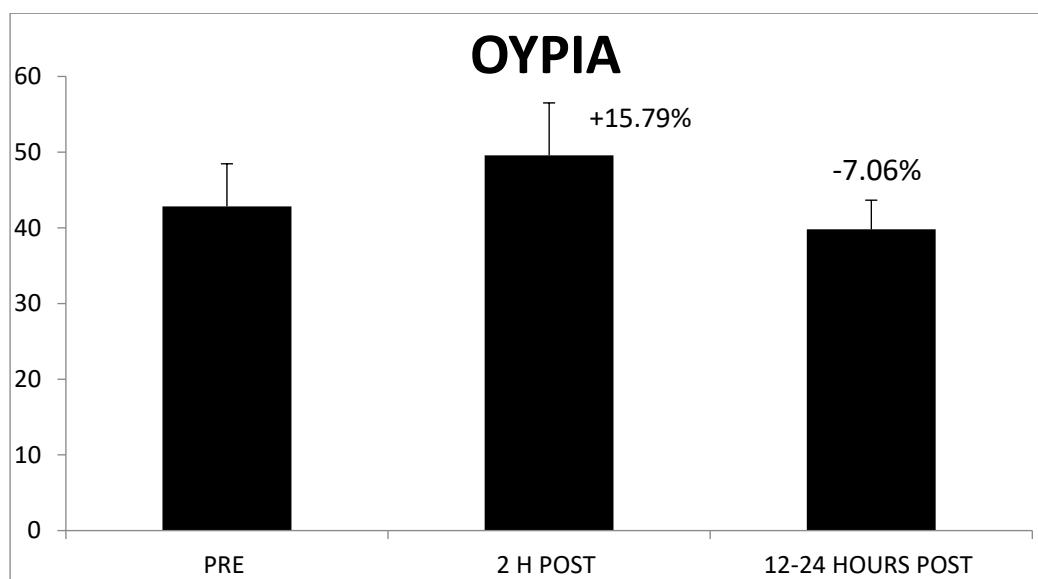
Για την εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας των ασθενών που συμμετείχαν στην μελέτη μετρήθηκαν οι δείκτες κρεατινίνης και ουρίας σε όλους τους ασθενείς για τις αντίστοιχες 3 χρονικές στιγμές που έλαβαν χώρα οι αιμοληψίες. Επίσης, από αυτές τις μετρήσεις αξιολογήθηκε η πιθανή επίδραση του σκιαγραφικού μέσου στα επίπεδα κρεατινίνης και ουρίας. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα για τα επίπεδα κρεατινίνης και ουρίας.



Διαγραμμα 1. Επίπεδα κρεατινίνης ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές

Παρατηρούμε ότι τα επίπεδα της κρεατινίνης δεν μεταβλήθηκαν σχεδόν καθόλου μετά από 2 ώρες από την χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου, και μειώθηκαν κατά 20,8% μετά από 12-24 ώρες ωστόσο στατιστικά μη σημαντικά.

Όσον αφορά τα επίπεδα της ουρίας, παρουσιάστηκε αύξηση αυτών κατά 15,79% κατά τις 2 πρώτες ώρες μετά τη χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου, η οποία ήταν όμως στατιστικά μη σημαντική. Ύστερα, από 12- 24 ώρες από την χορήγηση τα επίπεδα της ουρίας μειώθηκαν κατά 7,06%, αλλά κι αυτή την φορά στατιστικά μη σημαντικά.



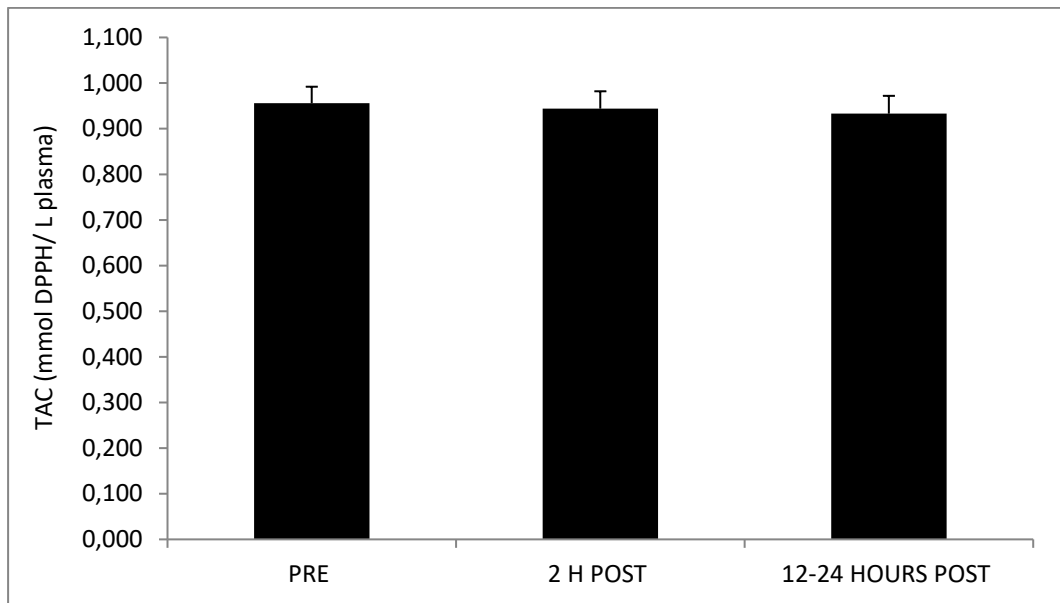
Διαγραμμα 2. Επίπεδα ουρίας ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές

Και στις 2 περιπτώσεις της ενδοφλέβιας χορήγησης του σκιαγραφικού μέσου φαίνεται να μην επηρεάζεται η νεφρική λειτουργία στατιστικά σημαντικά.

3.1.2. Αξιολόγηση των δεικτών του οξειδωτικού στρες

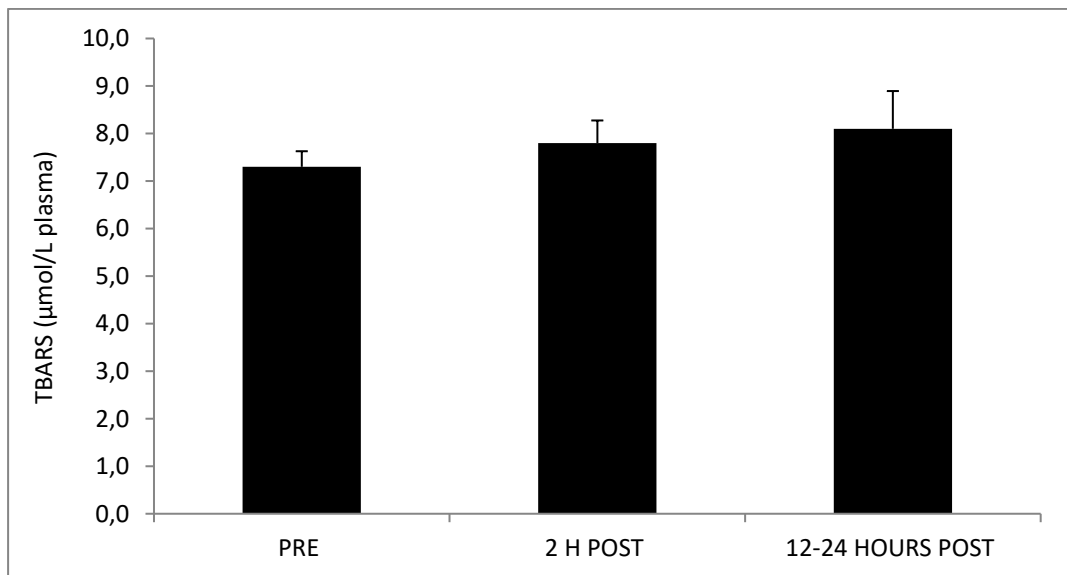
Για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες, μελετήθηκαν 5 δείκτες, οι οποίοι είναι η TAC, τα TBARS, τα πρωτεϊνικά καρβονύλια, η GSH και η CAT. Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων στις 3 διαφορετικές χρονικές στιγμές των αιμοληψιών.

Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC)



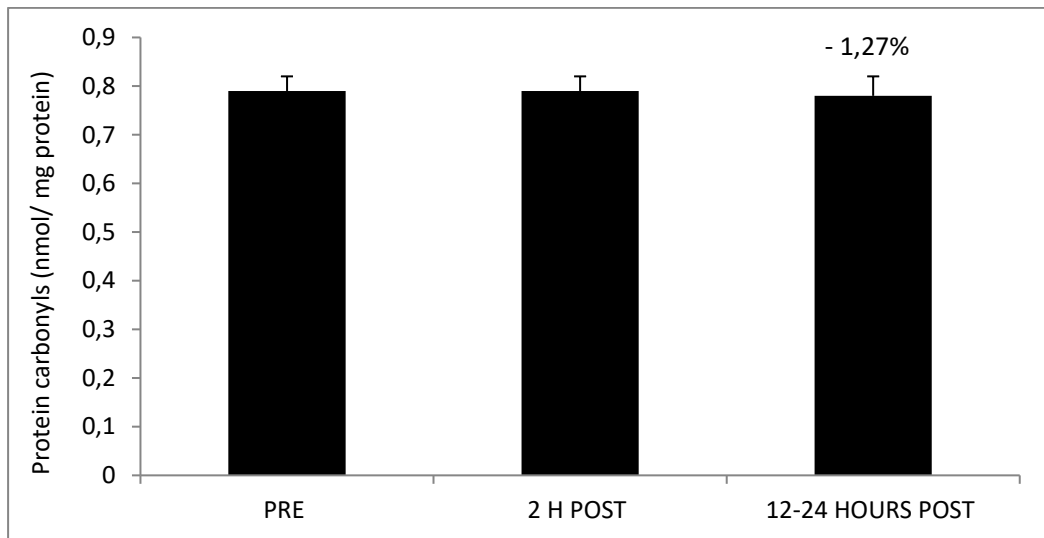
Διαγραμμα 3. Επίπεδα TAC των ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές

Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS)



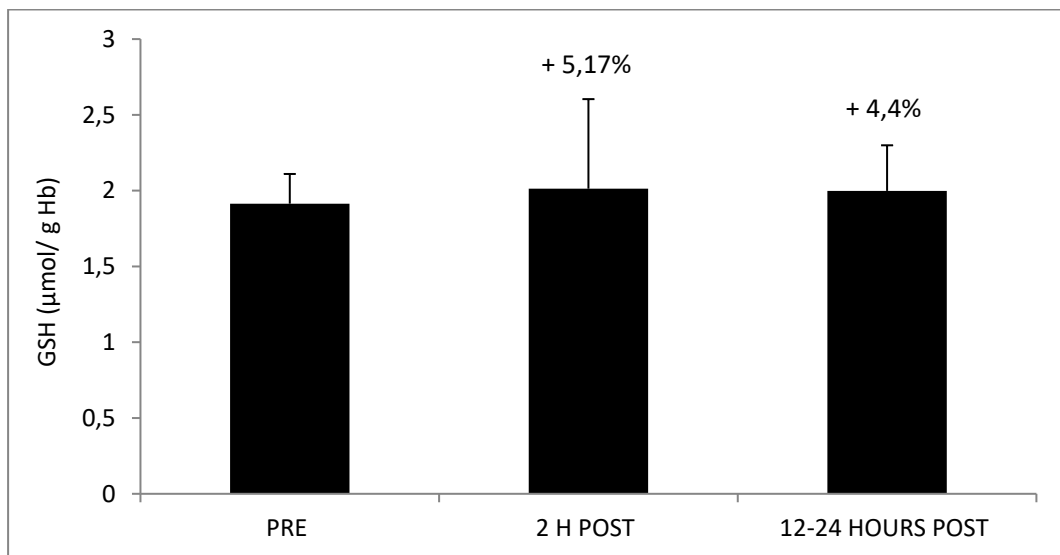
Διαγραμμα 4. Επίπεδα TBARS των ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές

Πρωτεϊνικά καρβονύλια (Carbonyls)



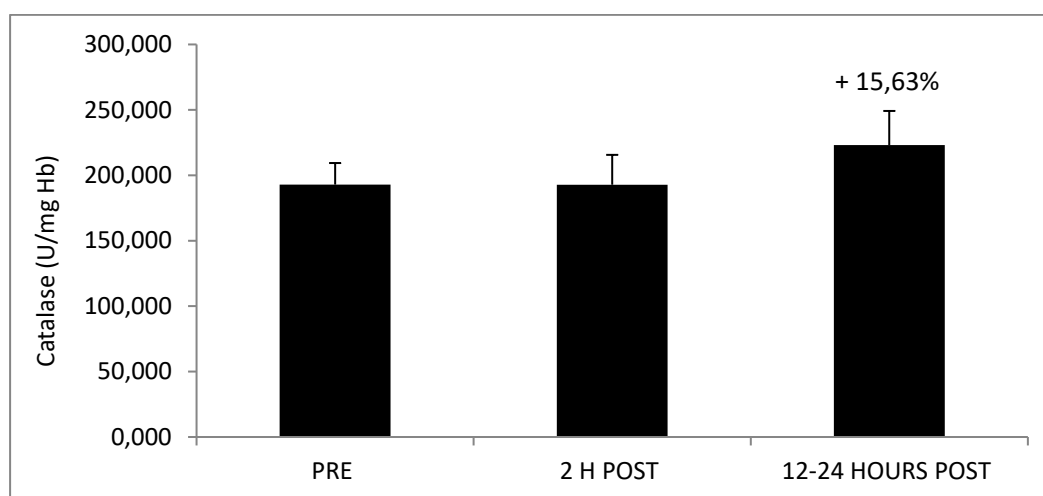
Διαγραμμα 5. Επίπεδα πρωτεϊνικών καρβονυλίων των ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές.

Ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH)



Διαγραμμα 6. Επίπεδα ανηγμένης γλουταθειόνης των ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές.

Δραστικότητα καταλάσης (CAT)



Διαγραμμα 7. Επίπεδα καταλάσης των ασθενών σε 3 χρονικές στιγμές.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρούμε ότι στην περίπτωση των μετρήσεων των καρβονυλίων, των TBARs και της TAC οι μεταβολές μεταξύ των χρονικών στιγμών πριν και μετά από 2 ώρες και 12-24 ώρες, ήταν σχεδόν μηδαμινές. Γεγονός που αποδεικνύει ότι η είσοδος του σκιαγραφικού μέσου στον οργανισμό δεν προκαλεί καμία αλλαγή στους παραπάνω δείκτες οξειδωτικού στρες και δεν ενεργοποιούνται οι αμυντικοί μηχανισμοί του οξειδωτικού στρες.

Επίσης, όσον αφορά τους άλλους δύο δείκτες του οξειδωτικού στρες, την γλουταθειόνη και την καταλάση, εκεί παρατηρήσαμε κάποια αλλαγή στις τιμές των δεικτών. Συγκεκριμένα, όσον αφορά η ποσότητα της ανηγμένης γλουταθειόνης παρουσίασε αύξηση κατά 5,17% 2 ώρες μετά την χορήγηση και 4,4% μετά από 12-14 ώρες μετά την χορήγηση. Τα επίπεδα της καταλάσης δεν μεταβλήθηκαν καθόλου 2 ώρες μετά την χορήγηση, αλλά αυξήθηκαν κατά 15,63% μετά από 12-24 ώρες από την χορήγηση του σκιαγραφικού. Ωστόσο, καμιά από τις παραπάνω μεταβολές δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Παρά το γεγονός ότι υπήρξε μεταβολή σ' αυτούς τους

2 δείκτες δεν φαίνεται να συνδέεται στατιστικά η χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου με το οξειδωτικό στρες.

3.2 Συζήτηση

Από τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούμε να συμπαιράνουμε ότι η ενδοφλέβια χορήγηση φαίνεται να είναι πιο ασφαλή μέθοδος, από την εναλλακτική της ενδοαγγειακή χορήγηση, καθώς παρατηρούμε ότι δεν επηρεάζει στατιστικά σημαντικά τους δείκτες της νεφρικής λειτουργίας και του οξειδωτικού στρες. Ωστόσο, θα πρέπει επίσης να διερευνηθεί ποια είναι η κατάλληλη ποσότητα σκιαγραφικού μέσου, δηλαδή η δόση, ώστε να υπάρχει η ελάχιστη επίπτωση για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Σύμφωνα με μελέτες, η υπερπαραγωγή του ενεργού οξυγόνου (ROS) πιστεύεται ότι συνδέεται στενά με την καρδιαγγειακή νόσο και τις επιπλοκές της. Σε μια πρόσφατη μελέτη τόσο σε ασθενείς με σταθερό CAD όσο και σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, τα επίπεδα αμινοθειολών κυστίνης στο πλάσμα και η γλουταθειόνη συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο μελλοντικού θανάτου ανεξάρτητα και προστιθέμενα στη φλεγμονή που εκτιμήθηκε με hs-CRP. Η παραγωγή ROS αποδίδεται σε αγγειακές ενζυματικές και μη ενζυματικές διεργασίες. Οι ενζυμικές διεργασίες περιλαμβάνουν την αποσύνδεση της συνθάσης νιτρικού οξειδίου (NOS), της οξειδάσης διουκλεοτιδίου νικοτιναμιδίου αδενίνης (NOX) και της οξειδάσης ξανθίνης, ενώ κύριες μη ενζυματικές πηγές ROS είναι τα μιτοχόνδρια, όπου παράγονται ROS στο σύμπλοκο I και III της αναπνευστικής αλυσίδας. Οι βασικές τιμές οξειδωτικού στρες των ασθενών με μελέτη CAD παρουσίασαν στοιχεία για ένα ξεχωριστό πρότυπο μεταβολών οξειδωτικού στρες. Η υπεροξειδωση των λιπιδίων μειώθηκε σημαντικά και η οξείδωση της πρωτεΐνης αυξήθηκε σε σύγκριση με τους ελέγχους που αντιστοιχούν σε ηλικιακά φύλα, ενώ οι αντιοξειδωτικές άμυνες των ασθενών CAD παρουσίαζαν

κυρίως μείωση της γλουταθειόνης παρά τα πρακτικά αμετάβλητα επίπεδα TAC. Στη μελέτη των T. Weinbrenner et al. η υπεροξειδωση των λιπιδίων δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ασθενών με CAD και των μαρτύρων, τα αυξημένα οξειδωμένα επίπεδα LDL και τα αυξημένα επίπεδα υπεροξειδίου της γλουταθειόνης χαρακτηρίζουν τους CAD ασθενείς. Ταυτόχρονα, οι Jia Li et al. διαπίστωσαν ότι η υπεροξειδωση των λιπιδίων, παρόμοια με τις παρατηρήσεις μας, αυξήθηκε σημαντικά σε ασθενείς με CAD σε σύγκριση με τους μάρτυρες πριν την έναρξη της θεραπείας με στατίνη και επέστρεψε σε επίπεδα παρόμοια με τα επίπεδα ελέγχου μετά τη θεραπεία.

Κατά τη ρύθμιση της CA και της διαδερμικής στεφανιαίας παρέμβασης, το οξειδωτικό στρες εμφανίζεται ως μια επικίνδυνη και συχνά υποτιμημένη παράμετρος για την πρόκληση CIN, ενώ στις κλινικές μελέτες οι πρώτες προσπάθειες αντιοξειδωτικής συμπλήρωσης πριν ή μετά την CA δεν παρουσίασαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα στη βελτίωση της CIN. Λίγες μελέτες εξέτασαν το μεταβαλλόμενο περιβάλλον σχετικά με το οξειδωτικό στρες μετά από CA και συναφείς παρεμβάσεις, όπου χρησιμοποιήθηκε μηριαία αξιολόγηση. Στην εποχή της αυξανόμενης χρήσης της ακτινολογικής αξιολόγησης στην CA, θα μπορούσε να υποθεθεί ότι θα μεταβαλλόταν το μετα-διαδικαστικό οξειδωτικό προφίλ σε σύγκριση με τη μηριαία αξιολόγηση. Στην παρούσα μελέτη, όπου η ακτινολογική αξιολόγηση εφαρμόστηκε αποκλειστικά, δεν βρέθηκαν πρώιμες μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες. Στην μελέτη με ηλικιωμένους ασθενείς με σταθερή στηθάγχη που υποβάλλονται σε CA και PCI μέσω της μηριαίας οδού, οι Szewczyk-Golec et al. δεν βρήκαν διαφορές στα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και των μηνοδιαλδευδών. Οι Cizdek D et al., ωστόσο, ανέφεραν σημαντική αύξηση των TAC αμέσως μετά την PCI μέσω της μηριαίας οδού.

Η CIN μετά CA σχετίζεται με παρατεταμένη νοσηλεία και ενδονοσοκομειακή και μακροχρόνια θνησιμότητα. Σε μια προσπάθεια να μειωθεί η συχνότητα εμφάνισης

CIN με μια εφάπαξ ένεση μειωμένης γλουταθειόνης πριν από το CA, οι Wang C. et al παρατήρησαν ότι αυξήθηκε το TAC 24 ώρες μετά τη διαδικασία, ενώ μειώθηκαν τα επίπεδα MDA. Στη μελέτη μας τα επίπεδα TBARS δεν αυξήθηκαν 4-6 ώρες μετά την CA. Κατά τη ρύθμιση της πρωτοπαθούς PCI για έμφραγμα του μυοκαρδίου μέσω της μηριαίας οδού, οι Börekçi A et al. διαπίστωσαν ότι οι ασθενείς που ανέπτυξαν CIN είχαν χαμηλότερες βασικές τιμές συνολικής αντιοξειδωτικής κατάστασης και υψηλότερο δείκτη οξειδωτικού στρες και ολικού οξειδωτικού σε σύγκριση με ασθενείς που δεν είχαν CIN. Στην ανάλυση πολλαπλών μεταβλητών logistic regression, οι Börekçi A et al. διαπίστωσαν ότι ο δείκτης οξειδωτικού στρες και ο όγκος του σκιαγραφικού μέσου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες CIN, ενώ στη μελέτη μας μόνο οι τιμές κρεατινίνης βασικής γραμμής προέβλεπαν CIN.

Στην παρούσα μελέτη εκτίμησης παρά το γεγονός ότι δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές των οξειδωτικών δεικτών και η ενδοφλέβια χορήγηση του σκιαγραφικού δεν φαίνεται να προκαλεί νεφροτοξικότητα στις 24h μετά τη χορήγηση, η μελέτη χρήζει περεταίρω αξιολόγησης καθώς η ενδοφλέβια χορήγηση του σκιαγραφικού αυξάνει (~15%) τα επίπεδα καταλάσης και TBARS έστω και στατιστικά μη σημαντικά. Συνεπώς, το οξειδωτικό στρες μπορεί να είναι πρόδρομος μηχανισμός της νεφροτοξικότητας.

Η ακριβής παθοφυσιολογία της CIN παραμένει ασαφής. Οι συνέπειες της CIN μπορεί να είναι καταστροφικές, ειδικά στις ευάλωτες υποομάδες του γενικού πληθυσμού. Ωστόσο, η ανάγκη για την υποβολή του ασθενούς σε ιατρικές εξετάσεις με βάση το σκιαγραφικό μέσο και την επιτυχή παρέμβαση συνεχώς αυξάνεται. Όλοι οι ασθενείς θα πρέπει να αξιολογούνται για το κίνδυνο εμφάνισης CIN και θα πρέπει να προετοιμαστεί μια εξατομικευμένη στρατηγική κινδύνου-οφέλους. Η ενδοφλέβια επέκταση του όγκου με χρήση ισοτονικών υγρών πριν από τη χορήγηση του CM είναι

η παρέμβαση που αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική. Η αξία της χρήσης ενώσεων με αντιοξειδωτικές ιδιότητες εκτός από το διττανθρακικό νάτριο παραμένει αμφιλεγόμενη, δικαιολογώντας περαιτέρω κλινική έρευνα.

Η παρούσα μελέτη είναι πρωτότυπη ως προς το είδος της, καθώς μέχρι το διάστημα που πραγματοποιήθηκε δεν είχε πραγματοποιηθεί άλλη δημοσιευμένη έρευνα για συσχέτιση της CIN με το οξειδωτικό στρες, συνεπώς αποτελεί ένα αρχικό βήμα για την μελέτη της σημαντικότητας του οξειδωτικού στρες στην CIN.

Βιβλιογραφία

- Abaci, O., Harmankaya, O., Kocas, B., Kocas, C., Bostan, C., Coskun, U., et al. (2015). Long term follow-up of patients at high risk for nephropathy after contrast exposure. *Angiology* 66, 514–518.
- Abujudeh, H. H., Gee, M. S., & Kaewlai, R. (2009). In emergency situations, should serum creatinine be checked in all patients before performing second contrast CT examinations within 24 hours? *Journal of the American College of Radiology* 6, 268–273.
- ACR Committee on Drugs and ContrastMedia (2016). *ACR manual on contrast media* (10.2 ed.). American College of Radiology.
- Aguiar-Souto, P., Ferrante, G., Del Furia, F., Barlis, P., Khurana, R., & Di Mario, C. (2010). Frequency and predictors of contrast-induced nephropathy after angioplasty for chronic total occlusions. *International Journal of Cardiology* 139, 68–74.
- Ajami, G., Derakhshan, A., Amoozgar, H., Mohamadi, M., Borzouee, M., Basiratnia, M., et al. (2010). Risk of nephropathy after consumption of nonionic contrast media by children undergoing cardiac angiography: A prospective study. *Pediatric Cardiology* 31, 668–673.
- Akdeniz, D., Celik, H. T., Kazanci, F., Yilmaz, H., Yalcin, S., Bilgic, M. A., et al. (2015). Is kidney injury molecule 1 a valuable tool for the early diagnosis of contrast-induced nephropathy? *Journal of Investigative Medicine* 63, 930–934.
- Akyuz, S., Yaylak, B., Altay, S., Kasikcioglu, H., & Cam, N. (2015). The role of statins in preventing contrast-induced acute kidney injury: A narrative review. *Angiology* 66, 701–707.
- Ali-Hassan-Sayegh, S., Mirhosseini, S. J., Ghodrati-pour, Z., Sarafan-Chaharsoughi, Z., Dehghan, A. M., Rahimizadeh, E., et al. (2016). Protective effects of anti-oxidant supplementations on contrast-induced nephropathy after coronary angiography: An updated and comprehensive meta-analysis and systematic review. *Kardiologia Polska* 74, 610–626.

- Anderson, S.M., Park, Z. H., & Patel, R. V. (2011). Intravenous N-acetylcysteine in the prevention of contrast media-induced nephropathy. *The Annals of Pharmacotherapy* 45, 101–107.
- Andreucci, M., Faga, T., Pisani, A., Sabbatini, M., & Michael, A. (2014a). Acute kidney injury by radiographic contrast media: Pathogenesis and prevention. *BioMed Research International* 2014, 362725.
- Andreucci, M., Faga, T., Pisani, A., Sabbatini, M., Russo, D., & Michael, A. (2014b). Prevention of contrast-induced nephropathy through a knowledge of its pathogenesis and risk factors. *Scientific World Journal* 2014, 823169.
- Ari, E., Kedrah, A. E., Alahdab, Y., Bulut, G., Eren, Z., Baytekin, O., et al. (2012). Antioxidant and renoprotective effects of paricalcitol on experimental contrast-induced nephropathy model. *The British Journal of Radiology* 85, 1038–1043.
- Authors/Task Forcemembers (2014). 2014 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *European Heart Journal* 35, 2541–2619.
- Azzalini, L., Spagnoli, V., & Ly, H. Q. (2016). Contrast-induced nephropathy: From pathophysiology to preventive strategies. *The Canadian Journal of Cardiology* 32, 247–255.
- Barrett, B. J., & Carlisle, E. J. (1993). Meta-analysis of the relative nephrotoxicity of high and low-osmolality iodinated contrast media. *Radiology* 188, 171–178.
- Barrett, B. J., & Parfrey, P. S. (2006). Clinical practice. Preventing nephropathy induced by contrast medium. *The New England Journal of Medicine* 354, 379–386.
- Baumgarten, D. A., & Ellis, J. H. (2008). Contrast-induced nephropathy: Contrast material not required? *American Journal of Roentgenology* 191, 383–386.

- Baykara, M., Silici, S., Ozcelik, M., Guler, O., Erdogan, N., & Bilgen, M. (2015). In vivo nephroprotective efficacy of propolis against contrast-induced nephropathy. *Diagnostic and Interventional Radiology* 21, 317–321.
- Boa, I. S., Porto, M. L., Pereira, A. C., Ramos, J. P., Scherer, R., Oliveira, J. P., et al. (2015). Resin from *Virola oleifera* protects against radiocontrast-induced nephropathy in mice. *PloS One* 10, e0144329.
- Borekci, A., Gur, M., Turkoglu, C., Cayli, M., Selek, S., Kaypakli, O., et al. (2015). Oxidative stress and paraoxonase 1 activity predict contrast-induced nephropathy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Angiology* 66, 339–345.
- Boscheri, A., Weinbrenner, C., Botzek, B., Reynen, K., Kuhlisch, E., & Strasser, R. H. (2007).
- Failure of ascorbic acid to prevent contrast-media induced nephropathy in patients with renal dysfunction. *Clinical Nephrology* 68, 279–286.
- Boyacioglu, M., Turgut, H., Akgullu, C., Eryilmaz, U., Kum, C., & Onbasili, O. A. (2014). The effect of L-carnitine on oxidative stress responses of experimental contrast-induced nephropathy in rats. *The Journal of Veterinary Medical Science* 76, 1–8.
- Briguori, C., Colombo, A., Airoidi, F., Melzi, G., Michev, I., Carlino, M., et al. (2006). Gadolinium-based contrast agents and nephrotoxicity in patients undergoing coronary artery procedures. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 67, 175–180.
- Briguori, C., Donnarumma, E., Quintavalle, C., Fiore, D., & Condorelli, G. (2015). Contrast-induced acute kidney injury: Potential new strategies. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 24, 145–153.
- Briguori, C., Quintavalle, C., De Micco, F., & Condorelli, G. (2011). Nephrotoxicity of contrast media and protective effects of acetylcysteine. *Archives of Toxicology* 85, 165–173.

- Briguori, C., Quintavalle, C., Donnarumma, E., & Condorelli, G. (2014). Novel biomarkers for contrast-induced acute kidney injury. *BioMed Research International* 2014, 568738.
- Caiazza, A., Russo, L., Sabbatini, M., & Russo, D. (2014). Hemodynamic and tubular changes induced by contrast media. *BioMed Research International* 2014, 578974.
- Caixeta, A., & Mehran, R. (2010). Evidence-based management of patients undergoing PCI: Contrast-induced acute kidney injury. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 75(Suppl. 1), S15–S20.
- Cetin, M., Devrim, E., Serin Kilicoglu, S., Erguder, I. B., Namuslu, M., Cetin, R., et al. (2008). Ionic high-osmolar contrast medium causes oxidant stress in kidney tissue: Partial protective role of ascorbic acid. *Renal Failure* 30, 567–572.
- Chatterjee, P. K., Brown, P. A., Cuzzocrea, S., Zacharowski, K., Stewart, K. N., Mota-Filipe, H., et al. (2001). Calpain inhibitor-1 reduces renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *Kidney International* 59, 2073–2083.
- Choi, D. E., Jeong, J. Y., Lim, B. J., Chung, S., Chang, Y. K., Lee, S. J., et al. (2009). Pretreatment of sildenafil attenuates ischemia-reperfusion renal injury in rats. *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 297, F362–F370.
- Chousterman, B. G., Bouadma, L., Moutereau, S., Loric, S., Alvarez-Gonzalez, A., Mekontso- Dessap, A., et al. (2013). Prevention of contrast-induced nephropathy by Nacetylcysteine in critically ill patients: Different definitions, different results. *Journal of Critical Care* 28, 701–709.
- Colbay, M., Yuksel, S., Uslan, I., Acarturk, G., Karaman, O., Bas, O., et al. (2010). Novel approach for the prevention of contrast nephropathy. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62, 81–89.
- Davenport, M. S., Cohan, R. H., & Ellis, J. H. (2015). Contrast media controversies in 2015: Imaging patients with renal impairment or risk of contrast reaction. *American Journal of Roentgenology* 204, 1174–1181.

- Davenport, M. S., Cohan, R. H., Khalatbari, S., & Ellis, J. H. (2014). The challenges in assessing contrast-induced nephropathy: Where are we now? *American Journal of Roentgenology* 202, 784–789.
- Davenport, M. S., Khalatbari, S., Cohan, R. H., Dillman, J. R., Myles, J. D., & Ellis, J. H. (2013). Contrast material-induced nephrotoxicity and intravenous low-osmolality iodinated contrast material: Risk stratification by using estimated glomerular filtration rate. *Radiology* 268, 719–728.
- de Almeida, L. S., Barboza, J. R., Freitas, F. P., Porto, M. L., Vasquez, E. C., Meyrelles, S. S., et al. (2016). Sildenafil prevents renal dysfunction in contrast media-induced nephropathy in Wistar rats. *Human & Experimental Toxicology* (Jan 20. pii:0960327115626582. Epub ahead of print).
- de Caestecker, M., Humphreys, B. D., Liu, K. D., Fissell, W. H., Cerda, J., Nolin, T. D., et al. (2015). Bridging translation by improving preclinical study design in AKI. *Journal of the American Society of Nephrology* 26, 2905–2916.
- Detrenis, S., Meschi, M., Musini, S., & Savazzi, G. (2005). Lights and shadows on the pathogenesis of contrast-induced nephropathy: State of the art. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 20, 1542–1550.
- Dong, M., Jiao, Z., Liu, T., Guo, F., & Li, G. (2012). Effect of administration route on the renal safety of contrast agents: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Nephrology* 25, 290–301.
- Dorval, J. F., Dixon, S. R., Zelman, R. B., Davidson, C. J., Rudko, R., & Resnic, F. S. (2013). Feasibility study of the RenalGuard balanced hydration system: A novel strategy for the prevention of contrast-induced nephropathy in high risk patients. *International Journal of Cardiology* 166, 482–486.
- Ellis, J. H., & Cohan, R. H. (2009). Prevention of contrast-induced nephropathy: An overview. *Radiologic Clinics of North America* 47, 801–811.

- Elmstahl, B., Nyman, U., Leander, P., Chai, C. M., Frennby, B., & Almen, T. (2004). Gadolinium contrast media are more nephrotoxic than a low osmolar iodine medium employing doses with equal X-ray attenuation in renal arteriography: An experimental study in pigs. *Academic Radiology* 11, 1219–1228.
- Endre, Z. H., & Pickering, J. W. (2010). Outcome definitions in non-dialysis intervention and prevention trials in acute kidney injury (AKI). *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 25, 107–118.
- Erley, C. M., Bader, B. D., Berger, E. D., Tuncel, N., Winkler, S., Tepe, G., et al. (2004). Gadolinium- based contrast media compared with iodinated media for digital subtraction angiography in azotaemic patients. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 19, 2526–2531.
- Fishbane, S. (2008). N-acetylcysteine in the prevention of contrast-induced nephropathy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3, 281–287.
- Gandhi, S., Mosleh, W., Abdel-Qadir, H., & Farkouh, M. E. (2014). Statins and contrast-induced acute kidney injury with coronary angiography. *The American Journal of Medicine* 127, 987–1000.
- Geenen RWF, Kingma HJ, van der Molen AJ. Contrast-induced nephropathy: pharmacology, pathophysiology and prevention. *Insights into Imaging*. 2013;4(6):811-820.
- Goldenberg, I., & Matetzky, S. (2005). Nephropathy induced by contrast media: Pathogenesis, risk factors and preventive strategies. *CMAJ* 172, 1461–1471.
- Golshahi, J., Nasri, H., & Gharipour, M. (2014). Contrast-induced nephropathy; a literature review. *Journal of Nephropathology* 3, 51–56.
- Han, W. K., Bailly, V., Abichandani, R., Thadhani, R., & Bonventre, J. V. (2002). Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney International* 62, 237–244.

- Heyman, S. N., Rosenberger, C., Rosen, S., & Khamaisi, M. (2013). Why is diabetes mellitus a risk factor for contrast-induced nephropathy? *BioMed Research International* 2013, 123589.
- Hiremath, S., Akbari, A., Shabana, W., Fergusson, D. A., & Knoll, G. A. (2013). Prevention of contrast-induced acute kidney injury: Is simple oral hydration similar to intravenous? A systematic review of the evidence. *PloS One* 8, e60009.
- Hogstrom, B., & Ikei, N. (2015). Physicochemical properties of radiographic contrast media, potential nephrotoxicity and prophylaxis. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 42, 1251–1257.
- Hosseinjani, H., Moghaddas, A., & Khalili, H. (2013). N-acetylcysteine for the prevention of non-contrast media agent-induced kidney injury: From preclinical data to clinical evidence. *European Journal of Clinical Pharmacology* 69, 1375–1390.
- Hsu, D. Z., Li, Y. H., Chu, P. Y., Periasamy, S., & Liu, M. Y. (2011). Sesame oil prevents acute kidney injury induced by the synergistic action of aminoglycoside and iodinated contrast in rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55, 2532–2536.
- Ishihara, M., Urushido, M., Hamada, K., Matsumoto, T., Shimamura, Y., Ogata, K., et al. (2013). Sestrin-2 and BNIP3 regulate autophagy and mitophagy in renal tubular cells in acute kidney injury. *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 305, F495–F509.
- Jang, J. S., Jin, H. Y., Seo, J. S., Yang, T. H., Kim, D. K., Kim, T. H., et al. (2012). Sodium bicarbonate therapy for the prevention of contrast-induced acute kidney injury — A systematic review and meta-analysis. *Circulation Journal* 76, 2255–2265.
- Jost, G., Lengsfeld, P., Lenhard, D. C., Pietsch, H., Hutter, J., & Sieber, M. A. (2011). Viscosity of iodinated contrast agents during renal excretion. *European Journal of Radiology* 80, 373–377.

- Jost, G., Pietsch, H., Lengsfeld, P., Hutter, J., & Sieber, M. A. (2010). The impact of the viscosity and osmolality of iodine contrast agents on renal elimination. *Investigative Radiology* 45, 255–261.
- Kagan, A., & Sheikh-Hamad, D. (2010). Contrast-induced kidney injury: Focus on modifiable risk factors and prophylactic strategies. *Clinical Cardiology* 33, 62–66.
- Kahn, J. K., Rutherford, B. D., McConahay, D. R., Johnson, W. L., Giorgi, L. V., Shimshak, T.M., et al. (1990). High-dose contrast agent administration during complex coronary angioplasty. *American Heart Journal* 120, 533–536.
- Kane, G. C., Doyle, B. J., Lerman, A., Barsness, G. W., Best, P. J., & Rihal, C. S. (2008). Ultralow contrast volumes reduce rates of contrast-induced nephropathy in patients with chronic kidney disease undergoing coronary angiography. *Journal of the American College of Cardiology* 51, 89–90.
- Kang, X., Hu, D. Y., Li, C. B., Ai, Z. S., & Peng, A. (2015). N-acetylcysteine for the prevention of contrast-induced nephropathy in patients with pre-existing renal insufficiency or diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Renal Failure* 37, 297–303.
- Karlsberg, R. P., Dohad, S. Y., Sheng, R., & Iodixanol Peripheral Computed Tomographic Angiography Study Investigator, P (2011). Contrast medium-induced acute kidney injury: Comparison of intravenous and intraarterial administration of iodinated contrast medium. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 22, 1159–1165.
- Katsiki, N., Athyros, V. G., Karagiannis, A., & Mikhailidis, D. P. (2015). Contrast-induced nephropathy: An “all or none” phenomenon? *Angiology* 66, 508–513.
- Katzberg, R.W., & Newhouse, J. H. (2010). Intravenous contrastmedium-induced nephrotoxicity: Is the medical risk really as great as we have come to believe? *Radiology* 256, 21–28.

- Keaney, J. J., Hannon, C. M., & Murray, P. T. (2013). Contrast-induced acute kidney injury: How much contrast is safe? *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 28, 1376–1383.
- Kooiman, J., van de Peppel, W. R., Sijpkens, Y.W., Brulez, H. F., de Vries, P. M., Nicolaie, M.A., et al. (2015). No increase in Kidney Injury Molecule-1 and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin excretion following intravenous contrast enhanced-CT. *European Radiology* 25, 1926–1934.
- Kurtoglu, T., Durmaz, S., Akgullu, C., Gungor, H., Eryilmaz, U., Meteoglu, I., et al. (2015). Ozone preconditioning attenuates contrast-induced nephropathy in rats. *The Journal of Surgical Research* 195, 604–611.
- Kwok, C. S., Pang, C. L., Yeong, J. K., & Loke, Y. K. (2013). Measures used to treat contrast-induced nephropathy: Overview of reviews. *The British Journal of Radiology* 86, 20120272.
- Lakhal, K., Ehrmann, S., Chaari, A., Laissy, J. P., Regnier, B., Wolff, M., et al. (2011). Acute Kidney Injury Network definition of contrast-induced nephropathy in the critically ill: Incidence and outcome. *Journal of Critical Care* 26, 593–599.
- Lauver, D. A., Carey, E. G., Bergin, I. L., Lucchesi, B. R., & Gurm, H. S. (2014). Sildenafil citrate for prophylaxis of nephropathy in an animal model of contrast-induced acute kidney injury. *PloS One* 9, e113598.
- Lee, H. C., Yen, H.W., & Sheu, S. H. (2006). Effects of different contrast media on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in the heart and kidneys of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of the Formosan Medical Association* 105, 530–535.
- Lenhard, D. C., Pietsch, H., Sieber, M. A., Ernst, R., Lengsfeld, P., Ellinghaus, P., et al. (2012). The osmolality of nonionic, iodinated contrast agents as an important factor for renal safety. *Investigative Radiology* 47, 503–510.

- Leoncini, M., Toso, A., Maioli, M., Tropeano, F., & Bellandi, F. (2013). Statin treatment before percutaneous coronary intervention. *Journal of Thoracic Disease* 5, 335–342.
- Li, Y., Liu, Y., Fu, L., Mei, C., & Dai, B. (2012). Efficacy of short-term high-dose statin in preventing contrast-induced nephropathy: A meta-analysis of seven randomized controlled trials. *PloS One* 7, e34450.
- Li,H.,Wang, C., Liu, C., Li, R., Zou,M., & Cheng, G. (2016). Efficacy of short-term statin treatment for the prevention of contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing coronary angiography/percutaneous coronary intervention: A meta-analysis of 21 randomized controlled trials. *American Journal of Cardiovascular Drugs* 16, 201–219.
- Liu, Y., Liu, Y. H., Tan, N., Chen, J. Y., Zhou, Y. L., Li, L.W., et al. (2014a). Comparison of the efficacy of rosuvastatin versus atorvastatin in preventing contrast induced nephropathy in patient with chronic kidney disease undergoing percutaneous coronary intervention. *PloS One* 9, e111124.
- Liu, Z. Z., Schmerbach, K., Lu, Y., Perlewitz, A., Nikitina, T., Cantow, K., et al. (2014b). Iodinated contrast media cause direct tubular cell damage, leading to oxidative stress, low nitric oxide, and impairment of tubuloglomerular feedback. *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 306, F864–F872.
- Ludwig, U., & Keller, F. (2014). Prophylaxis of contrast-induced nephrotoxicity. *BioMed Research International* 2014, 308316.
- Mathai, J. P., Germain, M., & Shore, G. C. (2005). BH3-only BIK regulates BAX, BAK-dependent release of Ca²⁺ from endoplasmic reticulum stores and mitochondrial apoptosis during stress-induced cell death. *The Journal of Biological Chemistry* 280, 23829–23836.

- McClennan, B. L. (1990). Preston M. Hickey memorial lecture. Ionic and nonionic iodinated contrastmedia: Evolution and strategies for use. *American Journal of Roentgenology* 155, 225–233.
- McCullough, P. A., & Brown, J. R. (2011). Effects of intra-arterial and intravenous iso-osmolar contrast medium (iodixanol) on the risk of contrast-induced acute kidney injury: A meta-analysis. *Cardiorenal Medicine* 1, 220–234.
- McCullough, P. A., Wolyn, R., Rocher, L. L., Levin, R. N., & O'Neill, W. W. (1997). Acute renal failure after coronary intervention: Incidence, risk factors, and relationship to mortality. *The American Journal of Medicine* 103, 368–375.
- McDonald, J. S., McDonald, R. J., Carter, R. E., Katzberg, R. W., Kallmes, D. F., & Williamson, E. E. (2014). Risk of intravenous contrast material-mediated acute kidney injury: A propensity score-matched study stratified by baseline-estimated glomerular filtration rate. *Radiology* 271, 65–73.
- McDonald, J. S., McDonald, R. J., Comin, J., Williamson, E. E., Katzberg, R. W., Murad, M. H., et al. (2013). Frequency of acute kidney injury following intravenous contrast medium administration: A systematic review and meta-analysis. *Radiology* 267, 119–128.
- Mehta, R. L., Kellum, J. A., Shah, S. V., Molitoris, B. A., Ronco, C., Warnock, D. G., et al. (2007). Acute Kidney Injury Network: Report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care* 11, R31.
- Merten, G. J., Burgess, W. P., Gray, L. V., Holleman, J. H., Roush, T. S., Kowalchuk, G. J., et al. (2004). Prevention of contrast-induced nephropathy with sodium bicarbonate: A randomized controlled trial. *JAMA* 291, 2328–2334.
- Michael, A., Giacoppo, D., Capodanno, D., Capranzano, P., Aruta, P., & Tamburino, C. (2014). Meta-analysis of randomized controlled trials of preprocedural statin administration for reducing contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing coronary catheterization. *BioMed Research International* 114, 541–548.

- Morcos, S. K. (2014). Can selective inhibitors of cyclic guanosine monophosphate (cGMP)-specific phosphodiesterase type 5 (PDE 5) offer protection against contrast induced nephropathy? *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery* 4, 214–215.
- Navaneethan, S. D., Singh, S., Appasamy, S., Wing, R. E., & Sehgal, A. R. (2009). Sodium bicarbonate therapy for prevention of contrast-induced nephropathy: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 53, 617–627.
- Naziroglu, M., Yoldas, N., Uzgur, E. N., & Kayan, M. (2013). Role of contrast media on oxidativestress, Ca(2+) signaling and apoptosis in kidney. *The Journal of Membrane Biology* 246, 91–100.
- Newhouse, J. H., & RoyChoudhury, A. (2013). Quantitating contrast medium-induced nephropathy: Controlling the controls. *Radiology* 267, 4–8.
- Nicola, R., Shaqdan, K.W., Aran, K., Mansouri, M., Singh, A., & Abujudeh, H. H. (2015). Contrast-induced nephropathy: Identifying the risks, choosing the right agent, and reviewing effective prevention and management methods. *Current Problems in Diagnostic Radiology* 44, 501–504.
- Nyman, U., Almen, T., Jacobsson, B., & Aspelin, P. (2012). Are intravenous injections of contrast media really less nephrotoxic than intra-arterial injections? *European Radiology* 22, 1366–1371.
- Oruc, O., Inci, K., Aki, F. T., Zeybek, D., Muftuoglu, S. F., Kilinc, K., et al. (2010). Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte infiltration. *Acta Histochemica* 112, 337–344.
- Owen, R. J., Hiremath, S., Myers, A., Fraser-Hill, M., & Barrett, B. J. (2014). Canadian Association of Radiologists consensus guidelines for the prevention of contrast-induced nephropathy: Update 2012. *Canadian Association of Radiologists Journal* 65, 96–105.

- Ozbek, K., Ceyhan, K., Koc, F., Sogut, E., Altunkas, F., Karayakali, M., et al. (2015). The protective effect of single dose tadalafil in contrast-induced nephropathy: An experimental study. *Anatolian Journal of Cardiology* 15, 306–310.
- Pannu, N., Wiebe, N., Tonelli, M., & Alberta Kidney Disease, N. (2006). Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 295, 2765–2779.
- Pappy, R., Stavrakis, S., Hennebry, T. A., & Abu-Fadel, M. S. (2011). Effect of statin therapy on contrast-induced nephropathy after coronary angiography: A meta-analysis. *International Journal of Cardiology* 151, 348–353.
- Park, S., Kim, M.-H., Kang, E., Park, S., Jo, H. A., Lee, H., Oh, K.-H., Joo, K.-W., Kim, Y., S, Kim, D. K. (2016). Contrast-Induced Nephropathy After Computed Tomography in Stable CKD Patients With Proper Prophylaxis: 8-Year Experience of Outpatient Prophylaxis Program. *Medicine*, 95(18), e3560.
- Pattharanitima, P., & Tasanarong, A. (2014). Pharmacological strategies to prevent contrast-induced acute kidney injury. *BioMed Research International* 2014, 236930.
- Pavlidis, A. N., Jones, D. A., Sirker, A., Mathur, A., & Smith, E. J. (2015). Prevention of contrast-induced acute kidney injury after percutaneous coronary intervention for chronic total coronary occlusions. *The American Journal of Cardiology* 115, 844–851.
- Peltier, J., Bellocq, A., Perez, J., Doublier, S., Dubois, Y. C., Haymann, J. P., et al. (2006). Calpain activation and secretion promote glomerular injury in experimental glomerulonephritis: Evidence from calpastatin-transgenic mice. *Journal of the American Society of Nephrology* 17, 3415–3423.
- Persson, P. B., Hansell, P., & Liss, P. (2005). Pathophysiology of contrast medium-induced nephropathy. *Kidney International* 68, 14–22.
- Pisani, A., Riccio, E., Andreucci, M., Faga, T., Ashour, M., Di Nuzzi, A., et al. (2013). Role of reactive oxygen species in pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy. *BioMed Research International* 2013, 868321.

- Pisani, A., Sabbatini, M., Riccio, E., Rossano, R., Andreucci, M., Capasso, C., et al. (2014). Effect of a recombinant manganese superoxide dismutase on prevention of contrast-induced acute kidney injury. *Clinical and Experimental Nephrology* 18, 424–431.
- Ramponi, S., Grotti, A., Morisetti, A., Vultaggio, S., & Lorusso, V. (2007). Effects of iodinated contrast media on endothelium: An in vitro study. *Toxicology In Vitro* 21, 191–196.
- Rancic, Z. S. (2016). Commentary on “Contrast induced nephropathy and long-term renal decline after percutaneous transluminal angioplasty for symptomatic peripheral arterial disease”. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 51, 394.
- Rewa, O., & Bagshaw, S. M. (2014). Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and economics. *Nature Reviews. Nephrology* 10, 193–207.
- Rezaee, M. A., Mohammadpour, A. H., Imenshahidi, M., Mahmoudi, M., Sankian, M., Tsarouhas, K., et al. (2016). Protective effect of erythropoietin on myocardial apoptosis in rats exposed to carbon monoxide. *Life Sciences* 148, 118–124.
- Rihal, C. S., Textor, S. C., Grill, D. E., Berger, P. B., Ting, H. H., Best, P. J., et al. (2002). Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 105, 2259–2264.
- Romano, G., Briguori, C., Quintavalle, C., Zanca, C., Rivera, N. V., Colombo, A., et al. (2008). Contrast agents and renal cell apoptosis. *European Heart Journal* 29, 2569–2576.
- Rushworth, G. F., & Megson, I. L. (2014). Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. *Pharmacology & Therapeutics* 141, 150–159.
- Russo, D., Aurelio, A., & Durante, A. (2014). Contrast-induced nephropathy in percutaneous coronary interventions: Pathogenesis, risk factors, outcome, prevention and treatment. *BioMed Research International* 128, 62–72.

- Sadat, U., Usman, A., Gillard, J. H., & Boyle, J. R. (2013). Does ascorbic acid protect against contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing coronary angiography: A systematic review with meta-analysis of randomized, controlled trials. *Journal of the American College of Cardiology* 62, 2167–2175.
- Saito, H. (2013). Toxicopharmacological perspective of the Nrf2-Keap1 defense system against oxidative stress in kidney diseases. *Biochemical Pharmacology* 85, 865–872.
- Saitoh, T., Satoh, H., Nobuhara, M., Machii, M., Tanaka, T., Ohtani, H., et al. (2011). Intravenous glutathione prevents renal oxidative stress after coronary angiography more effectively than oral N-acetylcysteine. *Heart and Vessels* 26, 465–472.
- Schiffli, H. (2015). Sodium bicarbonate infusion for prevention of acute kidney injury: No evidence for superior benefit, but risk for harm? *International Urology and Nephrology* 47, 321–326.
- Scoditti, E., Massaro, M., & Montinari, M. R. (2013). Endothelial safety of radiological contrast media: Why being concerned. *Vascular Pharmacology* 58, 48–53.
- Seeliger, E., Becker, K., Ladwig, M., Wronski, T., Persson, P. B., & Flemming, B. (2010). Up to 50-fold increase in urine viscosity with iso-osmolar contrast media in the rat. *Radiology* 256, 406–414.
- Seeliger, E., Flemming, B., Wronski, T., Ladwig, M., Arakelyan, K., Godes, M., et al. (2007). Viscosity of contrast media perturbs renal hemodynamics. *Journal of the American Society of Nephrology* 18, 2912–2920.
- Seeliger, E., Sendeski, M., Rihal, C. S., & Persson, P. B. (2012). Contrast-induced kidney injury: Mechanisms, risk factors, and prevention. *European Heart Journal* 33, 2007–2015.

- Senthilnathan, S., Gauvreau, K., Marshall, A. C., Lock, J. E., & Bergersen, L. (2009). Contrast administration in pediatric cardiac catheterization: Dose and adverse events. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 73, 814–820.
- Solomon, R. (2014). Contrast media: Are there differences in nephrotoxicity among contrast media? *BioMed Research International* 2014, 934947.
- Spargias, K., Alexopoulos, E., Kyrzopoulos, S., Iokovis, P., Greenwood, D. C., Manginas, A., et al. (2004). Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. *Circulation* 110, 2837–2842.
- Stacul, F., van der Molen, A. J., Reimer, P., Webb, J. A., Thomsen, H. S., Morcos, S. K., et al. (2011). Contrast induced nephropathy: Updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *European Radiology* 21, 2527–2541.
- Sterling, K. A., Tehrani, T., & Rudnick, M. R. (2008). Clinical significance and preventive strategies for contrast-induced nephropathy. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 17, 616–623.
- Subramaniam, R. M., Suarez-Cuervo, C., Wilson, R. F., Turban, S., Zhang, A., Sherrod, C., et al. (2016b). Effectiveness of prevention strategies for contrast-induced nephropathy: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Internal Medicine* 164, 406–416.
- Subramaniam, R. M., Wilson, R. F., Turban, S., Suarez-Cuervo, C., Zhang, A., Sherrod, C., et al. (2016a). Contrast-induced nephropathy: Comparative effectiveness of preventive measures [internet]. AHRQ comparative effectiveness reviews, report no.: 15(16)- EHC023-EF.
- Susantitaphong, P., & Eiam-Ong, S. (2014). Nonpharmacological strategies to prevent contrast- induced acute kidney injury. *BioMed Research International* 2014, 463608.
- Reddy YN, Murthy SV, Krishna DR, Prabhakar MC. Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. *Indian J Tuberc.* 2004; 213-218

- Tajiri, K., Maruyama, H., Sato, A., Shimojo, N., Saito, T., Endo, M., et al. (2011). Prediction of chronic renal insufficiency after coronary angiography by an early increase in oxidative stress and decrease in glomerular filtration rate. *Circulation Journal* 75, 437–442.
- Takagi, H., & Umemoto, T. (2011). A meta-analysis of randomized trials for effects of periprocedural atorvastatin on contrast-induced nephropathy. *International Journal of Cardiology* 153, 323–325.
- Tasanarong, A., Burgess, W. P., & Walker, P. J. (2014b). Mechanisms of contrast-induced nephropathy reduction for saline (NaCl) and sodium bicarbonate (NaHCO₃). *BioMed Research International* 2014, 510385.
- Tasanarong, A., Kongkham, S., & Itharat, A. (2014a). Antioxidant effect of *Phyllanthus emblica* extract prevents contrast-induced acute kidney injury. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14, 138.
- Tepel, M., van der Giet, M., Schwarzfeld, C., Laufer, U., Liermann, D., & Zidek, W. (2000). Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *The New England Journal of Medicine* 343, 180–184.
- Trivedi, H., & Foley, W. D. (2010). Contrast-induced nephropathy after a second contrast exposure. *Renal Failure* 32, 796–801.
- Tumlin, J., Stacul, F., Adam, A., Becker, C. R., Davidson, C., Lameire, N., et al. (2006). Pathophysiology of contrast-induced nephropathy. *The American Journal of Cardiology* 98, 14K–20K.
- Ueda, J., Nygren, A., Hansell, P., & Ulfendahl, H. R. (1993). Effect of intravenous contrast media on proximal and distal tubular hydrostatic pressure in the rat kidney. *Acta Radiologica* 34, 83–87.
- Ukaigwe, A., Karmacharya, P., Mahmood, M., Pathak, R., Aryal, M. R., Jalota, L., et al. (2014). Meta-analysis on efficacy of statins for prevention of contrast-induced acute

kidney injury in patients undergoing coronary angiography. *The American Journal of Cardiology* 114, 1295–1302.

- Wang, C., Wang, W., Ma, S., Lu, J., Shi, H., & Ding, F. (2015a). Reduced glutathione for prevention of renal outcomes in patients undergoing selective coronary angiography or intervention. *Journal of Interventional Cardiology* 28, 249–256.
- Wang, N., Wei, R. B., Li, Q. P., Yang, X., Li, P., Huang, M. J., et al. (2015b). Renal protective effect of probucol in rats with contrast-induced nephropathy and its underlying mechanism. *Medical Science Monitor* 21, 2886–2892.
- Wang, F., Zhang, G., Zhou, Y., Gui, D., Li, J., Xing, T., et al. (2014). Magnolin protects against contrast-induced nephropathy in rats via antioxidation and antiapoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014, 203458.
- Weisbord, S. D., Gallagher, M., Kaufman, J., Cass, A., Parikh, C. R., Chertow, G. M., et al. (2013). Prevention of contrast-induced AKI: A review of published trials and the design of the prevention of serious adverse events following angiography (PRESERVE) trial. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 8, 1618–1631.
- Weisbord, S. D., & Palevsky, P. M. (2015). Contrast-associated acute kidney injury. *Critical Care Clinics* 31, 725–735
- Westhoff, J. H., Seibert, F. S., Waldherr, S., Bauer, F., Tonshoff, B., Fichtner, A., et al. (2017). Urinary calprotectin, kidney injury molecule-1, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of adverse outcome in pediatric acute kidney injury. *European Journal of Pediatrics* 176, 745–755.
- Wi, J., Ko, Y. G., Kim, J. S., Kim, B. K., Choi, D., Ha, J.W., et al. (2011). Impact of contrast-induced acute kidney injury with transient or persistent renal dysfunction on longterm outcomes of patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention. *Heart* 97, 1753–1757.

- Wu, M. Y., Hsiang, H. F., Wong, C. S., Yao, M. S., Li, Y. W., Hsiang, C. Y., et al. (2013). The effectiveness of N-acetylcysteine in preventing contrast-induced nephropathy in patients undergoing contrast-enhanced computed tomography: A meta-analysis of randomized controlled trials. *International Urology and Nephrology* 45, 1309–1318.
- Xu, R., Tao, A., Bai, Y., Deng, Y., & Chen, G. (2016). Effectiveness of N-acetylcysteine for the prevention of contrast-induced nephropathy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of the American Heart Association* 5, e003968.
- Yang, Y., Wu, Y. X., & Hu, Y. Z. (2015). Rosuvastatin treatment for preventing contrast-induced acute kidney injury after cardiac catheterization: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine (Baltimore)* 94, e1226.
- Zhang, B. C., Li, W. M., & Xu, Y. W. (2011a). High-dose statin pretreatment for the prevention of contrast-induced nephropathy: A meta-analysis. *The Canadian Journal of Cardiology* 27, 851–858.
- Zhang, B., Liang, L., Chen, W., Liang, C., & Zhang, S. (2015). The efficacy of sodium bicarbonate in preventing contrast-induced nephropathy in patients with pre-existing renal insufficiency: A meta-analysis. *BMJ Open* 5, e006989.
- Zhang, T., Shen, L. H., Hu, L. H., & He, B. (2011b). Statins for the prevention of contrast-induced nephropathy: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Nephrology* 33, 344–351.
- Zhao, Z., Liao, G., Zhou, Q., Lv, D., Holthfer, H., & Zou, H. (2016). Sulforaphane attenuates contrast-induced nephropathy in rats via Nrf2/HO-1 pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016, 9825623.

- Zhao, B., Zhao, Q., Li, J., Xing, T., Wang, F., & Wang, N. (2015). Renalase protects against contrast-induced nephropathy in Sprague-Dawley rats. *PloS One* 10, e0116583.
- Zhou, L., & Chen, H. (2012). Prevention of contrast-induced nephropathy with ascorbic acid. *Internal Medicine* 51, 531–535.
- Zhou, Y., Yuan, W. J., Zhu, N., & Wang, L. (2011). Short-term, high-dose statins in the prevention of contrast-induced nephropathy: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Nephrology* 76, 475–483.
- Zoungas, S., Ninomiya, T., Huxley, R., Cass, A., Jardine, M., Gallagher, M., et al. (2009). Systematic review: Sodium bicarbonate treatment regimens for the prevention of contrast-induced nephropathy. *Annals of Internal Medicine* 151, 631–638.