

Utilizzo della clearance plasmatica dello ioexolo per la determinazione della velocità di filtrazione glomerulare (GFR).

Simone Premaschi, Monica Manca, Massimo Locatelli

Servizio di Medicina di Laboratorio, IRCCS Ospedale San Raffaele.



Introduzione: Il rene svolge numerose funzioni escretrici e regolatrici necessarie al mantenimento della vita. In condizioni normali, il rene, non solo contribuisce alla conservazione dell'ambiente extracellulare, attraverso l'escrezione dei prodotti di scarto del metabolismo e l'aggiustamento dell'escrezione di acqua ed elettroliti nell'urina ma, è anche coinvolto, in maniera complessa, nella regolazione della pressione sanguigna, nella produzione degli eritrociti e nel metabolismo minerale osseo. Tenendo presente tutto questo, non è certo sorprendente che molteplici e diversi biomarcatori vengano impiegati nella pratica clinica per monitorare lo stato fisiologico del rene. Molti marcatori, attualmente utilizzati, vengono impiegati da decenni e, recentemente, si è riscontrata una notevole spinta verso la ricerca di nuovi marcatori che, auspicabilmente, miglioreranno la capacità di valutare la funzionalità e il danno renale. La velocità di filtrazione glomerulare stimata (GFR), che è la variabile più importante nella valutazione dei pazienti con malattia renale sospetta o accertata, può essere misurata in differenti modi basati sulla capacità del rene di eliminare, sia sostanze endogene (es. Clcreatinina / Clcistatina C) che sostanze esogene somministrate al paziente (es. Cr-EDTA, inulina, ioexolo), oppure, attraverso equazioni che stimano la GFR (eGFR CKD-EPI) sulla base del sesso, dell'età e della razza del paziente. L'utilizzo di equazioni o della clearance della creatinina e cistatina C non sono, però, spesso in grado di fornire misure accurate della GFR, in quanto, sottostimano o sovrastimano la GFR a seconda che vengano applicate in pazienti sani o malati. Per questo motivo, è utile disporre di un metodo accurato e praticabile in una routine clinica per la misura della GFR.

Stages of chronic kidney disease (updated)

Stagea	GFR (ml/min/1.73 m2)	Description
1	90 or more	Normal or increased GFR, with other evidence of kidney damage
2	60–89	Slight decrease in GFR, with other evidence of kidney damage
3A	45–59	Moderate decrease in GFR, with or without other evidence of kidney damage
3B	30–44	
4	15–29	Severe decrease in GFR, with or without other evidence of kidney damage
5	< 15	Established renal failure

^a Use the suffix (p) to denote the presence of proteinuria when staging CKD

Obiettivo: validare un metodo per la determinazione dello ioexolo plasmatico da utilizzare per la misura della VFG (mGFR) in pazienti selezionati.

FIG.1 Classificazione CKD. https://www.infomedics.it/it_it/therapeutic-areas/anemia-renale/stadiazione.html

Materiali e metodi: lo ioexolo è stato determinato con metodica HPLC UV detector (Shimadzu). Colonna (GENESIS C18 4 μ). Fase mobile: acqua con 5% di acetonitrile a pH 3.04. Per lo standard interno si è utilizzato ISO-VMA ricostituito in ac.perclorico ad una concentrazione finale di 100 mg/L. 6 soluzioni standard sono ottenute con diluizioni scalari di Omnipaque 300TM. Previa acquisizione del consenso, ai pazienti sono stati somministrati e.v. 5 ml di ioexolo e sono stati eseguiti 8 prelievi seriali ad intervalli di 1 ora fino a 480 min dalla somministrazione del farmaco. La misura della GFR è stata ottenuta attraverso il calcolo dell'AUC corretta secondo le indicazioni proposte da Brochner-Mortensen. La GFR è stata poi corretta sulla base della superficie corporea dei pazienti. Sono stati indagati 26 pazienti (22 M/4F) età compresa tra 30 e 87 anni (media 67) con compromissione della funzionalità renale (S-Crea media 1.67 mg/dl).

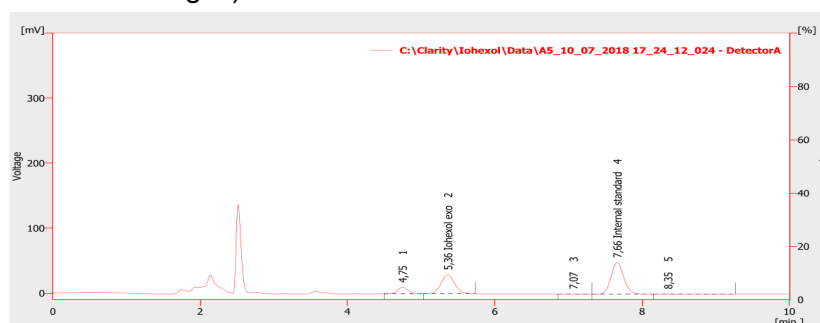


FIG.2 Cromatogramma relativo alla separazione dello ioexolo, a 4,75 min. l'isomero endo, a 5.36 l'isomero eso e a 7.66 lo standard interno.

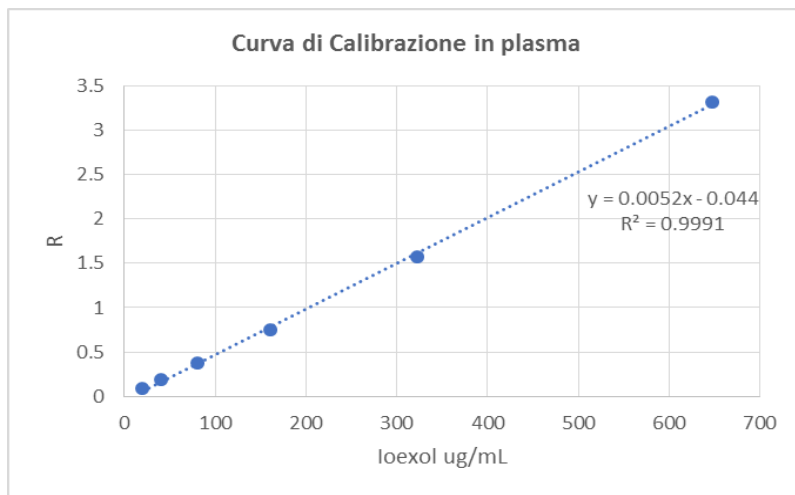
Risultati: il metodo analitico ha dimostrato, a 3 differenti concentrazioni 35, 93 e 132 µg/ml, una precisione (CV) nella serie di 1.5, 0.7 e 0.2 e interserie di 2.7, 0.5 e 0.51%;

Sensibilità: 16.1 µg/mL (area del punto inferiore della curva di taratura 128 mAU); il bianco dopo iniezione del calibratore 16.1 e 161 presentava un'area di 13 mAU. (LOQ 13 mAU*5= 65 mAU)

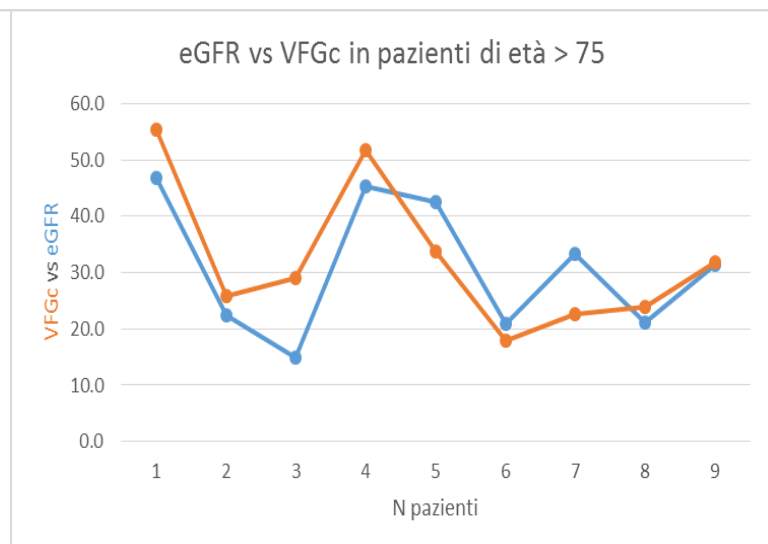
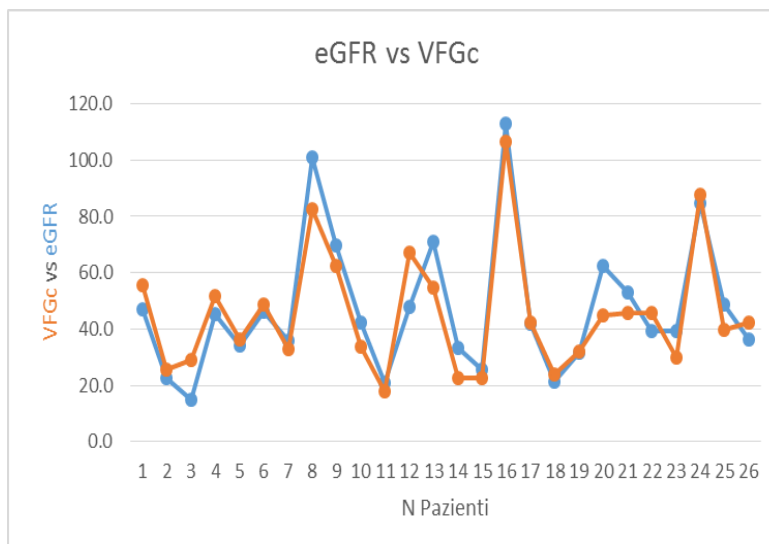
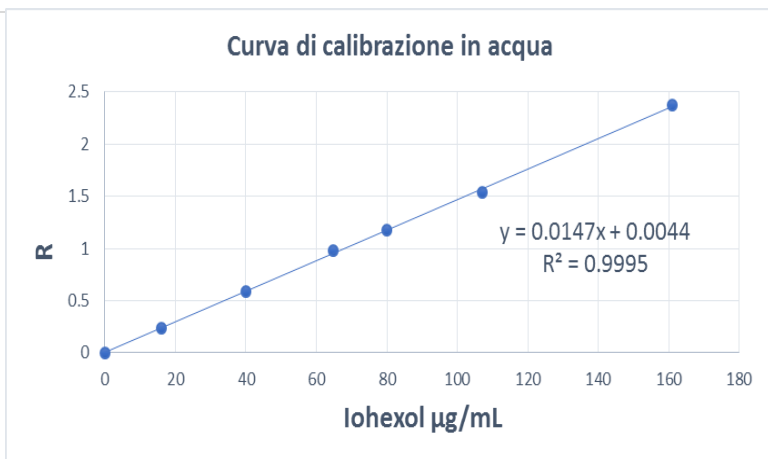
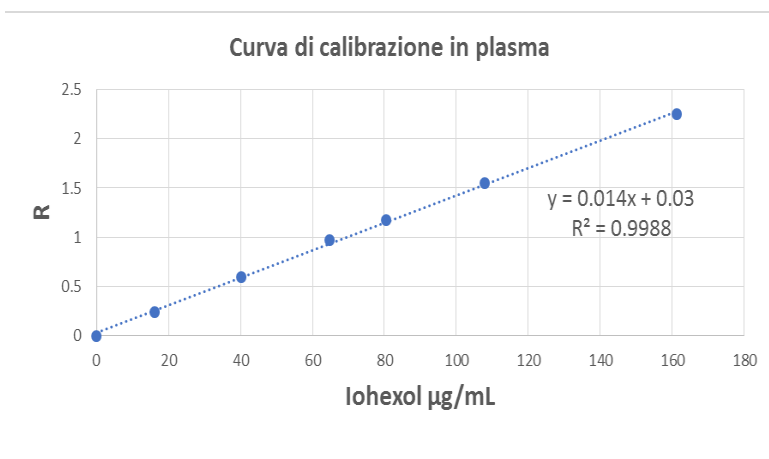
Recupero: da 96.% al 101.1%

Linearità: fino a 647 µg/ml.

Stabilità: 1 mese a -20°C.



Il **carry-over**, valutato dopo 10 iniezioni del calibratore 161 µg/ml, risulta assente. L'**effetto matrice** risulta del 13% per l'analita e del 11.1% per lo standard interno, inoltre, la curva di calibrazione preparata su plasma è sovrapponibile a quella preparata in acqua.



L'utilizzo della clearance plasmatica dello ioexolo ha permesso di calcolare la VFG in pazienti con difficoltà o impossibilità ad effettuare raccolte temporizzate (es. pazienti portatori di cateteri), in pazienti per i quali l'utilizzo di formule matematiche non risultava applicabile a causa dell'età (>75 anni) e in pazienti con particolari patologie (cirrosi epatica, diabete e IRC).

Nei soggetti con compromissione della funzionalità renale (stadio 3a-5) la GFR calcolata (mGFR), attraverso la clearance plasmatica dello ioexolo, mostra alcune importanti differenze rispetto al dato ottenuto con la valutazione della eGFR. In particolare, in 13 soggetti (stadio 3a e 3b), abbiamo osservato come al degrado della funzionalità la eGFR è risultata più elevata rispetto alla mGFR, tendendo a fornire un grado di compromissione minore della funzione renale. Mentre, in un soggetto con elevata massa muscolare, la eGFR è risultata, invece, inferiore alla mGFR.

In 6 soggetti, con normale o lieve riduzione della funzionalità renale (stadio 1-2), la eGFR è risultata sempre superiore alla mGFR, pur in presenza di situazioni cliniche tali da generare un deficit della funzionalità renale (es. nefrectomia).

In 5 soggetti, con funzionalità renale significativamente deteriorata (stadio 4-5), la eGFR è risultata correlata con la mGFR.

Conclusioni: nonostante la nostra limitata esperienza, la misura della GFR, attraverso la clearance plasmatica dello ioexolo, risulta sicura (in nessun caso abbiamo evidenziato effetti collaterali) e applicabile in ambito ambulatoriale.

Il metodo analitico risulta robusto e trasformabile in un kit commerciale, utilizzabile per implementare una nuova diagnostica di laboratorio. Pronto all'uso.

La mGFR, misurata attraverso la clearance plasmatica dello ioexolo, permette di valutare la funzionalità renale nei casi in cui non è possibile eseguire una raccolta temporizzata delle urine.

Rispetto alla eGFR, la mGFR è risultata meglio correlata alle condizioni cliniche dei pazienti.

Lavoro realizzato con il contributo della Regione Lombardia nell'ambito del programma POR FESR 2014-2020 ed in collaborazione con B.S.N. srl

