

Wykorzystanie wskaźnika De Ritisa w diagnostyce ostrego uszkodzenia nerek u psów

Olga Gójska-Zygner¹, Wojciech Zygmunt², Grzegorz Kotowski^{1,3}

z Labros – Specjalistycznej Przychodni Weterynaryjnej w Warszawie¹, Zakładu Parazytologii i Inwazyjologii Katedry Nauk Przedklinicznych Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie² oraz Arswet – Lecznicy dla Zwierząt w Warszawie³

Przedstawienie zastosowania w diagnostyce wskaźnika De Ritisa wymaga krótkiego wyjaśnienia, w jaki sposób doszło do wprowadzenia tego wskaźnika do medycyny oraz krótkiego omówienia dwóch enzymów, z których wartości liczbowych ich aktywności w surowicy jest on wyliczany. Wskaźnik De Ritisa obliczany jest z ilorazu aktywności transaminazy asparaginianowej (AST) i transaminazy alaninowej (ALT) w surowicy (wyznaczonych w jednostkach międzynarodowych na litr – IU/l), gdzie wartość aktywności AST jest dzielną, dzielnikiem zaś jest wartość aktywności ALT. Stosunek AST/ALT jako parametr użyteczny w diagnostyce chorób wątroby przedstawiony został w publikacjach autorstwa Fernando De Ritisa, Mario Coltorti i Giuseppe Giusti w latach 1956–1957. Autorzy tych prac dostrzegli, że u pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby, podobnie jak u myszy, występuje odwrotny wzorzec wzrostu aktywności transaminaz AST i ALT w porównaniu z innymi chorobami wątroby, przebiegającymi zarówno z żółtaczką, jak i bez żółtaczki (1, 2, 3). Pomimo że artykuły opublikowane były przez ten sam zespół badawczy, w nazwie stosowanego obecnie w diagnostyce ilorazu AST/ALT używane jest nazwisko tylko pierwszego autora – prof. Fernando De Ritisa (1911–1985), włoskiego lekarza i naukowca, który w swojej pracy zawodowej zajmował się przede wszystkim chorobami wątroby, zwłaszcza

The use of De Ritis quotient in diagnostics of acute kidney injury in dogs

Gójska-Zygner O.¹, Zygmunt W.², Kotowski G.^{1,3}. Labros-Specialized Veterinary Surgery in Warsaw¹, Division of Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Preclinical Sciences, Institute of Veterinary Medicine. Warsaw University of Life Sciences – SGGW², Arswet-Veterinary Surgery in Warsaw³

De Ritis quotient (De Ritis ratio), is transaminase aspartate to transaminase alanine ratio (AST/ALT ratio), in plasma/serum. It is used as a prognostic factor or risk factor in various diseases in human medicine. Increase of AST/ALT ratio was observed in acute kidney injury, both in human and canine medicine. This increase results from increased serum AST activity relatively higher than increase of ALT activity. It seems that kidneys are the main source of AST in plasma of humans and dogs with acute kidney disease. Thus, increased AST/ALT ratio may be used as a cheap, screening tool in the diagnosis of renal azotemia and acute kidney failure.

Keywords: acute kidney injury, AST/ALT ratio, dog, De Ritis quotient, De Ritis ratio, renal azotemia.

chorobami zakaźnymi. Ciekawostką dla polskich czytelników może być fakt, że prof. De Ritis, pomimo licznych publikacji w prestiżowych czasopiśmie naukowych, publikował również na łamach polskiego czasopisma medycznego „Materia Medica Polona” (4).

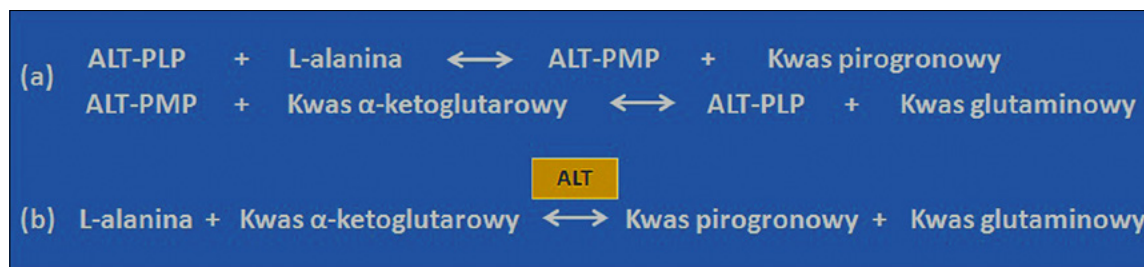
Zmiany w aktywności enzymatycznej AST i ALT w surowicy spowodowane są uszkodzeniem komórek, wewnątrz których występują te enzymy. Wielkość wzrostu aktywności transaminaz zależy od stopnia uszkodzenia komórek oraz ich liczby. Ponadto aktywność enzymów w surowicy może być spowodowana indukcją syntezy enzymów, obniżeniem ich inaktywacji, może także mieć związek z proliferacją komórek lub martwicą (5).

Transaminaza alaninowa

Podobnie jak u ludzi, u psów głównym źródłem ALT są komórki wątroby, a w mniejszym stopniu również włókna mięśniowe oraz inne tkanki i narządy, np. mózg, prostata, tkanka tłuszczowa (5, 6). Jak podają Botros i Sikaris (7), u człowieka aktywność ALT w mięśniach jest ok. 300 razy wyższa niż w surowicy. Na kolejnym miejscu znajduje się mięsień sercowy, w którym aktywność enzymu jest 450 razy wyższa w porównaniu do surowicy. W dalszej kolejności są nerki, w których aktywność jest 1200 razy wyższa, natomiast najwyższa aktywność enzymu jest w wątrobie, gdzie aktywność ALT jest 2850 razy wyższa niż w surowicy (7). W wątrobie najwyższa aktywność enzymu występuje w hepatocytach 1 strefy gronka wątrobowego znajdującej się najbliżej triady wątrobowej (8). Warto również dodać, że enzym ten występuje w dwóch różnych izoformach kodowanych przez różne geny, przy czym obie izoformy wykazują taką samą aktywność enzymatyczną (9). Zarówno u ludzi,

jak i u psów izoenzym ALT1 jest głównie w wątrobie, natomiast izoenzym ALT2 w mięśniach szkieletowych (9, 10). Transaminaza alaninowa uznawana jest przede wszystkim za enzym cytozolowy (7). Warto jednak zaznaczyć, że Yang i wsp. (11) wykazali u szczurów różne rozmieszczenie wewnątrzkomórkowe izoenzymów. Izoforma ALT1 obecna była w cytozolu, jednak izoforma ALT2 okazała się enzymem mitochondrialnym (11).

Rolą ALT jest kataliza reakcji przenoszenia grupy aminowej z alaniny lub kwasu glutaminowego na ketokwas, odpowiednio kwas α -ketoglutaryowy lub kwas pirogronowy, w wyniku czego powstaje kwas glutaminowy lub alanina (ryc. 1). Reakcja ta odbywa się dwutorowo (dwuetapowo), jest procesem odwracalnym i przy udziale ALT zachodzić może w obu kierunkach, a do jej przeprowadzenia potrzebny jest fosforan pirydoksalu (aktywna postać witaminy B₆) pełniącego rolę koenzymu, który przekształca się do pirydoksaminy. Powstający z alaniny kwas pirogronowy może następnie wziąć udział w procesie glukoneogenezy lub cyklu Krebsa (5, 6, 12). Powstająca z kolei z kwasu pirogronowego alanina może być włączona do cyklu glukozowo-alaninowego, w którym w wątrobie z alaniny powstaje kwas pirogronowy. Z niego w procesie glukoneogenezy wątrobowej syntetyzowana jest glukoza. Z kolei przetransportowana do mięśni glukoza w procesie glikolizy jest źródłem kwasu pirogronowego, który w mięśniach przy udziale ALT przetwarzany jest ponownie do alaniny (ryc. 2). Warto również dodać, że powstający



Ryc. 1. Etapy reakcji przeniesienia grupy aminowej przez ALT (a), produkty reakcji przeniesienia grupy aminowej przy udziale ALT (b); ALT – transaminaza alaninowa, PLP – fosforan pirydoksalu, PMP – pirydoksamina



Ryc. 2. Uproszczony schemat cyklu glukozowo-alaninowego oraz cyklu Coricha (ALT – transaminaza alaninowa, LDH – dehydrogenaza mleczanowa)

w mięśniach szkieletowych kwas pirogronowy może zostać włączony do cyklu Corich (małżeństwa noblistów Carla Cori i Gerty Cori). W tym cyklu kwas pirogronowy przy udziale enzymu mięśniowej dehydrogenazy mleczanowej może zostać przekształcony do kwasu mlekowego, który po przetransportowaniu do wątroby przy udziale wątrobowej dehydrogenazy mleczanowej ponownie przekształcany jest do kwasu pirogronowego (7, 13, 14).

Uszkodzenie hepatocytów powoduje uwolnienie ALT do osocza krwi, w wyniku czego w badaniach surowicy stwierdza się wzrost aktywności tego enzymu. Jak podają Liu i wsp. (6), u człowieka aktywność ALT wewnątrz komórek wątrobowych jest ok. 3000 razy wyższa w porównaniu do aktywności tego enzymu w surowicy. Z kolei u psów, wg Tennant i Center (8), aktywność ALT w cytoplazmie hepatocytów jest nawet 10000 razy wyższa w porównaniu do aktywności enzymatycznej w osoczu krwi. U psów okres półtrwania dla ALT we krwi wynosi ok. 60 godz. (15). Oprócz chorób wątroby powodujących zwiększony wyciek ALT z hepatocytów również choroby mięśni szkieletowych mogą powodować wzrost aktywności tego enzymu w surowicy, zwłaszcza urazy mechaniczne (5, 15). Valentine i wsp. (16) wykazali również wzrost aktywności ALT u psów z martwicą mięśniową spowodowaną dziedziczną dystrofią mięśniową sprzężoną z chromosomem X, która jest odpowiednikiem dystrofii mięśniowej Duchenne'a u człowieka. U ludzi wzrost aktywności omawianego enzymu w surowicy stwierdzano również u sportowców po intensywnym lub długotrwałym wysiłku fizycznym. W przypadku sportowców uprawiających sporty walki wzrost ten mógł być związany z urazami mięśni, jednak podwyższoną aktywność enzymatyczną obserwowano również u sportowców biorących udział w ultramaratonach. Warto jednak zaznaczyć, że u osób uprawiających sport regularnie, ale niewyczynowo, wartości ALT w surowicy były niższe niż u ludzi, którzy nie uprawiali żadnego sportu (6). Zarówno u psów, jak i u ludzi na wzrost aktywności ALT w surowicy wpływać mogą również różne leki, z których największe znaczenie mają glikokortykosteroidy, barbiturany, sulfonamidy, tetracykliny, niesterydowe leki przeciwzapalne oraz anestetyki, a zwłaszcza te podawane drogą wziewną (5, 17, 18, 19, 20). Nie są to jednak wszystkie grupy leków, które mogą wykazywać działanie hepatotoksyczne. W związku z tym Liu i wsp. (6) wskazują, że najlepszym sposobem na wykazanie związku pomiędzy wzrostem aktywności ALT w surowicy a stosowanym

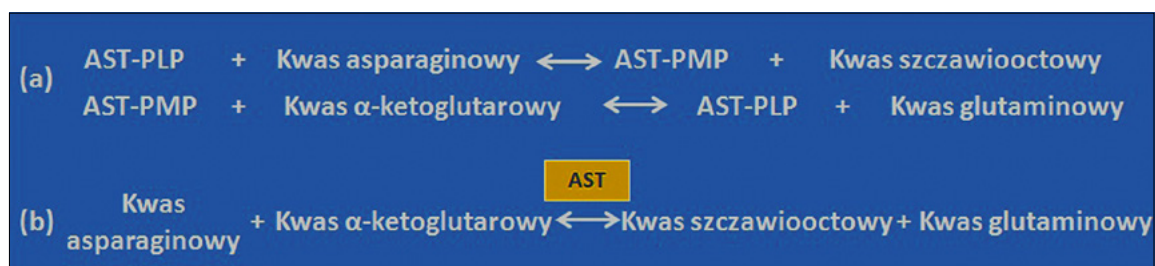
lekiem jest odstawienie leku i ocena wpływu przerwania terapii na poziom tego enzymu. Należy tu oczywiście uwzględnić okres półtrwania enzymu w osoczu krwi.

Transaminaza asparaginianowa

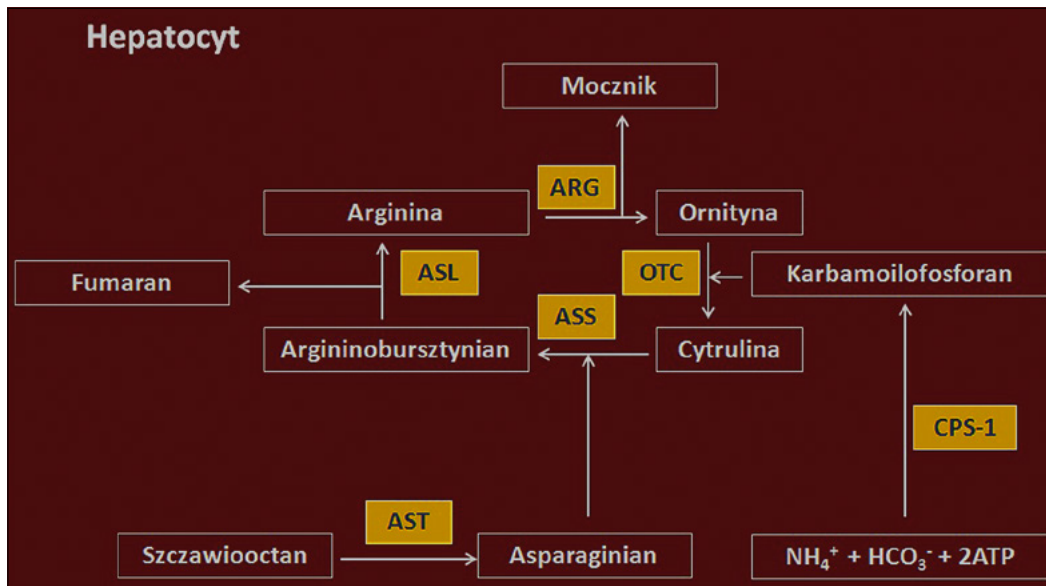
U psów, podobnie jak u innych zwierząt, AST występuje w komórkach różnych tkanek i narządów, a źródłem wzrostu aktywności enzymu w surowicy może być uszkodzenie komórek wątroby, trzustki, mięśni szkieletowych, mięśnia sercowego, nerek bądź hemoliza, zarówno *in vivo* jak i *in vitro* (5, 8, 15). Według danych podawanych przez australijskich naukowców u ludzi aktywność AST w nerkach jest 4500 razy wyższa niż w surowicy, w mięśniach szkieletowych 5000 razy wyższa, w wątrobie 7100 razy wyższa, natomiast najwyższa aktywność tego enzymu jest w mięśniu sercowym, gdzie jest 7800 razy wyższa niż w surowicy (7). W związku ze znacznie wyższą aktywnością AST w różnych tkankach w porównaniu do aktywności ALT wzrost aktywności AST w surowicy psów, podobnie jak u ludzi, wykazuje niższą swoistość dla chorób wątroby w porównaniu z aktywnością ALT, która jest znacznie wyższa w wątrobie w porównaniu do pozostałych tkanek (15).

Podobnie jak w przypadku ALT, AST występuje w dwóch izoformach: mitochondrialnej i cytozolowej, przy czym wzrost mitochondrialnego AST związany jest z cięższym uszkodzeniem komórek (15). W wątrobie szczególnie wysoka aktywność AST występuje w hepatocytach 3 strefy gronka wątrobowego znajdującej się w pobliżu żyły centralnej. Ponadto znaczna ilość enzymu w porównaniu do ALT znajduje się w mitochondriach (8).

Aminotransferaza asparaginianowa katalizuje reakcję przeniesienia grupy aminowej z kwasu asparaginowego lub kwasu glutaminowego na ketokwas, którym jest odpowiednio kwas szczawiooctowy lub kwas α -ketoglutazarowy w zależności od kierunku reakcji (ryc. 3). Reakcja ta, podobnie jak w przypadku reakcji katalizowanej przez ALT, odbywa się dwutorowo, jest odwracalna i również do jej przeprowadzenia niezbędny jest udział aktywnej formy witaminy B₆, która ulega przekształceniom z fosforanu pirydoksalu do pirydoksyny i ponownie do fosforanu pirydoksalu. Powstający z kwasu asparaginowego kwas szczawiooctowy może następnie wejść do cyklu Krebsa bądź stanowić substrat w procesie glukoneogenezy (5, 21, 22). Z kolei powstający



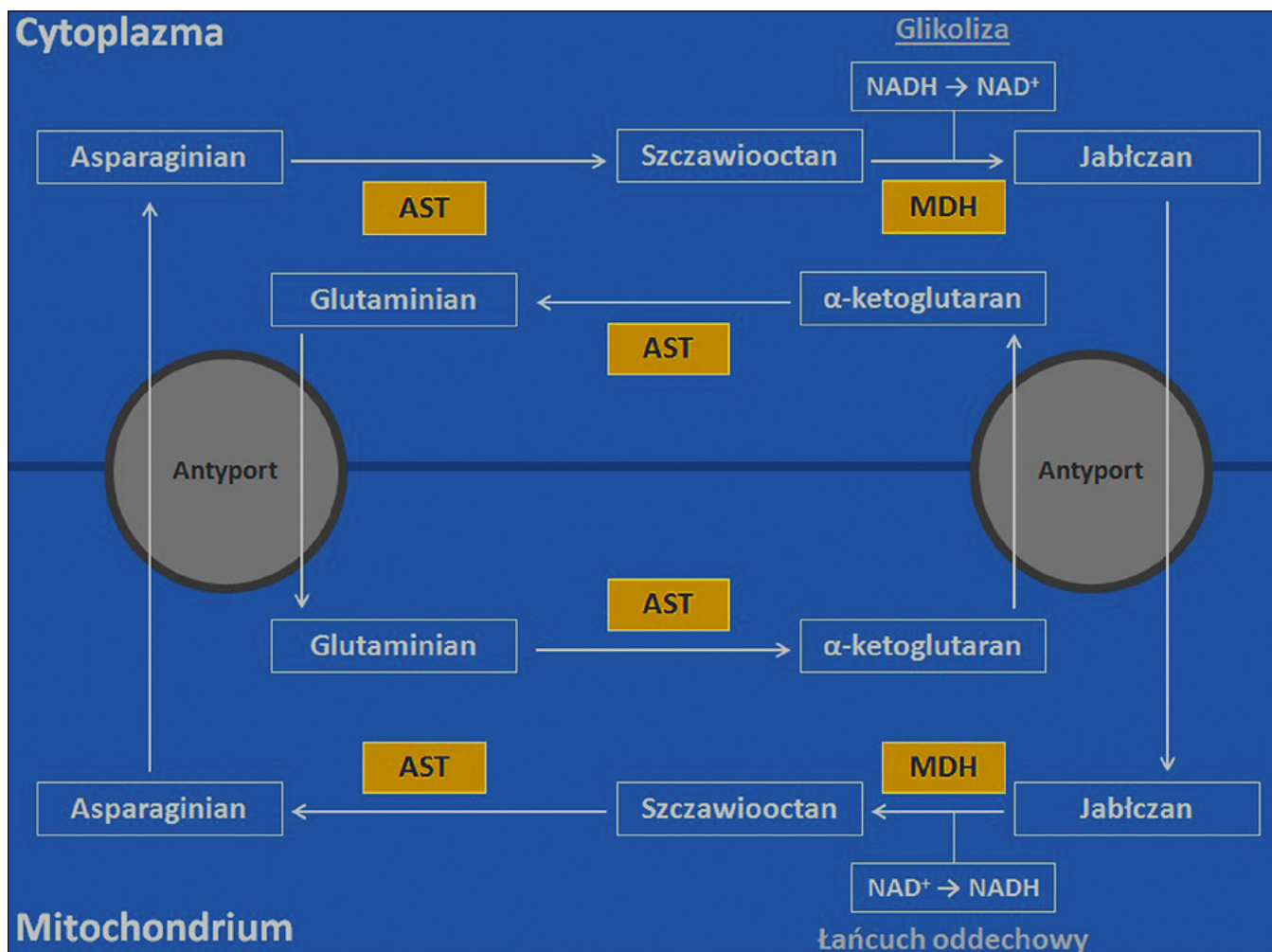
Ryc. 3. Etapy reakcji przeniesienia grupy aminowej przez AST (a), produkty reakcji przeniesienia grupy aminowej przy udziale AST (b); AST – transaminaza asparaginianowa, PLP – fosforan pirydoksalu, PMP – pirydoksyna



Ryc. 4. Uproszczony schemat cyklu mocznikowego (AST – transaminaza asparaginianowa, CPS-1 – syntetaza karbamoilofosforanowa I, OTC – transkarbamyłaza ornityny, ASS – syntetaza argininobursztynianowa, ASL – liaza argininobursztynianowa, ARG – arginaza)

z kwasu szczawiooctowego kwas asparaginowy może uczestniczyć w syntezie purynowych i pirymidynowych zasad azotowych, odgrywa także istotną rolę w przekształcaniu wysoce toksycznego amoniaku do mocznika o znacznie mniejszej toksyczności. Unieczynnianie amoniaku odbywa się w wątrobie w cyklu mocznikowym, w którym asparaginian oddaje swoją

grupę aminową wiążącą się z amoniakiem i wodorowęglanem, w efekcie czego z amoniaku powstaje mocznik (ryc. 4). W tym cyklu kwas asparaginowy po połączeniu z cytruliną tworzy argininobursztynian, który jest rozszczepiany do argininy i kwasu fumarowego. Arginina z kolei hydrolizowana jest do mocznika i ornityny (23, 24).



Ryc. 5. Uproszczony schemat czółenka jabłczanowo-asparaginianowego (AST – transaminaza asparaginianowa, MDH – dehydrogenaza jabłczanowa, NADH – zredukowana forma dinukleotydu nikotynamidoadeninowego, NAD+ – utleniona forma dinukleotydu nikotynamidoadeninowego)

Warto również wspomnieć, że obie izoforny AST oraz wszystkie substraty/produkty katalizowanej przez ten enzym reakcji są istotnymi elementami cytoplazmatyczno-mitochondrialnego czółenka (mostku) jabłczanowo-asparaginianowego (ryc. 5). Celem działania tego systemu jest produkcja ATP, który powstaje dzięki przeniesieniu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) do łańcucha oddechowego w mitochondrium. W wyniku glikolizy bądź utleniania kwasu mlekowego do pirogronowego w cytoplazmie uzyskiwany jest NADH. Jednakże błona wewnętrzna mitochondrium nie jest przepuszczalna dla NADH. Dzięki działaniu czółenka jabłczanowo-asparaginianowego możliwe jest uzyskiwanie zredukowanej formy mitochondrialnego NADH i przeniesienie go na łańcuch oddechowy. Czółenka jabłczanowo-asparaginianowe jest systemem przenoszenia przez błonę mitochondrium elektronów uwalnianych w procesie glikolizy (lub utleniania mleczanu do pirogronianu) ze zredukowanej formy NADH na szczawiooocjan w cytozolu. Szczawiooocjan przy udziale cytozolowej dehydrogenazy jabłczanowej prowadzi do powstania jabłczanu, który z kolei transportowany jest do mitochondrium za pomocą jabłczanowo- α -ketoglutarynowego antyportu (białka błonowego przenoszącego równocześnie dwie cząsteczki w przeciwnych kierunkach) na wymianę z α -ketoglutarynanem, który transportowany jest do cytozolu. W mitochondrium jabłczan przy udziale dehydrogenazy jabłczanowej ponownie ulega przekształceniu do szczawiooocjanu, a utleniona forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD⁺) przekształcana jest do formy zredukowanej (NADH). Szczawiooocjan z kolei przekształca się do asparaginianu przy udziale mitochondrialnej formy AST. Gdy jabłczan utleniany jest do szczawiooocjanu, elektrony przenoszone są do mitochondrialnego łańcucha oddechowego, w którym uwalniana energia gromadzona jest w postaci ATP. Za pomocą antyportu Aralar1 (asparaginianowo-glutaminianowego) asparaginian przechodzi z mitochondrium do cytozolu na wymianę z glutaminianem i protonem, które z cytoplazmy przechodzą do mitochondrium. W cytoplazmie asparaginian przy udziale cytozolowej formy AST przekształca się do szczawiooocjanu (7, 24, 25, 26).

Podobnie jak w przypadku omówionego wcześniej enzymu ALT uszkodzenie hepatocytów prowadzi do wzrostu aktywności AST w surowicy, choć w zależności od strefy i stopnia uszkodzenia gronka wątrobowego wzrost ten może być różny. Okres półtrwania AST w osoczu krwi psów wynosi, w zależności od źródła literaturowego, od ok. 12 do niecałych 24 godz., u ludzi natomiast ok. 17 godz., jednak okres półtrwania dla mitochondrialnego AST u człowieka wynosi 87 godz. (5, 8, 27, 28). Jako że zwiększona aktywność AST w surowicy nie ma takiej swoistości dla uszkodzeń wątroby, jak podwyższony poziom ALT, należy uwzględnić możliwość, że źródłem wycieku enzymu do osocza krwi mogą być komórki innych tkanek i narządów. W pierwszej kolejności, zaraz po wątrobie, jako najczęstsze źródło uwalniania AST do osocza krwi uznaje się uszkodzone mięśnie

szkieletowe i mięsień sercowy (5). W retrospektywnych badaniach, przeprowadzonych w oparciu o wyniki badań 430 osób z podwyższoną aktywnością AST w surowicy na skutek choroby nie dotyczącej bezpośrednio wątroby, u ponad połowy pacjentów (54,2%) źródłem wzrostu AST było uszkodzenie mięśni szkieletowych, u 39,1% osób źródłem tego enzymu było uszkodzenie mięśnia sercowego, natomiast u pozostałych 6,7% pacjentów przyczyną podwyższonego poziomu AST były choroby hematologiczne, zarówno nowotworowe, jak i nienowotworowe (29). Chandel i wsp. (30) u 77 pacjentów z rhabdomiolizą wykazali silną zależność między aktywnością AST a aktywnością kinazy kreatynowej, której wzrost najczęściej spowodowany jest uszkodzeniem mięśni szkieletowych (5). Warto jednak dodać, że u ludzi z rozpadem mięśni stwierdzano również wzrost aktywności ALT, choć nie był on tak częsty jak podwyższona aktywność AST (31). Wzrost aktywności AST u psów stwierdzano w przebiegu wspomnianej już wcześniej martwicy mięśni szkieletowych spowodowanej dziedziczną dystrofią mięśniową sprzężoną z chromosomem X (16). Ponadto, Lucas i wsp. (32) wykazali ponad dwukrotny wzrost AST w surowicy chartów hiszpańskich po krótkotrwałym bardzo intensywnym wysiłku (bieg z prędkością nawet do 60 km/h). Wzrost aktywności enzymu obserwowano u ludzi z zapaleniem mięśnia sercowego czy z zawałem mięśnia sercowego (33, 34). Podwyższony poziom AST stwierdzano u psów z zastoinową niewydolnością serca, która może rozwinąć się u tych zwierząt w przebiegu kardiomiopatii rozstrzeniowej, choroby zwyrodnieniowej zastawki mitralnej bądź na skutek chorób osierdzia (35, 36). U psów z przewlekłą niewydolnością serca na skutek kardiomiopatii rozstrzeniowej aktywność AST w surowicy wzrastała wraz ze stopniem zaawansowania choroby (37).

Wskaźnik De Ritisa w różnych chorobach człowieka

Zaproponowany przez prof. De Ritisa stosunek wartości aktywności AST do ALT okazał się przydatny w diagnostyce i ocenie rokowania różnych chorób u ludzi. Szybko dostrzeżono przydatność wskaźnika De Ritisa w różnicowaniu niealkoholowego stłuszczenia wątroby z alkoholową chorobą wątroby, gdzie w przypadku pierwszej z tych chorób wartość stosunku AST/ALT była niższa od 1, natomiast w przypadku drugiej choroby wartość ta była wyższa od 1,5 lub wg innych źródeł wyższa lub równa 2 (7, 38). Dalsze badania wykazały, że wskaźnik De Ritisa może być również wykorzystywany w diagnostyce innych chorób wątroby. Stosunek AST do ALT powyżej 1 stwierdzano u większości pacjentów z zaawansowanym zwłóknieniem wątroby bądź marskością wątroby (39, 40). W innych badaniach wykazano użyteczność wskaźnika De Ritisa w rokowaniu przebiegu chorób m.in. takich jak zapalenie skórno-mięśniowe i zapalenie wielomięśniowe powikłane zmianami śródmiąższowymi w płucach, gdzie stosunek AST/ALT > 1,73 wskazywał na niemal 3,5-krotny wzrost ryzyka zgonu pacjenta w ciągu jednego roku

(41). U pacjentów z rozległymi poparzeniami wzrastający wskaźnik De Ritisa wiązał się z większym ryzykiem zgonu w ciągu 30 dni na skutek ciężkich poparzeń (42).

U pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 w czterech szpitalach w Nowym Jorku wykazano wyższe ryzyko zgonu w przypadku, gdy wskaźnik De Ritisa był wyższy lub równy 2 w porównaniu do tych pacjentów, u których wartość tego wskaźnika była niższa (43). Podobne wyniki uzyskano u pacjentów hospitalizowanych z powodu zakażenia SARS-CoV-2 we Włoszech i na Węgrzech, choć wartości dla AST/ALT były niższe (44, 45). Spośród chorób zakaźnych, w których wskaźnik De Ritisa może być wykorzystywany w rokowaniu, innym przykładem może być zespół ciężkiej gorączki z trombocytopenią, choroby wirusowej ludzi, psów i kotów przenoszonej przez kleszcza *Haemaphysalis longicornis* oraz pomiędzy ludźmi i zwierzętami za pośrednictwem krwi czy innych płynów ustrojowych (46, 47). Chorobę powoduje zakażenie wirusem zespołu ciężkiej gorączki z trombocytopenią (SFTSV). U ludzi zakażonych wirusem, którzy nie przeżyli choroby, wskaźnik De Ritisa we wczesnej fazie choroby był wyższy (średnia 3,14) w porównaniu do pacjentów, którzy przeżyli zakażenie, u których średnia wyniosła 1,91 (47). Innym przykładem choroby, w której wykorzystano stosunek wartości AST do ALT w rokowaniu, jest posocznica. U pacjentów, którzy nie przeżyli, średnia wartość wskaźnika De Ritisa wynosiła 2,16 i była istotnie statystycznie wyższa od średniej u pacjentów, którzy przeżyli, wynoszącej 1,64 (48). W innych badaniach nad posocnicą i wstrząsem septycznym wykazano, że ryzyko zgonu w ciągu 30 dni było wyższe u pacjentów z ilorazem AST/ALT powyżej 1,8 (49).

Omawiany wskaźnik przydatny jest również w badaniach z zakresu traumatologii, w których wykazano, że u pacjentów po urazach jamy brzusznej i klatki piersiowej stosunek AST/ALT powyżej 1,64 wiązał się z wyższym ryzykiem zgonu (50). Wskaźnik De Ritisa okazał się przydatny również w kardiologii. Dodatnią korelację pomiędzy ryzykiem zgonu a wartością wskaźnika De Ritisa wykazano u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego (51). Podobne wyniki uzyskano również u pacjentów z chorobą wieńcową, pomimo że u tych chorych zarówno aktywność AST, jak i aktywność ALT były w zakresie wartości referencyjnych. Mimo wartości aktywności obu enzymów w surowicy pozostających w normie wykazano wzrost śmiertelności wraz ze wzrostem wartości omawianego wskaźnika (52). Wskaźnik De Ritisa oraz delta AST/ALT przydatne są również w ocenie rokowania u pacjentów z urazami mózgu, u których zarówno sam wskaźnik, jak i delta AST/ALT były wyższe u pacjentów, którzy nie przeżyli urazu. Delta AST/ALT obliczano w oparciu o dwukrotne oznaczenia AST i ALT w odstępie 72–96 godzin, gdzie od drugiego ilorazu AST/ALT odejmowano pierwszy. Oznacza to, że u pacjentów z gorszym rokowaniem wskaźnik De Ritisa wzrastał szybciej w ciągu 3–4 dni (53). Podobne wyniki uzyskiwano u innych pacjentów neurologicznych. Wzrastający stosunek AST do ALT wiązał się z gorszym rokowaniem u pacjentów z udarem

niedokrwiennym. Podobnie u pacjentów z cukrzycą typu 2, wraz ze wzrostem ilorazu AST/ALT wzrastało ryzyko rozwoju cukrzycowej neuropatii obwodowej (54, 55). Podobnie zresztą u osób z cukrzycą wzrost stosunku AST do ALT wiąże się z większym ryzykiem rozwoju nefropatii cukrzycowej (56). Również u pacjentów onkologicznych wyższa wartość wskaźnika De Ritisa była związana z gorszym rokowaniem czy krótszym czasem przeżycia (57, 58, 59, 60). Ciekawe natomiast wyniki uzyskano w badaniach na dużej grupie (niemal 90 000 osób) w chińskim społeczeństwie, gdzie wykazano, że wartość wskaźnika De Ritisa mniejsza lub równa 1,18 u pacjentów niemających cukrzycy wiąże się z podwyższonym ryzykiem rozwoju cukrzycy w przyszłości (61).

Wskaźnik De Ritisa w ostrym uszkodzeniu nerek u ludzi

Wskaźnik De Ritisa znajduje również zastosowanie w nefrologii, na co zwrócono uwagę dopiero w ciągu ostatnich kilku lat. Jak już wcześniej wspomniano, w odniesieniu do pacjentów onkologicznych wzrost wartości tego wskaźnika związany jest z krótszym czasem przeżycia, co dotyczy również pacjentów z rakiem nerki (59, 60). W przypadku nerek wykazano, że iloraz AST/ALT przydatny jest zarówno w diagnostyce i ocenie ryzyka rozwoju ostrego uszkodzenia nerek, jak i przewlekłej choroby nerek. W 2017 r. Pilarczyk i wsp. (62) wykazali, że wzrost wartości wskaźnika De Ritisa miał związek z pooperacyjnym ostrym uszkodzeniem nerek. W roku 2019 opublikowano wyniki badań, w których wykazano, że wartość stosunku aktywności AST do ALT większa lub równa 1,29 przed operacją u pacjentów z rakiem wątroby pozwala przewidzieć ryzyko pooperacyjnego ostrego uszkodzenia nerek, a czułość i swoistość w przewidywaniu tego ryzyka wynosiły odpowiednio 70,8% oraz 71,1% (63). W opublikowanych pod koniec 2020 r. wynikach badań pacjentów zakażonych przenoszonym przez komary wirusem Dengi (DENV) stwierdzono znacznie wyższy średni wzrost aktywności AST (891 IU/l) w porównaniu do wzrostu aktywności ALT (407 IU/l) u osób z ostrym uszkodzeniem nerek, w porównaniu do osób zakażonych, u których nie doszło do ostrego uszkodzenia nerek. W grupie osób bez powikłania choroby ze strony nerek średnie aktywności AST i ALT wynosiły odpowiednio 172 IU/l oraz 113 IU/l. Z podanych wartości widać, że wskaźnik De Ritisa był znacznie wyższy u pacjentów z uszkodzeniem nerek. Autorzy tej pracy nie stwierdzili jednak, by podwyższona wartość ilorazu AST/ALT była czynnikiem pozwalającym przewidzieć ryzyko ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów z Dengą (64). W 2021 r. zwiększone ryzyko ostrego uszkodzenia nerek opisali Gultekin i wsp. (65) u pacjentów kardiochirurgicznych, u których stosunek AST do ALT przed operacją był wyższy niż 1,22. Te same badania wykazały również wzrost ryzyka ostrego uszkodzenia nerek u tych pacjentów, gdy wskaźnik De Ritisa był wyższy niż 1,74 po jednym dniu od przeprowadzonej operacji serca (65). W 2021 r. Park i wsp. (66) wykazali, że po operacji całkowitego

usunięcia prostaty iloraz AST/ALT większy bądź równy 1,2 wskazywał na wysokie ryzyko rozwoju ostrego uszkodzenia nerek. W 2022 r. ukazała się praca, w której wykazano, że wartość stosunku AST do ALT powyżej 1,3 u pacjentów, u których zastosowano dożylny środek kontrastujący, wiąże się z ryzykiem rozwoju ostrego uszkodzenia nerek na skutek zastosowania preparatu kontrastowego, a w odległym czasie wiąże się również z ryzykiem zgonu u pacjentów, u których przeprowadzono przeszkońną interwencję wieńcową (67). W przypadku przewlekłej choroby nerek ciekawe wyniki uzyskali japońscy naukowcy, którzy stwierdzili, że wzrost ryzyka rozwoju tej choroby związany był ze wzrostem aktywności ALT w surowicy oraz obniżeniem wartości wskaźnika De Ritisa (68).

Wskaźnik De Ritisa w chorobach psów

Pomimo że oznaczanie aktywności AST i ALT w surowicy jest tanim i łatwo dostępnym badaniem, w przeciwieństwie do ludzi, wskaźnik AST/ALT jest rzadko wykorzystywany w diagnostyce czy ocenie rokowania w przebiegu chorób u psów. Opublikowano zaledwie kilka prac badawczych, w których oceniono zmiany w wartościach wskaźnika De Ritisa u chorych zwierząt.

Pierwsza praca opublikowana została przez lekarzy weterynarii z Belgii w 1987 r. Autorzy tej pracy oceniali zmiany w aktywności transaminaz oraz wartość ilorazu AST/ALT u 96 suk z torbielowatym rozrostem błony śluzowej macicy oraz ropnym zapaleniem macicy (69). Autorzy tych badań stwierdzili wzrost wartości wskaźnika De Ritisa u chorych zwierząt (średnia wartość AST/ALT = 1,4) względem 75 zdrowych suk (średnia wartość AST/ALT = 0,6). Co ciekawe, u części chorych suk stwierdzono obniżenie aktywności ALT w porównaniu do zdrowych zwierząt. Autorzy tych badań u 19 suk stwierdzili znaczne obniżenie ilorazu AST/ALT w ciągu 2–4 tygodni od operacji owariohisterektomii. Warto również wspomnieć, że stosunek AST do ALT był znacznie wyższy u chorych zwierząt, od których z pobranych z macicy wymazów na badanie bakteriologiczne uzyskano wzrost bakterii w porównaniu do chorych suk, u których w hodowlach mikrobiologicznych nie uzyskano wzrostu bakterii. Ponadto wzrost wskaźnika De Ritisa korelował dodatnio ze wzrostem liczby leukocytów we krwi (69). Z punktu widzenia autorów niniejszego artykułu oraz w odniesieniu do jego tytułu najciekawszym wynikiem było porównanie wartości stosunku AST do ALT u chorych zwierząt z niewydolnością nerek z chorymi sukami, u których nie rozwinęła się niewydolność nerek. De Schepper i wsp. (69) stwierdzili wyższą wartość wskaźnika De Ritisa u psów z powikłaniem nerkowym, uzyskując jedną z najwyższych wartości w przeprowadzonych porównaniach statystycznych (średnia wartość AST/ALT = 2,1 z odchyleniem standardowym wynoszącym 1,5). Niestety w dyskusji do swojej pracy De Schepper i wsp. (69) nie odnieśli się do wyników porównań zwierząt z niewydolnością nerek oraz zwierząt bez tej niewydolności.

U psów wskaźnik De Ritisa wykorzystano również w oftalmologii i endokrynologii. Oh i wsp. (70) zwrócili uwagę, że u psów z nagłym nabytym zwyrodnieniem siatkówki (sudden acquired retinal degeneration syndrome, SARDS) prowadzącym do nagłej utraty wzroku współwystępowały też inne objawy lub też objawy te występowały bezpośrednio przed utratą wzroku, a należały do nich: poliuria, polidypsja, polifagia, przyspieszony oddech, wzrost masy ciała oraz apatia. Ponadto, u tych zwierząt stwierdzano wzrost aktywności fosfatazy zasadowej oraz wzrost aktywności ALT. Ze względu na fakt, że najczęściej ta choroba siatkówki występuje u jamników, sznauceerów miniaturowych, mopsów, Épagneul bretonów i mieszaneńców, często w diagnostyce różnicowej nagłego nabytego zwyrodnienia siatkówki uwzględniano nadczynność kory nadnerczy, choć prawdopodobnie nie istnieje żaden związek między tymi chorobami. Oh i wsp. (70) wykazali, że wskaźnik De Ritisa jest wyższy u psów z nagłym nabytym zwyrodnieniem siatkówki niż u psów z przysadkowo-zależnym zespołem Cushinga, a wartość graniczna tego wskaźnika pozwalająca różnicować te dwie choroby wynosiła 0,343 z czułością wynoszącą 60% i swoistością wynoszącą 100%. Warto dodać, że oprócz wartości AST/ALT powyżej 0,343 wśród pozostałych parametrów ocenianych w omawianej publikacji ciężar właściwy moczu powyżej 1,030 oraz stężenie kortyzolu po stymulacji ACTH poniżej 19,3 µg/dl również wskazywały na SARDS (70).

W innej pracy Raghu i wsp. (71) porównali różne parametry, w tym również wskaźnik De Ritisa, pomiędzy psami o różnym stopniu zaawansowania miażdżycy wątroby. Jednak pomimo tego, że wskaźnik ten jest użyteczny w chorobach wątroby u człowieka, u psów nie stwierdzono różnic pomiędzy psami we wczesnej fazie choroby a psami ze zmianami bardzo zaawansowanymi. Autorzy tej pracy zasugerowali, że być może ta różnica między wynikami uzyskanymi u ludzi a wynikami uzyskanymi u psów w omawianej publikacji wynikać mogła z różnicy w „dynamice AST” (71), co przypuszczalnie odnosić się może do różnic w okresie półtrwania enzymu w osoczu. Raghu i wsp. (71) w swojej pracy porównywali ze sobą jednak niewielkie grupy, co zmusiło ich do zastosowania nieparametrycznych testów statystycznych. Nie można zatem wykluczyć, że być może badania na większych grupach zwierząt dałyby inny wynik, podobny do tych, które uzyskiwano u ludzi. Sami autorzy podkreślają na końcu dyskusji o ograniczeniach liczbowych, które mogły wpłynąć na uzyskane przez nich wyniki (71).

Autorzy tego artykułu zwrócili uwagę na fakt, że stosunkowo często u psów zarażonych *Babesia canis* aktywność AST jest wyższa od aktywności ALT, zwłaszcza u psów z azotemią. W 2012 r. autorzy opublikowali pracę, w której obliczono wartość wskaźnika De Ritisa u 182 psów zarażonych *B. canis*. Wzrost aktywności AST powyżej normy stwierdzono u 169 psów, natomiast wzrost aktywności ALT występował u 119 osobników. Wśród tych 182 psów 65 zwierząt miało niedokrwistość, natomiast u 68 zwierząt

rozpoznano azotemię (72). Jak wyżej wspomniano, hemoliza może prowadzić do wzrostu aktywności AST w surowicy, a w przebiegu babeszjozy występuje niedokrwistość spowodowana hemolizą o podłożu immunologicznym (5, 73). Jednak w opublikowanej przez autorów pracy nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy średnich wartości wskaźnika De Ritisa pomiędzy zarażonymi *B. canis* psami z niedokrwistością i bez niedokrwistości (72). Badania autorów tego artykułu wykazały natomiast istotne różnice w wartościach ilorazu AST/ALT pomiędzy psami z azotemią i bez azotemii. Wykazano także dodatnie korelacje pomiędzy wartością wskaźnika De Ritisa a stężeniem mocznika i kreatyniny u wszystkich 182 psów. Jako że ostre uszkodzenie nerek jest stosunkowo częstym powikłaniem babeszjozy u psów, w omówieniu wyników zasugerowano, że wzrost ilorazu AST/ALT może mieć związek z uszkodzeniem nerek, choć w tych badaniach nie określono typu azotemii (72).

W kolejnej pracy autorzy prezentowanego artykułu porównali aktywność AST w surowicy oraz wartość wskaźnika De Ritisa u psów zarażonych *B. canis* z azotemią nerkową i azotemią przednerkową (74). Rodzaj azotemii określono w oparciu o wskaźniki nerkowe, takie jak RFI (renal failure index), frakcyjne wydalanie sodu ($\text{Fe}(\text{Na}^+)$), stosunek stężenia mocznika do kreatyniny w surowicy oraz stosunek stężenia kreatyniny w moczu do stężenia kreatyniny w surowicy (75, 76). Porównanie median aktywności AST oraz ilorazu AST/ALT pomiędzy psami z azotemią nerkową i azotemią przednerkową wykazało zarówno wyższą aktywność AST, jak i wartość wskaźnika De Ritisa u psów zarażonych *B. canis* z azotemią nerkową. Ponadto wykazano występowanie korelacji (dodatnich i ujemnych – w zależności od parametru) pomiędzy wskaźnikami nerkowymi, takimi jak RFI, $\text{Fe}(\text{Na}^+)$, i stosunkiem stężenia kreatyniny w moczu do stężenia kreatyniny w surowicy a wartością ilorazu AST/ALT i aktywnością AST w surowicy w grupie wszystkich psów z azotemią (74). Te badania pokazały, że uszkodzenie nerek u psów z babeszjozą powoduje wzrost aktywności AST w surowicy, prowadząc do wzrostu wartości wskaźnika De Ritisa. Głównym ograniczeniem tych badań była jednak stosunkowo niewielka liczba psów z azotemią, przez co można było zastosować jedynie nieparametryczne testy statystyczne. Z drugiej jednak strony wyniki te są zgodne z poprzednimi badaniami autorów na większej grupie zwierząt oraz z badaniami suk z ropnym zapaleniem macicy i niewydolnością nerek (69, 72, 74). W opinii autorów tego artykułu nie można wykluczyć, że częściowo za wzrost aktywności AST w surowicy (przyczyniając się do wzrostu wartości wskaźnika De Ritisa) odpowiadać może również zastoinowa niewydolność serca, którą stwierdzano również w przebiegu babeszjozy u ludzi (77). Zmiany typowe dla zastoinowej niewydolności serca stwierdzano w badaniach sekcyjnych psów, które nie przeżyły babeszjozy (78). Wiadomo jednak, że obie jednostki chorobowe, tj. ostre choroba nerek oraz ostra zastoinowa niewydolność serca, są ze sobą powiązane (79, 80).

Oprócz wykorzystania w ocenie rokowania bądź ryzyka stosunek AST do ALT badany był również w ocenie bezpieczeństwa bądź skuteczności różnych leków u psów. Sam iloraz AST/ALT nie był jednak badany w tych pracach jako parametr do oceny ryzyka bądź jako wskaźnik diagnostyczny dla jakichś powikłań (81, 82).

Według wiedzy autorów w obiegu międzynarodowym brakuje większej liczby publikacji, które poruszałyby omawiane zagadnienie. Opublikowanych zostało również kilka prac, w których badano wskaźnik De Ritisa u psów z babeszjozą i dirofilariozą sercowo-płucną (83, 84). W pracach tych popełnione zostały jednak różne błędy, z których głównymi było stosowanie parametrycznych testów statystycznych do badania różnic pomiędzy niewielkimi grupami badanych zwierząt (10 osobników) bez oceny normalności rozkładu wartości, a istnieje raczej niewielkie prawdopodobieństwo, że wszystkie parametry porównywane pomiędzy badanymi zwierzętami miały rozkład normalny w tak małych grupach. W związku z powyższymi wynikami tych prac nie zostały tutaj omówione, gdyż wnioski, jakie zostały wyciągnięte przez tych autorów, mogą być błędne.

Inną pracą, do której autorzy muszą się odnieść, gdyż dotyczy ona omawianego tu zagadnienia, jest publikacja Sungpradit i wsp. (85), w której porównano stosunek AST do ALT w kontekście oceny działania nerek. Autorzy tych badań podjęli próbę oceny użyteczności różnych wskaźników w zaburzeniach funkcjonowania nerek u psów zarażonych *B. vogeli* (85). Sungpradit i wsp. (85) w swoich wnioskach stwierdzili, że żaden z badanych przez nich parametrów, w tym również wskaźnik De Ritisa, nie jest użyteczny. Jednak z uzyskanych przez tych autorów wyników nie można wyciągnąć takich wniosków przynajmniej z dwóch powodów. Badania przeprowadzono na bardzo małej grupie (jedynie sześć psów zarażonych pierwotniakiem). Drugim istotnym powodem jest fakt, że u żadnego z zarażonych psów nie rozwinęła się azotemia, a porównanie stężenia zarówno mocznika jak i kreatyniny pomiędzy sześcioma zarażonymi psami i pięcioma niezarażonymi nie wykazało różnic istotnych statystycznie. I nie mogło wykazać, gdyż u wszystkich 11 psów (z obu grup) stężenie mocznika i kreatyniny było w normie, a zatem pod względem tych parametrów, psy z obu grup należały tak naprawdę do tej samego zbioru. Podkreślić tutaj należy, że inwazja spowodowana przez *B. vogeli* jest bardzo łagodna (z wyjątkiem szczeniąt) i często ma przebieg podkliniczny. W oparciu o uzyskane przez tych autorów wyniki dla stężenia mocznika i kreatyniny w surowicy, można domniemywać z dużym prawdopodobieństwem, że autorzy tej pracy porównali pięć zdrowych psów z prawidłowo funkcjonującymi nerkami z sześcioma zarażonymi psami z również prawidłowo funkcjonującymi nerkami. A zatem, w ogóle nie zbadali zwierząt z zaburzeniami funkcjonowania nerek. Nie mogli więc ocenić użyteczności różnych wskaźników, w tym AST/ALT, w diagnostyce upośledzonej czynności nerek.

Inna obarczona błędami publikacja przedstawia m.in. wyniki oznaczeń aktywności AST i ALT oraz wyliczony wskaźnik De Ritisa u nieustalonej liczby psów z pierwotnym rakiem wątroby. Prawdopodobnie chodzi o 18 psów, choć autorzy w materiałach i metodach wymieniają różne liczby i nie precyzują, której grupy psów dotyczy wynik dla wartości AST/ALT. W części dyskusja i wyniki podają, że „średnio” iloraz AST/ALT wynosił 0,6 i że ta wartość może wskazywać na pierwotnego raka wątroby lub przewodów żółciowych, a sam wskaźnik jest przydatny w rokowaniu u psów z tym nowotworem (86). W tym miejscu autorzy tej pracy powołują się na dwie pozycje piśmiennictwa. Jednak żadna z prac, na które powołują się autorzy nie dotyczy psów ani nie badano w nich wskaźnika De Ritisa. Autorzy nie pokazują również żadnego porównania, które by pozwalało stwierdzić, że wartość 0,6 jako wartość graniczna pozwala na prognozowanie ani czy wartość wyższa bądź niższa od 0,6 wskazuje na gorsze bądź lepsze rokowanie.

Poważnym problemem jest fakt, że publikacje wyników badań obarczonych różnymi błędami ukazują się powszechnie w internecie. W związku z tym czytelnik nie zaznajomiony z metodyką prowadzenia badań naukowych, poszukując informacji i natrafiając na takie publikacje, może wyciągnąć błędne wnioski, zwłaszcza że nazwy czasopism, w których publikowane są te artykuły, wyglądają jak nazwy czasopism naukowych. Nie bez znaczenia jest również czytanie jedynie abstraktów zamiast całych publikacji i bezkrytyczne przyjmowanie przedstawionych tam wniosków. Takie powierzchowne przyswajanie wiedzy, do tego z wątpliwej jakości źródła, może z kolei prowadzić do podważania wiedzy i opinii lekarza weterynarii przez osobę powołującą się na tego typu publikacje. Przykładem mogą być przytoczone na łamach „Życia Weterynaryjnego” sytuacje, o których wspominał prof. Jarosław Kaba z Instytutu Medycyny Weterynaryjnej w SGGW. Studenci podczas ustnych zaliczeń twierdzili, że pan profesor nie ma racji, gdyż „w internecie jest inaczej” (87). Przedstawione w tym akapicie rozważania autorów na temat tego typu publikacji wykraczają jednak poza obszar omawianego w artykule zagadnienia i wymagają odrębnego i prawdopodobnie bardzo obszernego opracowania.

Podsumowanie

Wskaźnik De Ritisa jest tanim i łatwo dostępnym w diagnostyce parametrem. Zarówno badania u ludzi, jak i psów pokazują, że może być on wykorzystany w ocenie ryzyka bądź w rokowaniu w przebiegu różnych chorób. Wyniki badań u ludzi oraz u psów pokazują, że wskaźnik De Ritisa może być wykorzystany również w diagnostyce ostrego uszkodzenia nerek, a z laboratoryjnego punktu widzenia może być użyteczny w badaniach przesiewowych psów z azotemią i wstępnym różnicowaniu azotemii nerkowej i przednerkowej. Potrzebne są jednak dalsze badania u psów, które mogłyby potwierdzić użyteczność stosunku AST do ALT w praktyce klinicznej.

Piśmiennictwo

- De Ritis F., Coltorti M., Giusti G.: Diagnostic value and pathogenetic significance of transaminase activity changes in viral hepatitis. *Minerva Medica*, 1956, 47(7), 167–171.
- De Ritis F., Coltorti M., Giusti G.: Serum and Liver Transaminase Activities in Experimental Virus Hepatitis in Mice. *Science*, 1956, 124(3210), 32–32.
- De Ritis F., Coltorti M., Giusti G.: An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis: The transaminase serum activities. *Clinica Chimica Acta*, 1957, 2(1), 70–74.
- De Ritis F.: New approach, facts and hypothesis on B virus hepatitis epidemiology and pathogenesis. *Materia Medica Polona*, 1976, 8(4), 408–420.
- Stockham S.L., Scott M.A.: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2008.
- Liu Z., Que S., Xu J., Peng T.: Alanine Aminotransferase-Old Biomarker and New Concept: A Review. *International Journal of Medical Sciences*, 2014, 11(9), 925–935.
- Botros M., Sikaris K.A.: The De Ritis Ratio: The Test of Time. *Clinical Biochemist Reviews*, 2013, 34(3), 117–130.
- Tennant B.C., Center S.A. Hepatic Function. W: Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L.: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press, Elsevier, London, 2008, 379–412.
- Rafter I., Gråberg T., Kotronen A., Strømmer L., Mattson C.M., Kim R.W., Ehrenborg E., Andersson H.B., Yki-Järvinen H., Schuppe-Koistinen I., Ekblom B., Cotgreave I., Glinghammar B.: Isoform-specific alanine aminotransferase measurement can distinguish hepatic from extrahepatic injury in humans. *International Journal of Molecular Medicine*, 2012, 30(5), 1241–1249.
- Miyazaki M., Rosenblum J.S., Kasahara Y., Nakagawa I., Patricelli M.P.: Determination of enzymatic source of alanine aminotransferase activity in serum from dogs with liver injury. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2009, 60(3), 307–315.
- Yang R.Z., Park S., Reagan W.J., Goldstein R., Zhong S., Lawton M., Rajamohan F., Qian K., Liu L., Gong D.W.: Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity. *Hepatology*, 2009, 49(2), 598–607.
- Peña-Soler E., Fernandez F.J., López-Esteva M., Garcés F., Richardson A.J., Quintana J.F., Rudd K.E., Coll M., Vega M.C.: Structural Analysis and Mutant Growth Properties Reveal Distinctive Enzymatic and Cellular Roles for the Three Major L-Alanine Transaminases of *Escherichia coli*. *PLoS ONE*, 2014, 9(7), e102139. Doi: 10.1371/journal.pone.0102139.
- Felig P.: The Glucose-Alanine Cycle. *Metabolism*, 1973, 22(2), 179–207.
- Soeters P.B., Shenkin A., Sobotka L., Soeters M.R., de Leeuw P.W., Wolfe R.R.: The anabolic role of the Warburg, Cori-cycle and Crabtree effects in health and disease. *Clinical Nutrition*, 2021, 40(5), 2988–2998.
- Bain P.J. Liver. W: Latimer K.S., Mahaffey E.A., Prasse K.W.: *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company, Ames, Iowa, 2003, 193–214.
- Valentine B.A., Blue J.T., Shelley S.M., Cooper B.J.: Increased Serum Alanine Aminotransferase Activity Associated with Muscle Necrosis in the Dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1990, 4(3), 140–143.
- Willard M.D., Twedt D.C.: Gastrointestinal, Pancreatic, and Hepatic Disorders. W: Willard M.D., Tvedten H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 4th ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2004, 208–246.
- Sriuttha P., Sirichanchuen B., Permsuwan U.: Hepatotoxicity of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *International Journal of Hepatology*, 2018, 5253623. Doi: 10.1155/2018/5253623.
- Oh S.K., Lim B.G., Kim Y.S., Kim S.S.: Comparison of the Postoperative Liver Function Between Total Intravenous Anesthesia and Inhalation Anesthesia in Patients with Preoperatively Elevated Liver Transaminase Levels: A Retrospective Cohort Study. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2020, 16, 223–232.
- Bishop B., Hannah N., Doyle A., Amico F., Hockey B., Moore D., Sood S., Gorelik A., Liew D., Njoku D., Nicoll A.: A prospective study of the incidence of drug-induced liver injury by the modern volatile anaesthetics sevoflurane and desflurane. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2019, 49(7), 940–951.

21. Toney M.D.: Aspartate aminotransferase: An old dog teaches new tricks. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2014, **544**, 119–127.
22. Jitrapakdee S., St Maurice M., Rayment I., Cleland W.W., Wallace J.C., Attwood P.V.: Structure, Mechanism and Regulation of Pyruvate Carboxylase. *Biochemical Journal*, 2008, **413**(3), 369–387.
23. Morris S.M.Jr.: Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 2002, **22**, 87–105.
24. Otto-Ślusarczyk D., Graboń W., Mielczarek-Puta M.: Aminotransferaza asparaginianowa – kluczowy enzym w metabolizmie ogólnoustrojowym człowieka. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2016, **70**, 219–230.
25. McKenna M.C., Waagepetersen H.S., Schousboe A., Sonnewald U.: Neuronal and astrocytic shuttle mechanisms for cytosolic-mitochondrial transfer of reducing equivalents: Current evidence and pharmacological tools. *Biochemical Pharmacology*, 2006, **71**(4), 399–407.
26. Lu M., Zhou L., Stanley W.C., Cabrera M.E., Saidel G.M., Yu X.: Role of the Malate-Aspartate Shuttle on the Metabolic Response to Myocardial Ischemia. *Journal of Theoretical Biology*, 2008, **254**(2), 466–475.
27. Gavazza A., Fruganti A., Turinelli V., Marchegiani A., Spaterna A., Tesi B., Rossi G., Cerquetella M.: Canine Traditional Laboratory Tests and Cardiac Biomarkers. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, **7**, 320. Doi: 10.3389/fvets.2020.00320.
28. Giannini E.G., Testa R., Savarino V.: Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian Medical Association Journal*, 2005, **172**(3), 367–379.
29. Han J.H., Kwak J.Y., Lee S.S., Kim H.G., Jeon H., Cha R.R.: Markedly Elevated Aspartate Aminotransferase from Non-Hepatic Causes. *Journal of Clinical Medicine*, 2023, **12**(1), 310. Doi: 10.3390/jcm12010310.
30. Chandel A., Brusher K., Hall V., Howard R.S., Clark P.A.: Diagnosis and Management of Rhabdomyolysis in the Absence of Creatine Phosphokinase: A Medical Record Review. *Military Medicine*, 2019, **184**(11–12), 820–825.
31. Weibrecht K., Dayno M., Darling C., Bird S.B.: Liver Aminotransferases Are Elevated with Rhabdomyolysis in the Absence of Significant Liver Injury. *Journal of Medical Toxicology*, 2010, **6**(3), 294–300.
32. Lucas V., Barrera R., Duque F.J., Ruiz P., Zaragoza C.: Effect of exercise on serum markers of muscle inflammation in Spanish Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research*, 2015, **76**(7), 637–643.
33. Vasbinder A., Chen Y., Procureur A., Gradone A., Azam T.U., Perry D., Shadid H., Anderson E., Catalan T., Blakely P., Nelapudi N., Fardous M., Bretagne M.C., Adie S.K., Pogue K.T., Leja M., Yentz S., Schneider B., Fecher L.A., Lao C.D., Salem J.E., Hayek S.S.: Biomarker Trends, Incidence, and Outcomes of Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology: CardioOncology*, 2022, **4**(5), 689–700.
34. Ndrepepa G.: Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. *Journal of Laboratory and Precision Medicine*, 2021, **6**, 6. Doi: 10.21037/jlpm-20-93.
35. Patowary P., Phukan A., Baishya C.B., Barman U., Das A., Tamuly S.: Evaluation of Hematological and Serum Biochemical Alterations in Dogs Affected with Congestive Heart Failure. *Indian Journal of Animal Research*, 2022, **56**(8), 941–944.
36. Brložnik M., Pečjak A., Nemeč Sveta A., Domanjko Petrič A.: Selected hematological, biochemical, and echocardiographic variables as predictors of survival in canine patients with myxomatous mitral valve disease and congestive heart failure. *Journal of Veterinary Cardiology*, 2023, **46**, 18–29.
37. Vatnikov Y., Rudenko A., Rudenko P., Kulikov E., Karamyan A., Lutsay V., Medvedev I., Byakhova V., Krotova E., Molvhanova M.: Immune-inflammatory concept of the pathogenesis of chronic heart failure in dogs with dilated cardiomyopathy. *Veterinary World*, 2019, **12**(9), 1491–1498.
38. Sorbi D., Boynton J., Lindor K.D.: The Ratio of Aspartate Aminotransferase to Alanine Aminotransferase: Potential Value in Differentiating Nonalcoholic Steatohepatitis From Alcoholic Liver Disease. *American Journal of Gastroenterology*, 1999, **94**(4), 1018–1022.
39. Giannini E., Botta F., Fasoli A., Ceppa P., Risso D., Lantieri P.B., Celle G., Testa R.: Progressive Liver Functional Impairment Is Associated with an Increase in AST/ALT Ratio. *Digestive Diseases and Sciences*, 1999, **44**(6), 1249–1253.
40. Angulo P., Keach J.C., Batts K.P., Lindor K.D.: Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 1999, **30**(6), 1356–1362.
41. Li R., Zhu W.J., Wang F., Tang X., Luo F.: AST/ALT ratio as a predictor of mortality and exacerbations of PM/DM-ILD in 1 year—a retrospective cohort study with 522 cases. *Arthritis Research & Therapy*, 2020, **22**(1), 202. Doi: 10.1186/s13075-020-02286-w.
42. Wang B., Hu L., Chen Y., Zhu B., Kong W., Zhu Z., Wang K., Yu Q., Zhang W., Wu G., Sun Y., Xia Z.: Aspartate transaminase/alanine transaminase (De Ritis ratio) predicts survival in major burn patients. *Burns*, 2022, **48**(4), 872–879.
43. Fu Y., Du S., Liu X., Cao L., Yang G., Chen H.: A linear relationship between De Ritis ratio and mortality in hospitalized patients with COVID-19: A secondary analysis based on a large retrospective cohort study. *iLIVER*, 2022, **1**, 169–175.
44. Zinellu A., Arru F., De Vito A., Sassu A., Valdes G., Scano V., Zinellu E., Perra R., Madeddu G., Carru C., Pirina P., Mangoni A.A., Babudieri S., Fois A.G.: The De Ritis ratio as prognostic biomarker of in-hospital mortality in COVID-19 patients. *European Journal of Clinical Investigation*, 2021, **51**(1), e13427. Doi: 10.1111/eci.13427.
45. Dráč B., Czompa D., Müllner K., Hagymási K., Miheller P., Székely H., Papp V., Horváth M., Hritz I., Szijártó A., Werling K.: The Elevated De Ritis Ratio on Admission Is Independently Associated with Mortality in COVID-19 Patients. *Viruses*, 2022, **14**(11), 2360. Doi: 10.3390/v14112360.
46. Gliński Z., Żmuda A.: Zespół ciężkiej gorączki z trombocytopenią. *Życie Weterynaryjne*, 2021, **96**(3), 173–176.
47. Wang L., Xu Y., Zhang S., Bibi A., Xu Y., Li T.: The AST/ALT Ratio (De Ritis Ratio) Represents an Unfavorable Prognosis in Patients in Early-Stage SFTS: An Observational Cohort Study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, **12**, 725642. Doi: 10.3389/fcimb.2022.725642.
48. Zhao P.Y., Yao R.Q., Ren C., Li S.Y., Li Y.X., Zhu S.Y., Yao Y.M., Du X.H.: De Ritis Ratio as a Significant Prognostic Factor in Patients with Sepsis: A Retrospective Analysis. *Journal of Surgical Research*, 2021, **264**, 375–385.
49. Schupp T., Weidner K., Rusnak J., Jawhar S., Forner J., Dulatahu F., Brück L.M., Hoffmann U., Bertsch T., Weiß C., Akin I., Behnes M.: Diagnostic and prognostic value of the AST/ALT ratio in patients with sepsis and septic shock. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2023, **58**(4), 392–402.
50. Su W.T., Rau C.S., Chou S.E., Tsai C.H., Liu H.T., Hsu S.Y., Hsieh C.H.: Association between Elevated De Ritis Ratio and Mortality Outcome in Adult Patients with Thoracoabdominal Trauma. *Healthcare*, 2022, **10**(10), 2082. Doi: 10.3390/healthcare10102082.
51. Ndrepepa G., Holdenrieder S., Kastrati A.: Prognostic value of De Ritis ratio in patients with acute myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta*, 2022, **535**, 75–81.
52. Ndrepepa G., Holdenrieder S., Kastrati A.: Prognostic value of De Ritis ratio with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase within the reference range. *Clinica Chimica Acta*, 2023, **538**, 46–52.
53. Tsai C.H., Rau C.S., Chou S.E., Su W.T., Hsu S.Y., Hsieh C.H.: Delta De Ritis Ratio Is Associated with Worse Mortality Outcomes in Adult Trauma Patients with Moderate-to-Severe Traumatic Brain Injuries. *Diagnostics*, 2022, **12**(12), 3004. Doi: 10.3390/diagnostics12123004.
54. Gao F., Chen C., Lu J., Zheng J., Ma X.C., Yuan X.Y., Huo K., Han J.E.: De Ritis ratio (AST/ALT) as an independent predictor of poor outcome in patients with acute ischemic stroke. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2017, **13**, 1551–1557.
55. Yan P., Wu Y., Dan X., Wu X., Tang Q., Chen X., Xu Y., Zhu J., Miao Y., Wan Q.: Aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ratio was associated with type 2 diabetic peripheral neuropathy in a Chinese population: A cross-sectional study. *Frontiers in Endocrinology*, 2023, **14**, 1064125. Doi: 10.3389/fendo.2023.1064125.
56. Xu J., Shi X., Pan Y.: The Association of Aspartate Aminotransferase/Alanine Aminotransferase Ratio with Diabetic Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2021, **14**, 3831–3837.
57. Keiner C., Meagher M., Patil D., Saito K., Walia A., Liu F., Dutt R., Miller N., Dhanji S., Saidian A., Wan F., Yasuda Y., Fujii Y., Tanaka H., Master V., Derweesh I.: Association of neutrophil/lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio, and De Ritis ratio with mortality in renal cell carcinoma: A multicenter analysis. *Frontiers in Oncology*, 2022, **12**, 995991. Doi: 10.3389/fonc.2022.995991.
58. Wu J., Chen L., Wang Y., Tan W., Huang Z.: Prognostic value of aspartate transaminase to alanine transaminase (De Ritis) ratio in solid tumors: a pooled analysis of 9,400 patients. *Oncotargets and Therapy*, 2019, **12**, 5201–5213.

59. Ikeda T., Ishihara H., Takagi T., Fukuda H., Yoshida K., Iizuka J., Kobayashi H., Okumi M., Ishida H., Kondo T., Tanabe K.: The De Ritis (Aspartate Transaminase/Alanine Transaminase) Ratio as a Prognosticator in Patients With End-stage Renal Disease-associated Renal Cell Carcinoma. *Clinical Genitourinary Cancer*, 2020, **18**(3), 236–240.
60. Lee H., Lee S.E., Byun S.S., Kim H.H., Kwak C., Hong S.K.: De Ritis ratio (aspartate transaminase/alanine transaminase ratio) as a significant prognostic factor after surgical treatment in patients with clear-cell localized renal cell carcinoma: a propensity score-matched study. *BJU International*, 2017, **119**(2), 261–267.
61. Xie W., Yu W., Chen S., Ma Z., Yang T., Song Z.: Low aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase (DeRitis) ratio assists in predicting diabetes in Chinese population. *Frontiers in Public Health*, 2022, **10**, 1049804. Doi: 10.3389/fpubh.2022.1049804.
62. Pilarczyk K., Carstens H., Heckmann J., Canbay A., Koch A., Pizanis N., Jakob H., Kamler M.: The aspartate transaminase/alanine transaminase (DeRitis) ratio predicts mid-term mortality and renal and respiratory dysfunction after left ventricular assist device implantation. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 2017, **52**(4), 781–788.
63. Xu J., Xia Y., Li S., Cheng X., Hu S., Gao Y., Zhou X., Wang G., Zheng Q.: A retrospective pilot study to examine the potential of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase ratio as a predictor of postoperative acute kidney injury in patients with hepatocellular carcinoma. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2019, **56**(3), 357–366.
64. Huy B.V., Thuy D.T.: Prevalence, Characteristics, and Factors Associated with Acute Kidney Injury among Adult Dengue Patients in Vietnam. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2021, **104**(3), 1067–1071.
65. Gultekin Y., Bolat A., Hatice K., Tekeli Kunt A.: Does Aspartate Aminotransferase to Alanine Aminotransferase Ratio Predict Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery? *Heart Surgery Forum*, 2021, **24**(3), E506–E511.
66. Park J.Y., Yu J., Hong J.H., Lim B., Kim Y., Hwang J.H., Kim Y.K.: Elevated De Ritis Ratio as a Predictor for Acute Kidney Injury after Radical Retropubic Prostatectomy. *Journal of Personalized Medicine*, 2021, **11**(9), 836. Doi: 10.3390/jpm11090836.
67. He H.M., He C., Zhang S.C., You Z.B., Lin X.Q., Luo M.Q., Lin M.Q., Guo Y.S., Zheng W.P., Lin K.Y.: Predictive value of aspartate aminotransferase-to-alanine aminotransferase ratio for contrast-associated acute kidney injury in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Journal of Cardiology*, 2022, **79**(5), 618–625.
68. Ochiai H., Shirasawa T., Yoshimoto T., Nagahama S., Watanabe A., Sakamoto K., Kokaze A.: Elevated alanine aminotransferase and low aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ratio are associated with chronic kidney disease among middle-aged women: a cross-sectional study. *BMC Nephrology*, 2020, **21**(1), 471. Doi: 10.1186/s12882-020-02144-6.
69. De Schepper J., van der Stock J., Capiu E.: The characteristic pattern of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in the bitch with the cystic hyperplasia-pyometra complex: Effect of medical or surgical treatment. *Veterinary Research Communications*, 1987, **11**(1), 65–75.
70. Oh A., Foster M.L., Williams J.G., Zheng C., Ru H., Lunn K.F., Mowat F.M.: Diagnostic utility of clinical and laboratory test parameters for differentiating between sudden acquired retinal degeneration syndrome and pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 2019, **22**(6), 842–858.
71. Raghu C., Ekena J., Cullen J.M., Webb C.B., Trepanier L.A.: Evaluation of potential serum biomarkers of hepatic fibrosis and necroinflammatory activity in dogs with liver disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2018, **32**(3), 1009–1018.
72. Zygner W., Gójska-Zygner O., Norbury L.J., Wędrychowicz H.: Increased AST/ALT ratio in azotaemic dogs infected with *Babesia canis*. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2012, **15**(3), 483–486.
73. Zygner W., Gójska-Zygner O., Norbury L.J.: Pathogenesis of Anemia in Canine Babesiosis: Possible Contribution of Pro-Inflammatory Cytokines and Chemokines – A Review. *Pathogens*, 2023, **12**(2), 166. Doi: 10.3390/pathogens12020166.
74. Gójska-Zygner O., Karabowicz J., Bartosik J., Zygner W.: Association between Increased the De Ritis Quotient and Renal Azotaemia in Canine Babesiosis. *Animals*, 2022, **12**(5), 626. Doi: 10.3390/ani12050626.
75. Waldrop J.E.: Urinary Electrolytes, Solutes, and Osmolality. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2008, **38**(3), 503–512.
76. Lobetti R.: Changes in the serum urea: Creatinine ratio in dogs with babesiosis, haemolytic anaemia, and experimental haemoglobinaemia. *Veterinary Journal*, 2012, **191**(2), 253–263.
77. Hatcher J.C., Greenberg P.D., Antique J., Jimenez-Lucho V.E.: Severe Babesiosis in Long Island: Review of 34 Cases and Their Complications. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, **32**(8), 1117–1125.
78. Zygner W., Rodo A., Gójska-Zygner O., Górski P., Bartosik J., Kotowski G.: Disorders in blood circulation as a probable cause of death in dogs infected with *Babesia canis*. *Journal of Veterinary Research*, 2021, **65**(3), 277–285.
79. Chahal R.S., Chukwu C.A., Kalra P.R., Kalra P.A.: Heart failure and acute renal dysfunction in the cardiorenal syndrome. *Clinical Medicine*, 2020, **20**(2), 146–150.
80. Chen J.J., Lee T.H., Kuo G., Yen C.L., Chen S.W., Chu P.H., Fan P.C., Chien-Chia Wu V., Chang C.H.: Acute Kidney Disease After Acute Decompensated Heart Failure. *Kidney International Reports*, 2022, **7**(3), 526–536.
81. Xin Y., Zhang S., Gu L., Liu S., Gao H., You Z., Zhou G., Wen L., Yu J., Xuan Y.: Electrocardiographic and Biochemical Evidence for the Cardioprotective Effect of Antioxidants in Acute Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in the Beagle Dogs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2011, **34**(10), 1523–1526.
82. Li L.J., Yang Y.G., Zhang Z.L., Nie S.F., Li Z., Li F., Hua H.Y., Hu Y.J., Zhang H.S., Guo Y.B.: Protective effects of medical ozone combined with traditional Chinese medicine against chemically-induced hepatic injury in dogs. *World Journal of Gastroenterology*, 2007, **13**(45), 5989–5994.
83. Ushakova T.M.: Correlation of redox homeostasis and cardiopulmonary disorders in dirofilariasis in dogs with signs of non-massive pulmonary thromboembolism. *Bulletin of Don State Agrarian University*, 2020, **63**(4), 5–13. [Publikacja po rosyjsku ze streszczeniem i wynikami po angielsku]
84. Ushakova T., Derezhina T., Kapelist I., Fomina A.: Diagnostic algorithm for comorbidity of babesiosis and dirofilariasis in dogs, taking into account the correlation of redox homeostasis and morphofunctional disorders of the hepatorenal and cardiopulmonary systems. *E3S Web of Conferences*, 2021, **273**, 02022. Doi: 10.1051/e3sconf/202127302022.
85. Sungpradit S., Pikhroh R., Thanasaksakul W.: Urinary markers in *Babesia canis vogeli*-infected dogs. *Journal of Applied Animal Science*, 2016, **9**(1), 25–36.
86. Vatnikov Y., Vilkovskiy I., Kulikov E., Popova I., Khairova N., Gazin A., Zharov A., Lukina D.: Size of canine hepatocellular carcinoma as an adverse prognostic factor for surgery. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2020, **7**(1), 127–132.
87. Kaba J.: Studia weterynaryjne. Refleksje nauczyciela akademickiego. *Życie Weterynaryjne*, 2023, **98**(4), 211–213.

Dr Olga Gójska-Zygner, e-mail: olgazygner@yahoo.pl