

Porównanie różnych metod wyznaczania przesączania kłębuszkowego (GFR) u dzieci – doświadczenie jednego ośrodka

Metody wyznaczania GFR są liczne a ich dokładność - kontrowersyjna. W pracy przedstawiamy porównanie oceny GFR klasycznymi metodami i nową metodą eliminacji podanego dożylnie iohexolu. Badaną grupę stanowiło 93 pacjentów (46 chłopców, 47 dziewczynek w wieku od 2 do 29 lat; średnia 12,7±4,5 lat); z różnymi schorzeniami nerek i prawidłowym stanem nawodnienia, bez białkomoczu. Metody: GFR obliczano według metody: 1. Counahana-Barrata (C-B) na podstawie stężenia kreatyniny w surowicy; 2. Fillera (F) - na podstawie stężenia cystatyny C w surowicy; 3. na podstawie klirensu kreatyniny z dobowej zbiórki moczu (M); 4. testu z iohexolem - na podstawie trzykrotnego oznaczenia iohexolu (I3) i metody jednokrotnego oznaczenia (po 2h - I1a, 3h - I1b, 4h (lub 8h) - I1c godz. od jego dożylnego podania). Stężenie iohexolu określano techniką HPLC. Wyniki: Średnie wartości GFR (w ml/min/1,73m²) wyniosły odpowiednio: wg C-B - 87,2 ±32,5; wg F - 119,6±46,1; wg M - 94±40,9; wg I3 - 98,6±37,8; wg I1a - 98,4±38,3; wg I1b - 100±34,4; wg I1c - 97,3±34,4. Za metodę referencyjną przyjęto metodę trzykrotnego oznaczenia iohexolu. Najwyższą korelację uzyskano pomiędzy wartościami GFR wg I3 i oraz I1a, 1b i 1c (r=0,98, 0,94 i 0,93 odpowiednio; p<0,00001). Najstabiliej korelowała wartość GFR wg I3 i M (r: 0,65; p<0,00001). Wyższą zgodność wyników stwierdzono pomiędzy wynikami GFR wg C-B oraz wg F i I3 (r=0,83 i 0,82 odpowiednio, p<0,00001). Metoda obliczania GFR wg Fillera znacząco zawyża wynik GFR w stosunku do innych metod. Największe różnice wartości wyników GFR stwierdzono między wynikami klirensu kreatyniny (M) a wynikami uzyskanymi wg metod F i C-B (r=0,58 i 0,67 odpowiednio; p<0,00001). Wnioski: 1. Metoda wyliczania GFR w teście z iohexolem jest przydatna i polecana w ocenie funkcji nerek. 2. Metody z użyciem jednokrotnego oznaczenia iohexolu po 2 godzinach od podania wykazuje zgodność z metodą wielokrotną. 3. Wzór Fillera wykazuje tendencję do wyliczania wyższych wartości GFR w stosunku do innych metod. 4. Istnieją znaczne różnice pomiędzy klasycznymi metodami wyliczania GFR.

(NEFROL. DIAL. POL. 2009, 13, 234-240)

A comparison of various methods of GFR estimation in children; the experience of a single center

GFR estimation methods are numerous and of controversial efficacy. This paper presents a comparison of tests with classical methods and with a new method of intravenous iohexol disappearance. The study group included 93 patients (46 males and 47 females aged 2-29; a mean of 12.7±4.5) with various renal diseases, correct hydration and no proteinuria. Methods: GFR was estimated with the methods of 1. Counahan-Barrat (C-B), based on serum creatinine; 2. Filler (F) - serum cystatine C; 3. creatinine clearance in 24-hour urine collection (M); 4. serum iohexol disappearance based on triple (I3) and single iohexol estimation (after 2h - I1a, 3h - I1b, 4h or 8h - I1c) after intravenous administration. Iohexol concentration was determined by HPLC. Results: Mean GFR values (in ml/min/1,73m²) were, respectively, 87.2 ±32.5 according to C-B; 119.6±46.1 in F; 94±40.9 in M; 98.6±37.8 in I3; 98.4±38.3 in I1a; 100±34.4 in I1b; 97.3±34.4 in I1c. The triple iohexol estimation method was used as reference. The highest correlations in GFR values were achieved between those estimated by I3 and I1a, 1b and 1c (r=0.98, 0.94 and 0.93; p<0.00001). The least correlated values were those in I3 and M (r: 0.65; p<0.00001). A better agreement was observed between GFR results in C-B and F and I3 (r=0.83 and 0.82; p<0.00001). The Filler GFR estimation significantly exaggerated the result of GFR in comparison to the other method. The greatest divergences in GFR were seen between creatinine clearance (M) and the results of F and C-B (r =0.58 i 0.67, respectively; p<0.00001). Conclusions: 1. The iohexol test method of GFR estima-

Katarzyna ZACHWIEJA¹

Przemysław KOROHODA³

Joanna KWINTA-RYBICKA¹

Monika MIKLASZEWSKA¹

Joanna BERSKA²

Jolanta BUGAJSKA¹

Jacek PIETRZYK¹

¹Klinika Nefrologii Dziecięcej
Kierownik Kliniki:
Prof. dr hab. med. Jacek A. Pietrzyk

²Zakład Biochemii Lipidów Katedry Pediatrii
PA IP UJ Collegium Medicum Kraków
Kierownik Zakładu: Dr Urszula Brylska

³Katedra Elektroniki AGH Kraków
Kierownik Katedry:
Prof. dr hab. inż. Stanisław Kuta

Słowa kluczowe:

- ocena GFR
- iohexol
- klirens kreatyniny

Key words:

- GFR estimation
- iohexol
- creatinine clearance

*Praca była wykonana w ramach
Badań Statutowych CM UJ Nr K/ZDS/000438.*

Adres do korespondencji:
Dr E

tion may be recommended in assessment of renal function. 2. Methods based on single iohexol estimation 2 hours after administration are consistent with the triple estimation method. 3. The Filler formula tends to overestimate GFR in comparison to other methods. 4. Significant differences exist between classical methods of GFR estimation.

(NEPHROL. DIAL. POL. 2009, 13, 234-240)

Wstęp

Wartość przesączania kłębuszkowego nerek (GFR – *glomerular filtration rate*) stanowi podstawą klasyfikacji przewlekłej choroby nerek. Ale metody wyznaczania GFR są wciąż przedmiotem dyskusji [15,27,35]. W codziennej pracy najczęściej stosuje się ocenę klirensu kreatyniny oraz tzw. estimated GFR wyliczanego na podstawie stężenia kreatyniny w surowicy i danych takich jak wzrost, wiek, rasa, płeć, masa ciała, rasa oraz stężenie albuminy i mocznika w surowicy [26,27]. Liczba dostępnych wzorów jest bardzo duża (kilkadziesiąt), co oznacza, że żaden z nich nie jest doskonały. U dzieci szczególnie ważna jest znajomość GFR w sytuacji dawkowania leków silnie nefrotoksycznych, czy też dokładnej oceny przebiegu choroby nerek oraz fizjologicznych zmian w stężeniu kreatyniny [27,35]. Najchętniej używane są wzory opracowane przez Schwartza oraz Counhara-Barrata [7,29].

Cystatyna C jest nowym związkami uważanym za wskaźnik filtracji kłębuszkowej. Jej produkcja utrzymuje się na stałym poziomie, niezależnym od wieku, masy mięśniowej, płci, diety. Cystatyna C w 99% jest filtrowana przez kłębuszki nerkowe, następnie ulega resorpcji i degradacji w komórkach kanalików proksymalnych. Wiele autorów obecnie używa stężenia cystatyny C do wyliczania GFR [16,34], w tym dwa wzory zostały opracowane dla populacji dziecięcej [3,9].

Idealny marker przesączania kłębuszkowego powinien dobrze rozpuszczać się w wodzie, ulegać filtracji, nie być wędzielany przez cewki i nie być usuwany drogą pozanerkową. Takimi substancjami często stosowanymi w ocenie GFR są: kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) znakowany chromem (⁵¹Cr EDTA) lub kwas dietylenotriaminopentaoctowy znakowany technetem (DTPA), ich stężenie oznacza się metodami izotopowymi. Do innych związków należy iohexol. Jest on niejonowym, jodowym środkiem kontrastowym niskosomolarnym (o masie cząsteczkowej 821 Da), którego stężenie można oznaczać metodami chromatograficznymi lub metodą spektrometrii masowej. Iohexol jest uznany za środek bezpieczny i powszechnie wykorzystywany w krajach skandynawskich [5,19,25], zalecany przez NKFDOQI Guidelines [26]. Potwierdzono wysoką zgodność pomiędzy klirensem iohexolu a klirensem inuliny [11,33].

Iohexol jest filtrowany w kłębuszkach, nie ulega sekrecji, resorpcji ani metabolizmowi w nerce, a jego usuwanie drogą pozanerkową jest pomijalne. Na rysunku 1 przedstawiono krzywą obniżania się stężenia iohexolu w osoczu po jednorazowym podaniu dożylnym iohexolu z zaznaczeniem czasu pobierania próbek krwi w naszym badaniu.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie własnych doświadczeń z wprowadzeniem testu z iohexolem oraz porównanie wyników z innymi sposobami wyliczania GFR u dzieci.

Materiał i metody

Badaną grupę stanowiło 93 pacjentów Kliniki Nefrologii Dziecięcej w Krakowie z różnymi schorzeniami nerek, ze stabilną ich funkcją, bez znacznego (>1g/l) białkomoczu. Klinicznie pacjenci byli w stanie ogólnym dobrym, bez obrzęków. Opis badanej grupy przedstawiono w tabeli I. Nie badano dzieci poniżej 2 roku życia. Klirens kreatyniny na podstawie dobowej zbiórki moczu wykonano u 86 pacjentów.

Od wszystkich pacjentów i ich opiekunów otrzymano zgodę na przeprowadzenie testu. Badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej UJ w Krakowie.

Test z iohexolem wykonywano w Oddziale Nefrologii Dziecięcej w warunkach szpitalnych. Iohexol podawano w dawce 5 ml u pacjentów < 40 kg oraz 10 ml u pacjentów > 40 kg przez kaniulę dożylną, następnie przepłukiwano kaniulę 5 ml soli fizjologicznej. Stosowano preparat Omnipaque 300 (647 mg iohexolu / 1 ml, firmy Amersham Health AS). Pacjenci przez 30 min do podania iohexolu pozostawali w obserwacji. U żadnego z dzieci nie obserwowano objawów ubocznych. Pobrania krwi na oznaczenia iohexolu odbywały się przez nakłucie opuszki palca (krew włośniczkowa). Czas pobrania to 2, 3 i 4 godziny od podania iohexolu, u dzieci z szacowanym GFR < 40 ml/min/1,73m² ostatnie pobranie wykonywano po 8 godzinach.

Stężenie kreatyniny w surowicy i w moczu oznaczano metodą enzymatyczną (nie wykorzystującej reakcji Jaffe'go czyli uzyskana wartość nie zawierała tzw. chromogenów - białek, glukozy, ketonów, kwasu askorbinowego, cefalosporyn - wpływających na wynik oznaczenia kreatyniny). Cystatynę C oznaczano metodą nefelometryczną.

Oznaczenie stężenia iohexolu

Po odwirowaniu i zamrożeniu osocza oznaczenie stężenia iohexolu wykonywano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) [31], stosując zestaw chromatograficzny firmy "WALTERS" i program Millennium 32.

Tabela I

Opis badanej grupy dzieci z zaznaczeniem wartości średniej, odchylenia standardowego, wartości minimalnej i maksymalnej.

The analysed group, (- average value, SD- standard deviation, minimal and maximal value).

	Wiek [lata]	Wzrost [cm]	Masa [kg]
M	12,7	149,0	47,4
SD	4,5	22,8	22,7
Min	2,0	83,0	10,5
Maks	20,0	187,0	140,0

Metody obliczeń GFR

Na podstawie danych z piśmiennictwa do obliczenia GFR zastosowano następujące wzory:

1. Wzór Jacobssona [17] wykorzystujący pojedyncze oznaczenie stężenia w osoczu,

$$Cl = \frac{1}{t/V + 0.0016} \times \ln V \times C1$$

Gdzie:

V - objętość dystrybucji znacznika (objętość osocza)

C1 - stężenie markera (iohexolu) po czasie t

V - wyliczone wg wzoru (ml)

$$V_{(dla\ męzczyzn)} = 166 \times W + 2490$$

$$V_{(dla\ kobiet)} = 95 \times W + 6170$$

W = ciężar ciała (kg)

Obliczano kolejno wartość GFR wg pierwszego (GFR I1a) po 2 godzinach od podania, drugiego (GFR I1b) po 3 godzinach od podania oraz trzeciego oznaczenia iohexolu (GFR I1c) w 4 (lub 8) godzin od podania iohexolu.

2. Wzór Bröchner-Mortensen na podstawie trzykrotnych oznaczeń stężenia iohexolu w osoczu w oparciu o pole powierzchni pod krzywą wg poniższego równania [6]

$$Cl_1 = Dawka / AUC$$

AUC - pole pod krzywą stężenia osoczkowego iohexalu w funkcji czasu

Klirens osoczkowy iohexolu $Cl = (0.990778 \times Cl1) - (0.001218 \times Cl2)$.

3. Wg wzoru opracowanego dla dzieci przez Fillera [9] na podstawie stężenia Cystatyny C w surowicy.

$$\log(GFR \text{ (ml/min/1,73m}^2\text{)}) = 1,962 + (1,123 \times \log(1/cysC))$$

4. Klirens kreatyniny wyliczano w sposób klasyczny na podstawie dobowej zbiórki moczu.

5. Szacowaną wartość GFR (e GFR) wyliczano wg wzoru Counahana-Barrata:

$$\text{Wzór wg Counahana-Barrata: } GFR \text{ (ml/min)} = 0,43 \times h \text{ [cm]} / [\text{stężenie kreatyniny w surowicy (}\mu\text{mol/l)}] / 88,4 \text{ [7].}$$

Do wszystkich obliczeń matematycznych oraz statystycznych wykorzystano program Matlab. Zastosowano testy Kolmogorowa-Smirnowa, test t-Studenta, test Wilcozona, współczynniki korelacji, analizę regresji oraz analizę Blanda-Altmana [2].

Wyniki

Wartości średnie GFR uzyskane wg różnych metod przedstawiono w tabeli II. Poniżej wyjaśniono skróty zastosowane na rysunkach i w tabelach:

GFR(F) - GFR wyliczony według metody *Fillera*;

GFR(CB) - GFR wyliczony według wzoru *Counahana-Barrata*;

GFR(I3) - GFR wyliczony na podstawie trzykrotnego oznaczenia lohexolu (według *Bröchnera-Mortensena*);

GFR(I1a) - GFR wyliczony na podstawie jednokrotnego oznaczenia lohexolu (według *Jacobssona*) - pomiar pierwszy po 2 godzinach od podania;

GFR(I1b) - analogicznie GFR wyliczony na podstawie oznaczenia lohexolu po 3 godzinach od podania;

GFR(I1c) - analogicznie GFR wyliczony na podstawie oznaczenia lohexolu po 4 godzinach od podania;

GFR(M) - klirens kreatyniny (na podstawie 24 godzinnej zbiórki moczu).

Jak pokazuje tabela II średnia wartości GFR wg lohexolu trójpunktowego wynosiła $98,6 \pm 37,8$ ml/min/1,73m² z zakresem wartości od 11,5 do 167,4 ml/min/1,73m². Tylko u 15 pacjentów GFR był < 60 ml/min/1,732. Wykorzystując testy T-studenta oraz test par Wilcoxona stwierdzono istotne statystyczną różnicę pomiędzy GFR wg lohexolu trójpunktowego oraz GFR wg *Counahana-Barrata* i wg *Fillera* ($p < 0,00001$). Natomiast nie stwierdzono takich różnic pomiędzy GFR wg lohexolu wielopunktowego a klirens kreatyniny oraz wg jednopunktowego lohexolu (po 2, 3, 4 godzinach).

Do porównywania poszczególnych metod zastosowano współczynnik korelacji (tabela III), metodę regresji (tabela IV), analizę *Blanda-Altmana* (omówiono poniżej) oraz wyliczono błąd bezwzględny (tabela V) pomiędzy poszczególnymi wartościami.

Porównanie metody lohexolu jednopunktowego i wielopunktowego

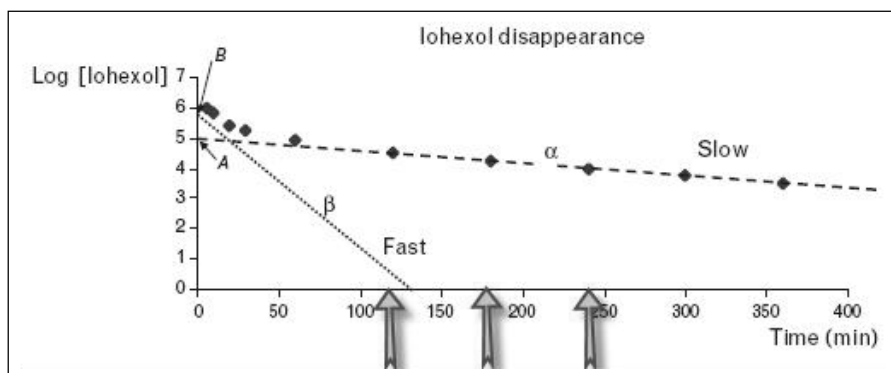
Poniżej przedstawiono wykresy *Blanda-Altmana* porównujące wartości GFR wg metody lohexolu jednopunktowego i wielopunktowego.

Analiza *Blanda-Altmana* służy do porównania sposobów obliczania jednej danej za pomocą różnych metod [2]. Na wykresie linie poziome oznaczają: linia środkowa: wartość średnią, linia dolna: wartość średnia - 2 odchylenie standardowe (SD) oraz linia górna: wartość średnia + 2SD dla rozważanej różnicy pomiędzy wartością wg metody 1 i wg metody 2. Na osi X wlicza się sumę wartości metody 1 i metody 2 (na wykresach dodatkowo te wartości zostały podzielone przez 2).

Rycina 2

Wykres *Blanda-Altmana* dla GFR wg lohexolu trójpunktowego (GFR(I3)) i lohexolu jednopunktowego po 2 godzinach od podania (GFR(I1a)).

The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(I3)) and single lohexol sample in 2 hours after injection (GFR(I1a)).



Rycina 1

Krzywa obniżania się stężenia lohexolu w surowicy po podaniu dożylnym, charakteryzuje się fazą szybką (krzywa β) oraz fazą wolną (krzywa α). Strzałkami oznaczono czas pobierania próbek krwi w naszym badaniu.

Wykres zmodyfikowano na podstawie Work F., Schwarz G. [35] The curve of lohexol disappearance after single intravenous injection: the fast phase (β curve) and the slow phase (α curve). The red arrows indicate the time of blood sampling. The figure was adapted from Work F., Schwarz G. [35]

Tabela II

Wartość średnia (m), odchylenie standardowe (SD), wartość minimalna (Min) oraz wartość maksymalna (Maks) dla N=93, N*=86:

The GFR values: mean value (M); standard deviation (SD), minimal value (Min) and maximal value (Maks); N=93, N*=86:

	GFR(I3)	GFR(F)	GFR(CB)	GFR(I1a)	GFR(I1b)	GFR(I1c)	GFR(M)*
M	98,6	119,6	87,2	98,4	100,0	97,3	94,6
SD	37,8	46,1	32,5	38,3	35,6	34,4	41,0
Min	11,5	21,5	9,7	1,0	17,2	9,1	7,3
maks	167,3	271,6	162,9	177,3	188,1	171,4	212,9

*U 7 pacjentów nie wykonano dobowej zbiórki moczu stąd mniejsza liczebność grupy.

Tabela III

Współczynniki korelacji pomiędzy poszczególnymi metodami wyliczania GFR.

The correlation coefficient between different methods of GFR calculations.

	GFR(I3)	GFR(F)	GFR(CB)	GFR(I1a)	GFR(I1b)	GFR(I1c)	GFR(M)*
GFR(I3.)		0,82	0,83	0,98	0,94	0,94	0,66
GFR(F)			0,82	0,79	0,78	0,78	0,58
GFR(CB)				0,79	0,85	0,85	0,70
GFR(I1a)					0,94	0,93	0,64
GFR(I1b)						0,99	0,67
GFR(I1c)							0,67

Wszędzie p-value < 10⁻⁸, czyli wszystkie korelacje są znamienne statystycznie; *N=86;

Tabela IV

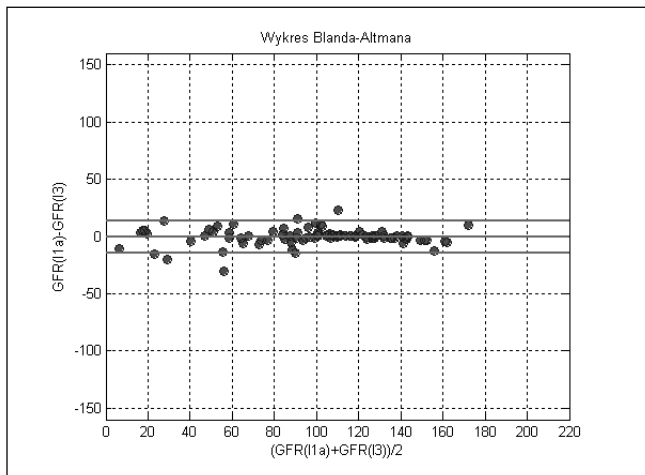
Błąd bezwzględny w odniesieniu do GFR(I3): GFR(x)-GFR(I3).

Wartość średnia (m), odchylenie standardowe (SD), wartość minimalna (min) oraz wartość maksymalna (maks) dla N=93, N*=86: The absolute error : GFR(I3): GFR(x)-GFR(I3). Mean value (M); standard deviation (SD), minimal value (Min) and maximal value (Maks); N=93, N*=86.

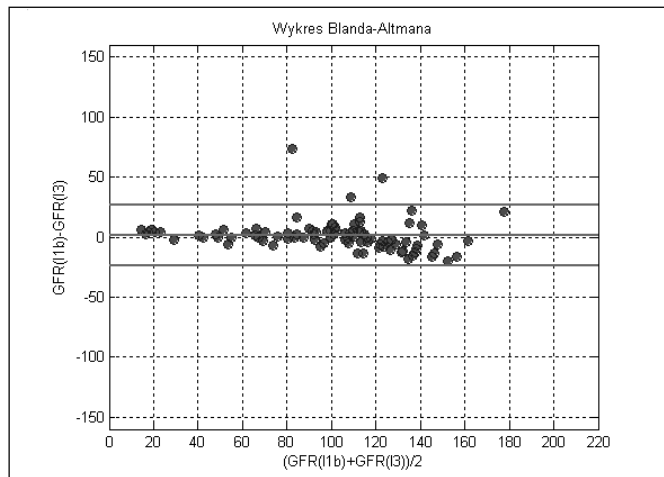
	GFR(F)	GFR(CB)	GFR(I1a)	GFR(I1b)	GFR(I1c)	GFR(M)*
M	20,98	-11,39	-0,22	1,42	-1,27	-3,84
SD	26,41	21,44	7,06	12,74	13,21	32,39
Min	-54,37	-54,16	-30,09	-19,92	-34,77	-81,14
maks	109,45	41,76	22,71	73,33	55,15	88,27

Wszystkie te wykresy (ryciny 2, 3, 4) na których punkty wykazują bardzo mały rozrzut potwierdzają zgodność pomiędzy uzyskanymi wynikami. Podobnie wysokie współczynniki korelacji pomiędzy uzyskanymi wynikami są bardzo wysokie (r dla lohexolu wielokrotnego a jednokrotnego po 2, po 3, po 4 godz. wyniosły: $r = 0,98; 0,94$ i $0,93$, odpowiednio, $p < 0,00001$). Również błąd bezwzględny pomiędzy wartością metody

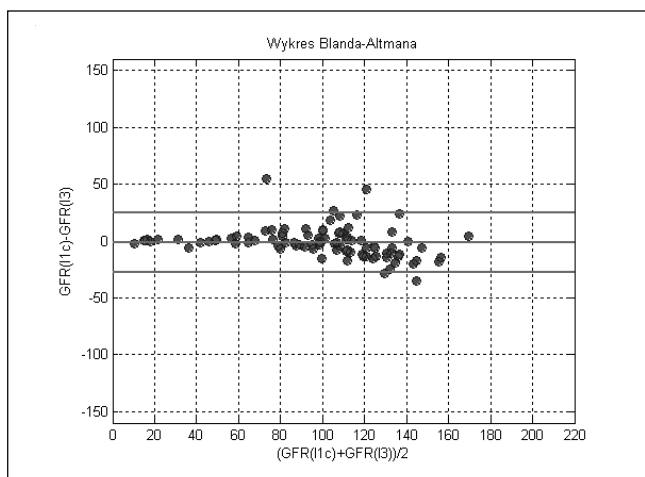
wielokrotnej a metodą jednokrotną (pobranie po 2 godz- 11a) jest niewielki i wynosi $0,2 \pm 7$ ml/min/1,73 m²). Najwyższą zgodność wyników uzyskano pomiędzy wartością GFR wg metody trzykrotnej i GFR wg metody jednokrotnej z pobraniem krwi po 2 godzinach. Podobnie nie znaleziono różnic pomiędzy wartościami GFR wg metody trójpunktowej oraz GRR według metod jednopunktowych w teście *t-Studenta* i *Wilcoxo-*



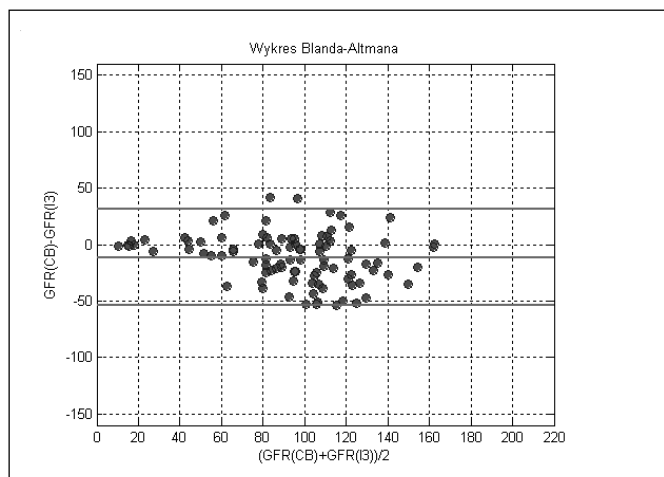
Rycina 2
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg lohexolu trzypunktowego (GFR(3)) i lohexolu jednopunktowego po 2 godzinach od podania (GFR I1a).
The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(3)) and single lohexol sample in 2 hours after injection (GFR I1a).



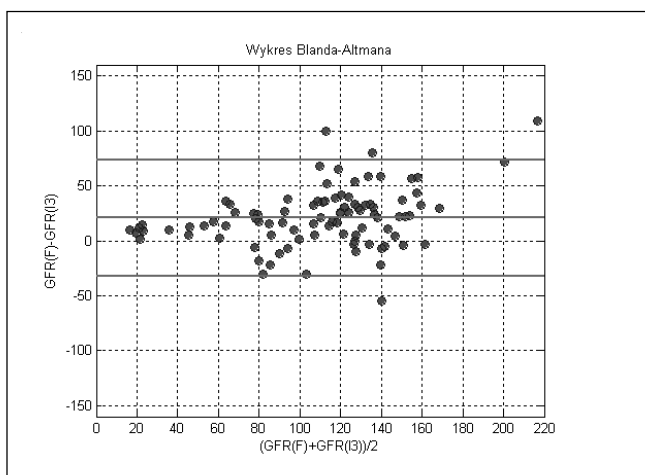
Rycina 3
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg lohexolu 3(trzypunktowego - GFR(3)) i lohexolu jednopunktowego po 3 godzinach od podania (GFR I1b).
The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(3)) and single lohexol sample in 3 hours after injection (GFR I1b).



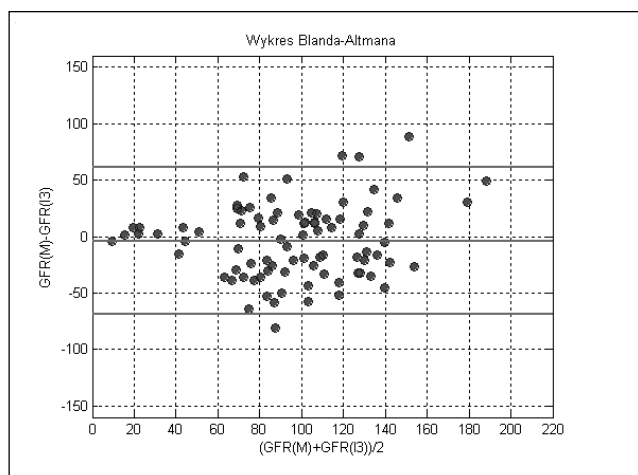
Rycina 4
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg lohexolu 3 (trzypunktowego - GFR(3)) i lohexolu jednopunktowego po 4 godzinach od podania (GFR I1c).
The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(3)) and single lohexol sample in 4 hours after injection (GFR I1c).



Rycina 5
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg lohexolu 3 (trzypunktowego - GFR(3)) i GFR wg Counahana-Barrata (GFR-CB).
The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(3)) and Counhan-Barrat method (GFR-CB).



Rycina 6
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg lohexolu 3 (trzypunktowego - GFR(3)) i GFR wg Fillera (GFR-F).
The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(3)) and Filler method



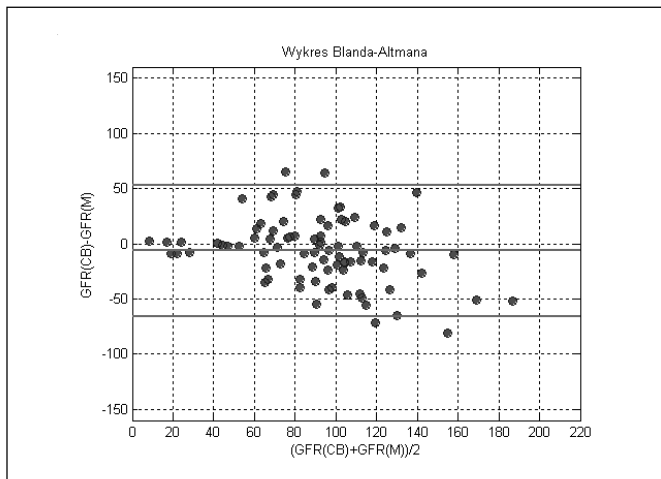
Rycina 7
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg lohexolu 3 (trzypunktowego - GFR(3)) i GFR wg klirensu kreatyniny (GFR-M).
The Bland-Altman figure for three samples lohexol (GFR(3)) and creatinine clearance (GFR-M).

na przy ($p = 0,05$).

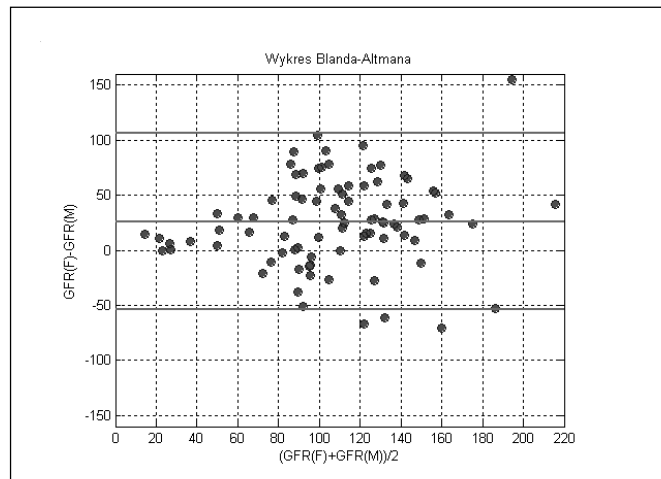
Oczywiście w obydwu metodach podstawą obliczeń było stężenie lohexolu, ale spo-

soby wyliczenia GFR są różne. Oznacza to praktycznie, że jednokrotne pobranie krwi oraz oznaczenie stężenia lohexolu może

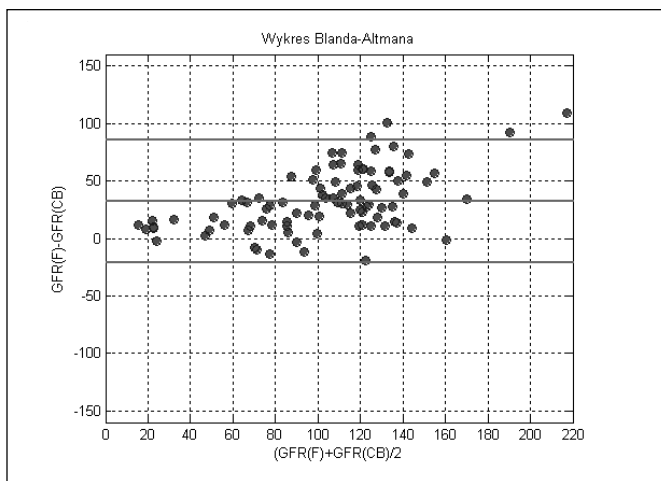
być wystarczające do wyliczenia GFR.



Rycina 8
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg Counhana-Barrata (GFR-CB) i GFR wg klirensu kreatyniny (GFR-M).
The Bland-Altman figure for GFR according to Counhana-Barrat method (GFR-CB) and creatinine clearance (GFR-M).



Rycina 9
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg Fillera (GFR-F) i GFR wg klirensu kreatyniny (GFR-M).
The Bland-Altman figure for GFR according Filler method (GFR-CB) and creatinine clearance (GFR-M).



Rycina 10
Wykres Blanda-Altmana dla GFR wg Fillera (GFR-F) i GFR wg Counhana-Barrata (GFR-CB).
The Bland-Altman figure for GFR according to Filler method (GFR-CB) and Counhana-Barrata method (GFR-CB).

Porównanie metody lohexolu wielokrotnego z innymi metodami

W analizowanej pracy metodę obliczania GFR wg lohexolu wielokrotnych oznaczeń przyjęto jako referencyjną. Poniżej przedstawiono wykresy *Blanda-Altmana* pokazujące różnice pomiędzy wartością GFR w metodzie lohexol trypunktowy (GFR-I3) a metodą *Counhana-Barrata* (C-B), metodą *Fillera* (F) i klirensem kreatyniny (M).

Przedstawione wykresy wraz z analizą współczynników korelacji pozwalają stwierdzić, że największe różnice w wartości GFR dotyczą metody lohexol trypunktowy vs klirens kreatyniny (współczynnik korelacji $r=0,66$, $p<0,00001$). Widoczny jest także rozrzut punktów na wykresie *Blanda-Altmana* (rycina 7). Wartość błędu bezwzględnego wobec lohexolu trypunktowego jest jednakże mniejsza niż w metodzie *Counhana-Barrata*: (-3,8 vs (-11,4) ml/min/1,73 m²). Najpowszechniejsza metoda szacowania GFR wg *Counhana-Barrata* wydaje się mieć najlepszą zgodność z lohexolem trypunktowym – najwyższy współczynnik korelacji ($r=0,83$, $p<0,00001$), co potwierdza wykres *Blanda-Altmana* (rycina 5) z mniejszym rozrzutem punktów. Metoda wg *Fillera* ma także podobnie wysoki współczynnik korelacji ($r=0,82$, $p<0,00001$), ale przesza-

cowywania wartości GFR w tej metodzie jest bardzo wyraźne. Co obrazuje także rycina 6 (wysoka średnia różnica GFR wg I3- GFR (F) ma wartość znacznie większą od 0). Istnieje także dyskretna tendencja do zwiększania się tej różnicy przy wyższych wartościach GFR. Podobnie średnia wartość błędu bezwzględnego jest dodatnia ($20,98 \pm 26,41$ ml/min/1,73m²) i znacznie wyższa niż wartość tego błędu przy metodzie *Counhana-Barrata* i klirensie kreatyniny. Testu t-Studenta i par Wilcozona potwierdził istotne statystycznie różnice pomiędzy wartościami GFR według metody trypunktowej (I3) oraz metoda *Counhana-Barrata* i *Fillera* ($p<0,000001$), natomiast nie znaleziono tych różnic dla GFR wg lohexolu trypunktowego i wg klirensu kreatyniny.

Porównanie metody Fillera, Counhana-Barrata i klirensu kreatyniny

Na poniższych wykresach przedstawiono analizę *Blanda-Altmana* pomiędzy w/w metodami.

Powyższe wykresy pokazują że wartość GFR wg metody *Fillera* jest znacznie większa od wartości wyliczonych według wzoru *Counhana-Barrata* i według klirensu kreatyniny. Jest to zilustrowane rozrzutem punk-

tów na wykresach *Blanda-Altmana* oraz różnicą wyników wynoszącą w obydwu wykresach powyżej zera (średnia linia pozioma na rysunkach 9 i 10 jest powyżej wartości 0). Współczynnik korelacji jest najniższy pomiędzy klirensem kreatyniny a GFR wg *Fillera* ($r=0,58$; $p<0,00001$). Najlepiej koreluje klirens kreatyniny z GFR wg *Counhana-Barrata* ($r=0,7$; $p<0,00001$) czyli wskazuje to na zgodność najczęściej stosowanych w praktyce metod. Porównanie metody *Fillera* i *Counhana-Barrata* nie wykazuje dużej zgodności, pomimo wysokiej korelacji ($r=0,82$; $p<0,00001$), co widać w wykresie *Blanda-Altmana*. Podobnie w teście testu t-Studenta i par *Wilcozona* wykazano istotne statystycznie różnice pomiędzy tymi metodami ($p<0,0000001$).

Dyskusja

W niniejszej pracy porównaliśmy sposoby wyliczania GFR u dzieci z testem z lohexolem, wprowadzonym w naszym ośrodku. Przy braku dostępności metod izotopowych uznaliśmy rozpowszechnienie testu za przydatne w dokładniejszej ocenie GFR. Zastosowanie lohexolu jest bardzo dobrze udokumentowane w różnych populacjach pacjentów, także u dzieci [5,8,10,11,13,22]. Ostatnio Schwartz i wsp. przed-

stawili użycie Iohexolu w populacji pediatrycznej z przewlekłą chorobą nerek [28]. Metoda ta uważana jest przez wielu za metodę referencyjną i równie dokładną jak metody izotopowe oraz klirens inuliny [21]. Wiele obserwacji pochodzi ze Skandynawii gdzie uzyskano bardzo duże doświadczenie w tej metodzie przez 15 lat jej stosowania [5, 18, 19, 21, 25, 32].

Nasze doświadczenia po wykonaniu ponad 100 testów z Iohexolem potwierdzają, że metoda ta jest bezpieczna, relatywnie prosta, aczkolwiek wymaga założenia kaniuli dożylną (co przy pobieraniu badań lub podawaniu leków tą drogą nie jest dodatkowym obciążeniem) i jest czasochłonna, z powodu wykonania kilku pobrań. Z uwagi na zawartość jodu w preparacie – test jest raczej przeciwwskazany u osób z podejrzeniem alergii na jod oraz przy zaburzeniach funkcji tarczycy, choć wg niektórych autorów ryzyko to jest minimalne [25]. Pewnym nowatorskim rozwiązaniem w wykonywaniu testu wprowadzonym przez nas jest pobieranie krwi do oznaczeń Iohexolu przez nakłucie opuszki palca. Jest to mniejszym stresem bólowym dla dziecka i eliminuje błąd związany z potencjalnym osadzeniem się Iohexolu na ściankach kaniuli, przez który środek jest podawany. Najczęściej opisywane są pobrania z nakłucia żyły, ale w innej kończynie niż ta przez którą podawano preparat (czyli wymagającą do dwukrotnego nakłuwania żyły). Nicolescu i Mafham wykorzystali pobieranie krwi włośniczkowej na biułę do oznaczeń Iohexolu [23, 24] i polecają tę metodę, podobnie jak Krutzen [18]. Niekwestionowaną wadą testu z Iohexolem jest koszt odczynnika i wymagania laboratoryjne do oznaczania jego stężenia (metoda chromatograficzna jest specjalistyczna i czasochłonna).

W pracy porównano obliczenia GFR uzyskane różnymi metodami: z użyciem Iohexolu na podstawie trzykrotnych pobrań krwi i jednokrotnych pobrań – po 2, 3, 4 godzinach od podania, metodą klirensu kreatyniny i metodą *Fillera* (na podstawie stężenia Cystatyny C) oraz *Counahana-Barrata*.

Uzyskane wyniki potwierdzają bardzo dużą zgodność pomiędzy GFR po wielokrotnych i po jednokrotnych oznaczeniach Iohexolu, zwłaszcza z GFR wg jednokrotnego oznaczenia Iohexolu w 2 godziny po podaniu. Stwarza to szanse na skrócenie czasu wykonywania testu i zmniejszeniu ilości pobrań krwi. Inni badacze potwierdzają taką zgodność, aczkolwiek większość zaleca pobranie krwi w dopiero w 4 godziny od chwili podania środka [12, 15]. Niektórzy podkreślają, że dokładność testu rośnie wraz ze zwiększającą się liczbą oznaczeń Iohexolu [1], co wydaje się być rzeczą oczywistą. Pytaniem jest czy wystarczy tylko jedno pobranie przy zachowanej dokładności wyliczeń GFR [1, 12]. Aby ostatecznie potwierdzić taką odpowiedź badania są nadal prowadzone przez nas. U osób z niższymi wartościami GFR czas oznaczenia Iohexolu powinien być wydłużony do minimum (8) godzin od podania [25], co stosowaliśmy u naszych pacjentów z GFR < 40 ml/min/1,73 m².

Wg naszych wyników metoda *Fillera* wykazuje tendencję do zawyżania wartości GFR. Te różnice są istotne statystycznie nie tylko wobec GFR wyznaczonego przy użyciu Iohexolu, ale także wobec metody *Counahana-Barrata* oraz klirensu kreatyniny. Nie wszyscy badacze potwierdzają taką zależność. Wg *Mafham* i wsp. metoda MDRD, *Cockrofta-Gaulta* i wg Cystatyny C zaniżają wartość GFR w populacji pacjentów dorosłych z GFR > 60 ml/min/1,73 m² w porównaniu do Iohexolu [23], natomiast u osób z niższymi wartościami GFR autorzy uzyskali lepszą zgodność wyliczeń. Potwierdza to prawidłowość, że obliczenie GFR jest dokładniejsze w zakresie chorych z niewydolnością nerek i zmniejszonym GFR gdyż w zakresie wysokich wartości GFR (u osób zdrowych) obserwuje się większe zmienności [15]. Wstępna analiza z naszych danych, nieopublikowanych też wydaje się wskazywać na taką zależność.

Bird i wsp. niezwykle dokładnie zbadali wartość GFR u zdrowych dorosłych osób, stwierdzając dużą zgodność metody Iohexolu wielokrotnych oznaczeń i klirensu inuliny, oraz zawyżone GFR wg klirensu kreatyniny i zaniżone wartości wg wzorów antropometrycznych [1]. Jednakże zarówno populacja badane i wykorzystane wzory pozostają odmienne niż w naszej pracy. Z kolei *Hjorth* i wsp. uważają, że tylko metody z wykorzystaniem znacznika egzogenego (jak Iohexol) są dokładne u dzieci. Uzyskali oni znacznie gorsze korelacje z metodami *Counahana-Barrata* i *Schwartz* oraz z wartością 1/cystatyna C niż w naszej pracy [37]. Podobne wątpliwości co do metod oceny GFR wyraża *Gretz* [15].

Najczęściej stosowane obliczanie eGFR wg *Counahana-Barrata* wykazuje dobrą zgodność z wynikami trójpunktowego Iohexolu, co potwierdza także wykres *Blanda-Altmana*, ale porównanie wyników GFR testami *t-Studenta* i *Wilcoxona* pokazuje istotną statystycznie różnicę. Potwierdza to fakt, że istnieją różnice w zależności tego jaki test statystyczny używamy do porównania dwóch metod. Co jest także widoczne przy zestawieniu wyników klirensu kreatyniny z metodą trójpunktowego Iohexolu. Wynik GFR wg klirensu kreatyniny wskazuje słabsze korelacje z GFR wg Iohexolu i duży rozrzut na wykresie *Blanda-Altmana*. Z kolei test *t-Studenta* i *Wilcoxona* nie znajduje statystycznych różnic pomiędzy tymi metodami. Warto na koniec podkreślić, że pomiędzy metodą *Counahana-Barrata* i *Fillera* stwierdzono istotne statystycznie różnice.

Należy więc pamiętać o ograniczeniach metod i wypracować złoty standard oceny GFR. Ostatnio *Schwartz* i wsp. oraz przedstawili nowy wzór do wyliczania GFR, w którym bierze się pod uwagę zarówno stężenie cystatyny C, jak i stężenie mocznika i kreatyniny oraz dane antropometryczne [30]. W podobny sposób skonstruowali wzory *Bouvet* [4] i oraz niezależnie *Zappitelli* [36]. Wydaje się to być kompromisem pomiędzy używaniem pojedynczego markera jakim jest kreatynina czy cystatyna C przy określaniu GFR. Ale z uwagi na złożoność wzoru traci on swoją funkcję jako test do szybkiego obliczenia w sytuacji klinicznej. *Schwartz* podał także nowy współczynnik do swojego 'starego' wzoru wynikający ze

zmian w metodzie oznaczania kreatyniny w surowicy (współczynnik ten nota bene wynosi 0,41 czyli jest zbliżony do współczynnika *Counahana-Barrata*) [30]. Inni badacze np. *Leger* na podstawie analiz farmakokinetycznych opracowują swoje wzory [20].

W podsumowaniu wyników uważamy, że:

1. Metoda wyliczania GFR w teście z Iohexolem jest bezpieczna, może być przydatna i polecana w ocenie funkcji nerek.

2. Metody z użyciem jednokrotnego oznaczenia Iohexolu po 2 godzinach od podania wykazuje zgodność z metodą wielokrotną i może być wystarczająca do oceny GFR.

3. Wzór *Fillera* wykazuje tendencję do wyliczania wyższych wartości GFR w stosunku do innych metod.

4. Istnieją znaczne różnice w wynikach GFR otrzymanych w metodzie klirensu kreatyniny w odniesieniu do metody *Fillera* i *Counahana-Barrata*.

Piśmiennictwo

1. *Bird N., Peters C., Michell R. et al.*: Comparison between slope-intercept and slope-only techniques for measuring glomerular filtration rate: Use of two independent markers and an independent arbiter. *Nucl. Med. Commun.* 2007, 28, 711.
2. *Bland J., Altman D.*: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986, i, 307.
3. *Bökenkamp A., Domanetzi M., Zinck R. et al.*: Cystatin C - a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 1998, 101, 875.
4. *Bouvet Y., Bouissou F., Coulais Y. et al.*: GFR is better estimated by considering both serum cystatin C and creatinine levels. *Pediatr. Nephrol.* 2006, 21, 1299.
5. *Brandström E., Grzegorzczak A., Jacobsson L. et al.*: GFR measurement with Iohexol and 51Cr-EDTA. A comparison of the two favoured GFR markers in Europe. *Nehrol. Dial. Transplant.* 1998, 13, 1176.
6. *Brochner-Mortensen J.*: A simple method for the determination of glomerular filtration rate. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1972, 30, 271.
7. *Counahan R., Chantler C., Ghazali S. et al.*: Estimation of glomerular filtration rate from plasma creatinine concentration in children. *Arch. Intern. Med.* 1976, 51, 875.
8. *Erley C., Bader B., Berger E. et al.*: Plasma clearance of iodine contrast media as a measure of glomerular filtration rate in critically ill patients. *Crit. Care Med.* 2001, 29, 1544.
9. *Filler G., Lepage N.*: Should be the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr. Nephrol.* 2003, 18, 981.
10. *Frennby B., Sterner G., Almen T. et al.*: The use of Iohexol clearance to determine GFR in patients with severe chronic renal failure - a comparison between different clearance techniques. *Clin. Nephrol.* 1995, 43, 35.
11. *Gaspari F., Perico N., Ruggenti P. et al.*: Plasma clearance of nonradioactive Iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1995, 6, 257.
12. *Gaspari F., Guerini E., Perico N. et al.*: Glomerular filtration rate determined from a single plasma sample after intravenous Iohexol injection: is it reliable? *Am. J. Soc. Nephrol.* 1996, 7, 2689.
13. *Gaspari F., Perico N., Ruggenti P. et al.*: Plasma clearance of nonradioactive Iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1995, 6, 257.
14. *Gref M., Karp K.*: GFR determination in adults with a single-sample Iohexol plasma clearance method based on the mean sojourn time. *Nephrol. Dial.*

Transpl. 2007, 22, 3166.

15. **Gretz N., Schock D., Sadick M. et al.**: Bias and precision of estimated glomerular filtration rate in children. *Pediatr. Nephrol.* 2007, 22, 167.
16. **Grubb A., Nyman U., Bjork J. et al.**: Simple Cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barrat prediction equations in children. *Clinic. Chem.* 2005, 51, 1420.
17. **Jacobsson L.**: A method for the calculation of renal clearance based on single plasma sample. *Clin. Physiol.* 1983, 3, 297.
18. **Krutzen E., Bäck S., Nilsson-Ehle P.**: Determination of glomerular filtration rate using iothexol clearance and capillary sampling. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1990, 50, 279.
19. **Krutzen E., Back S., Nilsson-Ehle P. et al.**: Plasma clearance of a new contrast agent, iothexol. A method for the assessment of glomerular filtration rate. *J. Lab. Clin. Med.* 1984, 104, 955.
20. **Léger F., Bouissou F., Coulais Y. et al.**: Estimation of glomerular filtration rate in children. *Pediatr. Nephrol.* 2002, 17, 903.
21. **Lindblad H., Berg U.**: Comparative evaluation of iothexol and inulin clearance for glomerular filtration rate determinations. *Acta Paediatr.* 1994, 83, 418.
22. **Mak H.**: Can plasma iothexol disappearance be used to measure GFR in children with chronic kidney disease? *Nature Clinical Practice. Nephrology* 2006, 2, 608.
23. **Mafham M., Niculescu-Duvaz I., Jeffrey Barron J. et al.**: A practical method of measuring glomerular filtration rate by iothexol clearance using dried capillary blood spots. *Nephron Clin. Prac.* 2007, 106, 104.
24. **Niculescu-Duvaz I., D'mello L., Maan Z. et al.**: Development of an outpatient finger-prick glomerular filtration rate procedure suitable for epidemiological studies. *Kidney Int.* 2006, 69, 1272.
25. **Nilsson-Ehle P.**: Iothexol clearance for the determination of glomerular filtration rate: 15 years' experience in clinical practice. *eJIFCC* 2002; 13:<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13>.
26. **NKF DOQI Guidelines**: Estimation of GFR. *Am. J. Kidney Dis.* 2002, 39, 76.
27. **Schwartz G., Furth S.**: Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr. Nephrol.* 2007, 22, 1839.
28. **Schwartz G.J., Furth S., Cole S. et al.**: Glomerular filtration rate via plasma iothexol disappearance: Pilot study for chronic kidney disease in children. *Kidney Int.* 2006, 69, 2070.
29. **Schwartz G., Haycock G., Edelmann C. et al.**: A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976, 58, 259.
30. **Schwartz G., Munoz A., Schneider M. et al.**: New equations to estimate GFR in children with CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 20, 629.
31. **Soman R., Zahir H., Akhlaghi F.**: Development and validation of an HPLC-UV method for determination of iothexol in human plasma. *J. Chromatogr. B* 2005, 816, 339.
32. **Stake G., Monn E., Rootwelt K. et al.**: The clearance of iothexol as a measure of the glomerular filtration rate in children with chronic renal failure. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1991, 51, 729.
33. **Sterner G., Frennby B., Mansson S. et al.**: Determining 'true' glomerular filtration rate in healthy adults using infusion of inulin and comparing it with values obtained using other clearance techniques or prediction equations. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 2008, 42, 278.
34. **Zahran A., El-Husseini A., Shoker A.**: Can cystatin C replace creatinine to estimate glomerular filtration rate? A literature review. *Am. J. Nephrol.* 2007, 27, 197.
35. **Work D. F., Schwartz G.J.**: Estimating and measuring glomerular filtration rate in children. *Cur. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2008, 17, 320.
36. **Zappitelli M., Parvex P., Joseph L. et al.**: Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. *Am. J. Kidney Dis.* 2006, 48, 221.
37. **Hjorth L., Wiebe T., Karpman D.**: Correct evaluation of renal glomerular filtration rate requires clearance assays. *Pediatr. Nephrol.* 2002, 17, 847.