

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE
BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu devant le jury interrégional

Le 19 décembre 2014

Par *Emilie SACCHETTO*

Conformément aux dispositions du Décret n° 2012-172 du 3 février

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Intérêt de la NGAL comme marqueur précoce de l'insuffisance rénale aiguë dans le remplacement valvulaire aortique sous circulation extracorporelle chez les sujets âgés

Président : M. le Pr. Jean-Marie Bard, PU-PH, ICO, Saint-Herblain, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes

Membres du jury : Mme Edith BIGOT-CORBEL, Directrice de thèse, MCU-PH, Laboratoire de Biochimie, CHU de Nantes, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes

Mme le Pr. Maryvonne HOURMANT, PU-PH, Chef de service de néphrologie, CHU de Nantes, UFR de médecine, Nantes

M. Bertrand ROZEC, PH, Chef de service d'anesthésie et réanimation chirurgicale, CHU de Nantes

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD,

Pour avoir accepté de présider ce jury,

Veillez trouver ici ma profonde reconnaissance.

À Madame Edith BIGOT-CORBEL,

Pour avoir accepté de diriger ce travail,

Je vous remercie pour votre soutien, vos conseils avisés, votre grande disponibilité et pour m'avoir fait aimer la Biochimie,

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

À Monsieur Bertrand ROZEC,

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse,

Pour votre collaboration et votre expertise au cours de cette étude,

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

À Madame le Professeur Maryvonne HOURMANT,

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse,

Pour l'honneur que vous me faites de juger ce travail,

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

À ma famille à qui je dédie cette thèse

À mes parents et ma sœur,

Pour avoir toujours été présents tout au long de ces 10 ans d'études,

Je vous remercie chaleureusement.

À François,

Pour ton amour et ton soutien depuis toutes ces années,

Pour tes compétences et ton énergie.

À mes amis

À Claire, Sébastien, Christophe, Astrid,

Pour tous les bons moments passés ensemble,

Pour votre présence et votre soutien tout au long de cette thèse.

À tous mes co-internes

Pour ces belles années d'internat.

SOMMAIRE

Liste des figures	1
Liste des tableaux	3
Liste des abréviations	5
INTRODUCTION	7
GÉNÉRALITÉS	8
I. Rappels sur le rein	9
1. Anatomie	9
1.1 Structure externe	9
1.2 Structure interne	9
2. Fonctions du rein	10
2.1 Fonction exocrine	10
2.2 Fonction endocrine	11
II. L'insuffisance rénale aiguë	12
1. Définition et classification	12
2. Étiologies de l'insuffisance rénale aiguë	14
2.1 L'insuffisance rénale aiguë pré-rénale ou fonctionnelle	15
2.2 L'insuffisance rénale aiguë rénale ou organique	15
2.3 L'insuffisance rénale aiguë par obstacle ou post-rénale	16
3. L'insuffisance rénale aiguë en contexte chirurgical	17
3.1 Incidence et mortalité de l'insuffisance rénale aiguë en contexte chirurgical	17
3.2 Les causes d'insuffisance rénale aiguë en contexte chirurgical	18
3.3 Les facteurs de risque de développer une insuffisance rénale aiguë en post-chirurgie	19
III. Indications du remplacement valvulaire aortique	20
IV. Méthodes d'exploration de la fonction rénale	21
1. Paramètre clinique : la diurèse	21
2. Paramètres biologiques	21
2.1 L'urée	21
2.2 La créatinine	24
a) Structure	24
b) Fonctions	25
c) Limites	27
2.3 Formules estimant la clairance ou le DFG	28
a) DFG et clairance	28
b) Formule de Cockcroft et Gault	29
c) Formule Modified Diet in Renal Disease (MDRD)	30
d) Formule Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)	31
e) Comparaison des formules entre elles	32
f) Particularité chez les personnes âgées	33
2.4 La protéinurie	33

a) Définition	33
b) Quantification	34
V. Les nouveaux marqueurs d'insuffisance rénale aiguë	35
1. La Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL)	36
1.1 Structure	36
1.2 Synthèse	36
1.3 Fonctions	37
a) Propriétés bactériostatiques	37
b) Rôle dans le transport du fer	38
c) Rôle dans la prolifération cellulaire	38
d) Marqueur d'insuffisance rénale aiguë	39
e) NGAL et sepsis	42
2. La cystatine C	43
2.1 Structure	43
2.2 Synthèse	44
2.3 Fonctions	44
2.4 Marqueur d'insuffisance rénale aiguë	44
2.5 Formules de calcul du DFG utilisant la cystatine C	46
3. La Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1)	48
4. L'interleukine 18 (IL-18)	49
5. La Liver Fatty Acid Binding Protein (L-FABP)	50
MATÉRIEL & MÉTHODES	52
I. Matériel	53
II. Méthodes	54
1. Dosages réalisés	54
2. Méthodes de dosage	55
2.1 Dosage de la créatinine	55
a) La technique colorimétrique basée sur la réaction de Jaffé	55
b) La technique enzymatique	56
2.2 Dosage de la NGAL	56
2.3 Dosage de la cystatine C	57
2.4 Formules utilisées pour estimer la clairance ou le DFG	57
2.5 Dosage des autres paramètres étudiés	59
3. Paramètres cliniques	61
4. Exploitation des résultats	62
RÉSULTATS	64
I. Données générales de la cohorte	65
II. Comparaison des techniques de dosage de la créatinine	69
III. Comparaison des différentes formules estimant la clairance ou le DFG	70
IV. Protocole NGAL	72
1. NGAL plasmatique	72
2. NGAL urinaire	74

3. Comparaison du pourcentage de variation de la NGAL et de la cystatine C avec les marqueurs usuels de la fonction rénale	77
4. Comparaison du pourcentage de variation de la NGAL et de la cystatine C	79
5. Autres paramètres étudiés	80
6. Analyse multivariée	81
DISCUSSION & PERSPECTIVES	82
CONCLUSION	88
BIBLIOGRAPHIE	90
ANNEXES	98

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure d'un néphron

Figure 2 : Classification Risk, Injury, Failure, Loss and End-stage kidney disease (RIFLE)

Figure 3 : Impact de l'insuffisance rénale à court et long terme après chirurgie cardiaque

Figure 4 : Les facteurs préopératoires, peropératoires et postopératoires peuvent influencer sur la fonction rénale et contribuer au développement d'une insuffisance rénale aiguë (IRA)

Figure 5 : Molécule d'urée

Figure 6 : Schéma de l'uréogénèse

Figure 7 : Formation de la créatinine

Figure 8 : Evolution des néphropathies

Figure 9 : Relation non linéaire entre la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire

Figure 10 : Composition protéique de l'urine chez le sujet sain (résultats en % de la protéinurie totale)

Figure 11 : Structure tridimensionnelle de la Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL)

Figure 12 : Modèle de la circulation du fer médiée par la NGAL

Figure 13 : Cinétique d'apparition de la NGAL sérique (A) et urinaire (B) chez des patients présentant ou non une IRA après chirurgie cardiaque

Figure 14 : NGAL plasmatique et urinaire chez des patients septiques ou non admis en soins intensifs (valeurs à T0, 12h, 24 et 48h après l'entrée aux soins intensifs)

Figure 15 : Structure primaire (A) et secondaire (B) de la cystatine C

Figure 16 : Performance des équations pour estimer le DFG (biais)

Figure 17 : Structure de Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1)

Figure 18 : Comparaison de la concentration de KIM-1 dans les urines dans différents contextes pathologiques

Figure 19 : Cinétique d'apparition de chaque marqueur dans les urines après circulation extra-corporelle (CEC)

Figure 20 : Droite de corrélation entre les 2 techniques de dosage de la créatinine

Figure 21 : Graphique de Bland & Altman représentant la différence entre les deux techniques de dosage de la créatinine (Jaffé compensée et enzymatique)

Figure 22 : Clairance ou DFG obtenus selon les différentes formules utilisées chez les 26 patients

Figure 23 : Valeurs de NGAL plasmatique dans les 2 groupes (n =13 dans chaque groupe)

Figure 24 : Cinétique de la NGAL plasmatique dans les 2 groupes (moyenne et écart-type à chaque temps)

Figure 25 : Courbe ROC de NGAL plasmatique à T2

Figure 26 : Valeurs de NGAL urinaire (A) et du rapport NGAL urinaire/créatininurie (B) chez l'ensemble des patients

Figure 27 : Courbe ROC de NGAL urinaire à T2

Figure 28 : Cinétique du rapport NGAL urinaire/créatininurie dans les 2 groupes (moyenne et écart-type à chaque temps)

Figure 29 : Comparaison de la NGAL plasmatique et de la créatininémie chez un patient présentant une IRA (A) et chez un patient ne présentant pas d'IRA (B)

Figure 30 : Pourcentage de variation de la créatininémie dans le groupe IRA et dans le groupe sans IRA

Figure 31 : Pourcentage de variation de NGAL et créatinine dans le groupe sans IRA (n = 13) (A) et dans le groupe IRA (n = 13) (B)

Figure 32 : Pourcentage de variation de la cystatine C et de la créatininémie dans le groupe sans IRA (A) et dans le groupe IRA (B)

Figure 33 : Pourcentage de variation de NGAL et de cystatine C dans le groupe sans IRA (A) et dans le groupe IRA (B)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques biologiques des insuffisances rénales fonctionnelles et organiques

Tableau 2 : Facteurs influençant la production et l'élimination de la créatinine

Tableau 3 : Comparaison de la créatinine et de la formule de Cockcroft et Gault en termes de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative

Tableau 4 : Equation Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) selon le sexe et la créatininémie

Tableau 5 : Comparaison des formules Cockcroft et Gault, Modified Diet in renal disease (MDRD) et Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI)

Tableau 6 : Ensemble des tissus et organes exprimant la NGAL

Tableau 7 : Etudes évaluant l'intérêt du dosage plasmatique ou urinaire de la NGAL comme marqueur prédictif de l'IRA après chirurgie cardiaque

Tableau 8 : Formules évaluant le DFG basées sur la cystatine C seule (CC) ou en combinaison avec la créatinine- 2008

Tableau 9 : Formules Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) basées sur la cystatine C en association ou non avec la créatinine

Tableau 10 : Domaines de validation des biomarqueurs de l'IRA

Tableau 11 : Equations MDRD utilisées en fonction du sexe

Tableau 12 : Equations CKD-EPI créatinine utilisées en fonction du sexe et de la créatinine

Tableau 13 : Equations CKD-EPI cystatine C utilisées en fonction du sexe et de la cystatine C

Tableau 14 : Equations CKD-EPI créatinine cystatine C utilisées en fonction du sexe, de la créatinine et de la cystatine C

Tableau 15 : Méthodologie, domaine de linéarité, coefficient de variation de reproductibilité et incertitude de mesure pour chaque paramètre étudié

Tableau 16 : Données cliniques recueillies pour chaque patient inclus dans l'étude

Tableau 17 : Données cliniques des patients inclus dans le protocole

Tableau 18 : Résultats biologiques des patients inclus dans le protocole (moyenne \pm écart-type)

Tableau 19 : Résultats de clairance et de DFG obtenus selon les différentes équations (mL/min/1.73 m²)

Tableau 20 : Coefficients de corrélation entre la clairance (CG) et DFG obtenus avec les différentes équations

LISTE DES ABREVIATIONS

ADQI	Acute Dialysis Quality Initiative
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AKIN	Acute Kidney Injury Network
ARA2	Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ASN	American Society of Nephrology
BMI	Body Mass Index
CEC	Circulation extracorporelle
CHU	Centre hospitalier universitaire
Cl	Clairance
CG	Cockcroft et Gault
CV	Coefficient de variation
Da	Daltons
DFG	Débit de filtration glomérulaire
DTPA	Acide diéthylène triamine penta acétique
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine
EER	Épuration extra-rénale
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
EPO	Erythropoïétine
GLDH	Glutamate deshydrogénase
GNEDS	Groupe nantais d'éthique dans le domaine de la santé
HAS	Haute Autorité de Santé
HTA	Hypertension artérielle
IDMS	Isotopic Dilution Mass Spectroscopy
IEC	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
IL-18	Interleukine 18
IRA	Insuffisance rénale aiguë
IRC	Insuffisance rénale chronique
ISN	International Society of Nephrology

K	Potassium
kDa	Kilodaltons
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIM-1	Kidney Injury Molecule-1
L-FABP	Liver- Fatty Acid Binding Protein
Lp(a)	Lipoprotéine (a)
MMP9	Matrix Metalloproteinase 9
Na	Sodium
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NGAL	Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin
NKF	National kidney Foundation
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCI	Produits de contraste iodé
PENIA	Particle Enhanced Nephelometric ImmunoAssay
PETIA	Particle Enhanced Turbidimetric ImmunoAssay
RIFLE	Risk, Injury, Failure, Loss and End-stage kidney disease
RVA	Remplacement valvulaire aortique
SCr	Créatininémie
Scys	Cystatine C sérique
TAVI	Transcatheter Aortic Valve Implantation
U Na/U K	Natriurèse/ kaliurèse
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WB	Western blot

INTRODUCTION

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est une des plus courantes (mais grave) complications survenant chez les patients hospitalisés ; l'incidence en augmentation ^{1,2,3} reflète une population vieillissante, ayant souvent plusieurs comorbidités associées.

Le remplacement valvulaire aortique (RVA) concerne une population de patients de plus en plus âgée et représente après les pontages l'une des interventions de chirurgie cardiothoracique les plus fréquentes. Les interventions chirurgicales, et en particulier les interventions de chirurgies cardiaques, peuvent se compliquer en postopératoire d'une IRA.

La survenue d'une IRA influence de manière péjorative le pronostic des patients, nécessitant un allongement de la durée d'hospitalisation et la nécessité dans certains cas de recourir à une épuration extra-rénale (EER). Le dépistage précoce de l'IRA dans ce contexte est essentiel pour améliorer la prise en charge de ces patients, et limiter les complications qui y sont liées. Actuellement, le marqueur de référence pour diagnostiquer une insuffisance rénale est la créatinine plasmatique. Malheureusement, ce marqueur est tardif puisqu'il s'élève entre 10 heures et 24 heures après l'initiation de l'atteinte rénale, entraînant donc un retard diagnostique et thérapeutique préjudiciable. Plusieurs biomarqueurs sont actuellement à l'étude afin de trouver un marqueur idéal, plus précoce que la créatinine, dans le diagnostic de l'IRA.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'intérêt du dosage de la NGAL (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin) en post chirurgie cardiaque (en prenant comme modèle la chirurgie de remplacement valvulaire aortique isolée) chez les patients âgés de plus de 75 ans. Dans ce cadre, le protocole NGAL a été mis en place à l'hôpital Guillaume et René Laennec, en collaboration avec le service d'anesthésie-réanimation (Dr B. Rozec).

Généralités

I. Rappels sur le rein

1. Anatomie

Le système urinaire est composé de 2 reins situés de part et d'autre de la colonne vertébrale et ayant la forme d'un haricot.

1.1 Structure externe

Chaque rein présente une partie concave (le hile) par laquelle pénètre l'artère rénale et d'où sort la veine rénale, assurant ainsi la vascularisation du rein. Le hile est également le lieu d'émergence des voies urinaires (uretères) vers la vessie.

1.2 Structure interne

Une coupe longitudinale du rein permet de distinguer 3 grandes régions :

- le cortex, qui représente la couche externe du rein immédiatement sous la capsule rénale
- la médulla, qui représente la partie médiane du rein et qui renferme les pyramides de Malpighi
- le bassinnet, qui est l'extrémité supérieure élargie de l'uretère.

L'urine élaborée à l'intérieur des pyramides de Malpighi est collectée dans le bassinnet, avant l'évacuation vers l'uretère, la vessie puis l'urètre. Chaque pyramide contient plus d'un million d'unités fonctionnelles appelées néphrons. Chaque néphron est constitué (figure 1) :

- d'un glomérule entouré par la capsule de Bowman
- d'un tubule, tube situé en sortie du glomérule et constitué du tube contourné proximal, de l'anse de Henlé, du tube contourné distal et du tube collecteur.

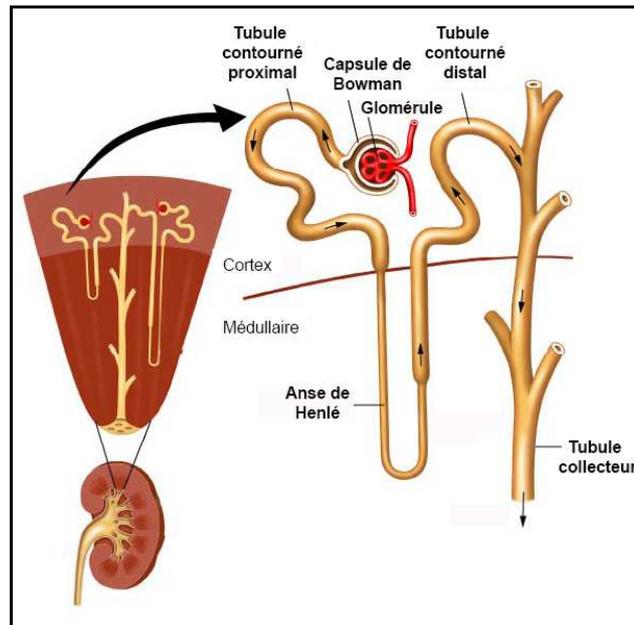


Figure 1 : Structure d'un néphron

Il existe deux types de néphrons :

- Les néphrons corticaux qui représentent 85 % des néphrons : ce sont des néphrons courts dont le glomérule est situé dans la région superficielle de la corticale ; ils ont une capacité de réabsorption faible
- Les néphrons juxta-glomérulaires qui représentent 15 % des néphrons : ils sont situés dans la corticale profonde et sont dotés d'une capacité de réabsorption de sodium importante.

2. Fonctions du rein

2.1 Fonction exocrine

Le rein permet l'élimination des déchets du métabolisme et des substances toxiques et participe ainsi au maintien de l'homéostasie en régulant l'équilibre hydro-électrolytique et acido-basique. Pour cela, on retrouve 3 étapes indispensables :

- L'ultrafiltration avec formation de l'urine primitive :

La membrane du glomérule filtre les molécules selon le poids moléculaire (ainsi, toutes les molécules supérieures à 67 000 daltons ne passent pas cette barrière), la charge électrique (la membrane basale étant chargée négativement, toutes les molécules chargées négativement ne passeront pas), et l'hémodynamique intrarénale (le débit sanguin rénal en sachant qu'il est de 1200 mL/min au repos soit 20 % du débit cardiaque). L'urine primitive s'accumule alors dans la capsule de Bowman avant d'être évacuée par le tubule.

Il est communément admis que le meilleur paramètre reflétant la fonction rénale est le débit de filtration glomérulaire (DFG) ; il correspond au débit de formation de l'urine primitive et les valeurs de référence du DFG estimé sont de 130 ± 20 mL/min/1.73 m². Pour le mesurer, il faut une substance librement filtrée, non sécrétée et non réabsorbée ; les marqueurs de référence sont exogènes (inuline, marqueur isotopique DTPA, Iohexol) et il n'existe pas de substance endogène remplissant intégralement ces conditions (l'ersatz acceptable est la créatinine).

- La réabsorption :

Elle a lieu au niveau du tubule et permet de réabsorber certains éléments filtrés grâce à des transporteurs spécifiques de certaines molécules comme le glucose au niveau du tube contourné proximal, des échanges d'ions au niveau des tubes contournés et de l'anse de Henlé et une réabsorption d'eau au niveau du tube contourné proximal, de l'anse de Henlé et du tube collecteur.

- La sécrétion rénale :

Cette dernière étape a lieu au niveau du tubule (et plus particulièrement les tubes contournés). Elle permet l'élimination de substances indésirables n'ayant pas été suffisamment filtrées par le glomérule (certains médicaments, ions H⁺, potassium par un mécanisme de transport actif).

2.2 Fonction endocrine

Le rein assure une fonction hormonale importante. Il est capable de synthétiser et de sécréter :

- la rénine, enzyme fabriquée par les cellules de la *macula densa* de l'appareil juxta

glomérulaire, responsable de la transformation de l'angiotensinogène en angiotensine I. L'angiotensine I est ensuite transformée en angiotensine II par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA). L'angiotensine I est un puissant vasoconstricteur et l'angiotensine II stimule la production d'aldostérone qui va permettre la réabsorption du sodium dans le tube collecteur. Ainsi, le rein assure la régulation de la tension artérielle via l'élimination hydrosodée.

- l'érythropoïétine (EPO) qui a un rôle stimulant dans la différenciation, la prolifération et la maturation de la lignée érythrocytaire.

- la vitamine D : le rein intervient dans l'hydroxylation de la forme inactive de la vitamine D (la 25-hydroxycholécaciférol) en forme active (1,25-dihydroxycholécaciférol) jouant un rôle majeur dans le métabolisme phosphocalcique et osseux.

Toutes ces fonctions sont donc essentielles pour le maintien de l'homéostasie de l'organisme. Cependant, certaines situations ou certaines pathologies vont entraîner une altération de la fonction rénale conduisant à l'IRA voire par la suite à l'insuffisance rénale chronique (IRC) (conséquence de l'IRA ou d'un autre mécanisme).

II. L'insuffisance rénale aiguë

1. Définition et classification

L'IRA est définie comme une altération rapide et brutale de la filtration glomérulaire entraînant une accumulation des substances normalement excrétées par le rein.

Les fonctions du rein ne sont alors plus respectées ce qui induit des troubles de l'équilibre acido-basique, une diminution de la diurèse (oligurie voire anurie) ainsi que la rétention de déchets et toxiques.

Dans la littérature, il existe une diversité de critères pour définir l'IRA conduisant à une grande confusion et rendant les comparaisons des résultats des différentes études difficiles.

Quelques critères sont communément admis :

- l'élévation de l'urémie
- l'augmentation de la créatininémie
- l'oligurie (signe inconstant)

Plusieurs classifications existent :

La classification RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss and End-stage kidney disease) élaborée en 2004 par le groupe ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) définissant l'IRA selon l'augmentation de la créatinine plasmatique et la réduction du débit urinaire et qui introduit deux paramètres pronostiques selon la durée de persistance de cette défaillance ⁴ (figure 2).

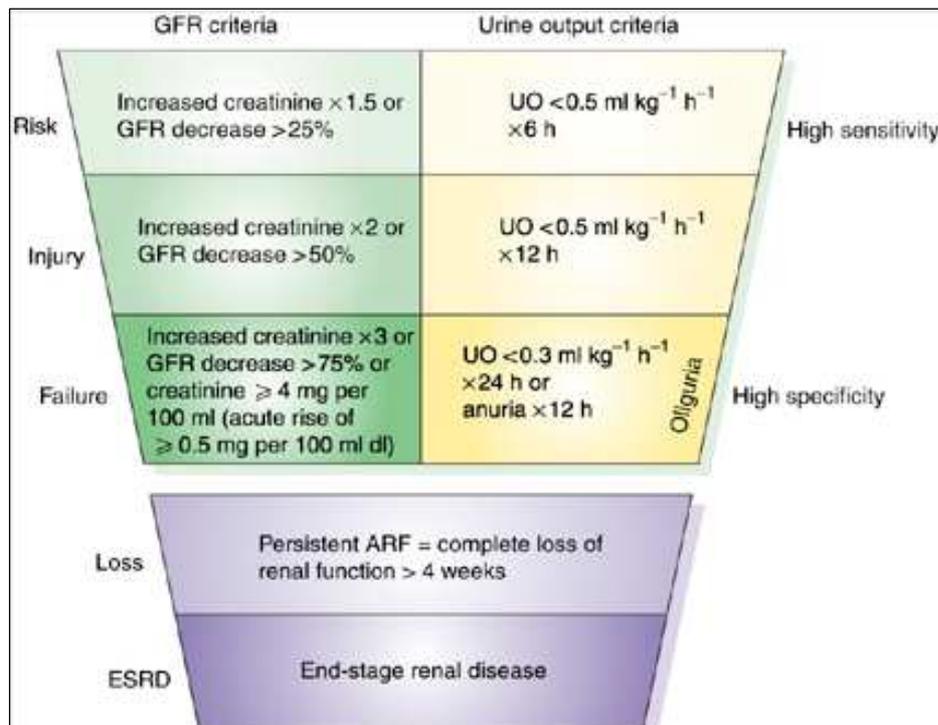


Figure 2: Classification Risk, Injury, Failure, Loss and End-stage kidney disease (RIFLE) ⁵.

Il existe une corrélation entre les critères RIFLE et la mortalité avec une augmentation du risque relatif de mortalité de 2.4 chez les patients au stade « Risk » à 6.37 pour les patients au stade « Failure » ⁵.

En 2005, une étude démontre que même de faibles variations de créatininémie sont significativement indicatives d'une dysfonction rénale. Le réseau Acute Kidney Injury (AKI) révisé alors les critères RIFLE et la classification Acute Kidney Injury Network (AKIN) est créée en 2007 ⁶.

Cette classification AKIN est élaborée par un groupe d'experts multidisciplinaire : l'ADQI, l'ASN (American Society of Nephrology), l'ISN (International Society of Nephrology) et la NKF (National Kidney Foundation) ⁷.

Elle est basée sur l'augmentation de la créatininémie ou du débit urinaire selon 3 stades définis ci-dessous :

- IRA stade 1 : élévation de la créatininémie de 1.5 à 1.9 fois par rapport à la créatininémie de base ou débit urinaire inférieur à 0.5 mL/kg/h pendant 6 heures ou plus
- IRA stade 2 : élévation de la créatininémie de 2 à 2.9 fois par rapport à la créatininémie de base ou débit urinaire inférieur à 0.5 mL/kg/h pendant 12 heures ou plus
- IRA stade 3 : élévation de la créatininémie supérieure à 3 fois la créatininémie de base ou créatininémie supérieure à 354 µmol/L avec une augmentation de plus de 44 µmol/L ou la mise en place d'une EER ou débit urinaire inférieur à 0.3 mL/kg/h pendant 24 heures ou plus ou anurie depuis 12h ou plus.

Plusieurs études ont comparé ces 2 classifications. Ainsi, Ostermann et al ont montré que selon ces 2 classifications sur la même base de données (41972 adultes), l'incidence de l'IRA ne varie pas mais le stade de la classification peut être différent (par exemple, le stade 3 « Failure » pour la classification RIFLE regroupe 7.6 % des patients alors que le stade 3 de la classification AKIN regroupe 12.5 % des patients). Mais il existe une concordance entre ces 2 classifications entre la sévérité de l'IRA et son pronostic ⁸.

2. Étiologies de l'insuffisance rénale aiguë

Au plan physiopathologique et diagnostique, l'IRA peut être divisée en 3 catégories : l'IRA pré-rénale, rénale et post-rénale.

2.1 L'insuffisance rénale aiguë pré-rénale ou fonctionnelle

Elle représente environ 60 % des IRA⁹ et correspond à une diminution du DFG consécutif à une hypovascularisation du rein. Cette altération de la filtration glomérulaire est réversible après correction de la volémie et ne s'accompagne pas d'une altération des tissus rénaux.

Les étiologies sont variées, notamment : les pertes cutanées (brûlures, sudation), digestives (vomissements, diarrhées, fistules), rénales (traitement par diurétiques excessif, néphrite interstitielle chronique, insuffisance surrénalienne), les hypovolémies liées à un syndrome néphrotique, une cirrhose hépatique décompensée, une insuffisance cardiaque congestive, une hypotension artérielle dans les états de choc cardiogéniques, septiques, anaphylactiques et hémorragiques) et l'IRA hémodynamique (utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC), d'antagoniste des récepteurs à l'angiotensine II (ARA2), d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ...)

Le diagnostic biologique repose sur la présence de signes de déshydratation extracellulaire (hémococoncentration), un rapport sodium (Na) urinaire/potassium (K) urinaire inférieur à 1 (hyperaldostéronisme secondaire) avec une natriurèse inférieure à 10 mmol/L et une osmolarité urinaire supérieure à 500 (mécanisme d'adaptation du rein par réabsorption).

2.2 L'insuffisance rénale aiguë rénale ou organique

L'IRA organique est secondaire à une lésion qui touche un ou plusieurs composants du tissu rénal.

Les principales causes d'IRA organiques sont :

- ✓ Les nécroses tubulaires aiguës :
 - Ischémiques par choc (septique, hypovolémique, hémorragique, cardiogénique)
 - Par toxicité tubulaire directe de certains médicaments (aminosides, produits de contraste iodés, amphotéricine B ...)
 - Dues à la précipitation intratubulaire de médicaments (méthotrexate, sulfamides) ou de myoglobine (dans le cadre de rhabdomyolyse) ou d'hémoglobine.

✓ Les néphrites interstitielles aiguës sont d'origine infectieuse ou immuno-allergique

✓ Les néphropathies glomérulaires aiguës ou rapidement progressives :

- Glomérulonéphrite aiguë post infectieuse

- Glomérulonéphrite endo et extracapillaire (lupus, cryoglobulinémie, purpura rhumatoïde, syndrome de Goodpasture)

- Glomérulonéphrite nécrosante (maladie de Wegener)

Les paramètres biologiques évocateurs sont la présence d'une natriurèse supérieure à 20 mmol/L, et un rapport Na urinaire/K urinaire supérieur à 1.

Le tableau 1 résume les valeurs des différents paramètres biologiques lors d'une IRA fonctionnelle ou organique.

	Insuffisance rénale fonctionnelle	Insuffisance rénale organique
Osmolarité urinaire	> 500	< 350
Osmolarité urinaire/ Osmolarité plasmatique	> 1.3	< 1.1
Urée urinaire/ urée plasmatique	> 10	< 3
Créatininurie/créatininémie	> 40	< 20
Na urinaire	< 20	> 40
Fraction d'excrétion du Na	< 1%	> 1 %

Tableau 1 : Caractéristiques biologiques des insuffisances rénales fonctionnelles et organiques.

2.3 L'insuffisance rénale aiguë par obstacle ou post-rénale

Elle est causée par un obstacle à l'étage supra-vésical (lithiases vésiculaires principalement mais aussi des pathologies tumorales telles que le cancer de la prostate, le cancer du col utérin, la tumeur de la vessie ou encore des pathologies inflammatoires comme la fibrose

peuvent être à l'origine d'une IRA post-rénale). La suppression de l'obstacle permet la réversibilité de l'IRA mais il faut que cette intervention soit précoce ; dans le cas contraire, des lésions cellulaires irréversibles peuvent se constituer.

3. L'insuffisance rénale aiguë en contexte chirurgical

3.1 Incidence et mortalité de l'insuffisance rénale aiguë en contexte chirurgical

Plusieurs études ont examiné les causes d'IRA chez les patients hospitalisés ; les principales causes retrouvées sont l'hypovolémie, le choc cardiogénique, la chirurgie, le sepsis, les médicaments néphrotoxiques, les produits de contraste iodés et le syndrome hépatorénal^{10,11,12}. Le contexte péri-opératoire est donc un puissant facteur d'agression rénale et notamment la chirurgie cardiaque. L'incidence varie de 1 à 30 % selon les études et 1 à 5 % des patients nécessitent une EER ce qui est associé à une prolongation de la durée d'hospitalisation, un risque accru de développer une IRC et une augmentation de la mortalité^{13,14}. Cette incidence est extrêmement variable en fonction du type de chirurgie. La mortalité globale après une intervention cardiaque est comprise entre 2 et 8%¹⁵ ; certains auteurs ont montré qu'une insuffisance rénale sévère est associée à un risque de mortalité augmenté par 4. La figure 3 représente la courbe de survie après RVA selon les valeurs de créatininémie.

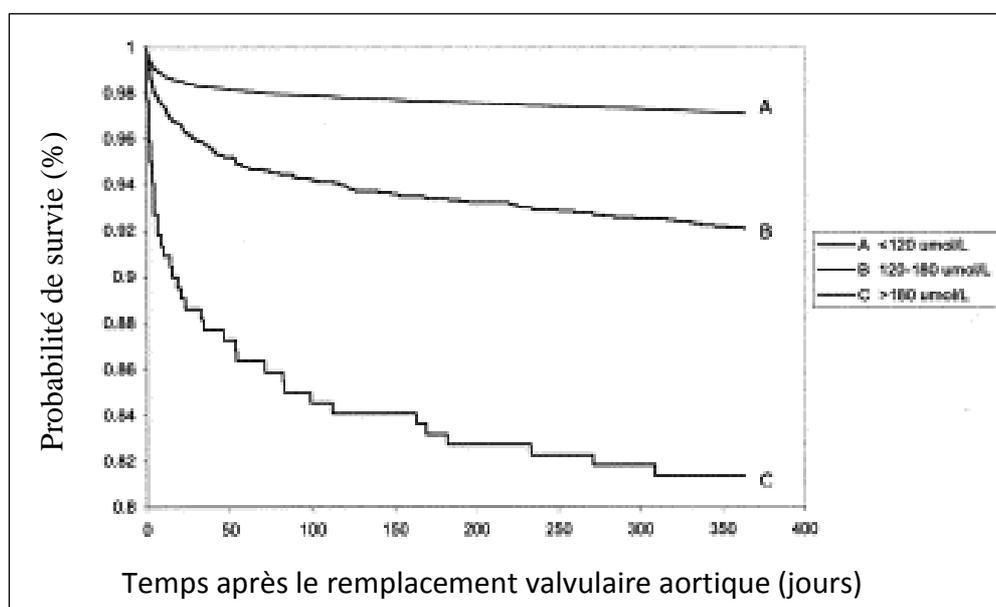


Figure 3 : Impact de l'insuffisance rénale à court et long terme après chirurgie cardiaque¹⁶.

3.2 Les causes d'insuffisance rénale aiguë en contexte chirurgical

Il a été constaté que les modifications hémodynamiques systémiques et hormonales induites par l'anesthésie et le stress chirurgical provoquent une baisse d'intensité variable du débit sanguin rénal, du DFG, de la diurèse et de la natriurèse sans atteinte organique de la fonction rénale. De plus, la baisse des paramètres de perfusion rénale va induire des mécanismes d'adaptation de la fonction rénale conduisant à un tableau d'IRA fonctionnelle, fréquente dans ce contexte. La restauration rapide de la perfusion rénale permet de rétablir la fonction rénale sans altération des néphrons.

Dans certaines situations, le stress est plus important et les modifications de la fonction rénale sont liées essentiellement à des phénomènes ischémiques d'origine hémodynamique entraînant une dérégulation micro-circulatoire rénale et une atteinte tubulaire.

L'atteinte microcirculatoire est expliquée, d'une part, par l'ischémie rénale, et d'autre part par les phénomènes inflammatoires liés à la reperfusion. Il existe un déséquilibre de production des médiateurs rénaux vaso-constricteurs (Adénosine, Endothéline 1, Thromboxane...) et vaso-dilatateurs (monoxyde d'azote, prostaglandine E2). L'atteinte tubulaire est aussi expliquée par les phénomènes d'ischémie-reperfusion. Il existe une dysfonction tubulaire du fait de la perte des capacités énergétiques cellulaires, mais aussi par destruction du cytosquelette, par stimulation apoptotique liée à la libération de cytokines pro-inflammatoires, ou tout simplement par cytotoxicité directe liée à la libération de radicaux libres, ou de protéases. La mort cellulaire aboutit à une destruction de l'épithélium tubulaire qui a pour conséquence finale une obstruction tubulaire. Enfin, l'utilisation de produits néphrotoxiques peuvent évidemment altérer la fonction rénale. Ces différents mécanismes concourent alors à une baisse durable du DFG. Mais les facteurs préopératoires sont également importants à prendre en compte dans le développement de l'IRA ; l'ensemble des facteurs est résumé dans la figure 4.

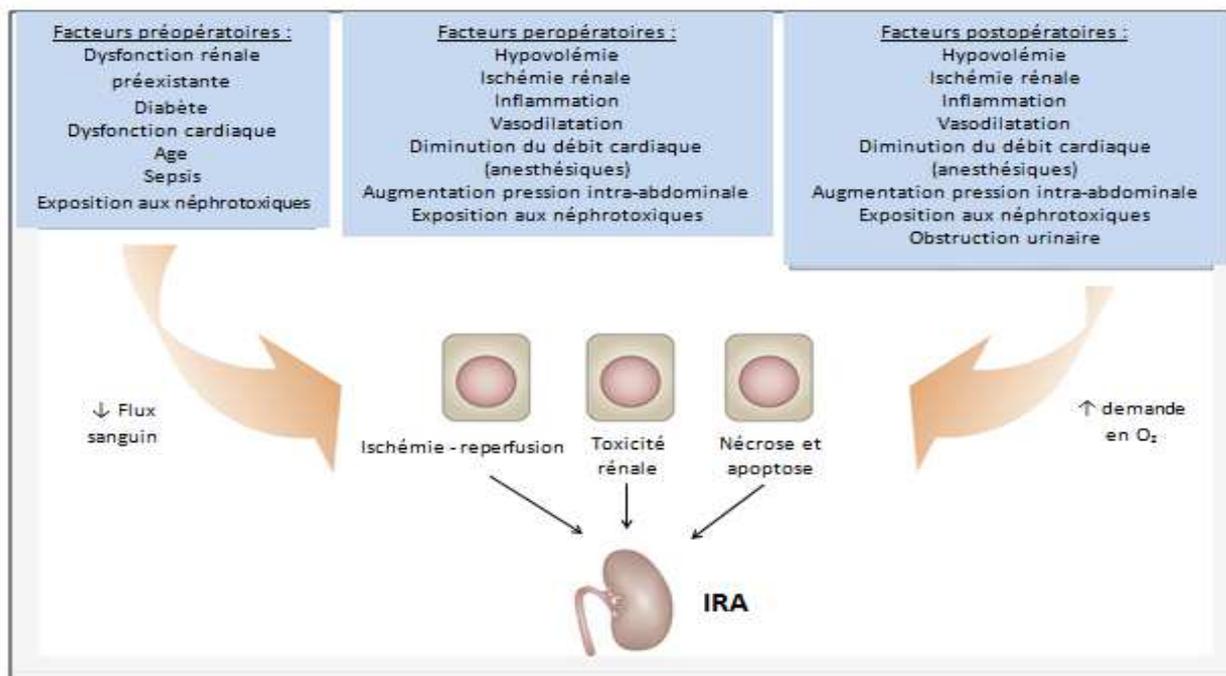


Figure 4 : Les facteurs préopératoires, peropératoires et postopératoires peuvent influencer sur la fonction rénale et contribuer au développement d'une IRA ¹⁷.

3.3 Les facteurs de risque de développer une insuffisance rénale aiguë en post chirurgie

Les facteurs de risque de développer une IRA sévère en post-opératoire sont ¹⁸:

- ✓ Les paramètres propres au patient :
 - L'âge supérieur à 70 ans
 - Le sexe féminin

- ✓ La présence de comorbidités :
 - L'existence d'un diabète
 - La présence d'artériopathies périphériques
 - Des antécédents de pontage coronarien
 - La présence d'une hypertension artérielle
 - Une valvulopathie mitrale
 - Une insuffisance cardiaque congestive
 - Une fraction d'éjection du ventricule gauche (FeVG) altérée (<50%)

- Le recours à une contre-pulsion intra-aortique pré-opératoire

- ✓ Les paramètres biologiques :
 - Leucocytes supérieurs à 12 G/L
 - Créatininémie élevée en préopératoire.

III. Indications du remplacement valvulaire aortique

Le rétrécissement aortique de l'adulte est une affection fréquente. Il s'agit de la valvulopathie la plus fréquente dans les pays occidentaux, représentant 25 à 30 % des valvulopathies de l'adulte ¹⁹. Sa fréquence a augmentée au cours des 20 dernières années, en raison du vieillissement de la population dans les pays occidentaux et de la raréfaction des valvulopathies rhumatismales. Un rétrécissement aortique modéré n'entraîne aucune symptomatologie mais dès l'apparition des symptômes fonctionnels, le pronostic devient sévère à court terme. Le rétrécissement aortique sévère se manifeste généralement par la survenue d'une dyspnée à l'effort, de douleurs thoraciques évoquant un angor ou, à un stade plus évolué, par des syncopes. Les signes d'insuffisance cardiaque globale (œdèmes, anasarque) peuvent se surajouter à la clinique.

Le traitement de référence du rétrécissement aortique serré, consiste en un RVA chirurgical. Ses indications ont été précisées en 2012 par l'European Society of Cardiology (ESC) (cf annexe) ; la principale indication du RVA est représentée par le patient souffrant de sténose valvulaire aortique serrée symptomatique.

Chez les patients âgés, lorsque le rapport bénéfices-risques est en faveur de l'intervention après un bilan pré-opératoire rigoureux, la chirurgie montre d'excellents résultats. Dans la majeure partie des cas, et toujours selon les recommandations européennes, elle repose sur la mise en place d'une bioprothèse, compte tenu de la meilleure durée de vie des prothèses de dernière génération, d'autant plus que ces bioprothèses ne nécessitent pas de traitement anticoagulant au long cours. Les critères de choix en faveur d'une bioprothèse sont l'âge avancé (supérieur à 70 ans) et le souhait du patient.

Le RVA chirurgical par voie conventionnelle est la technique de référence chez les patients atteints d'une sténose aortique sévère, mais ne peut être effectué chez tous les patients

compte tenu des risques liés à la chirurgie (estimation par EUROSCORE II, STS-score, mais également par l'expérience médico-chirurgicale). Depuis 2002, le développement de bioprothèses valvulaires aortiques implantables par voie percutanée : Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI) a permis d'envisager le RVA dans une population chez qui il était jusqu'alors exclu. Compte tenu du coût et des possibles complications liées à la procédure, la haute autorité de santé (HAS) limite à ce jour la prise en charge de cette technologie aux patients symptomatiques, avec sténose aortique sévère calcifiée, récusés pour une chirurgie conventionnelle, après décision collégiale médico-chirurgicale.

IV. Méthodes d'exploration de la fonction rénale

La mesure de la fonction rénale est très importante en pratique clinique quotidienne car elle a des implications diagnostiques, cliniques et thérapeutiques. Différents marqueurs biologiques et cliniques sont utilisés quotidiennement pour évaluer la fonction rénale.

1. Paramètre clinique : la diurèse

La diurèse est le volume urinaire émis par 24 heures.

La diurèse normale est de 750 à 2000 mL par 24 heures ; elle varie en fonction de l'âge, du poids, du régime alimentaire et du climat.

La diurèse peut être pathologique : on parle de polyurie lorsqu'elle dépasse 2500 mL par 24 heures, d'oligurie lorsqu'elle est inférieure à 500 mL par 24 heures et d'anurie lorsqu'elle est inférieure à 100 mL par 24 heures.

La surveillance de l'élimination urinaire sur 24 heures en observant la quantité, l'aspect et la couleur des urines fournit des renseignements importants sur l'état de santé des patients.

2. Paramètres biologiques

2.1 L'urée

L'urée (figure 5), petite molécule de poids moléculaire de 60 Da, est le produit final du catabolisme des protéines, peptides, acides aminés.

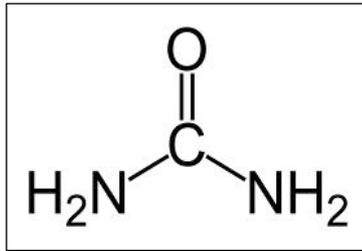


Figure 5 : Molécule d'urée.

Sa synthèse a lieu dans le foie : il s'agit de l'uréogénèse (figure 6).

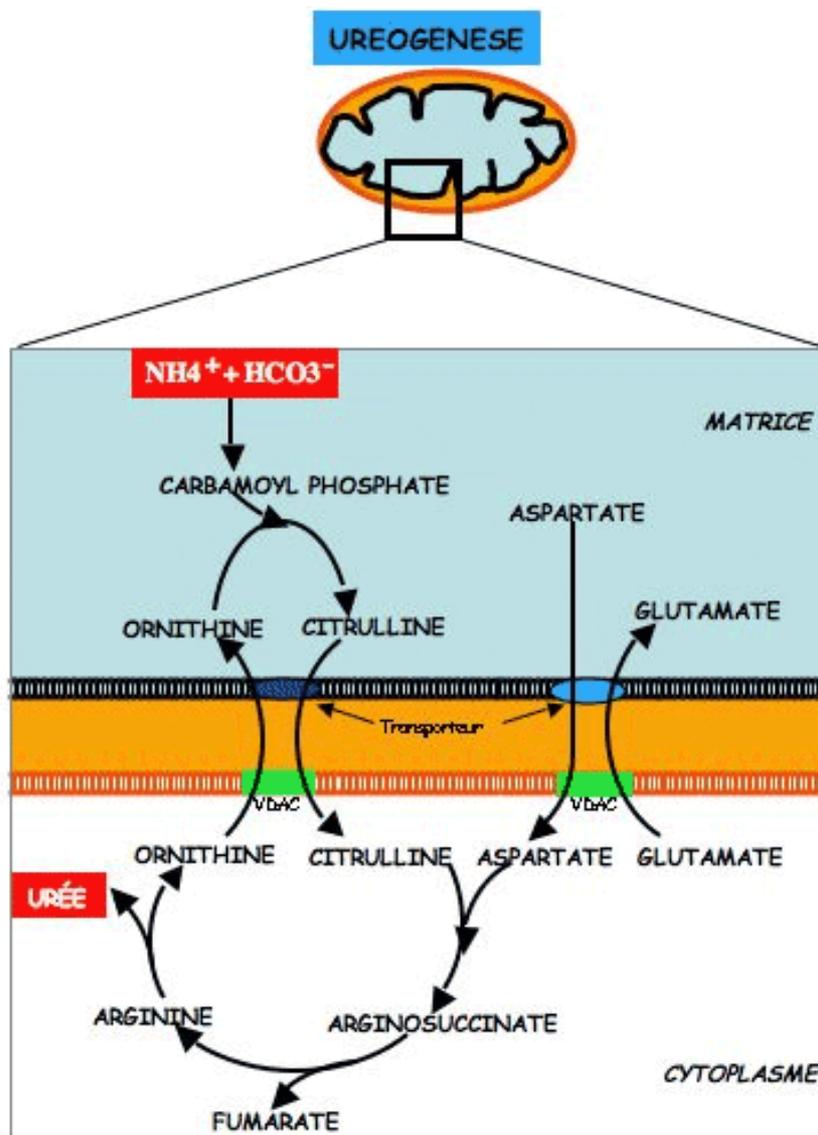


Figure 6 : Schéma de l'uréogénèse.

La voie est exclusivement hépatocytaire car les hépatocytes sont les seules cellules à exprimer le gène de l'ornithine-carbamyl transférase, enzyme nécessaire à l'uréogénèse. L'uréogénèse est donc une voie métabolique exclusivement hépatique, dont les enzymes se répartissent entre la matrice mitochondriale, le cytoplasme et les membranes du réticulum endoplasmique. La glutamine transporte l'azote jusqu'au foie puis un premier atome d'azote est incorporé par le carbamyl-phosphate dans la citrulline. Le deuxième atome d'azote sort des mitochondries sous forme de glutamate pour être transaminé. L'aspartate ainsi obtenu est condensé avec la citrulline pour achever la synthèse de l'arginine. L'hydrolyse de l'arginine sur les membranes du réticulum permet de libérer l'urée directement dans les citernes d'où elle diffuse vers la veine sus-hépatique (parallèlement, l' α -cétoglutarate entre dans les mitochondries pour participer à la gluconéogénèse. Il peut aussi être aminé par la glutamate déshydrogénase et sortir à nouveau pour former de l'aspartate). L'urée sera ensuite librement filtrée au niveau du glomérule rénal et partiellement réabsorbée au niveau du tubule²⁰.

Les valeurs de référence pour l'urée varient de 3 à 6.5 mmol/L chez la femme et de 4 à 7 mmol/L chez l'homme dans le sang et de 300 à 500 mmol/24h dans les urines. Toute diminution de la filtration glomérulaire entraîne une augmentation de l'urémie avec diminution de l'urée urinaire.

L'urémie est un mauvais marqueur de la fonction rénale car elle est soumise à d'importantes variations qui ne dépendent pas du DFG.

Les facteurs qui influencent l'urémie sont²¹ :

- La synthèse hépatique
- L'âge : l'urémie est inférieure d'environ 40 % à la naissance par rapport à l'adulte
- La fonction rénale : l'urémie est augmentée dans l'insuffisance rénale par défaut d'excrétion rénale, comme pour les autres substances azotées (syndrome urémique)
- La diurèse : la réabsorption tubulaire d'urée dépend de la réabsorption d'eau ; après filtration glomérulaire, l'urée est réabsorbée de façon inversement proportionnelle au débit urinaire.
- Le contenu du régime en protéines : un régime riche en protéines entraîne une augmentation significative de l'urémie

- Le catabolisme protéique endogène

2.2 La créatinine

a) Structure

La créatinine est une petite protéine de 113 Da, produit du métabolisme musculaire, formée par déshydratation non enzymatique de la créatine dans les myocytes. La première étape de la synthèse de la créatine a lieu principalement dans le foie avec une réaction de transamidation entre la glycine et l'arginine aboutissant à la formation de l'acide guanidinoacétique. Puis une étape de transméthylation a lieu dans le foie avec formation de créatine qui va passer dans le sang et rejoindre le tissu musculaire pour 98% d'entre elle (le reste allant au cerveau, au foie et aux reins). Enfin, la dernière étape est irréversible et a lieu au niveau musculaire par déshydratation non enzymatique de la créatine en créatinine ²² (figure 7) ; ainsi chaque jour, 1 à 2 % de la créatine musculaire est convertie en créatinine ²³.

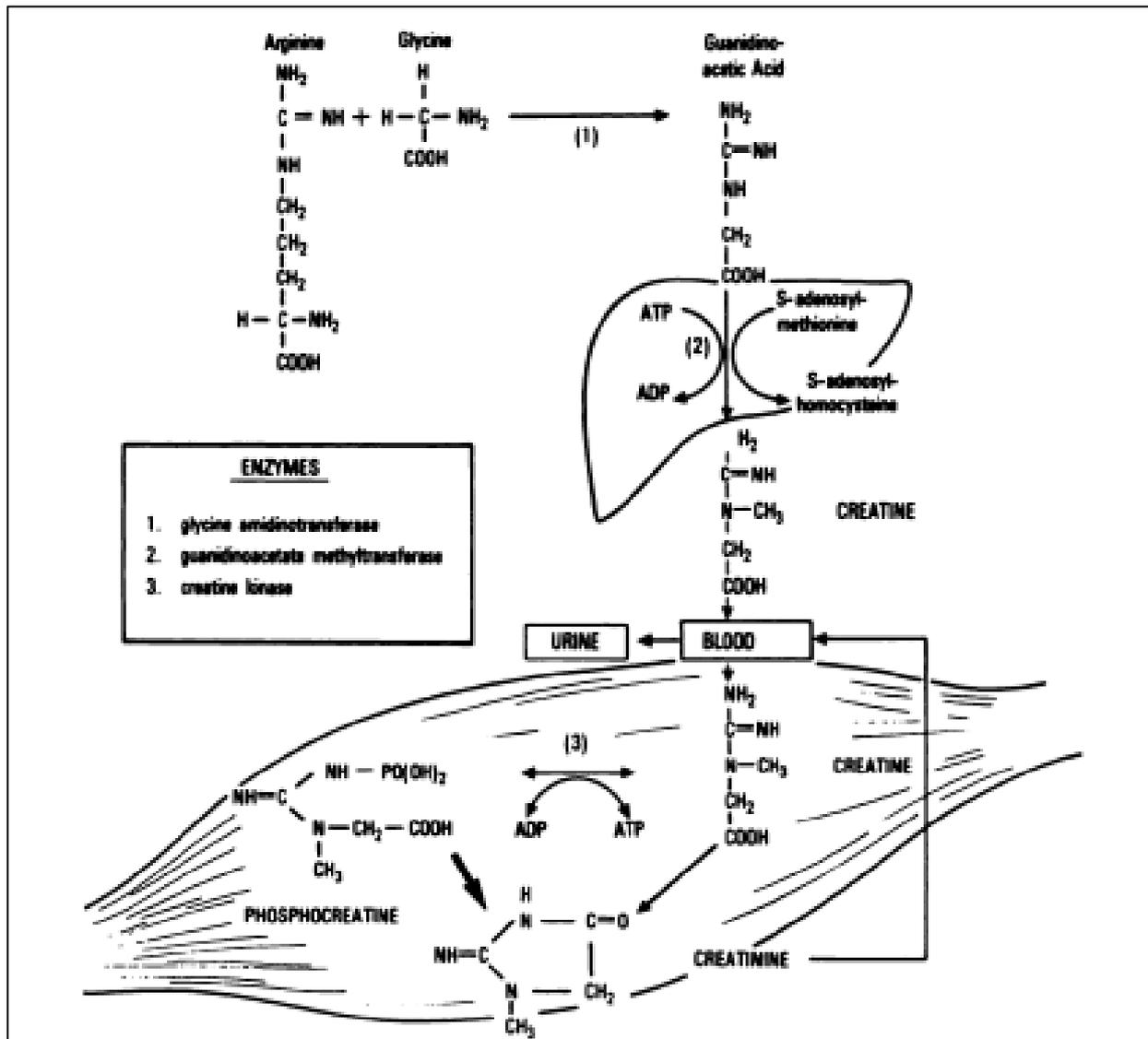


Figure 7 : Formation de la créatinine ²³.

b) Fonctions

Compte tenu de son poids moléculaire et de l'absence de fixation aux protéines, la créatinine est librement filtrée par le glomérule mais non réabsorbée au niveau tubulaire ²⁴. Il s'agit donc d'une molécule intéressante à première vue pour évaluer le DFG. Mais, il existe une sécrétion tubulaire et digestive ^{25,26}. Cette sécrétion est très variable d'un sujet à l'autre et est tout à fait impossible à prévoir. Chez le sujet avec une fonction rénale normale, cette sécrétion tubulaire et digestive est négligeable mais elle augmente en cas d'insuffisance rénale ²⁷. Chez le sujet d'origine africaine, la sécrétion tubulaire de

créatinine semble être moins importante comparativement à celle du sujet caucasien. L'élévation plus rapide de la créatininémie chez les Afro-Américains pourrait donc être liée à une sécrétion tubulaire de créatinine moindre (et non à une diminution plus rapide du DFG)²⁸. En plus de cette sécrétion, la créatinine est soumise à des fluctuations de sa concentration sérique qui ne dépendent pas de la filtration glomérulaire. Les facteurs qui modifient la production et l'élimination de la créatinine sont détaillés dans le tableau 2. La production de créatinine pourrait diminuer avec l'âge mais cette diminution est « compensée » par une diminution physiologique du DFG²⁹. En pédiatrie, les variations de créatinine observées chez les enfants en croissance sont expliquées par le gain en masse musculaire.

FACTEURS	EFFET SUR LA CRÉATININÉMIE
Age	Diminution
Sexe féminin	Diminution
Ethnie noire (réf caucasienne)	Augmentation
<u>Masse musculaire :</u> - maladie neuromusculaires - musculation	Diminution Augmentation
<u>Régime alimentaire :</u> - type végétarien - type carné	Diminution Augmentation
Insuffisance rénale	Augmentation

Tableau 2: Facteurs influençant la production et l'élimination de la créatinine²¹.

Les valeurs de référence de la créatinine sont de 62 à 106 $\mu\text{mol/L}$ chez l'homme et 44 à 80 $\mu\text{mol/L}$ chez la femme.

c) Limites

La fonction rénale est toujours évaluée aujourd'hui grâce au dosage sanguin de molécules éliminées par le rein telles que la créatinine et l'urée. Il faut savoir qu'une élévation sensible de la créatininémie ne se produit qu'au delà d'une réduction de 50 % du DFG (figure 8). Ainsi, la créatininémie ne commence à s'élever que 12 à 24 heures après le début de l'atteinte rénale.

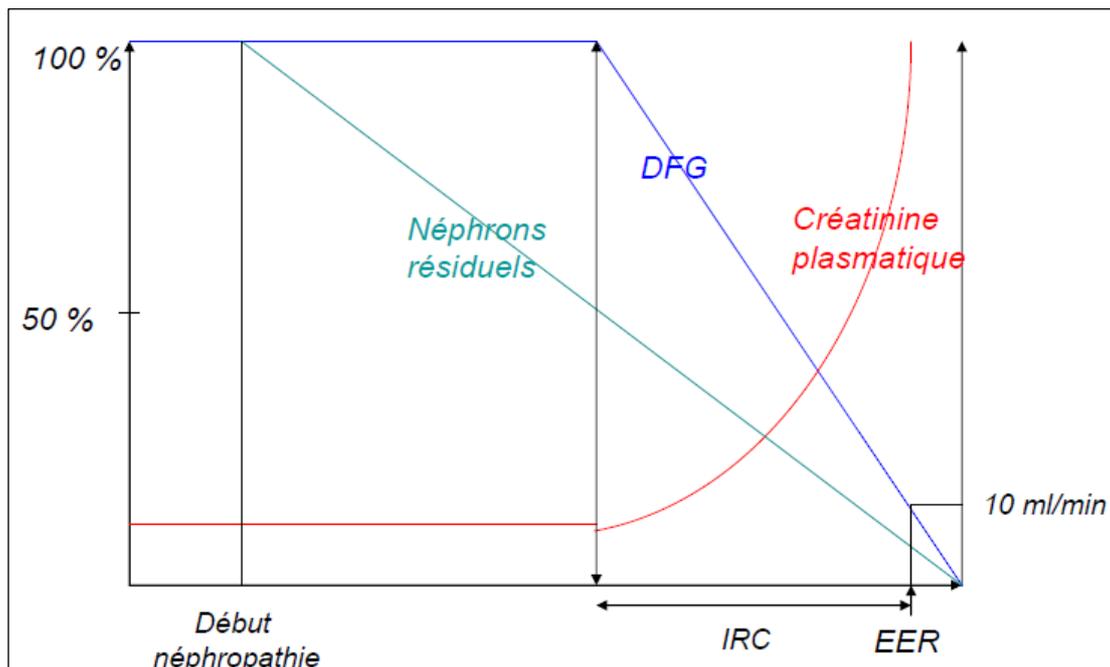


Figure 8 : Evolution des néphropathies.

(IRC : insuffisance rénale chronique)

De plus, la créatininémie peut être normale chez certains patients (patients âgés et dénutris par exemple) malgré un DFG abaissé. La figure 9 représente la relation non linéaire entre la créatininémie et le DFG : par exemple, à une créatininémie de 80 $\mu\text{mol/L}$ peut correspondre un DFG de 20 à 135 mL/min/1.73 m^2 .

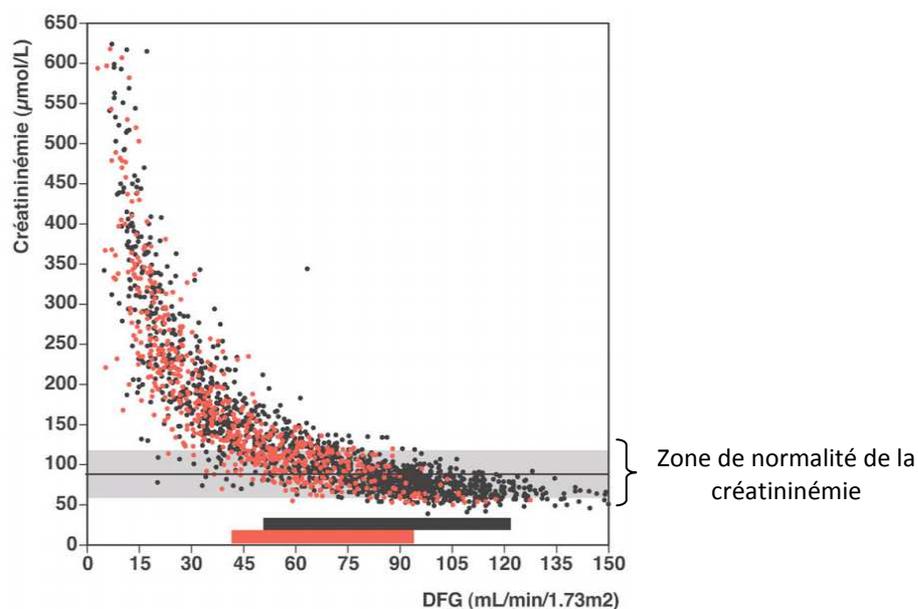


Figure 9 : Relation non linéaire entre la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire ³⁰.
En noir : créatininémie des patients de moins de 65 ans ; en rouge: créatininémie des patients de plus de 65 ans.

2.3 Formules estimant la clairance ou le DFG

a) DFG et clairance

L'évaluation précise du DFG est essentielle pour interpréter les signes et symptômes qui peuvent indiquer une insuffisance rénale mais également pour adapter les doses de médicaments et pour prendre en charge cette maladie rénale.

La clairance d'une substance correspond au volume de plasma épuré de cette substance par unité de temps et le DFG correspond au volume de plasma filtré par le rein par unité de temps (à l'état normal, 20 % du plasma délivré aux glomérules est filtré). La valeur normale de DFG est d'environ 120 mL/min/1.73 m². Ainsi, la clairance rénale d'une substance qui est filtrée par le rein mais ni réabsorbée ni sécrétée est égale au DFG.

Il n'y a pas de substance endogène non sécrétée ni réabsorbée, de sorte que seule l'utilisation de traceurs exogènes permet d'obtenir une mesure précise du DFG. Historiquement, la première substance utilisée a été l'inuline.

D'autres substances exogènes sont maintenant utilisées comme traceur : l'iohexol, l'iothalamate marqué à l'iode 125, l'EDTA marqué au chrome 51 ou le DTPA marqué au technétium 99.

Compte tenu des limites précédemment décrites, des formules permettant d'estimer la clairance de la créatinine ou le DFG sont couramment utilisées en pratique quotidienne.

b) Formule de Cockcroft et Gault

La clairance de la créatinine selon la formule de Cockcroft et Gault a été établie en 1976 à partir de données recueillies chez 249 hommes avec une créatininémie stable. Le facteur d'ajustement pour les femmes repose sur une diminution théorique de leur masse musculaire de 15 % par rapport à celle des hommes.

$$\text{Cl créatinine} = K \times (140 - \text{âge}) \times \text{poids} / \text{créatininémie}$$

Avec $K = 1.23$ chez l'homme

$K = 1.04$ chez la femme

L'avantage de cette formule est l'absence de recueil urinaire et sa validation sur un grand nombre de patients avec des circonstances cliniques différentes. Cependant, le calcul est moins performant chez les enfants, les personnes âgées, les femmes enceintes, les personnes très maigres ou alors obèses, et n'est pas normalisé pour une surface corporelle de 1.73 m^2 . Une valeur inférieure à 80 mL/min traduit tout de même une insuffisance rénale avec une grande sensibilité et la reproductibilité dans le temps pour un patient donné permet de suivre une insuffisance rénale modérée connue. Le tableau 3 compare la créatinine et la formule Cockcroft et Gault.

	CREATININE	COCKCROFT ET GAULT
Sensibilité (%)	62	82
Spécificité (%)	89	87
Valeur prédictive positive (%)	83	88
Valeur prédictive négative (%)	73	81

Tableau 3 : Comparaison de la créatinine et de la formule de Cockcroft et Gault en termes de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative.

c) Formule Modified Diet in Renal Disease (MDRD)

La formule MDRD (Modified Diet in Renal Disease) de Levey a été établie en 1999 à partir des données de 1628 patients présentant une IRC. La formule initiale comporte 6 variables (âge, sexe, ethnie, créatinine, urée et albumine)³¹ :

$$DFG = K \times 170 \times SCr^{-0.999} \times \text{âge}^{-0.176} \times U^{-0.170} \times Alb^{0.318} \times 1.18 \text{ chez le sujet noir américain}$$

Avec K = 1 pour les hommes et 0.762 chez les femmes

SCr : créatininémie en mg/dL

U : urémie en mg/dL

Alb : albuminémie en g/dL

Puis en 2000, la formule a été simplifiée par Levey pour ne conserver que 4 variables³² :

$$DFG = 186.3 \times SCr^{-1.154} \times \text{âge}^{-0.203} \times 0.742 \text{ si c'est une femme} \\ \times 1.21 \text{ si sujet noir américain}$$

Enfin, en 2006, la formule a été recalculée car il existait une inexactitude lors de son utilisation avec d'autres méthodes de dosages de créatinine que celle utilisée pour l'établissement de la formule initiale (calibrateurs et dosage Jaffé sur le CX3 Synchron de Beckman)³³.

$$\text{DFG} = 175 \times \text{SCr}^{-1.154} \times \text{âge}^{-0.203} \times 0.742 \text{ s'il s'agit d'une femme} \\ \times 1.21 \text{ si sujet noir américain}$$

Cette formule est finalement réajustée pour être utilisable avec une créatinine mesurée par technique enzymatique standardisée Isotopic Dilution Mass Spectroscopy (IDMS).

Cependant, cette formule n'est pas validée pour les enfants, les femmes enceintes et les personnes âgées de plus de 70 ans.

d) Formule Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)

La formule CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) a été proposée pour augmenter la précision dans les valeurs de DFG supérieures à 60 mL/min/1.73 m². L'élaboration de cette nouvelle formule s'est faite à partir de 8254 patients puis a été vérifiée secondairement sur 3896 patients³⁴ (tableau 4).

Sexe	Créatinine (µmol/L)	Equations
Femme	≤ 62	$\text{DFG} = 144 \times (\text{SCr}/0.7)^{-0.329} \times (0.993)^{\text{âge}} \times 1.159$ si personne noire
	> 62	$\text{DFG} = 144 \times (\text{SCr}/0.7)^{-1.209} \times (0.993)^{\text{âge}} \times 1.159$ si personne noire
Homme	≤ 80	$\text{DFG} = 141 \times (\text{SCr}/0.9)^{-0.411} \times (0.993)^{\text{âge}} \times 1.159$ si personne noire
	> 80	$\text{DFG} = 141 \times (\text{SCr}/0.9)^{-1.209} \times (0.993)^{\text{âge}} \times 1.159$ si personne noire

Tableau 4 : Equation Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) selon le sexe et la créatininémie.

e) Comparaison des formules entre elles

La formule de Cockcroft et Gault estime la clairance de la créatinine et non le DFG. La clairance de la créatinine est supérieure au DFG car la créatinine est filtrée par le glomérule mais également sécrétée par les tubules rénaux, de façon d'autant plus élevée que la fonction rénale est altérée et donc de façon inversement proportionnelle au DFG. La formule MDRD sous-estime significativement le DFG « vrai » d'environ 1 mL/min/1.73 m² alors que la formule de Cockcroft et Gault le surestime significativement d'environ 2 mL/min/1.73 m²³⁵.

De plus, selon les patients, les performances des formules varient. Le tableau 5 indique les formules à utiliser préférentiellement dans chaque population.

	Cockcroft et Gault	MDRD	CKD-EPI
Sujets insuffisants rénaux		X	X
Sujets à fonction rénale normale	X	X	X
Sujets diabétiques³⁶		X	
Chez l'homme		X	X
Chez la femme	X		X
Sujets maigres, BMI normal ou surpoids (BMI entre 25 et 30)	X		X
Sujets obèses		X	X

Tableau 5 : Comparaison des formules Cockcroft et Gault, Modified Diet in Renal Disease (MDRD) et Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI)³⁷.

(la croix indique la formule à utiliser préférentiellement)

Comparée à la formule MDRD, la formule CKD-EPI prédit de façon plus précise le DFG chez les patients présentant un DFG supérieur à 60 mL/min/1.73m²³⁸. Elle n'est pas plus précise

que la formule MDRD pour les patients avec un DFG inférieur à 60 mL/min/1.73 m². Ainsi, la NKF a recommandé l'utilisation de cette formule.

f) Particularité chez les sujets âgés

L'utilisation des deux formules Cockcroft et Gault et MDRD chez les sujets de plus de 65 ans montre des différences importantes³⁹. La formule Cockcroft et Gault sous-estimerait le DFG par rapport à la formule MDRD⁴⁰. Une étude a montré que ces formules ne permettaient pas de dépister une certaine proportion de patients octogénaires présentant un DFG abaissé⁴¹. Comme dans l'ensemble de la population, la formule CKD-EPI apparaît plus précise que la formule MDRD chez les patients âgés avec un DFG supérieur à 60 mL/min/1.73 m².

2.4 La protéinurie

a) Définition

La protéinurie est l'anomalie urinaire la plus fréquente. Elle peut être d'origine physiologique (protéinurie orthostatique, protéinurie d'effort...) ou pathologique et est quantifiée en mg par 24 heures. On considère qu'une protéinurie est anormale lorsqu'elle excède 100 mg par litre ou 150 mg par 24 heures. Chez le sujet sain, la moitié de ces protéines provient du plasma (l'autre partie a une origine tissulaire), et l'albumine en constitue l'essentiel, de sorte que la limite supérieure de l'albuminurie physiologique est de 30 mg/24h (figure 10). Les protéines plasmatiques subissent un phénomène de filtration glomérulaire et un métabolisme tubulaire (réabsorption/catabolisme). Les protéines tissulaires sont en grande partie synthétisées par les cellules épithéliales du tubule distal, mais une minorité provient aussi du tractus urogénital (vessie, urètre).

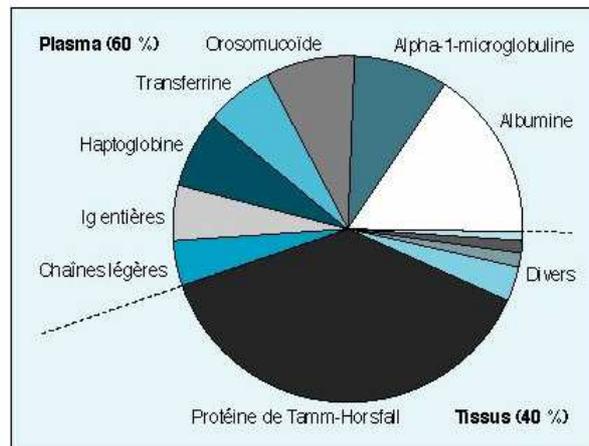


Figure 10: Composition protéique de l'urine chez le sujet sain (résultats en % de la protéinurie totale) ⁴².

b) Quantification

La protéinurie peut être déterminée par une méthode semi quantitative, la bandelette urinaire, et par un dosage pondéral.

✓ La bandelette urinaire :

Il s'agit de la technique de dépistage la plus utilisée. Elle utilise le réactif de tétrabromophénol, qui change de couleur passant du jaune au bleu-vert, et détecte une protéinurie au-delà d'environ 150 mg/L.

Lors de l'utilisation de ces bandelettes, il existe des faux positifs et des faux négatifs à connaître.

Les erreurs par excès (entraînant un résultat faussement positif) sont :

- les bandelettes trop anciennes
- les urines fortement alcalines
- la présence de sang (hématurie)
- la présence de pus lors d'infections urinaires

Les erreurs par défaut (entraînant un résultat faussement négatif) sont la présence d'une protéinurie en dessous du seuil de détection (inférieure à 150 mg/L). De plus, les bandelettes

sont sensibles à l'albumine et beaucoup moins aux autres protéines ce qui peut conduire à un résultat faussement négatif.

✓ Le dosage pondéral de la protéinurie :

Toute bandelette urinaire positive ou douteuse doit être confirmée par le dosage pondéral des protéines urinaires. Le dosage est réalisé préférentiellement sur un échantillon des urines de 24 heures.

La technique de dosage est une méthode colorimétrique utilisant le rouge de pyrogallol : les protéines réagissent avec le complexe rouge de pyrogallol-molybdate pour former un complexe coloré rouge absorbant à 598 nm. L'absorption à 598 nm est proportionnelle à la concentration en protéines dans l'échantillon.

V. Les nouveaux marqueurs d'insuffisance rénale aiguë

Si la créatinine est l'un des marqueurs les plus utilisés en pratique quotidienne pour évaluer la fonction rénale, son utilisation correcte reste problématique liée aux raisons physiologiques et analytiques. C'est pourquoi, de nouveaux marqueurs se développent et sont actuellement en cours d'étude et de validation.

Les caractéristiques nécessaires pour un biomarqueur idéal d'atteinte rénale aiguë sont les suivantes⁴³ :

- il doit être précoce (élévation rapide en post agression)
- il doit être sensible
- il doit être spécifique
- il doit être obtenu par des techniques non invasives
- les techniques de dosage doivent être standardisées, rapides et performantes
- la concentration du marqueur doit être corrélée à la gravité de la lésion
- la concentration doit être le reflet des interventions thérapeutiques : le marqueur doit se normaliser rapidement en fonction de l'efficacité d'une intervention
- l'expression doit être conservée dans l'ensemble de la population

1. La NGAL (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin)

1.1 Structure

La NGAL est une protéine de 25 kDa appartenant à la superfamille des lipocalines ; cette molécule est également appelée lipocaline 2 ou sidérocaldine. Les lipocalines sont des protéines constituées de 8 feuillets β parallèles, avec un centre hydrophobe qui est le site de liaison à des molécules lipophiles de bas poids moléculaire (prostaglandines, stéroïdes et fer). La NGAL possède les séquences homologues et l'architecture caractéristique des lipocalines (figure 11).



Figure 11 : Structure tridimensionnelle de la Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin ⁴⁴.

1.2 Synthèse

La NGAL est synthétisée au cours du processus de maturation des granulocytes dans la moelle osseuse puis est stockée dans des granules spécifiques dans les polynucléaires neutrophiles matures dans un complexe avec la gélatinase ^{45,46}. Les neutrophiles activés sont donc la principale source de NGAL circulante mais d'autres types cellulaires peuvent également libérer de la NGAL : cellules du derme et de nombreux épithéliums (tractus bronchique, intestin, rein) et même certaines cellules cancéreuses.

Le tableau 6 récapitule les différents organes où l'on retrouve la NGAL ⁴³.

<i>Tissus sains exprimant la NGAL</i>	<i>Tissus pathologiques exprimant la NGAL</i>
Trachée	Pancréas
Moelle osseuse	Leucémie myéloïde chronique
Poumons	Tumeurs cérébrales
Estomac	Rein
Glandes salivaires	Estomac
Prostate	Colon
Utérus	Seins
Colon	Thyroïde
Poumon	Ovaires
Foie (insuffisance hépatocellulaire)	
Rein (IRA)	

Tableau 6: Ensemble des tissus et organes exprimant la NGAL.

La NGAL existe sous différentes formes : la protéine existe sous forme de monomère de 25 kDa, d'homodimère de 45 kDa ou sous forme d'hétérodimère (conjugué à la gélatinase) de 135 kDa. Les cellules épithéliales rénales sécrètent principalement les formes monomériques et hétérodimériques de NGAL alors que les polynucléaires neutrophiles activés sécrètent uniquement la forme homodimérique ⁴⁷.

1.3 Fonctions

a) Propriétés bactériostatiques

La NGAL étant libérée par les polynucléaires neutrophiles activés, son principal rôle biologique est d'être un médiateur de la réponse inflammatoire et d'inhiber la croissance bactérienne. Les bactéries produisent des sidérophores (comme l'entérochéline, sidérophore naturel d'*E. coli*) pour subvenir à leurs besoins en fer ; or, la NGAL va empêcher l'apport de fer aux bactéries en se liant aux sidérophores et va donc exercer une action bactériostatique ⁴⁸. La NGAL participe ainsi à l'immunité innée.

b) Rôle dans le transport du fer

Il existe deux types de récepteurs sur lesquels peut se lier la NGAL. Ils assurent l'internalisation du NGAL sous 2 formes : des complexes NGAL/fer/sidérophore (holo-NGAL) vont assurer la libération intra-cytoplasmique du fer via un endosome, permettant la régulation de l'expression des gènes fer-dépendants. Lorsque la NGAL n'est pas liée à un sidérophore (apo-NGAL), elle va capturer le fer intracellulaire pour permettre l'externalisation des complexes fer/sidérophores en excès. La baisse du stock intracellulaire de fer peut conduire alors à l'apoptose cellulaire (figure 12).

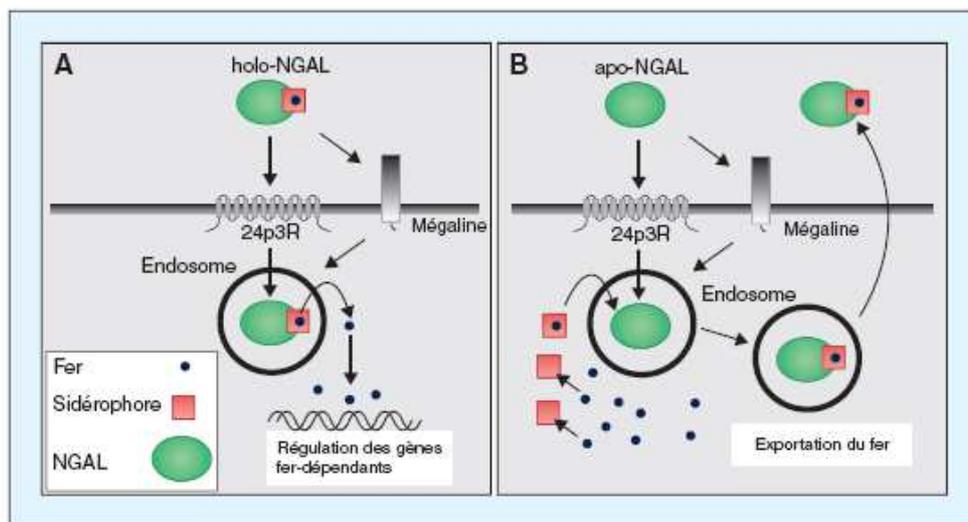


Figure 12: Modèle de la circulation du fer médiée par la NGAL ⁴⁴.

c) Rôle dans la prolifération cellulaire

La NGAL peut se lier à la Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9) et empêche ainsi sa dégradation. Or, MMP-9 favorise la destruction de la matrice extracellulaire et la production de facteurs de croissance vasculaire comme le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) ce qui facilite l'angiogénèse et la progression tumorale (cancer du sein par exemple). A l'inverse, la NGAL serait capable de jouer un rôle protecteur dans certaines tumeurs en favorisant la réparation tissulaire (cancer colique par exemple).

d) Marqueur d'insuffisance rénale aiguë

Nous nous sommes intéressés dans le cadre du protocole NGAL au rôle de la NGAL comme marqueur biologique d'IRA.

Une étude princeps a montré qu'une forte expression du gène de la NGAL induisait la différenciation des cellules souches rénales chez le rat ⁴⁹. D'autre part, de nombreuses études transcriptomiques montrent que c'est l'un des gènes les plus précocement up-régulés au niveau rénal après une atteinte rénale ⁵⁰. L'équipe de Paragas a également montré grâce à un modèle expérimental d'IRA (modèle d'ischémie/reperfusion réalisé par clampage de l'artère rénale) chez la souris une expression de la NGAL au niveau des cellules tubulaires (branche ascendante de l'anse de Henlé, *macula densa* et cellules des tubes collecteurs), une expression limitée au territoire ischémique et une corrélation entre le niveau d'expression de NGAL et la durée de l'ischémie ⁵¹.

Du fait de son augmentation en cas d'agression rénale, la NGAL a été étudiée chez l'homme comme un marqueur d'insuffisance rénale. Plusieurs hypothèses sont avancées concernant l'élévation de la NGAL sérique en cas d'atteinte rénale : en cas d'atteinte rénale aiguë, la NGAL serait moins filtrée ce qui entraînerait une augmentation de sa concentration sérique, la destruction des cellules tubulaires pourrait également conduire à un relargage de NGAL dans la circulation sanguine et l'IRA est elle-même souvent associée à un syndrome de défaillance multiviscérale qui pourrait être à l'origine d'une production extrarénale de NGAL. De plus, son augmentation dans l'urine provient d'une augmentation de synthèse dans la partie distale du néphron et d'une altération de la réabsorption tubulaire proximale.

De nombreuses études ont été publiées sur ce biomarqueur (plus de 7000 patients étudiés) mais il existe une grande hétérogénéité des résultats selon la population étudiée, la définition de l'IRA utilisée et le test employé pour le dosage de la NGAL.

Ce biomarqueur a d'abord été étudié en post chirurgie cardiaque chez les enfants. En effet, il s'agit de conditions idéales puisque les enfants sont généralement indemnes de pathologie rénale. L'incidence de l'IRA en pédiatrie est comparable à celle des adultes; la chirurgie

cardiaque (lors de pathologies congénitales cardiaques) est la principale cause d'IRA avec une incidence de 5 à 33 %⁵². La première étude a été réalisée chez 71 enfants, 20 d'entre eux (28 %) ont développé une IRA après une chirurgie cardiaque réalisée sous circulation extracorporelle (CEC) ; les dosages sanguins et urinaires de NGAL ont été réalisés avant l'intervention (T0) et à plusieurs temps après l'intervention (T+2h, T+12h, T+24h, T+48h, T+72h et T+96h) par une technique ELISA ; l'aire sous la courbe ROC obtenue était de 0.91 pour le dosage de NGAL sanguin et de 0.99 pour le dosage urinaire⁵³. Les résultats montrent également une élévation dans le sang et les urines de la NGAL dès 2h après l'intervention chirurgicale (figure 13) alors que le diagnostic d'IRA avec la créatininémie n'est possible qu'un à trois jours après la chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle (CEC). Des études ultérieures ont également montré l'intérêt de la NGAL comme marqueur précoce d'IRA chez les enfants^{54,55}.

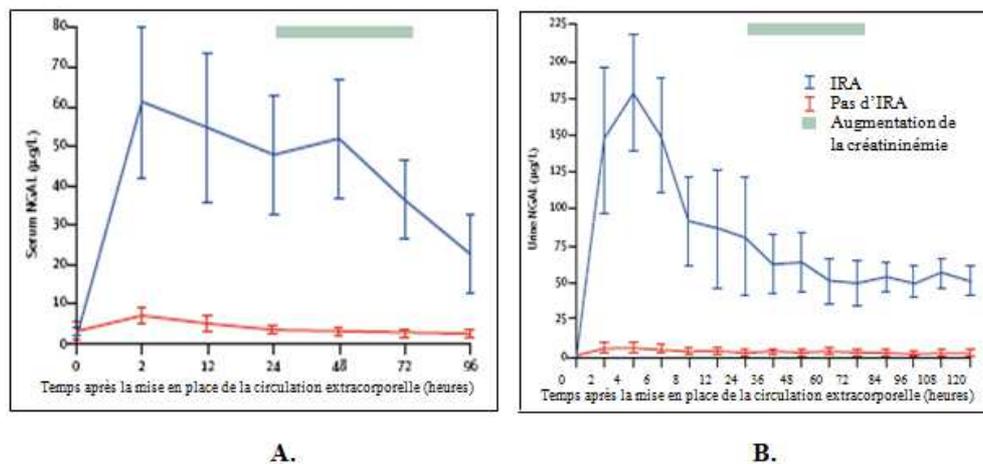


Figure 13: Cinétique d'apparition de la NGAL sérique **(A)** et urinaire **(B)** chez des patients présentant ou non une IRA après chirurgie cardiaque⁵³.

Par ailleurs, chez l'adulte si de nombreuses études ont été publiées, notamment en post chirurgie cardiaque⁵⁶, la capacité prédictive de la NGAL sanguine comme marqueur d'IRA varie avec des aires sous courbe variant de 0.61 à 0.99 selon les auteurs.

Les aires sous courbe de la NGAL urinaire varient également de façon importante. Ainsi, la NGAL urinaire augmente significativement chez les patients développant une IRA par rapport à ceux ayant une fonction rénale normale dans plusieurs études^{57,58} avec des aires sous courbe de 0.948 et 0.80. En revanche, une étude monocentrique regroupant 426 patients

parmi lesquels 85 (soit 20%) ont développé une IRA, a montré que la NGAL urinaire était un biomarqueur médiocre avec des aires sous courbe ROC entre 0.57 et 0.61⁵⁹. Pour autant, le dosage urinaire de NGAL a été validé, surtout si la fonction rénale antérieure du patient était normale et pour évaluer précocement l'IRA dans de nombreux domaines dont la chirurgie cardiaque, la transplantation d'organes^{60,61} et l'injection des produits de contraste iodé^{62,63}.

Ainsi, les nombreuses études sur la NGAL montrent des résultats hétérogènes quand à la capacité de la NGAL sanguine et urinaire à détecter l'IRA mais l'ensemble des études s'accordent à dire qu'il s'agit d'un marqueur très prometteur dans la détection précoce de l'IRA (tableau 7).

Référence	Nombre de patients	Domaine d'étude	Technique dosage NGAL	Nature du prélèvement	Aire sous courbe
Mishra 2005	71	Chirurgie cardiaque pédiatrique	WB, ELISA	Urine	0.99
				Plasma	0.91
Dent 2007	120	Chirurgie cardiaque pédiatrique	Triage	Plasma	0.96
Bennett 2008	196	Chirurgie cardiaque pédiatrique	Architect	Urine	0.95
Wagener 2006	81	Chirurgie cardiaque adulte	WB	Urine	0.74 (3 heures), 0.80 (18 heures)
Perry 2010	879	Chirurgie cardiaque adulte	Triage	Plasma	0.64 (après chirurgie), 0.74 (au 3ème jour)
Haase-Fielitz 2009	100	Chirurgie cardiaque adulte	Triage	Plasma	0.80-0.89
Koyner 2010	123	Chirurgie cardiaque adulte	ELISA	Urine	0.88 (6 heures)
Parikh 2011	1219	Chirurgie cardiaque adulte	Architect	Urine	0.67
			Triage	Plasma	0.70

Tableau 7 : Etudes évaluant l'intérêt du dosage plasmatique ou urinaire de la NGAL comme marqueur prédictif de l'IRA après chirurgie cardiaque⁶⁴.

e) NGAL et sepsis

Au cours du choc septique, une IRA survient dans plus de la moitié des cas⁶⁵ ; la mortalité peut survenir chez 40 à 70% des patients. De nombreuses études se sont intéressées à évaluer l'intérêt de la NGAL chez les patients septiques. En effet, la NGAL étant sécrétée par les cellules rénales lésées mais également par les polynucléaires neutrophiles activés lors d'une infection, ce marqueur serait-il aussi efficace pour prédire l'IRA lorsque le patient est en état septique ?

Plusieurs études aboutissent à des résultats contradictoires ; tout d'abord, De Geus et al, montrent que sur 663 patients dont 181 développant une IRA, les concentrations de NGAL augmentent significativement chez les patients septiques indépendamment de la présence ou non d'une IRA. Cependant, la précision de la NGAL pour prédire l'IRA reste inchangée mais le cut-off de NGAL est presque 3 fois plus élevé pour les patients en choc septique⁶⁶. L'équipe de Camou montre que sur 50 patients admis en réanimation pour choc septique, les valeurs de NGAL sont plus élevées chez les patients développant une IRA par rapport à ceux n'en développant pas ($p < 0.001$) ; de plus, la valeur moyenne de NGAL plasmatique est corrélée à la sévérité de l'atteinte rénale⁶⁷.

Martensson et al. publient des résultats opposés : il n'existerait pas de différence significative entre la NGAL plasmatique chez les patients en choc septique avec ou sans IRA, mais la NGAL urinaire augmenterait de façon significative chez les patients en IRA⁶⁸.

Enfin, d'autres études montrent des valeurs de NGAL plasmatique et urinaire plus importantes chez les patients septiques par rapport aux patients non septiques ; ainsi, l'équipe de Bagshaw montre que chez 83 patients présentant une IRA, la NGAL est significativement plus élevée chez les patients septiques par rapport aux patients non septiques (381 ng/mL [253-585] versus 176 [92-269]) (figure 14).

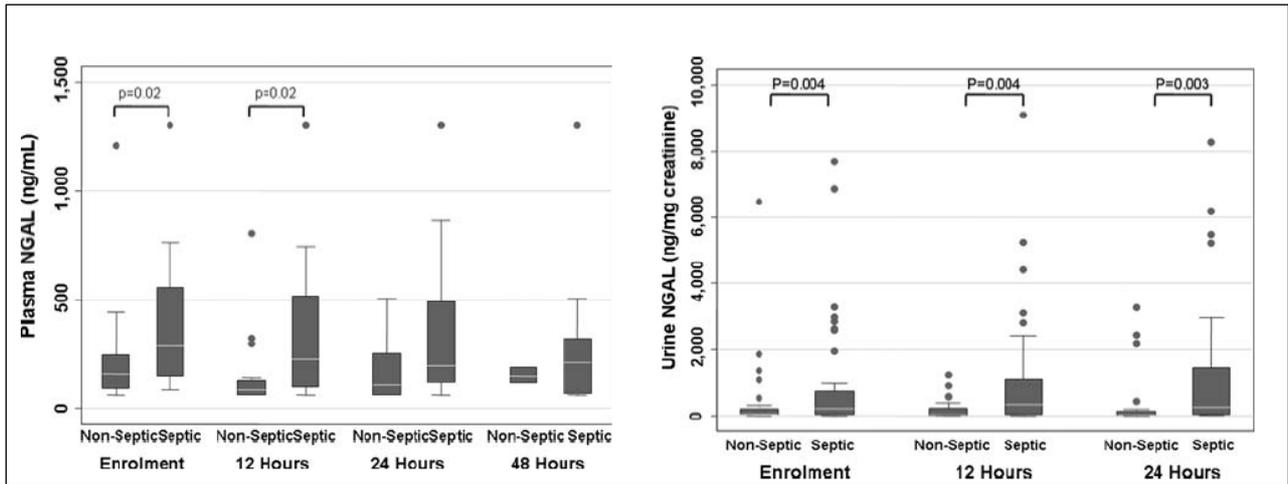


Figure 14 : NGAL plasmatique et urinaire chez des patients septiques ou non admis en soins intensifs (valeurs à T0, 12h, 24 et 48h après l'entrée aux soins intensifs) ⁶⁹.

2. La cystatine C

2.1 Structure

La cystatine C est un polypeptide non glycosylé, composé de 122 acides aminés (cette séquence d'acides aminés fut déterminée en 1981 ⁷⁰) et de poids moléculaire de 13 kDa. Elle appartient à la famille des inhibiteurs des cystéines protéases. Son point isoélectrique est de 9.3. La figure 15 schématise la structure primaire et secondaire de cette protéine.

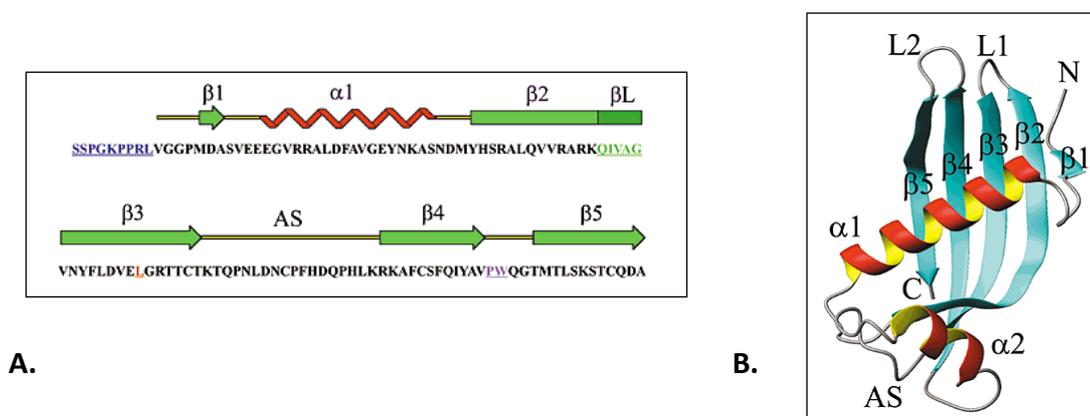


Figure 15 : Structure primaire (A) et secondaire (B) de la cystatine C ⁷¹.

2.2 Synthèse

La cystatine C est chez l'homme, synthétisée et sécrétée de façon constante par toutes les cellules nucléées de l'organisme. Le gène de la cystatine C est situé sur le chromosome 20 et fait partie des gènes de ménage, c'est-à-dire un gène exprimé de façon constitutive et non régulé ce qui constitue un argument pour la production constante de cystatine ^{72,73}.

Son faible poids moléculaire ainsi que sa charge positive lui permettent d'être librement filtrée au niveau du glomérule. Elle est ensuite réabsorbée par un récepteur, la mégaline, grâce à un mécanisme d'endocytose puis entièrement catabolisée par les cellules du tube contourné proximal, sans sécrétion ni réabsorption. Ainsi, quand le DFG diminue, la concentration de cystatine C dans le sang augmente proportionnellement.

La concentration urinaire de cystatine C est très faible (sauf en cas d'atteinte tubulaire proximale) et instable. Son dosage dans les urines n'est donc pas employé.

2.3 Fonctions

La cystatine C fait partie de la famille des inhibiteurs de la cystéine protéase, elle joue donc un rôle de protection contre les destructions des tissus cellulaires et extracellulaires dues au relargage d'enzymes par les cellules mortes ou malignes. Elle joue également un rôle dans la lutte contre les infections et dans la modulation du système immunitaire.

2.4 Marqueur d'insuffisance rénale aiguë

Son intérêt repose dans son utilisation comme marqueur biologique d'insuffisance rénale. Des études conduites auprès de patients hospitalisés en soins intensifs ont montré qu'une augmentation de la cystatine C pouvait être observée jusqu'à 24 à 48 heures avant la créatinine, avec une bonne prédiction de la nécessité de dialyse ⁷⁴. Une étude prospective post chirurgie cardiaque, réalisée sur 100 adultes a montré que le taux sérique de cystatine C en postopératoire prédit précocement le développement d'une IRA ⁷⁵.

Plus récemment, la cystatine C s'est montrée supérieure à la créatinine dans la détection précoce d'IRA chez 616 patients se présentant aux urgences, avec une meilleure discrimination pour distinguer une nécrose tubulaire aiguë d'une atteinte pré-rénale ⁷⁶.

Chez l'adulte, la concentration de cystatine C n'est pas significativement affectée par des facteurs tels que l'âge, le sexe, la race ou la masse musculaire. Néanmoins, Knight et al. ont démontré que de nombreux facteurs comme l'âge avancé, le sexe masculin, l'obésité, le tabagisme, les dysthyroïdies ⁷⁷, l'élévation de la CRP et l'utilisation de glucocorticoïdes à haute dose peuvent être associés à des niveaux élevés de cystatine C ⁷⁸. Ainsi, certains auteurs utilisent des valeurs de référence différentes pour les personnes de plus de 50-60 ans ⁷⁸. La cystatine C est également en partie dépendante de la masse musculaire (lié au fait que les cellules musculaires sont les plus nombreuses cellules nucléées de l'organisme) mais la variabilité reste bien moindre que pour la créatinine ⁷⁹.

L'influence de l'inflammation sur la concentration de cystatine C reste encore débattue mais il est admis que l'IL-6 induit une diminution de son expression ; cependant, l'inflammation semble bien moins jouer sur la concentration de cette protéine que pour d'autres protéines de poids moléculaire moyen (comme la β 2-microglobuline) en cas d'inflammation sévère.

Il existe deux méthodes de dosage : une technique immunoturbidimétrique (PETIA pour Particle Enhanced Turbidimetric ImmunoAssay) ou une technique immunonéphélométrique (PENIA pour Particle Enhanced Nephelometric ImmunoAssay).

Enfin, plusieurs études démontrent une supériorité de cette molécule par rapport à la créatinine, surtout dans la détection des faibles réductions de DFG. Ces résultats ont été confirmés par une méta analyse de 2002 ⁸⁰.

La cystatine C apparaît également constituer un marqueur du risque cardiovasculaire (potentiellement, il s'agirait d'une protéine ayant une action protectrice de la paroi des vaisseaux contre l'athérosclérose) ⁸¹.

2.5 Formules de calcul du DFG utilisant la cystatine C

La cystatine C a d'abord été évaluée comme marqueur précoce de détection de la diminution du DFG puis plusieurs auteurs ont rapidement estimé plus exactement le DFG à partir de formules basées sur la cystatine C par analogie aux formules basées sur la créatininémie. Les différentes formules basées sur la cystatine C expriment un facteur correctif selon l'âge, le sexe ou la pathologie du patient (tableau 8). Certaines formules ont cependant été élaborées à partir d'échantillons trop petits ou de populations trop spécifiques. De plus, les problèmes de différence de technique de dosage pour la mesure de la cystatine C peuvent avoir des conséquences importantes : il est probable qu'une formule construite avec une cystatine C dosée par une méthode ne donnera pas le même DFG si l'on intègre une cystatine C dosée par une autre méthode.

Références	Echantillon (n)	Mesure du DFG	CysC	Population	Formules
Bokenkamp	83	inuline	PETIA	Pédiatrie	$(162/CC)-30$
Tan	40	iohexol	PENIA	Diabétique et sains	$(87,1/CC)-6,87$
Hoek	47	iothalamate	PENIA	Divers	$(80,35/CC)-4,32$
Larsson	100	iohexol	PENIA	Divers	$77,24 \cdot CC^{-1,2623}$ $99,43 \cdot CC^{-1,5837}$
Filler	536	⁹⁹ Tc-DTPA	PENIA	Pédiatrie	$91,62 \cdot (1/CC)^{1,123}$
Le Bricon	25	⁵¹ Cr-EDTA	PENIA	Greffés	$[(78 \cdot (1/CC))+4]$
Sjostrom	381	iohexol	PETIA	Divers	$(124/CC)-22,3$
Grubb	536	iohexol	PETIA	Divers + pédiatrie (n = 85)	$84,69 \cdot CC^{-1,68} - 1,384$ si moins de 14 ans
Rule	204	iothalamate	PENIA	Divers sauf greffés	1) $66,8 \cdot CC^{-1,3}$ 2) $[(66,8 \cdot CC^{-1,3}) \cdot (273 \cdot SCr^{-1,22} \cdot \text{âge}^{-0,299} + 0,738 \text{ si femme})]^{0,5}$
Rule	206			Greffés	$76,6 \cdot CC^{-1,16}$
MacIsaac	125	⁹⁹ Tc-DTPA	PENIA	Diabétiques	$(84,6/CC)-3,2$
Bouvet	67	⁵¹ Cr-EDTA	PENIA	Pédiatrie	$63,2 \cdot (SCr/96)^{-0,35} \cdot (CC/1,2)^{-0,56} \cdot (\text{poids}/45)^{0,3} \cdot (\text{âge}/14)^{0,4}$
Zappitelli	103	iothalamate	PENIA	Pédiatrie	1) $7594/(CC^{1,17}) + 1,2$ si greffé rénal 2) $(43,82 \cdot e^{-0,003 \cdot \text{taille}})/(CC^{0,635} \cdot SCr^{0,547})$
Ma	376	⁹⁹ TcDTPA	PENIA	Divers, Chinois	$\{(87 \cdot CC^{-1,132}) \cdot [175 \cdot SCr^{-1,234} \cdot \text{âge}^{-0,179} + 0,79 \text{ si femme}]\}^{0,5}$

Tableau 8 : Formules évaluant le DFG basées sur la cystatine C (CC) seule ou en combinaison avec la créatinine- 2008 ⁷⁸.

Le dosage de cystatine C est désormais standardisé. L'avantage de ces formules apparaît aujourd'hui assez faible par rapport aux formules MDRD et CKD-EPI. Leur intérêt est leur utilisation dans des populations où justement les formules basées sur la créatinine semblent

inexactes (notamment en pédiatrie) mais des études sur de plus larges populations sont nécessaires à leur validation.

Lesley et al. ont publié une nouvelle équation basée sur la cystatine C seule ou en association avec la créatinine. Le développement de cette équation a été réalisé sur 5352 participants et a ensuite été validée sur 1119 patients (tableau 9).

Basis of Equation and Sex	Serum Creatinine†	Serum Cystatin C	Equations
	mg/dl	mg/liter	
CKD-EPI creatinine equation‡			
Female	≤0.7		$144 \times (\text{Scr}/0.7)^{-0.329} \times 0.993^{4\text{sex}}$ [$\times 1.159$ if black]
Female	>0.7		$144 \times (\text{Scr}/0.7)^{-1.209} \times 0.993^{4\text{sex}}$ [$\times 1.159$ if black]
Male	≤0.9		$141 \times (\text{Scr}/0.9)^{-0.411} \times 0.993^{4\text{sex}}$ [$\times 1.159$ if black]
Male	>0.9		$141 \times (\text{Scr}/0.9)^{-1.209} \times 0.993^{4\text{sex}}$ [$\times 1.159$ if black]
CKD-EPI cystatin C equation§			
Female or male		≤0.8	$133 \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.499} \times 0.996^{4\text{sex}}$ [$\times 0.932$ if female]
Female or male		>0.8	$133 \times (\text{Scys}/0.8)^{-1.328} \times 0.996^{4\text{sex}}$ [$\times 0.932$ if female]
CKD-EPI creatinine–cystatin C equation¶			
Female	>0.7	≤0.8	$130 \times (\text{Scr}/0.7)^{-0.248} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.375} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
		>0.8	$130 \times (\text{Scr}/0.7)^{-0.248} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.711} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
Female	>0.7	≤0.8	$130 \times (\text{Scr}/0.7)^{-0.601} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.375} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
		>0.8	$130 \times (\text{Scr}/0.7)^{-0.601} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.711} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
Male	>0.9	≤0.8	$135 \times (\text{Scr}/0.9)^{-0.207} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.375} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
		>0.8	$135 \times (\text{Scr}/0.9)^{-0.207} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.711} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
Male	>0.9	≤0.8	$135 \times (\text{Scr}/0.9)^{-0.601} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.375} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]
		>0.8	$135 \times (\text{Scr}/0.9)^{-0.601} \times (\text{Scys}/0.8)^{-0.711} \times 0.995^{4\text{sex}}$ [$\times 1.08$ if black]

Tableau 9: Formules Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) basées sur la cystatine C en association ou non avec la créatinine⁸².

(Scr : créatininémie en md/dL ; Scys : cystatine C sérique en mg/L)

Les résultats de cette étude montrent une meilleure performance de l'équation CKD-EPI créatinine-cystatine C par rapport aux équations utilisant la créatinine ou la cystatine C seule : le biais est similaire entre les 3 équations mais la précision est meilleure avec l'équation combinée (figure 16).

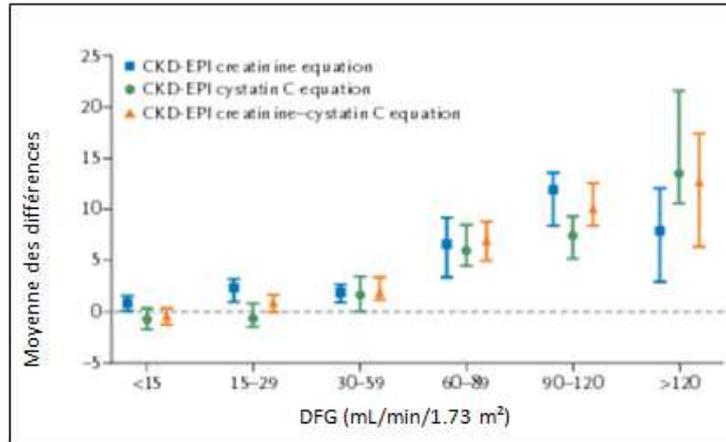


Figure 16 : Performance des équations CKD-EPI pour estimer le DFG (biais) ⁸².

3. La Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1)

KIM-1 est une glycoprotéine transmembranaire. Cette protéine possède un domaine « Ig-like » et un domaine mucine dans la partie extra-membranaire (figure 17).

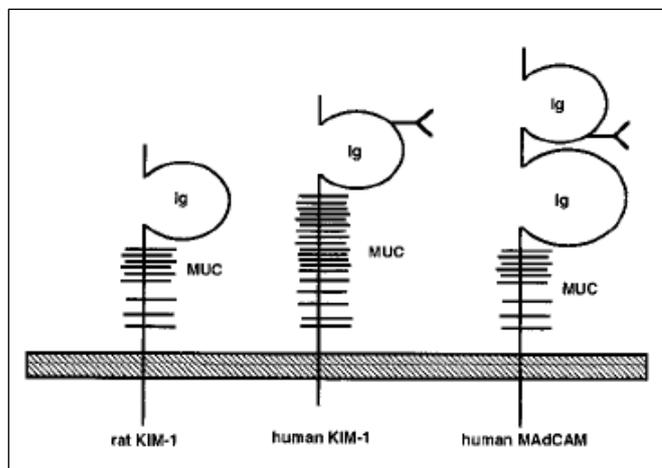


Figure 17 : Structure de Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1) ⁸³.

Elle est indétectable chez le sujet sans insuffisance rénale mais dès qu'il y a une atteinte rénale, l'ARNm est rapidement synthétisé et la protéine est produite à haut niveau ; elle se localise au niveau de la membrane du pôle apical des cellules du tube proximal. L'expression de KIM-1 a été observée dans des modèles animaux et sur des biopsies rénales après nécrose tubulaire aiguë induite par l'ischémie ou par les médicaments néphrotoxiques.

La forme soluble (il s'agit de la partie extra membranaire pouvant être clivée) peut être détectée dans les urines des patients : il s'agirait d'un bon marqueur d'atteinte tubulaire. Ainsi, plusieurs études ont montré une augmentation significative de cette protéine dans la nécrose tubulaire aiguë alors qu'en cas d'IRA d'étiologie autre que l'ischémie ou chez les patients sans IRA, il n'y a pas d'élévation de KIM-1 (figure 18). KIM-1 apparaît dans l'urine dès 12 heures après une atteinte rénale ⁸⁴. Une méta-analyse récente montre que ce marqueur possède une bonne discrimination pour le diagnostic de l'IRA dans une cohorte de patients hospitalisés et principalement en post chirurgie cardiaque ⁸⁵.

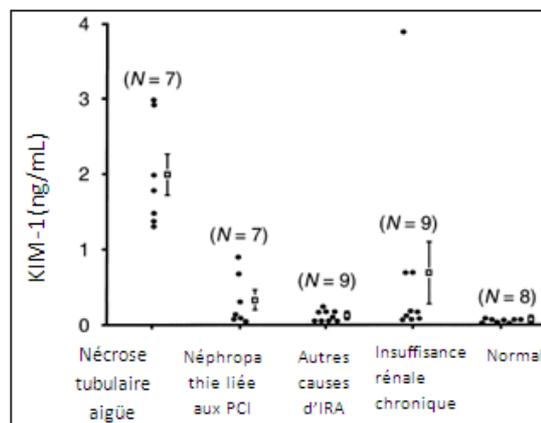


Figure 18 : Comparaison de la concentration de KIM-1 dans les urines dans différents contextes pathologiques ⁸⁶.

4. L'Interleukine 18 (IL-18)

L'IL-18 est une cytokine pro-inflammatoire, médiateur de l'inflammation, qui est produite dans le tubule proximal et que l'on peut doser dans les urines. Dans des études expérimentales chez la souris après l'induction d'une ischémie rénale, on observe que l'activation intracellulaire d'IL-18, médiée par une caspase-1 dans le tubule proximal est responsable d'une nécrose tubulaire aiguë.

Les concentrations de ce marqueur s'élèvent dès la 6^{ème} heure après une chirurgie cardiaque chez les patients développant une IRA. C'est un marqueur plus spécifique pour une atteinte ischémique et n'est pas influencé par une IRC. Par contre, étant donné qu'il s'agit d'une

cytokine pro-inflammatoire, l'IL-18 peut être influencée par l'inflammation, les endotoxines et les maladies auto-immunes ce qui limite son application comme marqueur d'IRA.

Dans une étude prospective chez des patients admis aux soins intensifs, l'IL-18 urinaire s'avère être un prédicteur précoce de l'IRA s'élevant environ 24 heures avant la créatinine⁸⁷. Des études chez les enfants montrent également une élévation de l'IL-18 précocement après chirurgie cardiaque : chez 71 enfants, l'IL-18 urinaire s'élève 4 à 6 heures après l'intervention avec un pic à douze heures chez les enfants développant une IRA, soit 48 heures avant la créatinine⁸⁸.

5. La liver Fatty Acid Binding Protein (L-FABP)

La L-FABP est une petite protéine de 14 kDa qui est principalement produite au niveau du foie. Exprimée dans différents organes dont les cellules du tube proximal, elle est filtrée par le glomérule et réabsorbée par le tubule. Une atteinte rénale entraîne une augmentation de l'expression du gène de la L-FABP, conduisant à une augmentation de l'excrétion urinaire de la protéine provenant du tube proximal. La L-FABP a été testée dans de nombreux contextes cliniques (produit de contraste, patients des soins intensifs et postopératoire de chirurgie cardiaque) montrant des résultats encourageants pour la détection précoce de l'IRA. De plus, une étude a montré que la L-FABP possédait une excellente capacité discriminatoire pour une nécrose tubulaire aiguë, de même que pour le pronostic, faisant de cette protéine un autre biomarqueur potentiel⁸⁹. D'autres études sont nécessaires pour confirmer l'intérêt de ce nouveau marqueur.

Le tableau 10 résume les domaines dans lesquels les nouveaux ou potentiels marqueurs d'IRA que l'on vient de voir ont été validés.

	Chirurgie cardiovasculaire	Soins intensifs	Urgences	PCI	Sepsis	Transplantés rénaux
NGAL (S)	X	X	X	X	X	X
NGAL (U)	X	X	X	X		X
Cystatine C (S)	X	X	X	X	X	X
KIM-1 (U)	X	X	X	X	X	X
IL-18 (U)	X	X		X	X	X
L-FABP (U)	X	X		X	X	X

Tableau 10: Domaines de validation des biomarqueurs de l'IRA ⁹⁰ (U : urines et S : sang).

La figure 19 indique la cinétique des différents marqueurs dans les urines du patient après une chirurgie cardiaque.

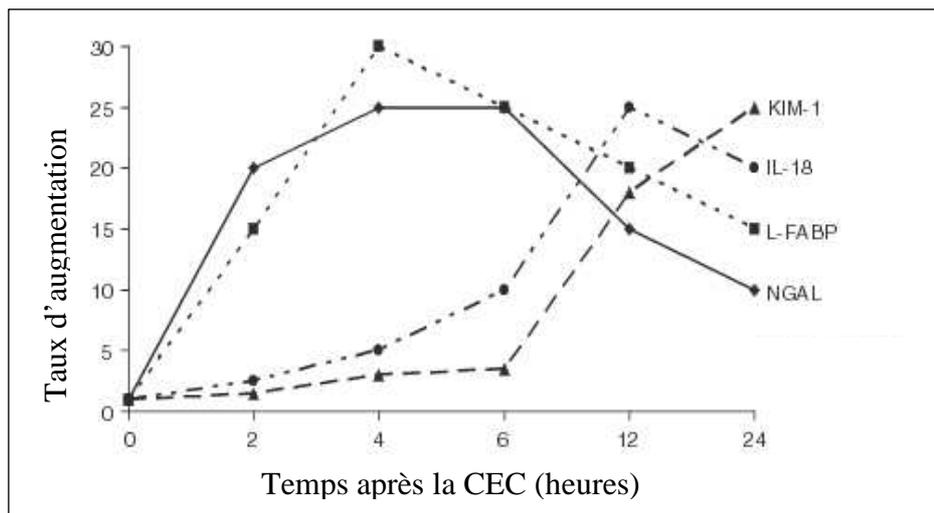


Figure 19 : Cinétique d'apparition de chaque marqueur dans les urines après CEC ⁹¹.

Nous avons proposé aux anesthésistes de l'hôpital Guillaume et René Laennec du CHU de Nantes de tester un nouveau marqueur d'IRA, la NGAL, en post-chirurgie cardiaque. En effet, ce marqueur permettrait de détecter plus précocement l'apparition d'une souffrance rénale en post-opératoire. Dans le contexte à risque d'une chirurgie cardiaque sous CEC chez le patient âgé, la détection précoce des complications et notamment de l'IRA serait indéniablement un facteur qui permettrait d'améliorer la prise en charge et de réduire la morbi-mortalité.

Matériel & Méthodes

Il s'agit d'une étude non interventionnelle ayant reçu l'accord du comité d'éthique local (GNEDS référence RC12 0402) qui a porté sur l'ensemble des patients devant bénéficier d'une chirurgie de RVA à l'hôpital Guillaume et René Laennec du CHU de Nantes entre novembre 2012 et janvier 2013. Elle a pour objectif d'évaluer l'intérêt de la NGAL comme marqueur précoce d'IRA dans une population âgée et bénéficiant d'un même type de chirurgie. Il s'agit d'une étude pilote, et selon les résultats obtenus, l'objectif est de développer ultérieurement une étude regroupant davantage de patients voire d'utiliser ce marqueur en routine au laboratoire.

I. Matériel

L'inclusion des patients dans ce protocole repose sur les critères suivants :

- tout patient âgé de plus de 75 ans (vieillard selon la définition de l'OMS)
- devant bénéficier d'une chirurgie de RVA isolée
- ayant donné son consentement pour participer à l'étude et participer à la biocollection (consentement en annexe).

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- clairance de la créatinine $< 50 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ selon la formule MDRD avant la chirurgie
- chirurgie associée au RVA.

Lorsque les critères d'inclusion sont remplis et qu'il n'existe pas de critère d'exclusion, le patient est alors inclus dans le protocole NGAL.

Il bénéficie alors de 5 prélèvements sanguins sur héparinate de lithium et 5 prélèvements urinaires à 5 temps différents :

- le temps T0 correspond au prélèvement avant la mise en route de la CEC (afin de connaître le niveau de base des différents paramètres dosés)
- le temps T1 correspond au prélèvement à la fin de la CEC
- le temps T2 correspond au prélèvement 6h après la fin de la CEC

- le temps T3 correspond au prélèvement 24h après la fin de la CEC
- le temps T4 correspond au prélèvement 48h après la fin de la CEC

Les prélèvements sont ensuite acheminés rapidement au laboratoire. A leur arrivée au laboratoire de Biochimie, ils sont centrifugés à 2200 g (3500 tours par minute) pendant 10 minutes à 20°C, puis décantés, aliquotés et congelés à -80 °C jusqu'à réalisation des dosages.

II. Méthodes

1. Dosages réalisés

Les paramètres dosés sont les suivants :

- ✓ Paramètres plasmatiques, marqueurs de la fonction rénale :
 - La NGAL (valeur de référence < 250 ng/mL)
 - L'urée (valeurs de référence : 3 à 6.5 mmol/L chez la femme et 4 à 7 mmol/L chez l'homme)
 - La créatinine (valeurs de référence : 44 à 80 µmol/L chez la femme et 62 à 106 µmol/L chez l'homme)
 - La cystatine C (valeurs de référence fournies par le fabricant : 0.47 à 1.09 mg/L pour des sujets entre 20 et 70 ans)
- ✓ Paramètres urinaires, permettant d'évaluer la fonction rénale :
 - La NGAL urinaire (valeurs de référence < 250 ng/mL)
 - La créatininurie (valeurs de référence : 9 à 12 mmol/L chez la femme et 10 à 18 mmol/L chez l'homme)
 - La protéinurie (valeur de référence < 150 mg/24h)
 - Le rapport sodium/potassium urinaire (valeur de référence > 1)
- ✓ Marqueur plasmatique de l'inflammation :
 - La CRP (valeur de référence < 5 mg/L)
- ✓ Paramètre permettant d'évaluer le remplissage :

L'albumine (valeurs de référence : 40 à 50 g/L)

✓ Marqueur de risque cardiovasculaire :

La Lp(a) (valeurs de référence < 0.3 g/L)

L'ensemble des dosages ont été réalisés à chaque temps du protocole sauf la Lp(a) qui a été dosée seulement à T0.

2. Méthodes de dosage

Tous les dosages ont été réalisés à postériori sur le Cobas 6000 Analyzer Roche.

2.1 Dosage de la créatinine

Aujourd'hui, c'est l'un des dosages biologiques les plus prescrits en pratique clinique. Le dosage de la créatinine repose principalement sur 2 techniques : la technique colorimétrique (réaction de Jaffé) et la technique enzymatique.

a) La technique colorimétrique basée sur la réaction de Jaffé

L'acide picrique en milieu alcalin forme un composé rouge orangé avec la créatinine contenue dans le prélèvement ; la vitesse de formation de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon. Ce composé est mesuré par spectrophotométrie à 505 nm (référence du réactif utilisé : 04810716 Roche).

La réaction est réalisée directement sur l'échantillon sans déprotéinisation. Or il se trouve que certaines protéines réagissent de manière non spécifique dans la réaction de Jaffé⁹². Les protéines, le glucose, l'acide ascorbique, les céphalosporines et les α -céto-acides comme l'acétoacétate et le pyruvate font partie de ces chromogènes non spécifiques qui interfèrent avec la réaction à l'acide picrique et conduisent à une surestimation du résultat ; il existe donc dans la méthode utilisée au laboratoire de Biochimie du CHU de Nantes (Jaffé compensée) un facteur de correction de 26 $\mu\text{mol/L}$ (-0.3 mg/dL) que l'on soustrait aux résultats obtenus pour un dosage sur sérum ou plasma.

Au contraire, certains composés comme la bilirubine masquent le développement de la coloration, donnant des résultats de créatinine faussement bas.

C'est pourquoi, on peut avoir recours au dosage enzymatique de créatinine pour s'affranchir de ces réactions non spécifiques. L'HAS recommande actuellement la méthode enzymatique (désormais inscrite à la nomenclature) ; nous avons donc utilisé cette méthode pour les calculs de DFG avec les formules Cockcroft et Gault, MDRD et CKD-EPI.

b) La technique enzymatique

Plusieurs fabricants ont développé des méthodes enzymatiques pour surmonter le manque de spécificité des méthodes colorimétriques de type Jaffé.

Cette méthode de dosage utilise la créatininase et a l'avantage de présenter moins d'interférences, une meilleure justesse mais a un coût plus élevé (référence du réactif utilisé : 03263991 Roche).

2.2 Dosage de la NGAL

Initialement, le dosage de NGAL se faisait par Western Blot. Puis plus tard, une technique ELISA et une technique basée sur l'immunofluorescence (Biosite[®]) ont été commercialisées. Plus récemment, un kit pour doser la NGAL urinaire a été développé par Abbott Architect ; il s'agit d'un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence. Enfin, le laboratoire Eurobio a commercialisé un test immunoturbidimétrique permettant de doser la NGAL dans le plasma et l'urine (référence : ST001CA Eurobio Bioporto).

Plusieurs études ont prouvé que les dosages de monomères de NGAL étaient plus performants que les dosages d'hétérodimères pour évaluer la fonction rénale^{93,94}. Le test immunoturbidimétrique d'Eurobio dose principalement les monomères de NGAL et a été utilisé dans le protocole NGAL pour les dosages sanguins et urinaires de NGAL; il s'agit d'un test immunoturbidimétrique à particules améliorées : après une courte incubation, la réaction est déclenchée par l'ajout d'une suspension d'immunoparticules (microparticules de polystyrène recouvertes d'anticorps monoclonal de souris anti-NGAL humain). La NGAL présente dans l'échantillon provoque l'agrégation des immunoparticules. Le degré d'agglutination est déterminé par le rapport entre la lumière émise et l'absorption de cette

dernière. Ainsi, la concentration de NGAL dans l'échantillon est déterminée par interpolation sur une courbe d'étalonnage préparée à l'aide de calibrateurs de concentrations connues.

Ce dosage n'est pas standardisé. Il nécessite un prélèvement recueilli sur EDTA ou héparinate de lithium. Les échantillons d'urine et de plasma sont stables pendant au moins 1 jour à température ambiante (20-25°C), pendant 3 jours à 2-8°C et pendant 4 à 5 ans à -70 °C. L'intervalle de mesure s'étend de 25 à 5000 ng/mL. Aucune interférence n'a été identifiée avec l'hémoglobine jusqu'à 5 g/L, la bilirubine jusqu'à 300 mg/L, ou jusqu'à 5% v/v d'une émulsion lipidique de 10% v/v.

Une valeur supérieure à 250 ng/mL dans le plasma et/ou l'urine indique une atteinte rénale.

2.3 Dosage de la cystatine C

Le dosage de cystatine C utilise un test immunoturbidimétrique sur particule de latex (référence : 04975723 Roche) non standardisé ; la cystatine C va s'agglutiner sur les particules de latex recouvertes d'anticorps anti-cystatine C. Cet agrégat est ensuite mesuré par turbidimétrie à 546 nm. Ce dosage nécessite un prélèvement recueilli sur héparinate de lithium. Les échantillons de plasma sont stables 7 jours entre 2 et 8 °C et 6 mois entre -15 et -25 °C. L'intervalle de mesure s'étend de 0.4 à 8.0 mg/L. Aucune interférence n'a été identifiée jusqu'à un indice d'hémolyse de 700 (cet indice correspondant à une concentration d'hémoglobine de 700 mg/dL), jusqu'à un indice d'ictère de 60 (correspondant à une concentration de bilirubine de 60 mg/dL) et jusqu'à un indice lipémique de 1000.

2.4 Formules utilisées pour estimer le DFG

Plusieurs formules prédictives basées sur la cystatine C ont été publiées pour le calcul du taux de filtration glomérulaire, la formule utilisée avec le système Roche est la suivante :

$$\text{DFG} = \frac{84.69}{\text{Cystatine C}^{1.68}}$$

Les formules utilisées afin de calculer la clairance de la créatinine ou le DFG sont les suivantes :

✓ Clairance de Cockcroft et Gault :

$$Cl = K \times \frac{(140 - \text{âge}) \times \text{poids}}{\text{Créatininémie}}$$

avec K = 1.23 chez l'homme
K = 1.04 chez la femme

✓ Formule MDRD :

	Equations
Homme	$DFG = 175 \times SCr^{-1.154} \times \text{âge}^{-0.203}$
Femme	$DFG = 175 \times SCr^{-1.154} \times \text{âge}^{-0.203} \times 0.742$

Tableau 11 : Equations MDRD utilisées en fonction du sexe.

(Scr : Créatininémie en mg/dL)

✓ Formule CKD-EPI créatinine :

	Créatinine (µmol/L)	Equations
Femme	≤ 62 µmol/L	$DFG = 144 \times (SCr/0.7)^{-0.329} \times (0.993)^{\text{âge}}$
	> 62 µmol/L	$DFG = 144 \times (SCr/0.7)^{-1.209} \times (0.993)^{\text{âge}}$
Homme	≤ 80 µmol/L	$DFG = 141 \times (SCr/0.9)^{-0.411} \times (0.993)^{\text{âge}}$
	> 80 µmol/L	$DFG = 141 \times (SCr/0.9)^{-1.209} \times (0.993)^{\text{âge}}$

Tableau 12 : Equations CKD-EPI créatinine utilisées en fonction du sexe et de la créatinine.

✓ Formule CKD-EPI cystatine C :

	Cystatine C (mg/L)	Equations
Femme	≤0.8	$133x(SCys/0.8)^{-0.499} x 0.996^{Age} x 0.932$
	>0.8	$133x(SCys/0.8)^{-1.328} x 0.996^{Age} x 0.932$
Homme	≤0.8	$133x(SCys/0.8)^{-0.499} x 0.996^{Age}$
	>0.8	$133x(SCys/0.8)^{-1.328} x 0.996^{Age} x 0.932$

Tableau 13 : Equations CKD-EPI Cystatine C utilisées en fonction du sexe et de la cystatine C.

(SCys = concentration en cystatine C dans le sérum)

✓ Formule CKD-EPI créatinine cystatine C :

	Créatinine (μmol/L)	Cystatine C (mg/L)	Equations
Femme	≤ 62	≤0.8	$130x(Scr/0.7)^{-0.248}x(SCys/0.8)^{-0.375} x0.995^{Age}$
		>0.8	$130x(Scr/0.7)^{-0.248}x(SCys/0.8)^{-0.711} x0.995^{Age}$
	> 62	≤0.8	$130x(Scr/0.7)^{-0.601}x(SCys/0.8)^{-0.375} x0.995^{Age}$
		>0.8	$130x(Scr/0.7)^{-0.601}x(SCys/0.8)^{-0.711} x0.995^{Age}$
Homme	≤ 80	≤0.8	$135x(Scr/0.9)^{-0.207}x(SCys/0.8)^{-0.375} x0.995^{Age}$
		>0.8	$135x(Scr/0.9)^{-0.207}x(SCys/0.8)^{-0.711} x0.995^{Age}$
	> 80	≤0.8	$135x(Scr/0.9)^{-0.601}x(SCys/0.8)^{-0.375} x0.995^{Age}$
		>0.8	$135x(Scr/0.9)^{-0.601}x(SCys/0.8)^{-0.711} x0.995^{Age}$

Tableau 14 : Equations CKD-EPI créatinine cystatine C utilisées en fonction du sexe, de la créatinine et de la cystatine C.

2.5 Dosage des autres paramètres étudiés

- L'urée par technique enzymatique :

Ce test repose sur l'utilisation d'uréase qui catalyse spécifiquement l'oxydation de l'urée en ammonium et carbonate. L'ammonium formé réagit ensuite avec l'acide α -cétoglutarique, en présence de NAD réduit, sous l'action de la glutamate deshydrogénase (GLDH), pour former de l'acide glutamique et de l'eau. La vitesse de diminution du NAD réduit est directement proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon, elle est mesurée par la diminution d'absorbance à 340 nm (référence du réactif utilisé : 04460715 Roche).

- La protéinurie par méthode colorimétrique au rouge de pyrogallol :

Les protéines réagissent avec le complexe rouge de pyrogallol-molybdate pour former un complexe coloré rouge absorbant à 598 nm (le complexe rouge de pyrogallol-molybdate. L'absorption à 598 nm est proportionnelle à la concentration en protéines dans l'échantillon (référence du réactif utilisé : 03515826 Roche).

- Le rapport Na/K urinaire calculé après mesure du Na urinaire et du K urinaire par potentiométrie indirecte

- La CRP par immunoturbidimétrie :

Le dosage de la CRP est réalisé par immunoturbidimétrie sur particules de latex. La CRP s'agglutine sur des particules de latex sensibilisées par des anticorps anti-CRP. Le degré de turbidité de la suspension est déterminé par la mesure de l'absorbance de la suspension, à l'aide d'un spectrophotomètre à 546 nm (référence du réactif utilisé : 04956842 Roche).

- L'albumine par technique colorimétrique au vert de bromocrésol

Au pH de 4.1, l'albumine est suffisamment cationique pour se combiner avec le vert de bromocrésol, sous forme d'anion, pour former un complexe bleu-vert. L'intensité de la coloration formée est directement proportionnelle à la concentration en albumine dans l'échantillon, elle est mesurée à 570 nm (référence du réactif utilisé : 03183688 Roche).

- La Lp(a) par technique immunoturbidimétrique (référence du réactif utilisé : 11660993 Roche)

Le tableau 15 résume pour chaque paramètre étudié, la méthodologie utilisée (principe, méthode et longueur d'onde de mesure), le domaine de linéarité fourni par le fabricant ainsi que le coefficient de variation (CV) de reproductibilité obtenu pendant la période de l'étude (déterminé comme la valeur la plus élevée obtenue par passage de 3 niveaux de contrôle de qualité interne) et l'incertitude de mesure (déterminée à partir des résultats des contrôles internes de qualité externalisés).

Paramètre	Principe dosage	Méthode	Longueur d'onde de mesure	Domaine de linéarité	CV reproductibilité (%)	Incertitude de mesure
Albumine	Méthode colorimétrique	Vert de bromocrésol	570 nm	2 – 60 g/L	3.3	ND
Créatininémie	Méthode colorimétrique	Jaffé cinétique compensée	505 nm	15-2200 µmol/L	2.0	9.31
	Méthode enzymatique	Créatininase		5-2700 µmol/L		ND
CRP	Immuno-turbidimétrie		546 nm	0.3 – 350 mg/L	4.6	8.13
Cystatine C	Immuno-turbidimétrie		546 nm	0.4 -8.0 mg/L		ND
Kaliurèse	Potentiométrie indirecte			1 - 100 mmol/L		ND
Lp(a)	Immuno-turbidimétrie					ND
Natriurèse	Potentiométrie indirecte			10-250 mmol/L		ND
NGAL Sanguin et Urinaire	Immuno-turbidimétrie			25-5000 ng/mL	5.1	ND
Protéinurie	Méthode colorimétrique	Rouge de pyrogallol	598 nm	0.04- 1.4 g/L	6.6	ND
Urée	Méthode enzymatique	Uréase	340 nm	0.5-40 mmol/L	4.7	5.60

Tableau 15 : Méthodologie, domaine de linéarité, coefficient de variation de reproductibilité et incertitude de mesure pour chaque paramètre étudié.

(ND : non déterminé)

3. Paramètres cliniques

Les données cliniques recueillies sont regroupées dans le tableau 16.

Informations relatives aux patients	<ul style="list-style-type: none"> - Age - Sexe - Facteurs de risque cardiovasculaire - Valeur de la créatininémie en préopératoire
Informations obtenues durant l'hospitalisation	<ul style="list-style-type: none"> - Durée de la CEC - Noms des solutés de remplissage et volume utilisé - Utilisation ou non de diurétiques - Nécessité ou non d'une EER - Tous les résultats des bilans biologiques réalisés aux différents temps et notamment la créatininémie - Durée d'hospitalisation
Information recueillie après l'hospitalisation	Mortalité au 28 ^{ème} jour post chirurgie

Tableau 16 : Données cliniques recueillies pour chaque patient inclus dans l'étude.

4. Exploitation des résultats

La définition utilisée pour définir l'IRA dans ce protocole est la classification AKIN, comme cela est recommandé en chirurgie cardiaque⁹⁵ ; cette définition basée sur l'augmentation de la créatininémie ou du débit urinaire, permet de classer les patients en 3 stades :

- IRA stade 1 : élévation de la créatininémie de 1.5 à 1.9 fois par rapport à la créatininémie de base ou débit urinaire inférieur à 0.5 mL/kg/h pendant 6 heures ou plus
- IRA stade 2 : élévation de la créatininémie de 2 à 2.9 fois par rapport à la créatininémie de base ou débit urinaire inférieur à 0.5 mL/kg/h pendant 12 heures ou plus

- IRA stade 3: élévation de la créatininémie supérieure à 3 fois la créatininémie de base ou créatininémie supérieure à 354 $\mu\text{mol/L}$ avec une augmentation aiguë de plus de 44 $\mu\text{mol/L}$ ou la mise en place d'une épuration extrarénale (EER) ou débit urinaire inférieur à 0.3 mL/kg/h pendant 24 heures ou plus ou anurie depuis 12h ou plus.

Enfin, les données recueillies durant l'étude ont été analysées statistiquement à l'aide de plusieurs tests dont :

- Le test de Mann-Whitney pour comparer deux petits échantillons ($n < 30$) si la variable ne suit pas une loi normale
- Le test de Student pour comparer deux petits échantillons si la variable suit une loi normale (avec égalité des variances)
- Une régression logistique multivariée pour comparer plusieurs paramètres entre eux
- Une étude de corrélation : coefficient de corrélation de Spearman et graphiques de Bland & Altman
- Le test exact de Fisher pour la comparaison des données qualitatives.

Certains de ces tests ont été réalisés grâce à GraphPad Prism 6.00®, logiciel Graphpad ; les autres ont été réalisés par l'équipe de Biostatistique, pharmacoépidémiologie et mesures subjectives en Santé (EA 4275, Université de Nantes).

Pour toutes ces analyses, une signification statistique a été retenue pour une valeur de p inférieure à 0.05.

Résultats

I. Données générales de la cohorte

Trente-deux patients ont été inclus dans le protocole NGAL. 6 patients ont été secondairement exclus principalement pour deux raisons : absence de prélèvements réalisés à certains temps ou la nécessité d'une autre chirurgie associée au RVA (exemple, un pontage coronarien).

L'âge moyen de la population étudiée est de 81 ans, le BMI moyen est de 26.8 (soit au stade d'embonpoint), la fraction moyenne d'éjection du ventricule gauche (FeVG) est de 59 % (la valeur normale est de l'ordre de 50 à 70 % et peut diminuer en cas d'anomalie de la contractilité) et le DFG moyen calculé à l'aide de l'équation MDRD est de 80 mL/min/1.73 m². Parmi les facteurs de risque cardiovasculaire, 4 patients sont fumeurs (soit 15 % de la population étudiée), 2 patients sur 26 sont diabétiques (soit 8%), 20 sont hypertendus (soit 77%) et 1 patient présente des artériopathies périphériques (soit 4%). De plus, l'étude anatomopathologique a retrouvé une valve calcifiée pour 22 des 26 patients : avec en aspect macroscopique 3 calcifications discrètes, 9 modérées, 5 assez marquées et 5 marquées ; pour 4 patients nous ne disposons pas des données anatomopathologiques.

Pour l'ensemble des patients à T0, la moyenne de NGAL plasmatique est de 107.96 ± 54.50 ng/mL, la moyenne de cystatine C de 1.16 ± 0.26 mg/L, la moyenne de l'urée de 6.31 ± 1.84 mmol/L, la moyenne de créatinine de 67.50 ± 17.57 µmol/L, la moyenne de l'albumine de 35.54 ± 1.79 g/L, la moyenne de la CRP de 2.18 ± 2.99 mg/L, la moyenne de NGAL urinaire de 12.0 ± 8.60 ng/mL, la moyenne de la protéinurie de 0.11 ± 0.14 g/L et la moyenne du rapport natriurèse/kaliurèse de 2.31 ± 1.16.

Sur les 26 patients inclus, 13 ont présenté une IRA en postopératoire selon la classification AKIN (soit 50%). Plus précisément, 9 patients ont eu une élévation de plus de 50 % de la créatininémie ou une diurèse inférieure à 0.5 mL/h/kg (patients N° 1, 7, 8, 9, 14, 20, 21, 23 et 25) et 4 patients ont eu uniquement une élévation de plus de 50 % de la créatininémie (patients N° 10, 12, 13 et 15). Les patients ont également pu être classés selon le stade AKIN : 13 patients sont au stade AKIN 0, 12 au stade AKIN 1, 0 au stade AKIN 2 et 1 au stade AKIN 3.

Le tableau 17 regroupe les données cliniques des 2 groupes de patients inclus : le premier groupe correspondant aux patients ne développant pas d'IRA en postopératoire (n = 13) et le second groupe correspondant aux patients développant une IRA après la chirurgie cardiaque (n = 13). Le tableau 18 regroupe les résultats biologiques des 2 groupes de patients.

On constate que les deux groupes sont comparables en terme d'âge, de sexe, de BMI, des facteurs de risque cardiovasculaire, de la FeVG et du DFG calculé selon la formule MDRD en préopératoire.

D'autre part, les données peropératoires sur l'ensemble des patients indiquent une durée moyenne de clampage aortique de 52 minutes, une durée moyenne de la CEC de 68 minutes, une diurèse moyenne peropératoire d'environ 316 mL et un volume de remplissage moyen de 1092 mL. On constate qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes en terme de durée du clampage aortique, de durée de la CEC et de diurèse per-opératoire. En revanche, le nombre de culots globulaires administré au cours de la chirurgie est significativement plus élevé dans le groupe IRA (p = 0.024) : 9 patients ont été transfusés dans le groupe IRA avec 17 culots globulaires alors que 3 patients ont été transfusés dans le groupe sans IRA avec 6 culots globulaires.

Enfin, les données postopératoires recueillies sur l'ensemble des patients indiquent une diurèse moyenne des 24 premières heures d'environ 1405 mL, un remplissage moyen de 596 mL et 5 patients ont été transfusés en post-opératoire : 3 patients dans le groupe IRA ont bénéficié de 8 culots globulaires et 2 patients dans le groupe sans IRA ont bénéficié de 4 culots globulaires. Peu de patients ont reçu des diurétiques et aucune EER n'a été réalisée. La durée d'hospitalisation en soins intensifs est de 46 heures en moyenne et la durée d'hospitalisation globale est de 13 jours en moyenne. Aucun patient n'est décédé au cours de l'étude (mortalité évaluée à J28). Aucune différence significative n'est retrouvée pour ces données postopératoires entre les 2 groupes hormis la diurèse des 24 premières heures qui est logiquement significativement différente entre les 2 groupes (p = 0.015).

	<i>Ensemble des patients (n=26)</i>	<i>Groupe IRA (n= 13)</i>	<i>Groupe sans IRA (n = 13)</i>	<i>p</i>
<u>Données préopératoires</u>				
Ratio Homme/Femme	11/15	5/8	6/7	NS
Âge (années)	80.69 +/- 3.55	80.46 +/- 3.55	81.38 +/- 3.71	NS
BMI	26.78 +/- 4.07	25.81 +/- 3.70	27.75 +/- 4.33	NS
Tabac	4	2	2	NS
Diabète	2	1	1	NS
HTA	20	12	8	NS
Dyslipidémie	15	9	6	NS
DFG (MDRD)	79.55 +/- 20.92	76.61 +/- 24.96	88.62 +/- 18.77	NS
FeVG (%)	59 +/- 9	61 +/- 7	58 +/- 10	NS
<u>Données peropératoires</u>				
Durée du clampage (min)	51.88 +/- 14.50	51.92 +/- 16.90	51.83 +/- 12.12	NS
Durée de la CEC (min)	68.27 +/- 17.28	69.69 +/- 20.61	66.85 +/- 13.89	NS
Diurèse peropératoire (mL)	315.9 +/- 274.2	322.0 +/- 218.9 (n = 10)	336.0 +/- 325.5 (n = 11)	NS
Transfusions (nb de culots globulaires)	23	17	6	0.024
<u>Données postopératoires</u>				
Diurèse des 24 premières heures (mL)	1405.0 +/- 555.8	1163.5 +/- 482.7	1646.5 +/- 533.2	0.015
Remplissage (mL)	596.15 +/- 561.59	692.31 +/- 678.19	500 +/- 420.81	NS
Transfusion (nb de culots globulaires)	12	8	4	NS
Utilisation de diurétiques	0.80 +/- 0.40	0.77 +/- 0.44	0.85 +/- 0.38	NS
Dialyse	0	0	0	NS
Durée d'hospitalisation en soins intensifs (heures)	45.6 +/- 39.69	50.0 +/- 44.37	41.54 +/- 36.17	NS
Durée d'hospitalisation (jours)	13.08 +/- 3.61	13.69 +/- 4.29	13.15 +/- 3.58	NS
Mortalité à J28	0	0	0	NS

Tableau 17 : Données cliniques des patients inclus dans le protocole.

		<i>NGAL plasmatique (ng/mL)</i>	<i>Cystatine C (mg/L)</i>	<i>Urée (mmol/L)</i>	<i>Créatinine (µmol/L)</i>	<i>Albumine (g/L)</i>	<i>CRP (mg/L)</i>	<i>NGAL urinaire (ng/mL)</i>	<i>NGAL urinaire/ créatininurie (mg/mol)</i>	<i>Protéinurie (g/L)</i>	<i>U Na/ U K</i>
T0	Ensemble des patients (n=26)	107.96 ± 54.50	1.16 ± 0.26	6.31 ± 1.84	67.50 ± 17.57	35.54 ± 1.79	2.18 ± 2.99	12.00 ± 8.60	1.78 ± 2.06	0.11 ± 0.14	2.31 ± 1.16
	Ensemble des patients	232.81 ± 123.40	1.24 ± 0.27	6.35 ± 1.68	76.19 ± 19.80	27.73 ± 2.71	1.94 ± 3.10	46.69 ± 75.44	8.44 ± 14.04	0.17 ± 0.16	1.59 ± 0.95
T1	Groupe IRA (n =13)	240.0 ± 136.75	1.25 ± 0.27	6.04 ± 1.69	77.85 ± 20.09	27.62 ± 3.36	2.18 ± 3.91	61.23 ± 98.45	11.44 ± 17.27	0.12 ± 0.028	1.72 ± 0.67
	Groupe sans IRA (n = 13)	225.62 ± 113.63	1.23 ± 0.26	6.65 ± 1.67	74.54 ± 20.19	27.85 ± 1.99	1.7 ± 2.15	32.15 ± 41.30	5.43 ± 9.63	0.16 ± 0.15	1.45 ± 1.18
T2	Ensemble des patients	187.58 ± 88.18	1.25 ± 0.32	6.37 ± 1.48	78.35 ± 24.41	32.54 ± 3.05	7.81 ± 10.87	156.69 ± 419.51	91.49 ± 305.61	0.60 ± 0.47	1.45 ± 1.66
	Groupe IRA	200.23 ± 112.52	1.29 ± 0.33	6.27 ± 1.50	83.54 ± 26.34	32.62 ± 3.40	9.83 ± 14.63	269.46 ± 579.97	175.39 ± 423.40	0.56 ± 0.01	1.82 ± 2.17
	Groupe sans IRA	174.92 ± 56.50	1.21 ± 0.33	6.46 ± 1.52	73.15 ± 22.11	32.46 ± 2.79	5.79 ± 4.83	43.92 ± 52.16	7.60 ± 7.56	0.50 ± 0.29	1.07 ± 0.85
T3	Ensemble des patients	203.08 ± 140.01	1.34 ± 0.45	6.82 ± 1.75	79.85 ± 46.76	32.50 ± 2.76	108.02 ± 46.59	73.96 ± 103.37	8.74 ± 16.43	0.61 ± 0.29	0.60 ± 0.70
	Groupe IRA	208.0 ± 159.69	1.37 ± 0.54	6.90 ± 1.95	90.77 ± 61.86	32.38 ± 3.57	107.93 ± 54.66	99.77 ± 137.62	12.99 ± 22.63	0.66 ± 0.23	0.78 ± 0.92
	Groupe sans IRA	198.15 ± 123.63	1.31 ± 0.35	6.73 ± 1.61	68.92 ± 21.69	32.61 ± 1.76	108.11 ± 39.16	48.15 ± 43.34	4.49 ± 3.36	0.57 ± 0.06	0.43 ± 0.33
T4	Ensemble des patients	190.58 ± 123.51	1.33 ± 0.53	7.28 ± 2.64	79.42 ± 60.89	30.81 ± 3.51	193.45 ± 66.01	62.96 ± 62.80	10.40 ± 18.23	0.46 ± 0.33	1.09 ± 1.39
	Groupe IRA	228.0 ± 158.35	1.42 ± 0.65	7.85 ± 3.33	92.62 ± 83.01	29.85 ± 4.24	199.41 ± 75.94	72.85 ± 73.80	11.67 ± 19.50	0.50 ± 0.18	1.32 ± 1.85
	Groupe sans IRA	153.15 ± 60.56	1.24 ± 0.38	6.70 ± 1.65	65.92 ± 20.93	31.77 ± 2.39	187.49 ± 56.87	53.08 ± 50.58	9.12 ± 17.57	0.38 ± 0.20	0.85 ± 0.70

Tableau 18 : Résultats biologiques des patients inclus dans le protocole (moyenne ± écart-type).

II. Comparaison des techniques de dosage de la créatinine

Dans un premier temps, le dosage de la créatininémie a été réalisé par colorimétrie avec la réaction de Jaffé puis dans un second temps par méthode enzymatique. Cent trente plasmas, correspondant aux 5 temps des 26 patients inclus, ont ainsi été étudiés. Les résultats de ces dosages nous ont permis d'établir une droite de corrélation (figure 20) ayant pour équation : $y = 1.036x - 4.099$ et $r = 0.99$.

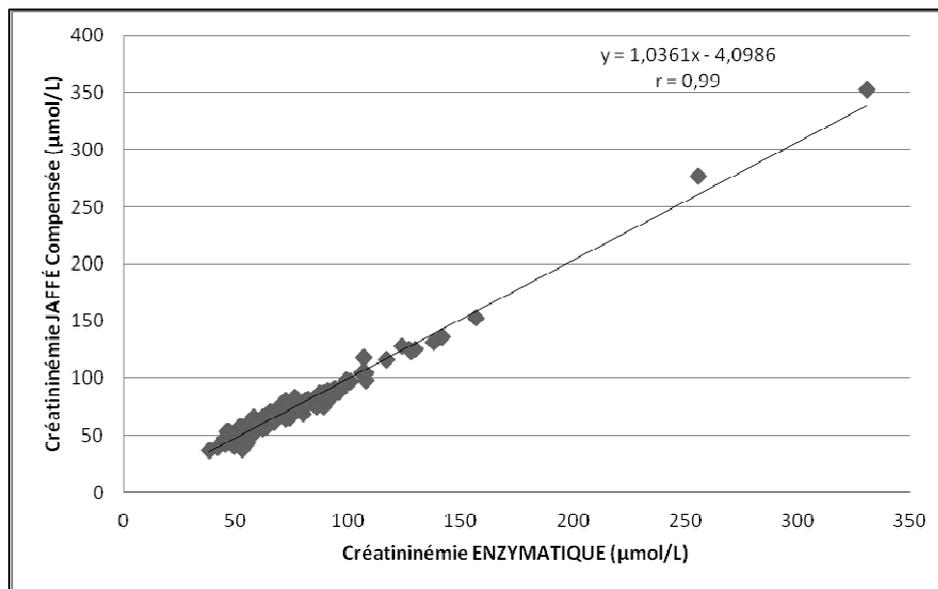


Figure 20 : Droite de corrélation entre les 2 techniques de dosage de la créatinine.

Le coefficient de corrélation égal à 0.99 témoigne d'une bonne corrélation entre les 2 techniques de dosage de la créatinine. Le graphique de Bland-Altman (figure 21) permet toutefois de visualiser que les valeurs sont plus élevées avec la méthode de Jaffé.

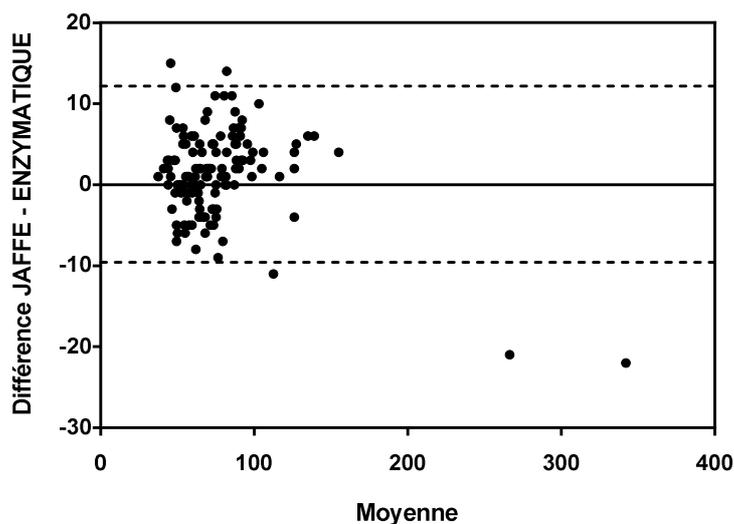


Figure 21 : Graphique de Bland & Altman représentant la différence entre les deux méthodes de dosage de la créatinine (Jaffé compensée et enzymatique).

III. Comparaison des différentes formules estimant la clairance ou le DFG

Nous nous sommes basées sur l'estimation du DFG avec la formule MDRD à T0 pour inclure ou non les patients dans le protocole mais à posteriori, nous nous sommes intéressés à la comparaison des différentes formules d'estimation du DFG chez l'ensemble des patients. Ainsi, les différentes formules de clairance ou de DFG ont été comparées pour les 26 patients à T0 c'est-à-dire avant la chirurgie cardiaque. Les valeurs de DFG obtenues en utilisant la formule MDRD sont les plus élevées et celles obtenues en utilisant la formule CKD-EPI Cystatine C sont les plus faibles (tableau 19).

	CG	MDRD	CKD-EPI Cre	CKD-EPI CysC	DFG Cys C	CKD-EPI Cre- CysC
Moyenne	71.0	88.9	78.2	59.8	73.9	69.5
Médiane	73.1	89.9	82.8	57.9	68.8	69.8
Min-Max	44.2 – 114.2	52.0 – 146.5	51.3 – 98.0	31.0 – 102.0	32.7 – 184.1	41.9 – 108.8

Tableau 19 : Résultats de clairance (CG) et de DFG obtenus selon les différentes équations (mL/min/1.73m²).

CG : Cockcroft et Gault ; Cre : créatinine ; CysC : cystatine C

	CG	MDRD	CKD-EPI Cre	DFG CysC	CKD-EPI CysC	CKD-EPI Cre-CysC
CKD-EPI Cre-CysC	0.46	0.92	0.86	0.92	0.97	1.0
CKD-EPI CysC	0.35	0.82	0.71	0.96	1.0	
DFG CysC	0.21	0.82	0.65	1.0		
CKD-EPI Cre	0.61	0.91	1.0			
MDRD	0.52	1.0				
CG	1.0					

Tableau 20 : Coefficients de corrélation entre la clairance (CG) et DFG obtenus avec les différentes équations.

Comparée au DFG calculé par la formule MDRD, il existe une bonne corrélation avec les autres formules ($r > 0.8$) excepté avec la formule CG (tableau 20).

Cependant, des différences significatives sont retrouvées pour les DFG calculés avec les formules CG et MDRD ($p < 0.0001$), entre CG et la formule CKD-EPI créatinine ($p = 0.007$), entre CG et la formule CKD-EPI cystatine C ($p = 0.006$) et entre MDRD et CKD-EPI cystatine C ($p < 0.0001$) (figure 22).

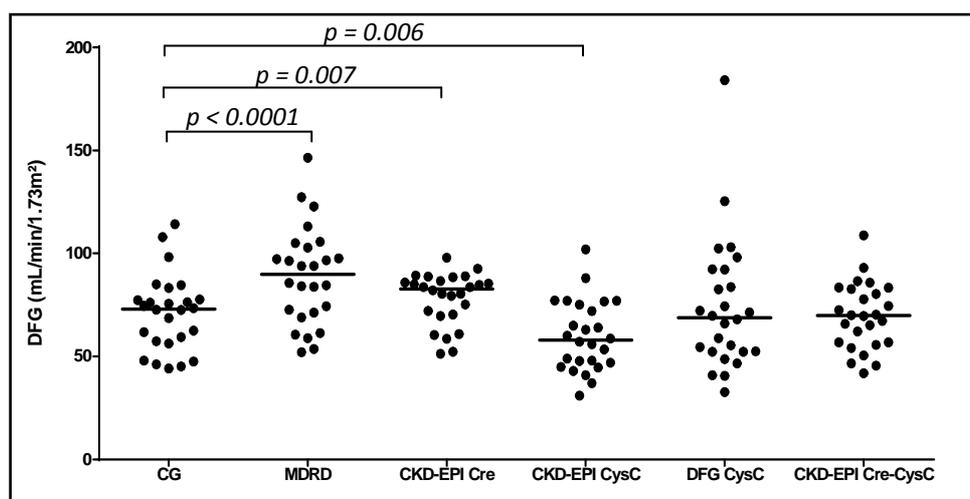


Figure 22 : Clairance ou DFG obtenus selon les différentes formules utilisées chez les 26 patients.

Ainsi, si nous avons utilisé la formule de CG, 5 patients n'auraient pas été inclus dans le protocole car la clairance calculée est inférieure à 50 mL/min/1.73 m². De la même façon 5, 10 et 3 patients n'auraient pas été inclus dans le protocole en utilisant pour calculer le DFG respectivement la formule DFG cystatine C, CKD-EPI cystatine C et CKD-EPI créatinine-cystatine C. En revanche, aucun patient n'est exclu si l'on utilise la formule CKD-EPI créatinine.

IV. Protocole NGAL

1. NGAL plasmatique

La figure 23 indique les valeurs de NGAL plasmatique à chaque temps de l'étude à la fois dans le groupe de patients n'ayant pas développé une IRA (en gris) et dans le groupe ayant développé une IRA (en noir).

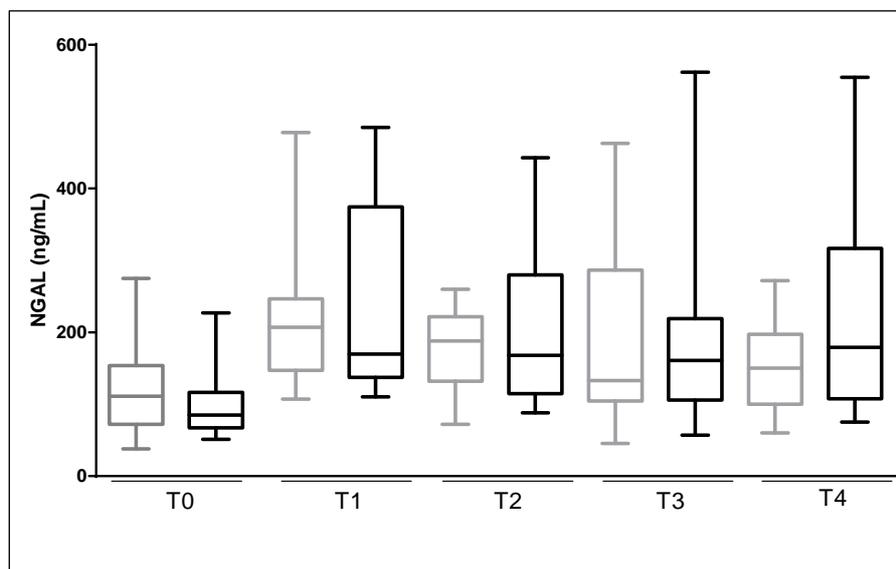


Figure 23 : Valeurs de NGAL plasmatique dans les 2 groupes (n =13 dans chaque groupe).

Pour l'ensemble des 26 patients, la moyenne de la NGAL plasmatique à T0 est de 108 ± 54.5 ng/mL. On constate une augmentation à 225.6 ± 113.6 ng/mL et 240.0 ± 136.8 ng/mL respectivement dans le groupe sans IRA et dans le groupe avec IRA à T1. Puis à T2, les concentrations en NGAL plasmatique sont de 174.9 ± 56.5 ng/mL dans le groupe sans IRA, et

200.2 ± 112.5 ng/mL dans le groupe IRA. A T3 les concentrations en NGAL plasmatique sont de 198.2 ± 123.6 ng/mL dans le groupe sans IRA et 208 ± 159.7 ng/mL dans le groupe avec IRA. Enfin, à T4 les concentrations en NGAL plasmatique sont de 153.2 ± 60.6 ng/mL dans le groupe sans IRA et 228.0 ± 158.4 ng/mL dans le groupe IRA.

La cinétique de ce marqueur montre donc une nette augmentation de la NGAL à T1 (soit immédiatement après la chirurgie) dans le groupe IRA et dans le groupe sans IRA. Cependant, il n'existe pas de différence significative entre ces deux groupes (p = 0.90) (figure 24).

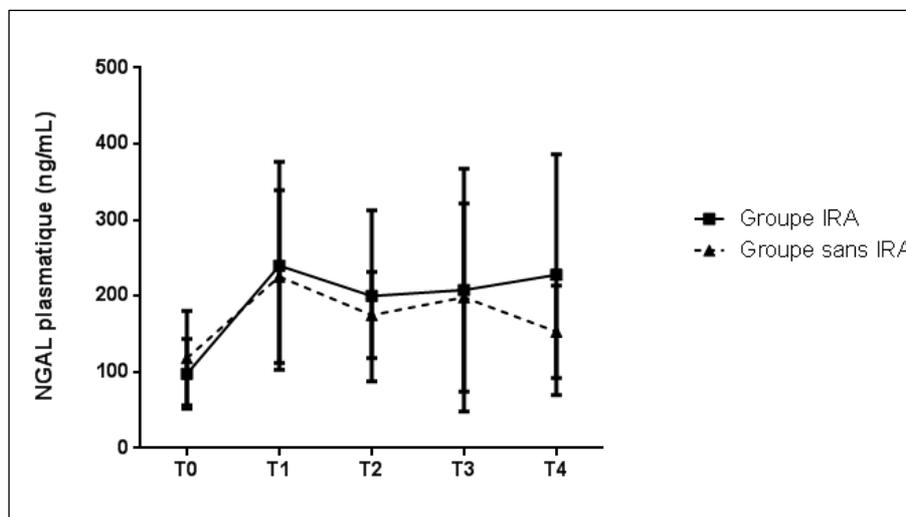


Figure 24 : Cinétique de la NGAL plasmatique dans les 2 groupes (moyenne et écart-type à chaque temps).

La valeur cut-off de NGAL plasmatique fixée par le fabricant permettant de définir une insuffisance rénale est supérieure à 250 ng/mL. Ce seuil est dépassé pour 7 des 13 patients développant une IRA (soit 53.8 %) mais également pour 4 des 13 patients ne développant pas d'IRA (soit 30.8%).

La courbe ROC fournit une aire sous courbe de 0.51 à T1, 0.50 à T2 et T3 et 0.63 à T4. La figure 25 représente la courbe ROC de la NGAL plasmatique à T2. A T1, la NGAL plasmatique avec le cut off à 250 ng/mL fixé par le fabricant donne une sensibilité de 38.5 % et une spécificité de 76.9 % et à T2, une sensibilité de 39 % et une spécificité de 61.5 %.

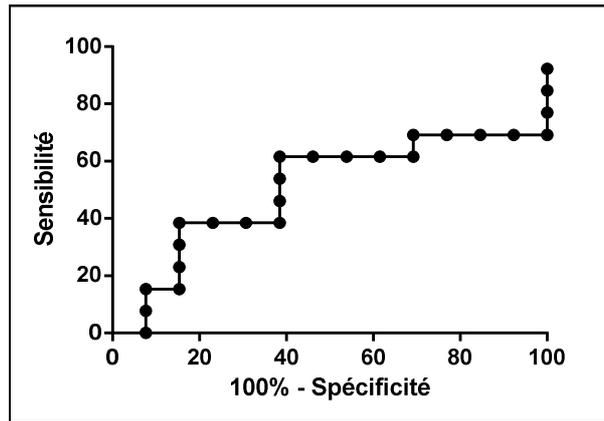


Figure 25 : Courbe ROC de NGAL plasmatique à T2.

2. NGAL urinaire

La valeur moyenne de NGAL urinaire chez l'ensemble des patients est de 12.0 ± 8.6 ng/mL, 46.7 ± 75.4 ng/mL, 156.7 ± 419.5 ng/mL, 74.0 ± 103.4 ng/mL et 63.0 ± 62.8 ng/mL respectivement à T0, T1, T2, T3 et T4 (figure 26A). La valeur moyenne du rapport NGAL urinaire/créatininurie chez l'ensemble des patients est de 1.8 ± 2.1 mg/mol, 8.4 ± 14.0 mg/mol, 91.5 ± 305.6 mg/mol, 8.7 ± 16.4 mg/mol et 10.4 ± 18.2 mg/mol respectivement à T0, T1, T2, T3 et T4 (figure 26B). Ainsi, la NGAL urinaire et le rapport NGAL urinaire/créatininurie s'élèvent dès T1 avec un maximum atteint à T2.

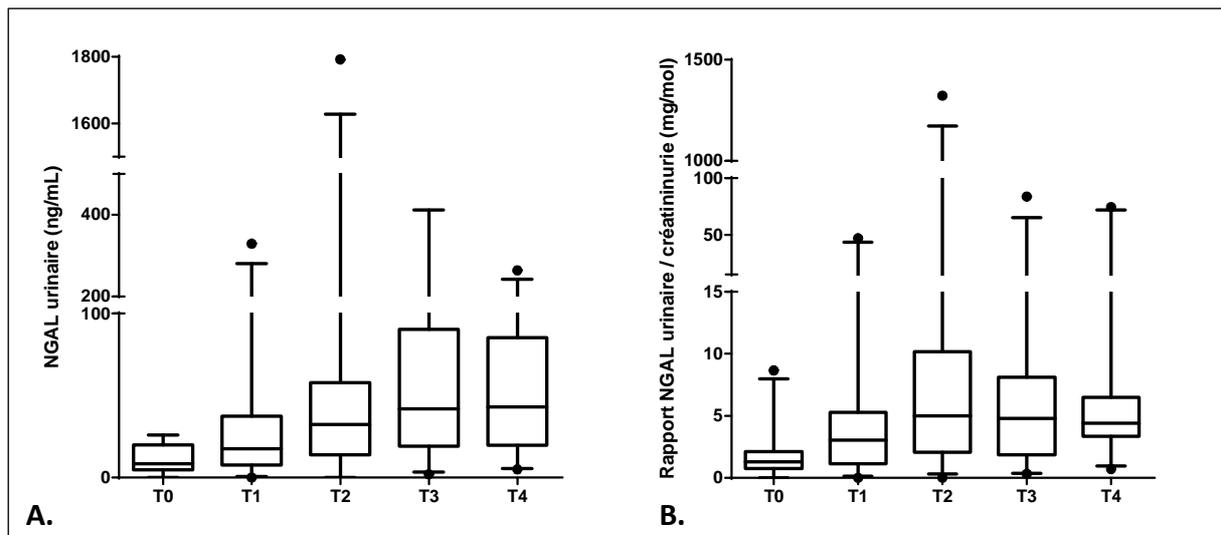


Figure 26 : Valeurs de NGAL urinaire (A) et du rapport NGAL urinaire/créatininurie (B) chez l'ensemble des patients.

La valeur cut-off de NGAL urinaire fixée par le fabricant permettant de définir une insuffisance rénale est supérieure à 250 ng/mL. La NGAL urinaire est supérieure à 250 ng/mL pour 3/13 patients développant une IRA (soit 23%) et pour 0/13 patients sans IRA. Vingt et un patients présentent des valeurs de NGAL urinaire très basses parmi lesquels 9 patients ayant développé une IRA. Le patient n°11 ne développe pas d'IRA alors que la NGAL urinaire s'élève passant de 9 ng/mL à T0 à 202 ng/mL à T4, mais ne dépassant pas le seuil de 250 ng/mL établi par le fournisseur pour détecter une atteinte rénale. En revanche, 2 patients qui vont développer une IRA présentent des valeurs de NGAL dans les urines très élevées à T2 (1322 ng/mL et 1792 ng/mL). Ces valeurs diminuent rapidement et se normalisent à T4.

La courbe ROC fournit une aire sous courbe de 0.53 à T1, 0.59 à T2, 0.60 à T3 et 0.56 à T4. La figure 27 représente la courbe ROC de la NGAL urinaire à T2. A T1, la NGAL urinaire avec le cut off de 250 ng/mL donne une sensibilité de 15 % et une spécificité de 100 % et à T2, une sensibilité de 15.4 % et une spécificité de 92 %.

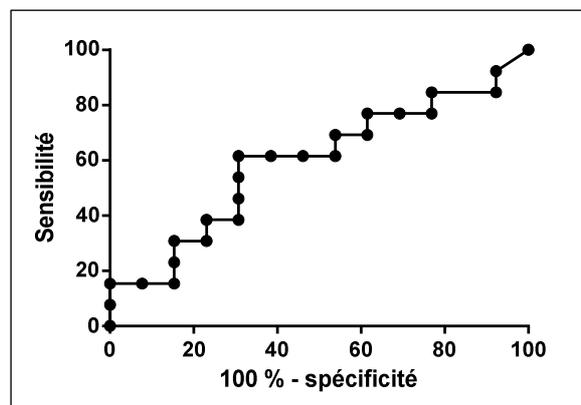


Figure 27 : Courbe ROC de NGAL urinaire à T2.

Ainsi, les résultats de NGAL urinaire n'étant pas très concordants avec ce qui était attendu, nous avons regardé le rapport NGAL urinaire/créatininurie : les aires sous courbe du rapport NGAL urinaire/créatininurie sont de 0.59 à T1, 0.53 à T2, 0.59 à T3 et 0.58 à T4. On constate également une nette augmentation du rapport NGAL urinaire/créatininurie au temps T2 (soit 6h après la fin de la CEC) dans le groupe IRA (figure 28) mais sans différence significative retrouvée entre les 2 groupes ($p = 0.81$). Ce rapport n'est donc pas plus performant que la NGAL urinaire.

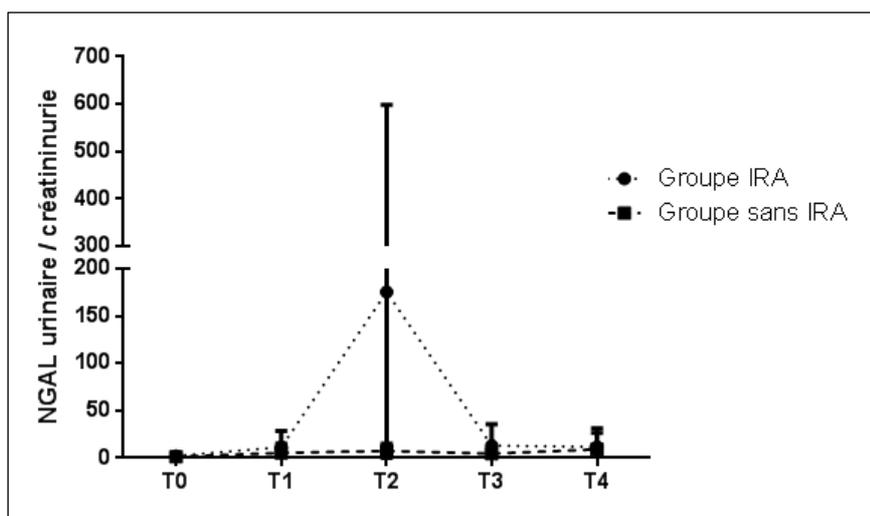


Figure 28 : Cinétique du rapport NGAL urinaire/créatininurie dans les 2 groupes (moyenne et écart-type à chaque temps).

Enfin, notre étude ne permet pas de démontrer de façon générale une supériorité de la NGAL plasmatique par rapport à la NGAL urinaire ou au rapport NGAL urinaire/créatininurie. En effet, aucune différence significative n'est retrouvée entre la NGAL plasmatique et la NGAL urinaire ou le rapport NGAL urinaire/créatininurie lorsque l'on compare le groupe IRA et le groupe sans IRA. Les sensibilités et spécificités obtenues pour la NGAL plasmatique et urinaire sont de plus médiocres. Cependant, si l'on regarde en détail les valeurs brutes et la cinétique de la NGAL plasmatique et de la créatininémie d'un patient développant une IRA (stade AKIN 3) et d'un patient n'en développant pas, on observe que les valeurs de NGAL plasmatique et de créatininémie sont bien plus élevées chez le patient avec une IRA (figure 29A). De plus, la NGAL plasmatique s'élève bien avant la créatininémie (dès T1 pour la NGAL contre T3 pour la créatininémie). Chez le patient sans IRA, ces 2 marqueurs restent stables (figure 29B). Ces données indiquent donc que la NGAL plasmatique détecte plus précocement une IRA (dès la fin de la CEC par rapport à 24H après la fin de la CEC pour la créatininémie) que la créatininémie. Elles permettent donc de pondérer les résultats un peu décevants obtenus lorsqu'on compare les deux groupes, et montrent qu'à l'échelon individuel la NGAL peut être intéressante car informative plus précocement.

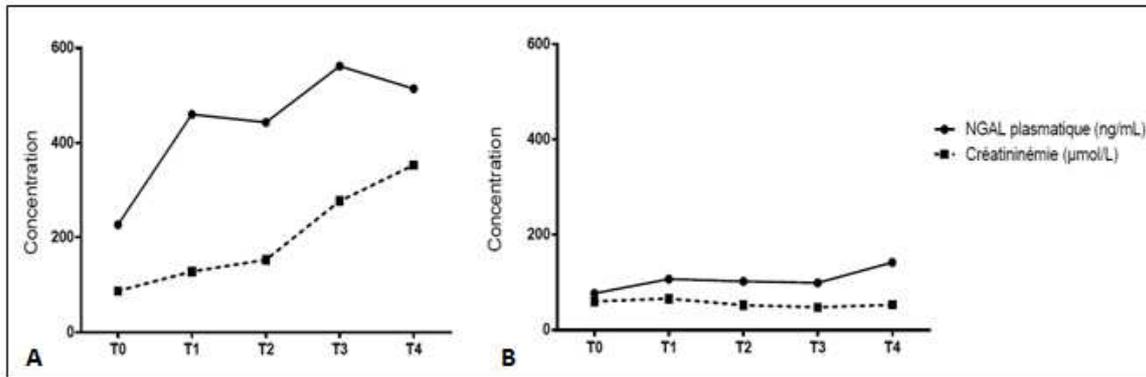


Figure 29 : Comparaison de la NGAL plasmatique et de la créatininémie chez un patient présentant une IRA (A) et chez un patient ne présentant pas d'IRA (B).

3. Comparaison du pourcentage de variation de la NGAL et de la cystatine C avec les marqueurs usuels de la fonction rénale

On constate pour l'urée des concentrations sanguines relativement stables au cours du temps chez les patients du groupe sans IRA. En revanche, comme attendu chez les patients développant une IRA, l'urée a tendance à s'élever surtout à T4 (48h post CEC). En ce qui concerne la créatininémie, les résultats sont comparables à ceux observés pour l'urémie avec toutefois une élévation à partir de T3 soit 24h post-chirurgie (tableau 18).

La définition de l'insuffisance rénale est basée sur une variation de la créatininémie, tandis que pour la NGAL et la cystatine C, ce sont des valeurs seuils qui définissent une atteinte rénale. Nous nous sommes donc intéressés aux variations de ces deux nouveaux marqueurs d'insuffisance rénale. Pour ces deux marqueurs mais également pour la créatinine, nous avons calculé le pourcentage de variation entre les différents temps (T1, T2, T3, T4) par rapport à l'état de base (T0). Puis nous avons comparé les variations de chaque paramètre dans le groupe IRA et dans le groupe sans IRA.

Tout d'abord, on retrouve logiquement un pourcentage de variation de la créatininémie plus important dans le groupe IRA (jusqu'à 31 %) par rapport au groupe sans IRA (figure 30).

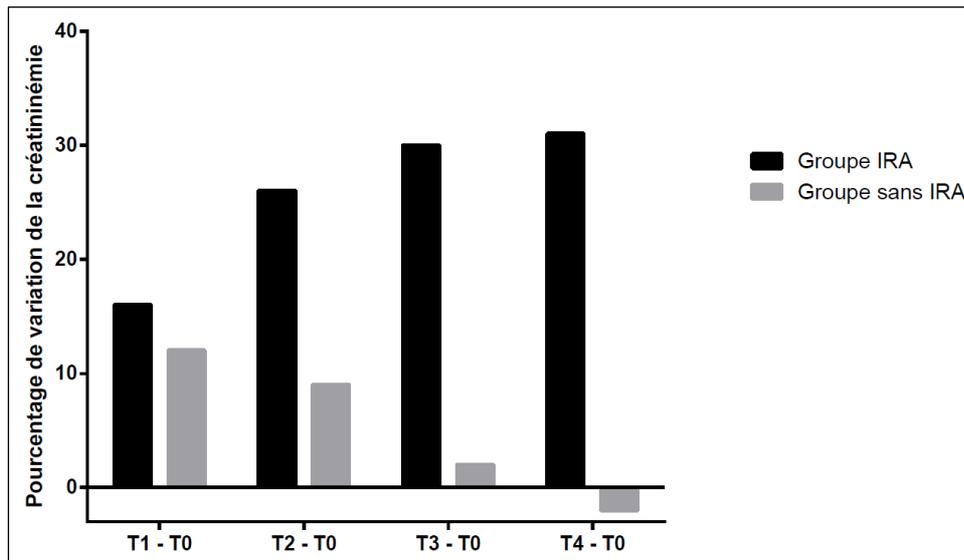


Figure 30 : Pourcentage de variation de la créatininémie dans le groupe IRA et dans le groupe sans IRA.

Concernant le pourcentage de variation de la NGAL, les résultats sont intéressants car on constate dans le groupe IRA une supériorité significative du pourcentage de variation de la NGAL par rapport à celui de la créatinine ($p = 0.0015$ entre T0 et T1, $p = 0.0015$ entre T0 et T2, $p = 0.0088$ entre T0 et T3 et $p = 0.0192$ entre T0 et T4) (figure 31B).

Toutefois, on constate que dans le groupe sans IRA, il existe également une différence significative entre le pourcentage de variation de la NGAL et celui de la créatininémie ($p < 0.005$ pour chaque temps) (figure 31A).

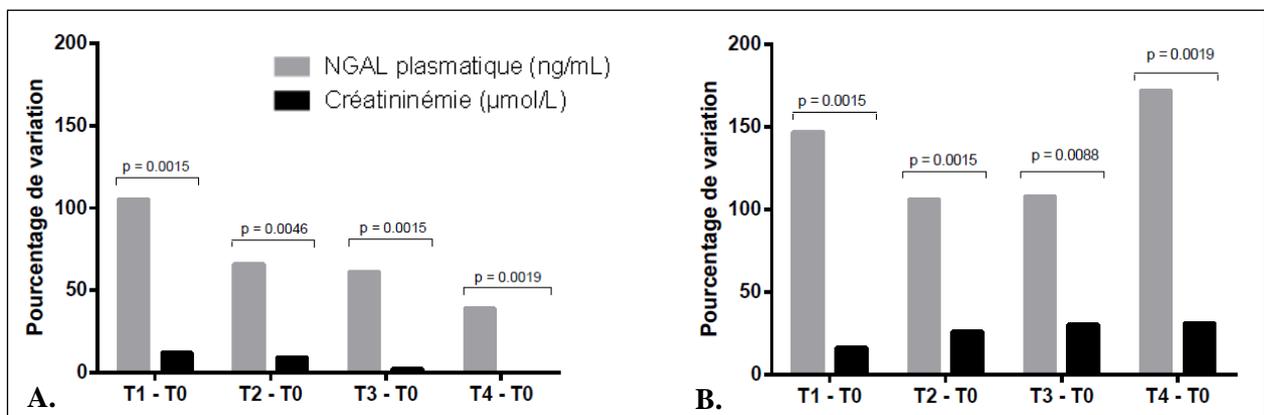


Figure 31 : Pourcentage de variation de NGAL et créatinine dans le groupe sans IRA (n = 13) (A) et dans le groupe IRA (B).

D'autre part, la concentration en cystatine C reste relativement stable tout au long de l'étude dans les deux groupes et il n'existe pas de différence significative entre le pourcentage de variation de la cystatine C entre le groupe développant une IRA et dans le groupe n'en développant pas. En comparant le pourcentage de variation de la cystatine C par rapport à celui de la créatininémie, on constate dans le groupe IRA un pourcentage de variation supérieur de la créatininémie (figure 32B). Dans le groupe sans IRA, il existe une différence significative entre le pourcentage de variation de la cystatine C par rapport à celui de la créatininémie à tous les temps ($p = 0.001$ entre T0 et T1, $p = 0.003$ entre T0 et T2, $p = 0.046$ entre T0 et T3 et $p = 0.039$ entre T0 et T4) ; On constate une variation plus importante de la créatininémie entre les temps T1 - T0 et T2 - T0 alors qu'aux temps T3-T0 et T4-T0, la variation de la cystatine C est cette fois plus importante (figure 32A). Cette différence entre la créatininémie et la cystatine C n'est donc pas en faveur de la cystatine C.

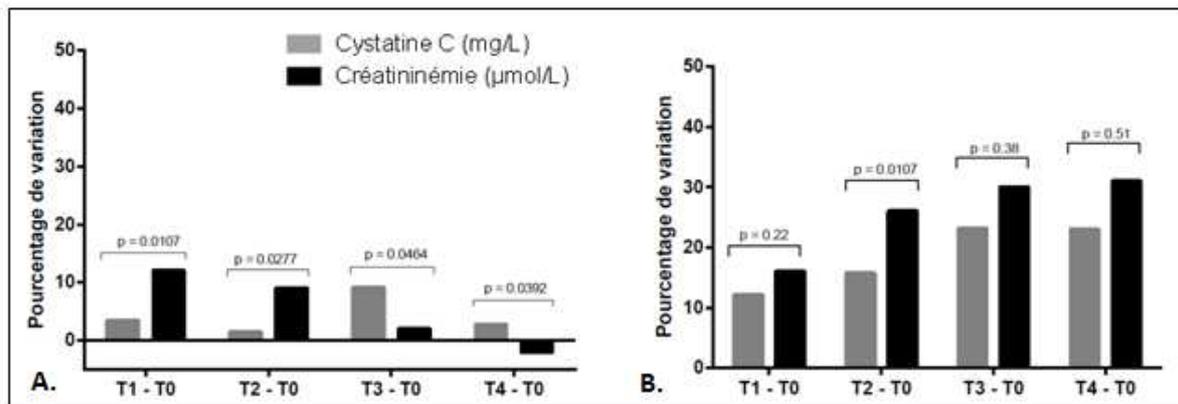


Figure 32 : Pourcentage de variation de la cystatine C et de la créatininémie dans le groupe sans IRA **(A)** et dans le groupe IRA **(B)**.

4. Comparaison du pourcentage de variation de la NGAL et de la cystatine C

Concernant le pourcentage de variation de la NGAL et de la cystatine C, il apparaît une très nette supériorité de la NGAL dans le groupe IRA ($p < 0.001$ entre T0 et T1 et entre T0 et T2, $p = 0.013$ entre T0 et T3) (figure 33B) et dans le groupe sans IRA ($p = 0.001$ entre T0 et T1, $p = 0.003$ entre T0 et T2, $p = 0.002$ entre T0 et T3 et $p = 0.013$ entre T0 et T4) (figure 33A).

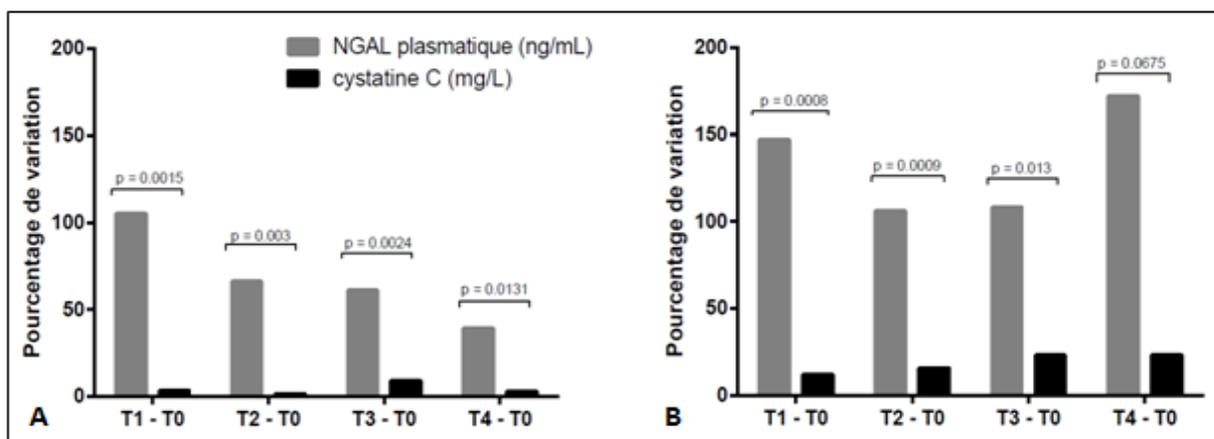


Figure 33 : Pourcentage de variation de NGAL et de cystatine C dans le groupe sans IRA (A) et dans le groupe IRA (B).

5. Autres paramètres étudiés

La protéinurie permet également de dépister une altération rénale et à l'état physiologique, la protéinurie est inférieure à 150 mg/24h ; chez l'ensemble des patients du protocole, elle varie peu au cours du temps et il n'est pas observé de différence significative entre le groupe IRA et le groupe sans IRA.

Le rapport Natriurie/Kaliurie, reflétant une éventuelle IRA fonctionnelle et normalement supérieur à 1, s'inverse à T3 dans les deux groupes.

La CRP s'élève dès 6h après l'intervention et plus nettement dans les 2 groupes à T3 et T4 sans que l'on observe de différence significative. Il n'y a d'ailleurs pas de recommandation à effectuer ce dosage en post-opératoire où l'on sait que l'inflammation retrouvée reste aspécifique. Cependant la NGAL étant sécrétée par les polynucléaires neutrophiles, il nous a semblé intéressant « *a posteriori* » d'évaluer la valeur de cette dernière en fonction de la valeur des polynucléaires neutrophiles. Cependant nous ne disposons que de la valeur des leucocytes (tableau 24). Il existe une corrélation significative entre la valeur de la NGAL plasmatique et le nombre de leucocytes ($p = 0.009$) mais avec un coefficient de corrélation très faible ($r = 0.36$) et sans relation avec la présence ou non d'une IRA. Ces résultats confirment donc les données de la littérature même si nous avons utilisé les valeurs des leucocytes et non des polynucléaires neutrophiles.

L'albuminémie a également été mesurée, on observe une diminution à T1 suivie d'une ré-augmentation dès T2 en général sans différence observée entre le groupe IRA et le groupe sans IRA.

Enfin, la Lp(a) dosée chez l'ensemble des patients à T0, montre une valeur moyenne de 0.24 ± 0.24 g/L et une valeur médiane de 0.11 g/L. Aucune différence n'est retrouvée entre les 2 groupes.

6. Analyse multivariée

L'analyse multivariée chez l'ensemble des patients ne montre pas de lien entre la valeur de la NGAL plasmatique ou de la cystatine C et le développement d'une IRA. Il n'existe pas non plus de lien entre le développement d'une IRA et la présence de facteurs de risque cardiovasculaire, la durée de la CEC, l'utilisation de diurétiques, la durée d'hospitalisation et la mortalité à J28. De plus, aucun lien n'est retrouvé entre la valeur de NGAL plasmatique ou de cystatine C et la durée de la CEC, l'utilisation de diurétiques, la durée d'hospitalisation, le recours à une EER et la mortalité à J28. Enfin, il n'existe pas de lien entre la valeur du rapport NGAL urinaire/créatininurie et la survenue d'une IRA.

Discussion & Perspectives

L'objectif de cette étude était d'étudier l'association entre l'augmentation de la NGAL et la prédiction précoce d'une IRA dans le cadre du suivi post chirurgie cardiaque de patients âgés (plus de 75 ans) ayant bénéficié d'un RVA sous CEC. En effet, de nombreuses études tentent de trouver un nouveau biomarqueur en remplacement de la créatinine, paramètre d'exploration rénale le plus prescrit mais possédant quelques limites. La créatinine est un produit de dégradation du métabolisme musculaire normal et il convient donc d'interpréter sa concentration avec prudence chez les enfants et les personnes âgées puisque ce marqueur est dépendant de la masse musculaire. Son élimination urinaire se fait par filtration glomérulaire suivie d'une sécrétion tubulaire négligeable chez le sujet avec une fonction rénale normale mais cette sécrétion augmente en cas d'insuffisance rénale. De plus, il faut une atteinte d'au moins 50 % des néphrons pour observer une augmentation sensible de la créatinine sérique ce qui en fait un paramètre tardif : la créatinine s'élève alors 12 à 24 heures après le début de l'atteinte rénale. Ce retard de diagnostic et donc de prise en charge est délétère pour les patients. L'IRA en postopératoire de chirurgie cardiaque survient chez 3 à 30 % des patients et est associée à une morbidité et une mortalité importante d'où la nécessité de prendre en charge la défaillance rénale le plus rapidement possible.

Le principal biomarqueur que nous avons étudié est la NGAL. A l'origine, la NGAL a été identifiée dans les polynucléaires neutrophiles mais aussi dans le rein ou le foie en réponse à différents états pathologiques (inflammation, infection, ischémie, insuffisance rénale aiguë, néoplasie ...). Au niveau rénal, la NGAL est filtrée par le glomérule puis réabsorbée dans le tubule proximal. En cas d'IRA, les gènes codant la NGAL sont massivement et rapidement up-régulés dans la partie distale du néphron entraînant une élévation massive de ce marqueur dans le sang et les urines. Sa demi-vie de 10 minutes en fait un marqueur très dynamique. L'équipe de Mishra a montré que l'on retrouve une élévation de la NGAL plasmatique dès 2 heures après une atteinte rénale. De nombreuses études ont été publiées ces dernières années sur ce nouveau biomarqueur avec plus de 7000 patients étudiés au total mais les résultats sont hétérogènes selon la population étudiée, la définition de l'IRA, la nature du test de dosage de la NGAL choisi et le cut-off utilisé.

Notre étude comprend une cohorte de 26 patients (11 hommes et 15 femmes), d'âge moyen 81 ans. Parmi les facteurs de risque cardiovasculaire, 4 patients étaient fumeurs (soit 15.4

%), 2 diabétiques (7.7 %), 20 présentaient une HTA (76.9 %) et 15 une dyslipidémie (57.7%). Tous les patients ont bénéficié d'un RVA isolé sous CEC et présentaient un DFG calculé avec la formule MDRD supérieur à 50 mL/min/1.73 m² (critères d'inclusion). Les patients ont alors bénéficié de 5 prélèvements sanguins et urinaires : un dosage avant le début de la CEC correspondant au dosage de base (T0), un dosage à la fin de la CEC (T1) et un dosage 6 heures (T2), 24 heures (T3) et 48 heures (T4) après la fin de la CEC.

Parmi les 26 patients inclus, 13 ont développé une IRA après la chirurgie (groupe IRA) et 13 n'en développent pas (groupe sans IRA) d'après la définition de l'IRA basée sur la classification AKIN. Pour autant les 13 patients du groupe IRA ne présentaient pas un stade sévère et pour aucun patient le recours à l'EER n'a été nécessaire. Aucune différence significative n'est observée entre les 2 groupes concernant les données préopératoires (sexe ratio, âge, BMI, DFG selon la formule MDRD, FeVG et facteurs de risque cardiovasculaire). Il n'existe pas non plus de différence significative entre la durée du clampage aortique, la durée de la CEC et la diurèse peropératoire. En revanche, le nombre de culots globulaires administrés au cours de la chirurgie apparaît significativement différents entre les 2 groupes ; ainsi, on constate que les patients en IRA sont davantage transfusés ($p = 0.024$). La déplétion de volume sanguin entraîne une diminution du volume de perfusion du rein pouvant être à l'origine de l'IRA. On peut alors conclure que les patients du groupe IRA ont eu une perte sanguine plus importante au cours de la chirurgie nécessitant le recours à une transfusion de CG, cette perte sanguine entraînant une hypovolémie et un défaut de perfusion rénale peut être un facteur de développement d'une IRA fonctionnelle.

Les données postopératoires recueillies (volume de remplissage, nombre de culots globulaires transfusés, utilisation de diurétiques) ne sont pas significativement différentes entre les 2 groupes. Par contre, la diurèse des 24 premières heures est significativement différente ($p = 0.015$) avec une diurèse moins importante dans le groupe IRA ; ce paramètre entrant dans la définition de l'IRA utilisée, la différence observée est donc cohérente. L'EER n'a été nécessaire pour aucun patient et la mortalité à J28 est nulle pour l'ensemble des patients.

Tout d'abord, cette étude a permis de confirmer la bonne corrélation ($r = 0.99$) entre le dosage de la créatinine selon la technique Jaffé compensée (technique utilisée en routine au laboratoire de Biochimie) et la technique enzymatique et a permis de comparer les différentes formules de clairance et DFG disponibles (CG, MDRD, CKD-EPI créatinine, CKD-EPI cystatine C, CKD-EPI créatinine/cystatine C et le DFG cystatine C) chez les 26 patients à T0. On constate une hétérogénéité importante de la clairance ou du DFG selon la formule utilisée. Ainsi, en utilisant la formule MDRD, tous les patients ont un DFG supérieur à 50 mL/min/1.73 m² et ont donc pu être inclus dans le protocole (le DFG calculé avec la formule MDRD supérieur à 50 mL/min/1.73 m² était un critère d'inclusion dans le protocole). En revanche, en utilisant la clairance de CG, 5 patients auraient été exclus du protocole. On constate également que 5, 10 et 3 patients auraient été exclus en utilisant respectivement la formule DFG cystatine C, CKD-EPI cystatine C et CKD-EPI créatinine-cystatine C. Avec la formule CKD-EPI créatinine, aucun patient n'aurait été exclu. Actuellement, l'HAS recommande l'utilisation de la formule CKD-EPI créatinine (la clairance de la créatinine par la formule de CG est toujours à utiliser dans le cadre de l'adaptation posologique des médicaments puisque toutes les études sont réalisées avec cette formule). De plus, en utilisant les critères Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) qui permettent de définir les différents stades d'IRC, on constate que parmi les 26 patients, 13 sont classés différemment selon la formule de DFG utilisée : 11 patients passent du stade 2 (DFG entre 60 et 89 mL/min/1.73 m²) au stade 3 (DFG inférieur à 60 mL/min/1.73 m²) et 2 patients passent du stade 1 (DFG supérieur à 90 mL/min/1.73 m²) au stade 3.

D'autre part, les dosages réalisés aux différents temps de l'étude indiquent une augmentation de NGAL plasmatique à T1 sans différence significative entre les 2 groupes sur les 5 temps de l'étude. L'utilisation des pourcentage de variation de la NGAL plasmatique aux différents temps par rapport à T0 ne permet pas de retrouver de différence significative entre les 2 groupes. Cependant, avec un p égal à 0.056 pour la variation de NGAL plasmatique entre T0 et T2 entre les 2 groupes, on peut supposer qu'en augmentant la cohorte étudiée, la différence deviendrait significative.

De plus, le pourcentage de variation de la NGAL plasmatique est supérieur au pourcentage de variation de la créatininémie dans le groupe IRA mais aussi dans le groupe sans IRA. Ces résultats suggèrent donc une élévation de la NGAL plasmatique chez tous les patients y

compris chez ceux sans évolution en IRA. On peut toutefois supposer que chez ces patients âgés, la fonction rénale est altérée lors de la chirurgie pour ces patients sans évolution en IRA. Les sensibilité et spécificité pour la NGAL plasmatique sont médiocres, de même que pour la NGAL urinaire et notre étude ne met pas en évidence de supériorité entre le dosage sanguin ou urinaire. L'avantage d'un dosage dans les urines est la facilité du prélèvement (pas de prélèvement invasif) mais n'est pas possible en cas d'oligurie et la concentration de NGAL urinaire peut être influencée par l'état d'hydratation du sujet ou l'existence d'une infection du tractus urinaire (présence de polynucléaires neutrophiles et donc élévation possible de la NGAL urinaire sans IRA).

La cystatine C est également un des biomarqueurs potentiels d'exploration de l'IRA ; notre étude retrouve une faible variation de ce marqueur dans les 2 groupes. De plus, la cystatine C n'apparaît pas supérieure à la créatininémie pour le dépistage de l'IRA et la NGAL plasmatique apparaît avoir une supériorité par rapport à la cystatine C dans la détection de l'IRA.

Les résultats obtenus lors de notre étude ne sont pas en adéquation avec les données de la littérature. Les hypothèses permettant d'expliquer ce manque de sensibilité et spécificité de la NGAL sont tout d'abord le faible nombre de patients inclus. Il serait donc intéressant d'augmenter la cohorte de patients étudiés. De plus, l'étude étant prospective, nous ne pouvions pas sélectionner les patients sur le développement ou non d'une IRA et sur la sévérité de cette IRA si bien qu'aucun patient n'a nécessité d'EER. L'IRA développée par les 13 patients n'était pas une IRA sévère et l'on peut supposer que la sensibilité et spécificité de la NGAL serait meilleure dans le cas où l'IRA est de gravité plus importante car plusieurs études présentent la NGAL comme corrélée à la gravité de l'atteinte rénale ⁹⁶. Cette hypothèse est corroborée par le fait que si l'on analyse les données du patient présentant une IRA au stade AKIN 3 et d'un patient ne développant pas d'IRA, on constate une élévation importante de la NGAL dès T1, donc plus précoce que l'élévation de la créatininémie qui a lieu au temps T3. En revanche, chez le patient ne développant d'IRA, ces 2 paramètres sont stables et n'augmentent pas durant l'étude. Ces données soulignent donc l'intérêt de la NGAL dans la détection précoce de l'IRA en post chirurgie cardiaque et l'intérêt de

poursuivre l'étude sur une plus grande cohorte peut être rétrospective permettant d'inclure des patients développant une IRA sévère.

Une autre explication est le fait que l'atteinte rénale au cours d'une chirurgie est souvent multifactorielle, liée au phénomène d'ischémie-reperfusion, à l'hypotension, à l'hypovolémie, l'inflammation, le stress oxydatif, la nécrose tubulaire ou le sepsis. Or, la NGAL augmente lors d'une nécrose tubulaire. Les patients étudiés n'ont sûrement pas développé d'atteinte tubulaire mais plutôt une IRA fonctionnelle liée à l'hypoperfusion rénale. Et même en absence d'IRA avérée selon les critères AKIN, les augmentations de NGAL observées chez les patients du groupe sans IRA témoignent d'une atteinte rénale à minima.

On pourrait également envisager de modifier les temps d'étude en particulier en ajoutant un prélèvement supplémentaire 2 heures après la fin de la CEC car la NGAL apparaît dès 2 heures après une atteinte rénale et possède une demi vie courte. Ainsi, le temps à T = 6 heures après la fin de la CEC dans notre étude est peut être trop tardif pour détecter l'élévation maximale de ce marqueur.

Enfin, de nombreuses trousse de dosage de NGAL sont disponibles sur le marché, chaque fournisseur définissant ses propres seuils différents pour affirmer une atteinte rénale. A notre connaissance, aucune étude ne compare l'intérêt de la NGAL dans la détection de l'IRA avec la trousse Eurobio, trousse utilisée dans notre protocole car adaptable sur automate d'urgence. Ainsi, nos résultats sont difficilement comparables aux autres études utilisant le même seuil pour définir une atteinte rénale. Les autres trousse de dosage recommandent des seuils plus bas que celui préconisé par Eurobio fixé à 250 ng/mL. Nos résultats suggèrent également que l'utilisation de la cinétique de la NGAL est plus informative et sensible pour définir une atteinte rénale, à l'instar des critères d'augmentation de la créatinine utilisés par l'AKIN.

Conclusion

Cette étude, évaluant l'intérêt de la NGAL dans la détection précoce de l'IRA après une chirurgie de RVA sous CEC chez les personnes âgées, a permis de montrer que ce marqueur détecte plus précocement une IRA chez les patients présentant une atteinte sévère de la fonction rénale. En effet un gain de 24 heures est observé en comparaison avec la créatinine. Nous montrons également que même chez les sujets sans IRA définie, la NGAL augmente témoignant donc d'une atteinte rénale causée probablement par la CEC.

Il est donc nécessaire de poursuivre ce travail : d'une part en augmentant le nombre de patients ce qui permettra d'étudier des patients présentant une IRA plus sévère en particulier des patients nécessitant une EER ; d'autre part en incluant des prélèvements intermédiaires supplémentaires (temps T = 2 heures après la chirurgie pour doser la NGAL plasmatique). Il ne nous semble pas judicieux de maintenir le dosage NGAL urinaire puisque les résultats obtenus sont moins informatifs que les résultats des dosages de NGAL plasmatique.

Cette étude avait pour objectif d'être une étude pilote, elle pourra servir de base pour d'autres études comme celles sus-citées, mais également pour une étude chez des patients devant bénéficier de RVA percutané. En effet, cette technique requiert l'utilisation de produits de contraste iodés, connus pour entraîner potentiellement des nécroses tubulaires aiguës conduisant à une IRA.

Les résultats obtenus au cours de cette étude font l'objet d'un article en cours de rédaction. Un poster évaluant les différentes formules de clairance ou de DFG a déjà été présenté au congrès IFCC d'Istanbul en juin 2014 (cf annexe).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Kerr M, Bedford M, Matthews B, O'Donoghue D. The economic impact of acute kidney injury in England. *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 : 1362-8.
- 2 Ali T, Khan I, Simpson W, Prescott G, Townend J, Smith W *et al.* Incidence and Outcomes in Acute Kidney Injury: A Comprehensive Population-Based Study. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1292–98.
- 3 Bagshaw SM, George C, Bellomo R. Changes in the incidence and outcome for early acute kidney injury in a cohort of Australian intensive care units. *Crit Care* 2007; 11: R68.
- 4 Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care Lond Engl* 2004; 8: R204–12.
- 5 Ricci Z, Cruz D, Ronco C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. *Kidney Int* 2007; 73: 538–46.
- 6 Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute Kidney Injury, Mortality, Length of Stay, and Costs in Hospitalized Patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3365–70.
- 7 Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG *et al.* Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care Lond Engl* 2007; 11: R31.
- 8 Ostermann M, Chang RWS. Challenges of defining acute kidney injury. *QJM* 2011; 104: 237–43.
- 9 Jacob L. Insuffisance rénale aiguë. *Ann Fr Anesth Réanim* 2005 ; 24 : 125-33.
- 10 Murugan R, Kellum JA. Acute kidney injury: what's the prognosis? *Nat Rev Nephrol* 2011; 7: 209–17.
- 11 Deman A, Hoste E, Van Biesen W, Vanholder R, Lameire N. Insuffisance rénale aiguë postopératoire : épidémiologie, causes, pronostic et traitement. *Actual Néphrologiques Jean Hambg.* 2004 ; 227–54.
- 12 Kohli HS, Bhaskaran MC, Muthukumar T, Thennarasu K, Sud K, Jha V *et al.* Treatment-related acute renal failure in the elderly: a hospital-based prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 212–17.
- 13 Huen SC, Parikh CR. Predicting acute kidney injury after cardiac surgery: a systematic review. *Ann Thorac Surg* 2012; 93: 337–47.

- 14 Bucaloiu ID, Kirchner HL, Norfolk ER, Hartle JE, Perkins RM. Increased risk of death and de novo chronic kidney disease following reversible acute kidney injury. *Kidney Int* 2012; 81: 477–85.
- 15 Huen S, Parikh CR. Predicting Acute Kidney Injury Following Cardiac Surgery: A Systematic Review. *Ann Thorac Surg* 2012; 93: 337–47.
- 16 Lok CE, Austin PC, Wang H, Tu JV. Impact of renal insufficiency on short- and long-term outcomes after cardiac surgery. *Am Heart J* 2004; 148: 430–38.
- 17 Chronopoulos A, Cruz DN, Ronco C. Hospital-acquired acute kidney injury in the elderly. *Nat Rev Nephrol* 2010; 6: 141–49.
- 18 Brown JR, Cochran RP, Leavitt BJ, Dacey LJ, Ross CS, MacKenzie TA *et al.* Multivariable prediction of renal insufficiency developing after cardiac surgery. *Circulation* 2007; 116: I139–43.
- 19 Recommandations de la Societe francaise de cardiologie concernant la prise en charge des valvulopathies acquises et des dysfonctions de prothese valvulaire ; fev2005.
- 20 Baudin B. L'exploration du rein en 2013. EM-Consulte. <http://www.em-consulte.com/article/800566/figures/lexploration-du-rein-en-2013>.
- 21 Dussol B. Méthodes d'exploration de la fonction rénale : intérêt et limites des formules permettant d'estimer la fonction rénale. *Immuno-Anal Biol Spéc* 2011; 26: 6–12.
- 22 Borsook H, Dubnoff JW. The Hydrolysis of Phosphocreatine and the Origin of Urinary Creatinine. *J Biol Chem* 1947; 168: 493–510.
- 23 Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 478–94.
- 24 Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992; 38: 1933–53.
- 25 Van Acker BAC, Koopman MG, Arisz L, Koomen GCM, de Waart DR. Creatinine clearance during cimetidine administration for measurement of glomerular filtration rate. *The Lancet* 1992; 340: 1326–29.
- 26 Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985; 28: 830–38.
- 27 Bauer JH, Brooks CS, Burch RN. Renal function studies in man with advanced renal insufficiency. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found* 1982; 2: 30–35.
- 28 Hsu C-Y, Chertow GM, Curhan GC. Methodological issues in studying the epidemiology of mild to moderate chronic renal insufficiency. *Kidney Int* 2002; 61: 1567–76.
- 29 Delanaye P, Cavalier E, Maillard N, Krzesinski J-M, Mariat C, Cristol J-P *et al.* La créatinine : d'hier à aujourd'hui. *Ann Biol Clin (Paris)* 2010; 68: 531–43.

- 30 Froissart M, Rossert J. [How to improve estimation of renal function in the elderly]. *Rev Prat* 2005; 55: 2223–29.
- 31 Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Ann Intern Med* 1999; 130: 461–70.
- 32 National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found* 2002; 39: S1–266.
- 33 Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang Y (Lucy), Hendriksen S *et al.* Using Standardized Serum Creatinine Values in the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med* 2006; 145: 247–54.
- 34 Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y (Lucy), Castro AF, Feldman HI *et al.* A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med* 2009; 150: 604–12.
- 35 Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations for Estimating Renal Function. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 763–73.
- 36 Poggio ED, Wang X, Greene T, Lente FV, Hall PM. Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations in the Estimation of GFR in Health and in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 459–66.
- 37 Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and New CKD-EPI Formulas in Relation to GFR, Age, and Body Size. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN* 2010; 5: 1003–09.
- 38 Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang Y (Lucy), Beck GJ, Froissart M *et al.* Comparative Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Equations for Estimating GFR Levels Above 60 mL/min/1.73 m². *Am J Kidney Dis* 2010; 56: 486–95.
- 39 Garg AX, Papaioannou A, Ferko N, Campbell G, Clarke J-A, Ray JG. Estimating the prevalence of renal insufficiency in seniors requiring long-term care. *Kidney Int* 2004; 65: 649–53.
- 40 Carbonnel C, Seux V, Pauly V, Oddoze C, Roubicek C, Larue JR *et al.* Quelle méthode d'évaluation de la fonction rénale utiliser chez le sujet âgé hospitalisé en unité de court séjour gériatrique ? Comparaison de quatre méthodes. *Rev Médecine Interne* 2008; 29: 364–69.
- 41 Rimon E, Kagansky N, Cojocar L, Gindin J, Schattner A, Levy S. Can creatinine clearance be accurately predicted by formulae in octogenarian in-patients? *QJM* 2004; 97: 281–87.
- 42 Bricon TL. Exploration biologique de la protéinurie au laboratoire d'analyses : aspects quantitatifs. *Ann Biol Clin (Paris)* 2001; 59: 701–15.

- 43 Gagneux-Brunon A, Delanaye P, Legrand D, Cavalier E, Mariat C. NGAL, biomarqueur de lésion rénale : point d'étape en 2012. *Néphrologie Thérapeutique* 2012; 8: 508–15.
- 44 Lalanne A, Beaudeau J-L, Bernard M-A. [NGAL: a biomarker of acute and chronic renal dysfunction]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2011; 69: 629–36.
- 45 Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993; 268: 10425–32.
- 46 Kjeldsen L, Bainton DF, Sengelov H, Borregaard N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood* 1994; 83: 799–807.
- 47 Cai L, Rubin J, Han W, Venge P, Xu S. The Origin of Multiple Molecular Forms in Urine of HNL/NGAL. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 2229–35.
- 48 Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The Neutrophil Lipocalin NGAL Is a Bacteriostatic Agent that Interferes with Siderophore-Mediated Iron Acquisition. *Mol Cell* 2002; 10: 1033–43.
- 49 Challen GA, Martinez G, Davis MJ, Taylor DF, Crowe M, Teasdale RD *et al.* Identifying the Molecular Phenotype of Renal Progenitor Cells. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2344–57.
- 50 Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel FJ, Moore LC, Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2003; 63: 1714–24.
- 51 Paragas N, Qiu A, Zhang Q, Samstein B, Deng S-X, Schmidt-Ott KM *et al.* The Ngal Reporter Mouse Detects the Response of the Kidney to Injury in Real Time. *Nat Med* 2011; 17: 216–22.
- 52 Pedersen KR, Povlsen JV, Christensen S, Pedersen J, Hjortholm K, Larsen SH *et al.* Risk factors for acute renal failure requiring dialysis after surgery for congenital heart disease in children. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007; 51: 1344–49.
- 53 Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C *et al.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005; 365: 1231–38.
- 54 Bennett M, Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Grenier F, Workman R *et al.* Urine NGAL Predicts Severity of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Prospective Study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 665–73.
- 55 Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes MM, Barasch J *et al.* Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care* 2007; 11: R127.
- 56 Parikh CR, Coca SG, Thiessen-Philbrook H, Shlipak MG, Koyner JL, Wang Z *et al.* Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol JASN* 2011; 22: 1748–57.

- 57 Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N *et al.* Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med* 2008; 148: 810–19.
- 58 Wagener GMD, Jan M, Kim MBS, Mori KMD, Barasch JMMD, Sladen RNMBCB *et al.* Association between Increases in Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin and Acute Renal Dysfunction after Adult Cardiac Surgery. *Anesthesiol Sept 2006* 2006; 105: 485–91.
- 59 Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery. *Am J Kidney Dis* 2008; 52: 425–33.
- 60 Bataille A, Abbas S, Semoun O, Bourgeois E, Marie O, Bonnet F *et al.* Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Kidney Transplantation and Early Renal Function Prediction. [Miscellaneous Article]. *Transplant Novemb 15 2011* 2011; 92: 1024–30.
- 61 Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J *et al.* Urine NGAL and IL-18 are Predictive Biomarkers for Delayed Graft Function Following Kidney Transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 1639–45.
- 62 Filiopoulos V, Biblaki D, Vlassopoulos D. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a promising biomarker of contrast-induced nephropathy after computed tomography. *Ren Fail* 2014; 36: 979–86.
- 63 Liebetau C, Gaede L, Doerr O, Blumenstein J, Rixe J, Teichert O *et al.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) for the early detection of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 74: 81–88.
- 64 Singer E, Markó L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Müller DN *et al.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta Physiol* 2013; 207: 663–72.
- 65 Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, Arabi Y, Dodek P, Wood G *et al.* Acute kidney injury in septic shock: clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med* 2009; 35: 871–81.
- 66 De Geus HRH, Betjes MG, Schaick R van, Groeneveld JABJ. Plasma NGAL similarly predicts acute kidney injury in sepsis and nonsepsis. *Biomark Med* 2013; 7: 415–21.
- 67 Camou F, Oger S, Paroissin C, Guilhon E, Guisset O, Mourissoux G *et al.* Le dosage plasmatique de Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) prédit la défaillance rénale au cours du choc septique dès l'admission en réanimation. *Ann Fr Anesth Réanimation* 2013; 32: 157–64.
- 68 Mårtensson J, Bell M, Oldner A, Xu S, Venge P, Martling C-R. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in adult septic patients with and without acute kidney injury. *Intensive Care Med* 2010; 36: 1333–40.

- 69 Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H *et al.* Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med* 2010; 36: 452–61.
- 70 Grubb A, Löfberg H. Human gamma-trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982; 79: 3024–27.
- 71 Janowski R, Kozak M, Jankowska E, Grzonka Z, Grubb A, Abrahamson M *et al.* Human cystatin C, an amyloidogenic protein, dimerizes through three-dimensional domain swapping. *Nat Struct Mol Biol* 2001; 8: 316–20.
- 72 Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta* 2002; 323: 121–28.
- 73 Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O *et al.* Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990; 268: 287–94.
- 74 Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O *et al.* Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 2004; 66: 1115–22.
- 75 Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Ma Q, Bennett MR, Möckel M *et al.* Novel Biomarkers Early Predict the Severity of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery in Adults. *Ann Thorac Surg* 2009; 88: 124–30.
- 76 Soto K, Coelho S, Rodrigues B, Martins H, Frade F, Lopes S *et al.* Cystatin C as a Marker of Acute Kidney Injury in the Emergency Department. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1745–54.
- 77 Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003; 63: 1944–47.
- 78 Séronie-Vivien S, Delanaye P, Pieroni L, Mariat C, Froissart M, Cristol J-P *et al.* [Cystatin C: current step and future prospects]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2008; 66: 301–23.
- 79 Macdonald J, Marcora S, Jibani M, Roberts G, Kumwenda M, Glover R *et al.* GFR Estimation Using Cystatin C Is Not Independent of Body Composition. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 712–19.
- 80 Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 221–26.
- 81 Salgado JV, Souza FL, Salgado BJ. How to understand the association between cystatin C levels and cardiovascular disease: Imbalance, counterbalance, or consequence? *J Cardiol* 2013; 62: 331–35.
- 82 Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T *et al.* Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 2012; 367: 20–29.
- 83 Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL *et al.* Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), a Putative Epithelial Cell Adhesion Molecule Containing a Novel

- Immunoglobulin Domain, Is Up-regulated in Renal Cells after Injury. *J Biol Chem* 1998; 273: 4135–42.
- 84 Devarajan P. Biomarkers for the Early Detection of Acute Kidney Injury. *Curr Opin Pediatr* 2011; 23: 194–200.
- 85 Shao X, Tian L, Xu W, Zhang Z, Wang C, Qi C *et al*. Diagnostic Value of Urinary Kidney Injury Molecule 1 for Acute Kidney Injury: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2014; 9.
- 86 Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002; 62: 237–44.
- 87 Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 Is an Early Diagnostic Marker for Acute Kidney Injury and Predicts Mortality in the Intensive Care Unit. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3046–52.
- 88 Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C *et al*. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2006; 70: 199–203.
- 89 Ferguson MA, Vaidya VS, Waikar SS, Collings FB, Sunderland KE, Gioules CJ *et al*. Urinary liver-type fatty acid-binding protein predicts adverse outcomes in acute kidney injury. *Kidney Int* 2010; 77: 708–14.
- 90 Ariarajah N. Biomarqueurs dans l'insuffisance rénale aiguë. *Rev Med Suisse* 2011; Volume 284: 490–94.
- 91 Devarajan P. Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrol Carlton Vic* 2010; 15: 419–28.
- 92 Bargnoux A-S, Boutten A, Cambillau M, Carlier M-C, Cavalier E, Cristol J-P *et al*. [Recommendations for the selection and alignment techniques for the determination of creatinine]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2011; 69: 9–16.
- 93 Nickolas TL, Forster C, Sise ME, Barasch N, Valle DS-D, Viltard M *et al*. Monomeric neutrophil gelatinase associated lipocalin is associated with tubulointerstitial damage in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2012; 82: 718–22.
- 94 Mårtensson J, Xu S, Bell M, Martling C-R, Venge P. Immunoassays distinguishing between HNL/NGAL released in urine from kidney epithelial cells and neutrophils. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 1661–67.
- 95 Hoste EA, Cruz DN, Davenport A, Mehta RL, Piccinni P, Tetta C *et al*. The epidemiology of cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Int J Artif Organs* 2008; 31: 158–65.
- 96 Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Bennett M, Story D, Matalanis G *et al*. The predictive performance of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) increases with grade of acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc* 2009; 24: 3349–54.

- 97 Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, Barón-Esquivias G, Baumgartner H *et al.* Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012) The Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 2012.

ANNEXES

Annexe 1 : Indications du remplacement valvulaire aortique (RVA) ⁹⁷.

	<i>Classe de recommandation</i>	<i>Niveau de preuve</i>
Le RVA est indiqué chez les patients souffrant de sténose valvulaire aortique sévère avec des symptômes en lien avec cette sténose.	I	B
Le RVA est indiqué chez les patients souffrant de sténose valvulaire aortique sévère et devant bénéficier de pontages, d'une chirurgie de l'aorte ou d'une autre chirurgie valvulaire.	I	C
Le RVA est indiqué chez les patients asymptomatiques avec une sténose valvulaire aortique sévère et une altération de la FEVG<50% non liée à une autre cause.	I	C
Le RVA est indiqué chez les patients asymptomatiques avec une sténose valvulaire aortique sévère et dont l'épreuve d'effort démasque des symptômes en lien avec cette valvulopathie.	I	C
Le RVA doit être envisagé chez les patients à haut risque, avec une sténose valvulaire aortique symptomatique, pour laquelle un TAVI est faisable, mais pour lesquels une « heart team » a estimé que la chirurgie est préférable en se basant sur le risque individuel et les caractéristiques anatomiques.	IIa	B
Le RVA doit être envisagé chez les patients asymptomatiques, porteurs d'une sténose valvulaire aortique sévère, et un test d'effort montrant une chute de la tension artérielle.	IIa	C
Le RVA doit être envisagé chez les patients avec une sténose valvulaire aortique modérée devant bénéficier d'un pontage aorto-coronarien, d'une chirurgie de l'aorte ascendante ou d'une autre chirurgie valvulaire.	IIa	C
Le RVA doit être envisagé chez les patients symptomatiques, après confirmation de la sévérité de la sténose valvulaire aortique, en cas de bas débit, de gradient < 40 mm Hg, avec une fraction d'éjection normale.	IIa	C
Le RVA doit être envisagé chez les patients symptomatiques avec une sténose valvulaire aortique serrée, à bas débit et bas gradient, après confirmation de l'existence d'une réserve contractile.	IIa	C
Le RVA doit être envisagé chez les patients asymptomatiques, avec FEVG normale, sans anomalie sus-citée de l'épreuve d'effort, si le risque opératoire est faible et que l'un des critères suivants existe : <ul style="list-style-type: none"> - Sténose aortique très sévère définie par Vmax>5.5m/s. - Calcification valvulaire sévère et progression de la Vmax de plus de 0.3m/s par an. 	IIa	C
Le RVA peut être envisagé chez les patients porteurs d'une sténose valvulaire aortique serrée, en bas débit et bas gradient, avec dysfonction ventriculaire gauche, sans preuve de l'existence d'une réserve contractile.	IIb	C
Le RVA peut être envisagé chez les patients asymptomatiques avec sténose valvulaire aortique serrée, FEVG normale et aucune anomalie sus-citée de l'épreuve d'effort, si le risque opératoire est faible et que l'un des critères suivants existe : <ul style="list-style-type: none"> - Elévation significative des peptides natriurétiques confirmée par plusieurs mesures et sans autre explication. - Elévation du gradient moyen de plus de 20mmHg à l'effort. - Hypertrophie ventriculaire gauche excessive en l'absence d'HTA. 	IIb	C

Annexe 2 : Critères de choix préopératoire en faveur d'une bioprothèse ⁹⁷

	<i>Classe de recommandation</i>	<i>Niveau de preuve</i>
Une bioprothèse est recommandée si le patient choisit ce type de prothèse, après information éclairée.	I	C
Une bioprothèse est recommandée lorsqu'une bonne anticoagulation du patient est peu probable (problèmes de compliance...) ou contre-indiquée par un risque hémorragique élevé (hémorragie majeure préalable, comorbidités, problèmes de compliance, style de vie ...).	I	C
Une bioprothèse est recommandée lors d'une réintervention pour thrombose de valve mécanique survenant en dépit d'une anticoagulation bien conduite.	I	C
Une bioprothèse doit être envisagée pour les patients chez qui une chirurgie rédux serait à bas risque.	Ila	C
Une bioprothèse doit être envisagée chez les femmes jeunes désirant une grossesse.	Ila	C
Une bioprothèse doit être envisagée chez les patients de plus de 65 ans (pour une prothèse en position aortique) ou chez les patients de plus de 70 ans (pour une prothèse en position mitrale) ou chez les patients ayant une espérance de vie inférieure à la durabilité estimée de la bioprothèse	Ila	C

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES HÔPITAL G & R LAENNEC	
Etiquette patient N° IPP	Coordonnées Service Anesthésie-réanimation : B.Rozec : 65293-0635552338 – H. Morin 65596 Biodimie HGRL : O. Delaroche 65453 – E.Bi got : 65459- 0626725063
Protocole NGAL 1	
Date prélèvement : Heure prélèvement :	
1 Tube Hépariné 5 mL (Bouchon Vert) 1 tube Urines	
<u>Cocher la case correspondant au moment du prélèvement</u>	
<input type="radio"/> T0 : dosage de référence avant CEC	
<input type="radio"/> T1 : Fin de CEC	
<input type="radio"/> T2 : H+ 6 heures (6 heures après fin de CEC)	
<input type="radio"/> T3 : H + 24 heures (24 heures après fin de CEC)	
<input type="radio"/> T4 : H + 48 heures (48 heures après fin de CEC)	
Transmettre au laboratoire de Biochimie HGRL	

Annexe 4 : Notice d'information pour les patients



NOTICE D'INFORMATION

**Note d'information pour la participation à la recherche
« Intérêt du marqueur NGAL en post-chirurgie cardiaque »**

Médecins investigateurs

Nom : Dr Bertrand Rozec, Dr Bigot-Corbel E,
Service : Anesthésie-Réanimation, Biochimie,
HGRL
Adresse : CHU de Nantes
Téléphone : 02 40 16 52 93 / 02 40 16 54 70

Etablissement responsable de la recherche

Nom : CHU de Nantes
Adresse : 5, allée de l'île Gloriette, 44 093 NANTES
Principaux contacts : Secrétariat de la Direction de la recherche
Téléphone : 02 53 48 28 35 (secrétariat de la Direction de la recherche)

Ce document est remis au patient

Un exemplaire de cette notice d'information daté au jour du recueil de non opposition du patient est conservé dans une armoire de recherche clinique avec l'exemplaire de consentement pour la collection.

La participation du patient à l'étude est tracée dans son dossier médical

Demande d'autorisation pour la collecte d'un échantillon sanguin en vue d'une recherche non interventionnelle

Madame, Monsieur

Cette note d'information vous explique la démarche qui nous pousse à solliciter votre accord pour fournir un échantillon de votre sang en vue de nos recherches.

Les services d'Anesthésie-Réanimation et de Biochimie du Centre Hospitalier et Universitaire de Nantes effectuent une recherche sur l'Intérêt du marqueur NGAL en post-chirurgie cardiaque.

En post-chirurgie cardiaque nécessitant une circulation extra-corporelle, la fonction rénale peut parfois être transitoirement perturbée. L'appréciation de cette fonction rénale est assurée par des paramètres biochimiques classiques. Un nouveau marqueur : le Neutrophil gelatinase-associated lipocalin ou NGAL permettant le dépistage plus précoce et potentiellement une amélioration de la prise en charge d'une altération de cette fonction, peut actuellement être dosé au laboratoire.

En donnant un échantillon sanguin pour cette étude vous contribuerez à la validation de l'intérêt de ce paramètre dans cette indication. Votre échantillon sera recueilli à l'occasion d'une prise de sang réalisée pour les besoins de votre prise en charge (prélèvement d'un tube supplémentaire de 5 ou 9 ml) ou spécifiquement pour les besoins de l'étude. Cet

échantillon ne sera utilisé qu'au sein du CHU de Nantes. Un formulaire d'information et de consentement spécifique à la constitution de cette collection d'échantillons biologiques humains, qui pourra être réalisée grâce à un prélèvement direct de sang, vous est transmis en plus de cette lettre d'information pour votre participation à l'étude.

Ce projet ainsi que le présent document ont été présentés au Groupe Nantais d'éthique dans le domaine de la Santé GNEDS.

Cette recherche ne présente pas de risque pour votre santé. Les résultats qui en seront issus ne permettront pas d'apporter des informations pertinentes pour votre santé en particulier. Ils favoriseront le développement des connaissances dans le domaine de la santé et devront être confirmés, ensuite, par des études cliniques complémentaires, afin de permettre l'essor de nouvelles méthodes de diagnostic, de nouveaux traitements chirurgicaux ou thérapeutiques.

Pour être menée à bien, cette recherche nécessite la mise en œuvre d'un traitement informatisé de vos données personnelles afin de permettre d'analyser les résultats. Un fichier informatique comportant vos données va donc être constitué. Par mesure de confidentialité et pour respecter votre vie privée, vos données seront systématiquement codées. Seuls les professionnels de santé personnellement en charge de votre suivi auront connaissance de vos données nominatives.

Conformément à la loi, vous disposez d'un droit d'accès, d'opposition et de rectification des données enregistrées sur informatique, à tout moment, par l'intermédiaire de votre médecin. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées et d'être traitées dans le cadre de cette recherche. Vous pouvez exercer vos droits d'accès et de rectification auprès du Docteur mentionné au début de ce document.

Cette étude a été déclarée à la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL).

Vous êtes libre d'accepter ou de refuser de participer à la recherche qui vous est présentée. Si vous acceptez, vous êtes libre de changer d'avis à tout moment sans avoir à vous justifier et votre décision ne portera aucun préjudice à la qualité de votre prise en charge. Si vous refusez de participer, les données ne seront pas utilisées pour cette recherche et resteront destinées à l'usage strict du soin, tout comme l'échantillon sanguin recueilli pendant votre prise en charge.

Le médecin clinicien ou biologiste chercheur (B. Rozec, E. Bigot,) en charge de la recherche peuvent répondre à toutes vos questions au 0240165293 ou 02 40 16 54 70.

Date de recueil de la non opposition du patient par le médecin :

Annexe 5 : Communication affichée lors du congrès IFCC, Istanbul juin 2014.



P 0913



Predicting glomerular filtration rate (GFR) in elderly patients: evaluation of the different equations

Emilie Sacchetto¹, Bertrand Rozec², Arnaud Reigner¹, Damien Ali¹, Jean-Luc Orsonneau¹, Didier Le Carrer¹, Odile Delaroché¹, Jean-Benoit Hardouin³, Edith Bigot-Corbel¹

¹ Laboratoire de Biochimie Générale, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France ² Service d'Anesthésie Réanimation, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France ³ Biostatistiques, Pharmacopépidémiologie et mesures subjectives en Santé, Université de Nantes, UFR des Sciences pharmaceutiques et biologiques, Nantes, France

Introduction

Determination of creatinemia is commonly used for estimating renal function either to early detect AKI (Acute Kidney Injury) or to stratify Chronic kidney disease. Several formulas have been developed to estimate the glomerular filtration rate (GFR) due to the the lack of sensitivity related to delayed increasing of creatinine. Actually, no formula is strongly recommended for estimating the GFR in elderly patients, whereas MDRD is the most commonly used. Formulas are based on creatinemia (Cre) : Cockcroft-Gault (CG) equation, MDRD equation, CKD-EPI Cre equation; or on plasmatic cystatin C (CysC) measurement : CysC GFR, CKD-EPI CysC equation or combining Cre and CysC : CKD-EPI Cre-CysC equation. The aim of this study was to compare GFR according to formulas in a cohort of elderly patients.

Methods

This study was performed on patients older than 75 years and with a GFR > 50 mL/min/1.73 m² according to MDRD formula.

Blood samples were collected onto lithium heparine, and plasma obtained after centrifugation at 2200 g for 10 min. We measured plasma creatinine by enzymatic method and cystatin C by immunoturbidimetric method onto Roche Cobas 6000 analyser. We used dedicated reagents (Cre ref: 03263991 Roche and Cys C ref: 04975723 Roche; results were obtained respectively in µmol/L and mg/L). Equations to calculate GFR (Table 1) used creatinemia either in µmol/L (CG) or in mg/dL (MDRD and CKD-EPI); so a correcting factor of 0.011 was applied on creatinemia results only for these last two formulas. GFR values obtained using CG equation were normalized for body surface area.

Results were analyzed with nonparametric statistics, entailing Wilcoxon signed-Rank test and correlation coefficients. Statistical analysis were performed using Graphpad Prism[®].

Formula	Male	Female
CG (Cockcroft-Gault)	$1.23 \times (140 - \text{Age}) \times \text{Weight} / \text{Cre}$	$1.04 \times (140 - \text{Age}) \times \text{Weight} / \text{Cre}$
MDRD	$175 \times \text{Cre}^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203}$	$175 \times \text{Cre}^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203} \times 0.742$
CysC GFR	$84.99 / \text{CysC}^{0.916}$	
CKD-EPI Cre	Cre ≤ 0.7 for female or ≤ 0.9 for male	$141 \times (\text{Cre}/0.9)^{-0.92} \times (0.993)^{\text{Age}}$
	Cre > 0.7 for female or > 0.9 for male	$141 \times (\text{Cre}/0.9)^{-1.20} \times (0.993)^{\text{Age}}$
CKD-EPI CysC	Cre ≤ 0.8	$133 \times (\text{Cys}/0.8)^{0.911} \times 0.996^{\text{Age}}$
	Cre > 0.8	$133 \times (\text{Cys}/0.8)^{1.12} \times 0.996^{\text{Age}} \times 0.932$
CKD-EPI Cre-CysC	Cre ≤ 0.7 female or 0.9 male; Cys C ≤ 0.8	$135 \times (\text{Cre}/0.9)^{-0.203} \times (\text{Cys}/0.8)^{-0.77} \times 0.995^{\text{Age}}$
	Cre ≤ 0.7 female or 0.9 male; Cys C > 0.8	$135 \times (\text{Cre}/0.9)^{-0.203} \times (\text{Cys}/0.8)^{-0.77} \times 0.995^{\text{Age}}$
	Cre > 0.7 female or 0.9 male; Cys C ≤ 0.8	$135 \times (\text{Cre}/0.9)^{-0.203} \times (\text{Cys}/0.8)^{-0.77} \times 0.995^{\text{Age}}$
	Cre > 0.7 female or 0.9 male; Cys C > 0.8	$135 \times (\text{Cre}/0.9)^{-0.203} \times (\text{Cys}/0.8)^{-0.77} \times 0.995^{\text{Age}}$

Table 1 : Equations used to calculate GFR^{1,2,3}

Results

Twenty six patients were analyzed (11 male and 15 female). The mean age was 80.9 ± 3.6 years (min 75 - max 88) and the body mass index (BMI) was 26.8 ± 4.1 kg/m² (min 17 - max 34.7). The mean value of creatinemia was 67.5 ± 17.57 µmol/L (min 37 - max 118) and the mean value of Cys C was 1.16 ± 0.26 mg/L (min 0.63 - max 1.76). GFR obtained are summarized in table 2.

	CG	MDRD	CKD-EPI Cre	CKD-EPI CysC	CysC GFR	CKD-EPI Cre-CysC
Mean	71.0	88.9	78.2	59.8	73.9	69.5
Median	73.1	89.9	82.8	57.9	68.8	69.8
Minimum - Maximum	44.2 - 114.2	52.0 - 146.5	51.3 - 98.0	31.0 - 102.0	32.7 - 184.1	41.9 - 108.8

Table 2: Results of GFR obtained in 26 elderly patients using the different formulas (mean, median, minimum and maximum)

GFR values obtained using MDRD equation are the highest, and GFR obtained by CKD-EPI CysC equation are the lowest (Table 2). Compared to GFR obtained using MDRD formula (largely used in elderly population), good correlation coefficients were observed, greater than 0.8 (except for CG and CysC GFR equation) (Table 3). However, significant differences were observed between GFR obtained with CG and MDRD (p < 0.0001), CG and CKD-EPI Cre (p = 0.007), CG and CKD-EPI CysC (p = 0.006) and MDRD and CKD-EPI Cre-CysC (p < 0.0001) (Figure 1).

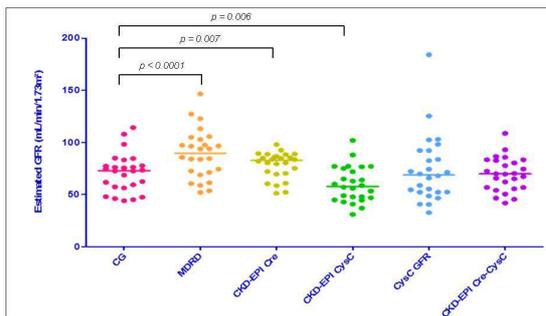


Figure 1: Estimated GFR (mL/min/1.73m²) obtained onto 26 patients according to the different formulas.

	CG	MDRD	CKD-EPI Cre	CysC GFR	CKD-EPI CysC	CKD-EPI Cre-CysC
CKD-EPI Cre-CysC	0.46	0.92	0.86	0.92	0.97	1.0
CKD-EPI CysC	0.35	0.82	0.71	0.96	1.0	
CysC GFR	0.21	0.82	0.65	1.0		
CKD-EPI Cre	0.61	0.91	1.0			
MDRD	0.52	1.0				
CG (Cockcroft-Gault)	1.0					

Table 3: Correlation coefficients between GFR results obtained using the different formulas.

Conclusion

Our study confirms heterogeneity of GFR estimation in elderly patients, according to different formulas. Using MDRD formula, all patients presented a GFR > 50 mL/min/1.73m² and were eligible to be included in the protocol study. Using CG, 5 patients would be excluded and 0, 5, 10 and 3 respectively with CKD-EPI Cre, CysC GFR, CKD-EPI CysC and CKD-EPI Cre-CysC. In addition to KDIGO criteria, 13 patients were differently classed : 11 patients shifting from stage 2 (GFR > 60) to stage 3 (GFR < 60) and 2 shifting from stage 1 (GFR > 90) to stage 3. In this elderly population, MDRD formula appears to overestimate GFR values compared to the other formulas.

References

¹ National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found. févr 2002; ² Technical manuel Roche Cystatin C; ³ Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman H, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. N Engl J Med. 5 jull 2012;367(1):20-29

Nom – Prénoms : SACCHETTO Emilie, Claudie

Titre de la thèse :

Intérêt de la NGAL comme marqueur précoce de l'insuffisance rénale aiguë dans le remplacement valvulaire aortique sous circulation extracorporelle chez les sujets âgés.

Résumé de la thèse :

Les interventions chirurgicales, et notamment les chirurgies cardiaques, peuvent se compliquer d'insuffisance rénale aiguë, entraînant un risque accru de morbi-mortalité. Le dépistage précoce de l'insuffisance rénale aiguë est donc important pour une prise en charge rapide. Actuellement, le marqueur utilisé pour ce dépistage est la créatinine plasmatique, mais il présente certaines limites du fait de son augmentation tardive. L'objectif de ce travail a été d'étudier un nouveau marqueur d'insuffisance rénale aiguë, la Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin ou NGAL, chez les sujets âgés en post chirurgie de remplacement valvulaire aortique sous circulation extra-corporelle. Les résultats obtenus indiquent l'intérêt de la cinétique de ce marqueur dans le dépistage précoce de l'insuffisance rénale aiguë.

MOTS CLÉS :

NEUTROPHIL GELATINASE ASSOCIATED LIPOCALIN (NGAL) –
INSUFFISANCE RÉNALE AIGUË – SUJET AGÉ – CHIRURGIE CARDIAQUE –
CRÉATININE

JURY

PRÉSIDENT : M. le Pr. Jean-Marie Bard, PU-PH, ICO, Saint-Herblain, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes

ASSESEURS : Mme Edith BIGOT-CORBEL, Directrice de thèse, MCU-PH, Laboratoire de Biochimie, CHU de Nantes, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes
Mme le Pr. Maryvonne HOURMANT, PU-PH, Chef de service de néphrologie, CHU de Nantes, UFR de médecine, Nantes
M. Bertrand ROZEC, PH, Chef de service d'anesthésie et réanimation chirurgicale, CHU de Nantes

Adresse de l'auteur :

13 impasse du clos de la Pintinière, 44470 Carquefou