



ROYAUME DU MAROC  
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE  
FES



# LA MESURE DU DÉBIT DE FILTRATION GLOMÉRULAIRE PAR L'IOHEXOL

MEMOIRE PRESENTE PAR :  
Docteur FATIMATA DIALLO  
Née le 01 Janvier 1978 à Ouagadougou

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE  
OPTION : NÉPHROLOGIE

Sous la direction de :  
Professeur TARIK SQALLI HOUSSAINI

Session Mai 2017

# SOMMAIRE

ABREVIATIONS :	4
I-INTRODUCTION	5
II- RAPPELS	7
1-PHYSIOLOGIE RENALE	7
1.1. Rappels anatomiques	7
1.2. . Rappels physiologiques [5]	8
2-MALADIE RÉNALE CHRONIQUE	11
2.1 Définition de l'IRC	11
2.2 Classification de l'IRC.	11
2.3.L'ANAES (2002) définit l'IRC par une diminution permanente du DFG [5]	11
3-EVALUATION DE LA FONCTION RÉNALE : MESURE DU DFG	15
3.1 Rappels théoriques	15
3.2 Mesure par marqueur endogène : la créatinine	16
3.3 Mesure par marqueur exogène	22
III- MATERIEL ET METHODE	23
1-Design de l'étude et critères de sélection des articles	23
2-Méthodes d'évaluation de la fonction rénale	23
2.1 Estimation du Débit de Filtration Glomérulaire	23
2.2 Mesure directe du Débit de Filtration Glomérulaire mémoire AAA	24
2.3 Les différentes méthodes de mesure du DFG par iohexol	27
IV -DISCUSSION	35
A-Comparaison des méthodes de mesures	35
1-Comparaison de la mesure du DFG par iohexol a celle par de l inuline	35
2- Etudes comparant l'iohexol à d'autres marqueurs	39
3-Mesure urinaire ou plasmatique du DFG ?	41
4- Un choix pragmatique	43
5-Le besoin d'une méthode standardisée	45
B- Aspects pratiques de l' utilisation de l iohexol	47
1-Rôle de l' iohexol en pratique Clinique	47

## La Mesure du Débit de Filtration Glomérulaire par l'iohexol

---

2-Role de la mesure du DFG par iohexol en épidémiologie Clinique.....	48
3-Role de la mesure du DFG par iohexol en recherche Clinique .....	51
V-CONCLUSIONS.....	53
BIBLIOGRAPHIE.....	54

## ABREVIATIONS :

51Cr-EDTA	: Éthylène Diamine Tétracétique marqué au chrome 51
AFSSaPS	: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
AMM	: Autorisation de mise sur le marché.
ANAES	: Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé.
BM	: Brochner-Mortensen correction
CI	: Intervalle de confiance
CKD-EPI	: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration.
DFG	: Débit de glomérulaire.
DFGe	: Débit de filtration glomérulaire estimé
DFGm	: Débit de filtration glomérulaire mesuré.
GFR	: Glomerular filtration rate
HPLC-UV	: Phase liquide à haute performance/ high pressure liquid chromatography with Ultraviolet detection
IDMS	: spectrométrie de masse avec dilution isotopique
IRC	: Insuffisance rénale chronique
LC-MS / MS	: Chromatographie liquide par spectrométrie de masse
MDRD	: Modification of Diet in Renal Disease
NFK/ KDOQI	: National Kidney Disease/ Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
NKEPD	: National Kidney Disease Education Program
XRF	: Fluorescence par rayons X

## I-INTRODUCTION

Si l'on exclut sa fonction hormonale, le rôle principal du rein est de maintenir l'homéostasie du milieu intérieur. Cependant, comme il n'existe pas de paramètres simples qui permettent de quantifier cette fonction, la fonction rénale est évaluée à partir de la fonction des néphrons, unités fonctionnelles associant filtration glomérulaire et sécrétion-réabsorption tubulaire. Les fonctions glomérulaire et tubulaire étant fortement interdépendantes, notamment en raison de la balance glomérulo-tubulaire et la filtration glomérulaire étant plus aisée à mesurer que la fonction tubulaire, c'est finalement le débit de filtration glomérulaire (DFG) qui a été retenu pour la mesure de la fonction rénale [1,2].

La mesure directe de la clairance de la créatinine ne permet pas d'apprécier valablement le débit de filtration glomérulaire (DFG). En effet, la sécrétion tubulaire de la créatinine, dont la part augmente avec la diminution de la fonction rénale, s'ajoute à la filtration glomérulaire et conduit à surestimer la valeur du DFG, surtout en cas d'insuffisance rénale [3]. D'un point de vue pratique, il est, de plus, difficile d'obtenir un recueil fiable des urines de 24 heures, ce qui entache d'erreurs cette mesure.

Le DFG est un marqueur quantitatif de la fonction rénale car il est directement corrélé à la quantité de néphrons fonctionnels. Sa mesure à partir de la clairance d'un traceur exogène est réservée à des situations nécessitant une valeur très précise du DFG ou en cas de mauvaises performances des formules d'estimation.

Aussi, une évaluation fiable du débit de filtration glomérulaire est d'une importance capitale dans la pratique clinique. Il est possible soit de « mesurer » la fonction de filtration glomérulaire à l'aide de traceurs exogènes, soit « d'estimer » cette fonction à l'aide de traceurs endogènes.

La mesure du DFG est basée sur la méthode des clairances rénales (urinaire et/ou plasmatique) de substances exogènes, uniquement filtrées.

L'inuline, qui a longtemps été considérée comme le gold standard [4], n'est plus utilisée que radiomarquée en expérimentation animale et ne dispose plus d'AMM chez l'homme, en raison des risques de réaction anaphylactique de certaines préparations et de la lourdeur de la technique.

Ce qui fait que la mesure de la clairance par les traceurs exogènes tels que l'iohexol est devenue la référence pour la mesure du DFG chez l'homme, elle est aussi utilisée comme « comparateur idéal » pour tester les méthodes alternatives proposées, en particulier les méthodes d'estimation du DFG.

A travers ce travail, nous avons voulu rappeler l'importance de mesurer le DFG dans des situations cliniques bien particulières et repositionner la place de la mesure du DFG en néphrologie clinique et dans certaines situations par rapport aux autres méthodes de dosage.

## II- RAPPELS

### 1-PHYSIOLOGIE RENALE

#### 1.1. Rappels anatomiques [5]

L'unité fonctionnelle du rein est le néphron. Dans chaque rein, il y a environ 1 million de néphrons. Chaque néphron a une partie vasculaire et une partie tubulaire.

Le constituant essentiel de la partie vasculaire est le glomérule, formé d'un peloton de capillaires : l'artère rénale se divise dans le rein et donne de nombreuses artérioles afférentes destinées aux néphrons ; l'artériole afférente donne naissance aux capillaires du glomérule qui se drainent dans l'artériole efférente par laquelle le sang, qui a perdu le liquide et les substances dissoutes filtrées dans le glomérule.

L'artériole efférente se divise pour former les capillaires péri-tubulaires. Ces derniers entourent les tubules des néphrons, approvisionnent le tissu rénal et participent aux échanges qui ont lieu entre le sang et le filtrat glomérulaire et transforment celui-ci en urine définitive.

Puis les capillaires péri-tubulaires se rejoignent pour former des veinules dont la voie finale de drainage est la veine rénale qui débouche dans la veine cave inférieure.

La partie tubulaire du néphron s'étend du glomérule au bassinet. La paroi du tubule est constituée d'une seule couche de cellules épithéliales. Le tubule est divisé en segments:

- la capsule de Bowman, dans sa partie proximale, formée de 2 feuillets qui entourent les capillaires glomérulaires et dans laquelle est recueilli le liquide sorti de ceux-ci par filtration ;
- le tubule proximal fait suite à la capsule de Bowman ;

- l'anse de Henlé constitue le segment suivant, a la forme d'un U avec un segment descendant qui s'enfonce du cortex vers la médullaire et un segment ascendant qui remonte de la médullaire vers le cortex ;

- le tubule contourné distal est le segment suivant, situé donc dans le cortex ;

- le tube collecteur fait suite au tubule contourné distal, dans lequel se terminent jusqu'à 8 néphrons. Chaque tubule collecteur s'enfonce dans la médullaire et débouche dans la cavité du bassin.

A la jonction du segment ascendant de l'anse de Henlé et du tubule contourné distal, le tubule est au contact de l'artériole afférente avec laquelle il constitue l'appareil juxtaglomérulaire.

A cet endroit, la paroi de l'artériole afférente contient des cellules qui sécrètent la rénine : cet appareil juxtaglomérulaire joue donc un rôle important dans la régulation de la pression artérielle.

### 1.2. Rappels physiologiques [5]

#### 1.2.1. La filtration glomérulaire

Au passage du sang dans le glomérule, de l'eau et des substances dissoutes, à l'exception des protéines, filtrent hors des capillaires dans la capsule de Bowman : c'est la filtration glomérulaire, première étape de la formation de l'urine.

Environ 180 Litres de filtrat glomérulaire sont formés chaque jour, soit environ 65 fois le volume plasmatique.

Le liquide passant par filtration des capillaires glomérulaires à la capsule de Bowman doit traverser la membrane basale glomérulaire constituée de :

- la paroi des capillaires glomérulaires, faite d'une seule couche de cellules épithéliales et perforée de nombreux pores ;

- la couche acellulaire de la membrane basale ;

- le feuillet interne de la capsule de Bowman, fait de podocytes. Chaque podocyte a de nombreuses ramifications, les pédicelles qui s'enchevêtrent avec les pédicelles des podocytes voisins.

### *1.2.2 La réabsorption tubulaire*

Pendant le passage du filtrat dans le tubule, de nombreuses substances repassent dans le plasma : c'est la réabsorption tubulaire.

Les substances réabsorbées passent dans les capillaires péri-tubulaires et la circulation veineuse puis recirculent.

Environ 178,5 Litres sur les 180 Litres filtrés sont réabsorbés, la différence de 1,5 Litres étant éliminée sous forme d'urine.

### *1.2.3. La sécrétion tubulaire*

Il s'agit du transport sélectif de substances du sang des capillaires péri-tubulaires vers la lumière du tubule.

La sécrétion tubulaire est le mode d'élimination sélectif de substances contenues dans les

80 % de plasma circulant dans les capillaires péri-tubulaires. Elles s'ajoutent aux substances filtrées dans le glomérule et déjà présentes dans le glomérule.

### *1.2.4. L'excrétion d'urine*

C'est l'élimination hors de l'organisme de tous les constituants du plasma filtrés ou sécrétés qui ont gagné les tubules et n'ont pas été réabsorbés. C'est l'aboutissement des 3 processus rénaux de base : filtration glomérulaire, réabsorption tubulaire et sécrétion tubulaire.

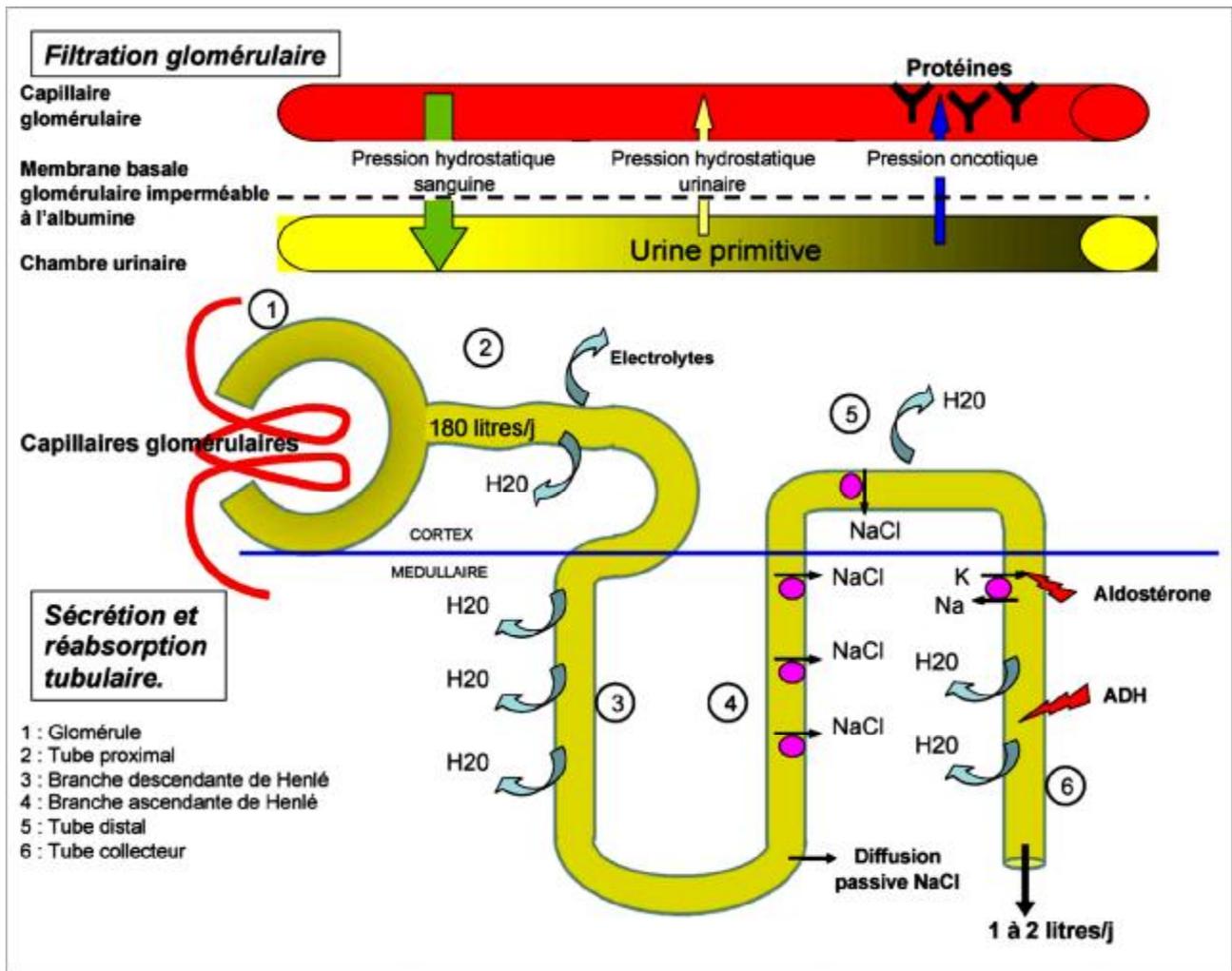


Figure 1 : Illustration tirée de la presse médicale 2009 ; 38 : 1667-1679. [6]

## 2-MALADIE RÉNALE CHRONIQUE

### 2.1 Définition de l'IRC

L'IRC est définie comme une diminution progressive des fonctions rénales objectivée par une diminution permanente du débit de filtration glomérulaire (DFG). Celui-ci est, chez un individu normal, supérieur à 90 mL/mn/1,73 m<sup>2</sup> [7].

### 2.2 Classification de l'IRC.

#### ✓ ANAES (2002)

#### 2.3.L'ANAES (2002) définit l'IRC par une diminution permanente du DFG [5]

Quel que soit le DFG, la persistance pendant plus de trois mois d'un ou plusieurs marqueurs biologiques d'atteinte rénale (protéinurie, leucocyturie, hématurie, microalbuminurie chez le diabétique de type 1) et/ou d'anomalies morphologiques témoignent d'une maladie rénale qui impose un diagnostic étiologique (diabète, hypertension, néphropathie glomérulaire, interstitielle ou héréditaire...) et une surveillance néphrologique [8]

Un DFG inférieur à 60 mL/mn/1,73 m<sup>2</sup> signe une insuffisance rénale indiscutable qu'il y ait ou non des marqueurs d'atteinte rénale associés (biologiques et/ou morphologiques et/ou histologiques). On parle d'IRC si l'insuffisance rénale est présente depuis au moins trois mois [8].

#### ✓ NKF/KDOQI (2002)

Des critères de définition de la maladie rénale chronique ont été proposés en 2002 par la

*National Kidney Foundation (USA)* [9]

1 - atteinte rénale supérieure à trois mois, définie comme une anomalie structurelle ou fonctionnelle du rein avec ou sans diminution du DFG et qui se manifeste par :

- des anomalies histologiques ;
- des marqueurs d'atteinte rénale tels que des anomalies sanguines et/ou urinaires ou des anomalies à l'imagerie.

2 - baisse du DFG en dessous de 60 mL/mn/1,73 m<sup>2</sup> depuis plus de trois mois, avec ou sans altération rénale.

### ▼ Classifications

*-ANAES et KDOQI (2002)*

Les critères de diagnostic et du degré de sévérité se fondent actuellement sur les classifications de l'IRC adoptées en 2002 par l'ANAES et le NKF/KDOQI [9] (tableau 1).

Très longtemps latents, les signes initiaux de l'IRC restent en général ignorés. Les patients qui présentent une IRC de stade 1-2 ANAES (1-3 KDOQI) sont généralement asymptomatiques et les anomalies urinaires sont cliniquement silencieuses.

En l'absence de signes cliniques, le diagnostic de l'IRC reposera donc sur les résultats des analyses biologiques : le DFG ou son estimation (eDFG) et/ou la présence de marqueurs d'atteinte rénale dont la protéinurie.

Tableau 1. Classifications ANAES et KDOQI de maladie rénale chronique et de

DFG (ml/mn/1,73m <sup>2</sup> )	ANAES (2002) [8]	NKF/KDOQI (2002) [9]
≥ 90		Stade 1 : Atteinte rénale avec DFG normal ou↑
60-89	Stade 1 : Maladie rénale chronique* (DFG > 60)	Stade 2 : Atteinte rénale avec légère ↓ du DFG
30-59	Stade 2 : Insuffisance rénale modérée	Stade 3 : Diminution modérée du DFG
15-29	Stade 3 : Insuffisance rénale sévère	Stade 4 : Diminution sévère du DFG
< 15	Stade 4 : Insuffisance rénale terminale†	Stade 5 : Défaillance rénale

Pour les premiers stades de la maladie, le DFG seul ne suffit pas à affirmer le diagnostic.

La définition du stade 1 (ANAES) requiert la persistance de marqueurs d'atteinte rénale.

Le dosage de l'urée sanguine n'a aucun intérêt dans le diagnostic positif de l'insuffisance rénale [8].

L'absence de signes initiaux de l'IRC peut conduire à une découverte parfois très tardive, au stade d'IRC terminale (stade 4 ou 5) : en 2008, un malade sur trois a commencé son traitement en urgence par une hémodialyse [10]

### -Classification KDIGO 2010

Dans le but d'améliorer les résultats pour le patient, une fondation internationale à but non lucratif dédiée à l'amélioration de la prise en charge des insuffisants rénaux, le *Kidney*

*Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO), a proposé en 2010 une nouvelle classification basée sur la classification KDOQI. Elle repose sur le DFG, le ratio albuminurie/créatininurie et met l'accent sur le diagnostic clinique [7].

Cette nouvelle classification KDIGO pourrait s'imposer dans les années à venir. Une place plus importante y est donnée à l'albuminurie (exprimée en rapport albuminurie sur créatininurie), en raison du risque accru de morbidité ou de mortalité cardiovasculaire associé à l'albuminurie [11] (tableau 2).

Tableau 2. Classification KDIGO, d'après Levey *et al.* 2010 (7)

Diagnostic	DFG (mL/mn/1,73m <sup>2</sup> )	Albuminurie (ACR, mg/g)
Diabète	≥ 90	< 30
Hypertension	60-89	
Maladie glomérulaire	45-59	30-299
Autres maladies	30-44	
Transplanté	15-29	> 300
Inconnu	< 15	

ERAPPORT D'ÉVAION TECHNOLOGIQUERAPPORT D'ÉVALUATION

### 3-EVALUATION DE LA FONCTION RÉNALE : MESURE DU DFG

La maladie rénale chronique est définie comme une diminution progressive des fonctions rénales objectivée par une diminution permanente du débit de filtration glomérulaire (DFG).

Des critères de définition de la maladie rénale chronique ont été proposés.

Ils consistent en une atteinte rénale d'une durée supérieure à trois mois se manifestant par des anomalies histologiques ou des marqueurs tels que des anomalies sanguines, urinaires ou de l'imagerie, ou une baisse du DFG en dessous de 60mL/mn/1,73m<sup>2</sup>.

Compte tenu de sa prévalence, le dépistage ou le diagnostic précoce de l'IRC constitue un enjeu de santé publique pour tous les pays. Alors que la Société internationale de néphrologie recommande le dépistage chez tous les individus, la Société de néphrologie britannique recommande un diagnostic précoce pour les diabétiques et les hypertendus.

L'ANAES le recommande pour des populations à risque par une estimation du DFG et la recherche de marqueurs d'atteinte rénale [8,12]

#### 3.1 Rappels théoriques

La clairance rénale d'une substance est le volume de sérum totalement épuré de cette substance lors de son passage par le rein. C'est la somme des clairances résultant de la filtration glomérulaire et de la sécrétion tubulaire. Elle est exprimée en ml par mn [13].

La clairance d'une substance est égale au DFG si elle n'est ni sécrétée, ni réabsorbée dans les tubules. Le débit filtré est alors égal au débit excrété.

### 3.2 Mesure par marqueur endogène : la créatinine

#### 3.2.1 Introduction

La créatinine est un produit de la dégradation de la créatine des muscles squelettiques.

Elle est essentiellement éliminée par voie rénale par filtration glomérulaire, mais aussi par sécrétion tubulaire.

La fonction rénale peut être estimée par sa clairance rénale ou à partir de son dosage sanguin grâce à des équations permettant d'estimer le DFG.

#### 3.2.2 Estimation de la fonction rénale à partir de la créatininémie

Une estimation de la fonction rénale peut également être réalisée à partir du dosage de la créatinine sérique et du recours à différentes équations. Les deux principales sont l'équation de Cockcroft et Gault (CG), proposée en 1976, et l'équation issue de l'étude *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) établie en 1999 et simplifiée par Levey en 2000. Une nouvelle équation a été développée en 2009 par Levey, appelée CKD-EPI (pour *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*).

##### 3.2.2.1 Équation de Cockcroft et Gault

Pour obtenir des résultats de clairance de la créatinine plus rapidement qu'avec le recueil des urines des 24 heures, Donald Cockcroft et Henri Gault ont développé une équation permettant d'estimer la clairance de la créatinine à partir d'un simple dosage de la créatininémie [14] .

Les paramètres pris en compte dans cette équation sont la créatinine sérique, le poids et l'âge :

$$\text{Clairance (mL/m)} = \frac{(140 - \text{âge}) \times \text{poids (Kg)}}{\text{PCr } (\mu\text{mol/L}) \times K}$$

Avec :

K = 1,23 pour les hommes

K = 1,04 pour les femmes

Âge exprimé en années

PCr : Créatinine sérique

Cette équation a été validée par comparaison avec des clairances mesurées dans les urines des 24 heures. Elle n'estime donc pas un DFG, mais la clairance de la créatinine.

Cette équation a été recommandée par l'ANAES en 2002 [8].

### 3.2.2.2 Équation MDRD

Une étude a été menée pour évaluer l'effet d'un régime pauvre en protéines sur la progression de la maladie rénale. Cette étude dite « MDRD » (*Modification of Diet in Renal Disease*) [15] a permis d'établir en 1999, à partir de 1 070 patients une nouvelle équation pour estimer le DFG à partir de la créatinine sérique [16]:

$$\text{DFG} = 170 \times \text{PCr}^{-0,999} \times \text{âge}^{-0,176} \times 0,762 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,180 \text{ (race noire)} \times \text{U}^{-0,170} \times \text{Alb}^{+0,318}$$

Avec : PCr : Créatinine sérique (mg/dL)

Alb : Albuminémie

U : Urée sanguine

Âge en années

En 2002, l'ANAES n'a pas retenu cette équation car elle nécessite, en plus du dosage de la créatininémie, le dosage sanguin de l'urée et de l'albumine, ce qui augmente les risques de biais. De plus, elle n'est pas validée dans une population autre que celle de l'étude MDRD [8]. Cette équation MDRD à six variables est peu utilisée en pratique.

En 2000, Levey, dans le but d'en faciliter l'utilisation clinique, a simplifié cette équation en supprimant les variables urémie et albuminémie. En 2006, Levey modifie cette nouvelle équation à quatre variables pour des dosages de créatinine standardisés [17,18]

Pour un dosage de créatinine raccordé à un échantillon de référence quantifié par spectrométrie de masse avec dilution isotopique (IDMS) :

$$\text{DFG} = 175 \times \text{PCr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,212 \text{ (si race noire)}$$

En l'absence d'étalonnage IDMS :

$$\text{DFG} = 186 \times \text{PCr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,212 \text{ (si race noire)}$$

Âge en années

PCr : Créatinine sérique (mg/dL)

### 3.2.2.3 Équation CDK-EPI

L'équation MDRD à quatre variables manquerait de précision pour des valeurs au-delà de

60 mL/mn/1,73m<sup>2</sup>, et Levey en 2009 a proposé une nouvelle équation qui augmenterait la précision dans les valeurs de DFG supérieures à ce seuil.

Cette équation a été élaborée à partir de 8 254 participants et vérifiée sur 3 896 patients.

Elle a été validée avec un dosage de créatinine (technique enzymatique) raccordé à l'IDMS [19]

Le concepteur de l'équation, le Dr AS Levey, contacté pour avis, précise qu'elle ne peut être utilisée qu'avec des techniques de dosage traçables à l'IDMS, Jaffé ou enzymatique.

L'équation peut être exprimée par :

$$\text{GFR} = 141 \times \min(\text{Scr}/K, 1) \alpha \times \max(\text{Scr}^1, 209 \times 0,993^{\text{Age}} \times 1,018 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,159 \text{ (race noire)})$$

Avec Scr : Créatinine sérique

K: 0,7 pour les femmes et 0,9 pour les hommes

$\alpha$  : -0,329 pour les femmes et -0,411 pour les hommes

min indique le minimum de Scr/K ou 1

max indique le maximum de Scr/K ou 1

### 3.2.3 Quelle confiance accorder à l'estimation du DFG ?

#### 3.2.3.1 Les limites des équations d'estimation

Les équations servant à estimer la fonction rénale sont très simples d'utilisation en pratique, mais elles manqueraient de précision dans certaines situations cliniques, notamment chez les sujets jeunes ou âgés, les patients avec une IMC extrême (< 20 ou > 30) et chez des patients présentant une fonction rénale peu altérée [20].

Ainsi, l'équation de CG sous-estimerait la fonction rénale du sujet âgé, alors que l'équation MDRD (à quatre variables) sous-estimerait le DFG chez les patients maigres et les diabétiques de type 1. Par ailleurs, ces deux équations sont très dépendantes des méthodes de dosage de la créatininémie [21].

Ces équations ont été élaborées à partir de biais moyens constatés sur une population, elles peuvent donc manquer de précision à l'échelon individuel.

#### 3.2.3.2 Variation inter-individus de la créatininémie

La créatinine est un produit de dégradation des muscles squelettiques. Sa concentration sérique est donc très dépendante de la masse musculaire des individus. En conséquence, la créatininémie peut être modifiée même en l'absence de pathologie rénale en fonction :

- du sexe, de l'âge, de l'ethnie, du poids ;
- de l'existence d'une pathologie entraînant un déficit musculaire ;
- du régime alimentaire végétarien, végétalien ou riche en viande (bodybuilders).

La créatinine n'est pas seulement éliminée par filtration glomérulaire, mais également par sécrétion tubulaire. Or, cette sécrétion tubulaire est très variable d'un individu à l'autre.

Elle peut être stoppée par la prise de certains médicaments entraînant une augmentation de la créatininémie sans modification du DFG.

Chez un insuffisant rénal sévère, il semblerait que l'élimination de la créatinine ne soit plus exclusivement rénale, et la créatininémie de patients en IRCT serait moins élevée qu'attendu [22]

Toutefois, à la différence de l'utilisation des marqueurs exogènes, le dosage sanguin de la créatinine constitue une méthode simple pour estimer la fonction rénale à partir du seul prélèvement sanguin [8, 21, 23].

### 3.2.3.3 Influence de la méthode de dosage de la créatininémie

Différentes méthodes de dosage de la créatininémie coexistent [8]

En pratique, deux méthodes sont actuellement réalisées dans les laboratoires :

- les méthodes colorimétriques avec la réaction de Jaffé (80 %) ;
- les méthodes enzymatiques (20 %) [24].

#### *Méthodes colorimétriques :*

Méthode de Jaffé : en milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe jaune orangé. La vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon. Toutefois, des substances «pseudochromogènes» peuvent perturber les résultats en donnant des concentrations de créatinine plus élevées que la réalité. Des méthodes de Jaffé « corrigées » sont proposées, elles tiennent compte de l'impact de ces substances sur le résultat du dosage.

#### *Méthodes enzymatiques :*

La méthode la plus répandue consiste en la dégradation enzymatique de la créatinine qui aboutit en fin de chaîne à la production d'eau oxygénée. Cette

production d'eau oxygénée est ensuite quantifiée par une dernière réaction enzymatique colorimétrique [22]

### *Spectrométrie de masse avec dilution isotopique :*

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement sensible qui permet de déterminer des structures moléculaires. Le composé organique est ionisé et l'ion obtenu permet la détermination de la masse molaire du composé.

Il s'agit d'une méthode très complexe développée pour affecter des valeurs à des matériaux de référence. Elle n'est disponible que dans quelques laboratoires hautement spécialisés répartis à travers le monde. Elle n'a pas d'application en biologie clinique.

La standardisation de la calibration des méthodes de dosage de la créatininémie par les laboratoires ne semble pas acquise et génère de la méfiance vis-à-vis des résultats rendus. Par ailleurs, des différences sont observées dans les résultats des dosages entre les deux méthodes principalement utilisées (Jaffé ou enzymatique) et parfois pour une même méthode selon les automates employés [22]

L'AFSSaPS, afin de garantir une cohérence entre les résultats des dosages de créatinine et les recommandations d'action thérapeutique, a émis des recommandations à destination des fabricants de réactifs et des biologistes sur l'utilisation des méthodes de dosage de la créatininémie [25]. Pour les contrôles de qualité, les coefficients de variation acceptables sont définis selon l'état de l'art et varient selon la concentration en créatinine de l'échantillon de contrôle.

Le *National Kidney Disease Education Program* (NKDEP) a fixé les performances analytiques à atteindre pour les dosages de la créatinine après calibration IDMS.

Ainsi, pour des concentrations en créatinine supérieures ou égales à 88,4  $\mu\text{mol/L}$ , la fidélité (coefficient de variation) ne doit pas dépasser 8 % et les erreurs de justesse doivent être inférieures à 5 % [26].

Les méthodes atteignant ces objectifs devraient être préférées [26].

Il semble dès lors souhaitable d'harmoniser et de standardiser les méthodes de dosage de la créatininémie, d'autant plus que la relation entre le DFG et la créatinine sérique n'est pas linéaire, et qu'à des valeurs normales de DFG ( $> 90$ ), il faut une réduction importante du DFG pour observer une augmentation significative de la créatininémie [26].

### 3.3 Mesure par marqueur exogène

Les marqueurs exogènes les plus fréquemment employés pour mesurer le DFG sont l'inuline, des radio-pharmaceutiques ou l'iohexol. Ces traceurs sont librement filtrés à travers les glomérules, ils ne sont ni sécrétés, ni réabsorbés par les tubules et ne sont pas métabolisés. Leur clairance rénale est donc égale au DFG.

L'étude de la clairance de ces marqueurs est la méthode de référence pour déterminer le DFG.

Cependant, ces méthodes sont complexes et nécessitent une infrastructure spécifique.

Elles sont réservées à des situations cliniques particulières qui imposent une évaluation précise du DFG, notamment quand la production endogène de créatinine peut être modifiée [8]:

- dénutrition sévère et obésité, nutrition parentérale prolongée ;
- augmentation ou diminution de la masse musculaire, quelle qu'en soit l'étiologie (corticothérapie, maladies musculaires squelettiques, para et tétraplégie, amputation, etc.) ;
- insuffisance hépatocellulaire sévère.

### III- MATERIEL ET METHODE

#### 1-Design de l'étude et critères de sélection des articles

Nous avons procédé à une recherche bibliographique en se basant sur les moteurs de recherche pubmed ; Science direct, Hinari, Google, et Wikipedia .On s'est limité aux publications en langue française et anglaise.

Les sources suivantes ont été également interrogées :

- les sites Internet publiant des recommandations ou des rapports d'évaluation technologique ;
- les sites Internet des sociétés savantes compétentes dans le domaine étudié.

D'autres publications identifiées à partir de listes de référence et des publications connues ont été incluses.

Elle a porté sur la période janvier 2000 – avril 2016 ;

#### 2-Méthodes d'évaluation de la fonction rénale

##### 2.1 Estimation du Débit de Filtration Glomérulaire

Le dosage de la créatinine plasmatique par méthode enzymatique standardisée IDMS était réalisée chez tous les patients, puis le DFG était estimé par les formules de Cockcroft-Gault, MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) et CKD-EPI (Chronic Kidney Disease - Epidemiology Collaboration). Les formules étaient appliquées de la manière suivante :

- Cockcroft et Gault:

$DFG = 1,23 \times \text{poids (kg)} \times (140 - \text{Age}) / \text{Créatinine } (\mu\text{mol/l})$ , pour l'homme ou  
 $\text{clairance} = 1,04 \times \text{poids (kg)} \times (140 - \text{Age}) / \text{Créatinine } (\mu\text{mol/l})$ , pour la femme. La clairance a été standardisée pour 1,73m<sup>2</sup> de surface corporelle.

- MDRD (Modification of Diet in Renal Disease):

$DFG = 186 \times (\text{créatinine } (\mu\text{mol/l}) \times 0,0113)^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times 0,742$   
(femme)  $\times 1,21$  (origine subsaharienne)  $\times 0,95$  si le dosage de la créatinine est calibré IDMS),

- CKD-EPI (Chronic Kidney Disease - Epidemiology Collaboration):  $DFG = 141 \times \min(\text{Scr} / k, 1) \times \max(\text{Scr} / k, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Age}} \times 1,018$  (si femme)  $\times 1,159$  (si sujet noir) où  $k$  est 0,7 pour les femmes et 0,9 pour les hommes,  $\alpha$  est -0,329 pour les femmes et -0,411 pour les hommes).

### 2.2 Mesure directe du Débit de Filtration Glomérulaire mémoire AAA

Le DFG peut également se mesurer par la clairance d'un traceur exogène, le plus souvent l'inuline, des radio-pharmaceutiques (-iothalamate,  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA ou  $^{99}\text{Tc}$ -DTPA) ou l'iohexol.

Dans ce travail nous allons détailler la mesure du DFG par l'iohexol.

L'iohexol est un produit de contraste iodé non ionique mais la dose de produit de contraste iodé injecté est considérée non néphrotoxique [27]. L'iohexol est éliminé à 100 % dans l'urine après la filtration glomérulaire. De multiples études ont validé l'iohexol en tant que norme de référence pour la mesure du DFG dans différentes populations [27]. Cette méthode est une méthode de référence de mesure du DFG, corrélée à la clairance de l'inuline.

En pratique, la méthode est standardisée. Une injection unique de 5ml d'iohexol Omnipaque™ 300 mg/mL est réalisée à H0. Un prélèvement sur le bras controlatéral est effectué pour doser la concentration plasmatique d'iohexol à différents temps : toutes les 30 minutes à partir d'H2 et jusqu'à H4½ en cas de DFG estimé par la formule CKD-EPI  $<40\text{ml/min}$  ou jusqu'à H3½ en cas de DFG estimé par la formule CKD-EPI  $>40\text{ml/min}$ . Le dosage d'iohexol est réalisé par chromatographie.

Le DFG mesuré est obtenu par la formule de Bröchner-Mortensen à partir de la pente de décroissance de la concentration plasmatique d'iohexol à ces différents temps. La formule est également standardisée pour 1,73m<sup>2</sup> de surface corporelle.

*L'iohexol de formule chimique : N, N'-bis (2,3-dihydroxypropyl)-5-N-(2,3-dihydroxypropyl)-acetamido-2,4, 6-triiodoisophtalamide.*

L'iohexol est une substance de contraste non ionique, un principe développé par le radiologue suédois Torsten Almén [28,29]. Il est principalement utilisé pour la tomodensitométrie (CT), l'angiographie et dans certaines interventions chirurgicales.

Le poids moléculaire de l'iohexol est de 821 Da [30,31]. La proportion liée aux protéines semble être très faible de l'ordre de 1.5 % [32, 33, 34,35], même si une publication récente a contesté ces résultats [36]. Au regard de son poids moléculaire et l'absence de liaison aux protéines, il serait peu probable que ce marqueur soit librement filtré à travers le glomérule.

La question de la clairance extra-rénale du marqueur se pose, et cette question peut être étudiée soit en mesurant la clairance plasmatique chez les patients ne gardant aucune fonction rénale résiduelle ou chez ceux à très faible fonction résiduelle ou encore en mesurer la clairance plasmatique et urinaire et en faisant la différence qui correspondrait à la clairance extra-rénale. Avec ces deux méthodes, il est ressortie que la clairance extra-rénale de l'iohexol est faible.

En étudiant la clairance extra-rénale de l'iohexol chez les patients anéphriques, elle était comprise entre 2 et 3 mL / min / 1,73 m<sup>2</sup> [24, 33-35]. En faisant la différence entre les clairances plasmatiques et urinaires chez des sujets sains, la clairance extrarénale était comprise entre 0 et 6 mL / min / 1,73 m<sup>2</sup> [30, 32, 34, 36].

Ces résultats ont été comparé avec la clairance extra-rénale d'autres marqueurs tels que l'iothalamate et 51Cr-EDTA, pour l'iothalamate, elle était

comprise entre 4 et 10 mL /Min / 1,73 m<sup>2</sup> [32, 37-39] et environ 2-4 mL / min /1,73 m<sup>2</sup> pour 51Cr-EDTA [40, 41].

Pour être considéré comme un marqueur de référence pour mesurer le DFG , la substance ne devrait ni être sécrétée au niveau tubulaire ni réabsorbée.

Ni la sécrétion, ni la réabsorption de l'iohexol n'a été démontrée à notre connaissance.

En revanche, la réabsorption tubulaire dépendant de gradient de concentration et celui de l'iothalamate et d'autres substances de contraste ionique est bien documenté dans plusieurs espèces, y compris les humains [42, 43].

L'innocuité de l'iohexol a été largement étudiée [44, 45] et a été confirmée par un grand nombre de mesures par iohexol effectuées dans plusieurs pays, comme la Suède (dans le comté de Skåne) (~ 1500 GFR mesures / année) [46, 47], l'Italie (25 000 clairance par iohexol depuis 1995 au Centre de recherche clinique de l'Institut Mario Negri À Bergame). Aucun effet indésirable ne grave, et en particulier aucune réaction anaphylactique, n'a été rapportée. Ce profil de sécurité est, au moins en partie, expliqué par la faible dose d'iohexol Injecté (5 ou 10 mL contre 80-180 mL pour la réalisation des examens tomodensitométrie scanne et 13300 ml pour les interventions coronariennes) et par l'exclusion de patients ayant des antécédents de réactions aux produits de contrastes. Même chez les patients, avec une fonction rénale résiduelle minimale, des doses d'iohexol de 10 ml (300 mg /ml) ne s'est pas révélé néphrotoxique en mesurant la créatinine sérique par la suite.

Au total, P. Delanaye et al. ont effectué environ 10 000 mesures GFR par iohexol mesures au cours des 2 dernières années, et aucun incident de choc anaphylactique n'a été rapporté [48].

### 2.3 Les différentes méthodes de mesure du DFG par iohexol

L'iohexol peut être mesuré à l'aide de différentes méthodes.

La chromatographie liquide à haute performance avec détection ultraviolette (HPLC-UV), la fluorescence des rayons X (XRF) et la chromatographie liquide par spectrométrie de masse en tandem (LC-MS / MS) qui est la méthode la plus validée [48].

#### 2.3.1 HPLC-UV

La chromatographie en phase liquide à haute performance est depuis les années 1990, l'une des techniques les plus employées dans les laboratoires d'analyse chimiques. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange [49].

##### 2.3.1.1 Principe général de l' HPLC [49]

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille).

Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire.

La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit.

Les pics obtenus sont plus étroits donc la résolution est améliorée, le seuil de détection est également plus bas. La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance».

Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible (acétonitrile, méthanol) ou des combinaisons de solvants organiques (alcools, hexane, dichlorométhane...) miscibles entre eux.

Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » (en opposition au mode « isocratique », pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de la séparation).

Par exemple, sur une colonne apolaire, en utilisant un mélange eau/méthanol comme phase mobile, les composants les plus hydrophobes sont élués avec une concentration élevée en méthanol alors que les composants plus hydrophiles sont élués préférentiellement avec une concentration faible en méthanol. Selon la nature de la phase stationnaire et la nature des composés à séparer, on commencera par une concentration élevée en méthanol ou le contraire.

Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. Sa grande précision permet la recherche de traces et il est possible de la coupler à un spectromètre de masse.

### 2.3.1.2 Principe de l'HPLC pour le dosage de l'iohexol [50]

Rohit S. et al ont procédé à l'extraction de précipités de protéines et de l'iohexol à partir du plasma (100 µl) en ajoutant 800 µl d'acide perchlorique (5%, v / v dans l'eau) contenant un composé lié à l'iohexol suivie d'une centrifugation de la solution. Le surnageant (90 µl) a ensuite été injecté dans une colonne µ Bondapak C18 (150 mm x 3,9 mm, 10 m) et maintenue à 30 ° C. La phase mobile comprenant diverses proportions d'acétonitrile et d'eau avec un temps de fonctionnement total de 12 min et la longueur d'onde du détecteur UV réglée à 254 nm. La récupération d'extraction de l'iohexol à partir du plasma était > 95% et la courbe d'étalonnage

linéaire ( $r^2 = 0,99$ ) par rapport aux concentrations en iohexol allant de 10 à 750  $\mu\text{g}$  / ml ( $n = 8$ ). La méthode avait une précision  $> 92\%$ .

La détermination de l'iohexol a été effectuée en utilisant un système analytique HPLC-UV, marque Hitachi série D-7000 (San Jose, CA) avec un auto-échantillonneur équipé d'une boucle d'échantillonnage de 200  $\mu\text{m}$ , d'une pompe quaternaire, d'une colonne et un détecteur UV à longueur d'onde variable réglé à 254 nm. Les zones de pointe ont été intégrées à l'aide de logiciel de gestion du système Hitachi (HSM). La séparation chromatographique de l'iohexol et IS a été réalisé en utilisant la colonne  $\mu$  Bondapak C18 (150,0 mm  $\times$  3,9 mm, taille de particule de 10 m, Waters, Milford, MA). Un filtre de pré-colonne de taille de pores de 2  $\mu\text{M}$  (Supelco, Bellefonte, PA) a été attaché à la colonne et les deux ont été maintenus à 30 ° C. La phase mobile a été filtrée et dégazée en passant à travers des filtres en nylon de 0,45 m (Millipore, Bedford, MA) sous vide. L'élution de l'iohexol et son étalonnage ont été réalisées à l'aide d'une technique d'élution à gradient rapide. La composition de la phase mobile a rapidement changé (en 6 s) de l'acétonitrile initial à 4% à 14% d'acétonitrile dans l'eau (v / v) de la cinquième à la neuvième minute, après quoi, la composition a été rechargée en 4% d'acétonitrile durant les 3 dernières minutes comprenant un temps de fonctionnement total de 12 min.

Le débit a également été changé pendant les 5 premières minutes, de 0,8 ml / min à 1,2 ml / min dans l'intervalle de 4 min puis à nouveau à 0,8 ml / min pour les 3 dernières minutes. Pour l'analyse, la zone pic majeure de l'isomère iohexol a été utilisée parce qu'elle constituait plus de 80% des zones de pointe combinées et le ratio des deux pics d'isomères est resté constant à différentes concentrations d'iohexol.

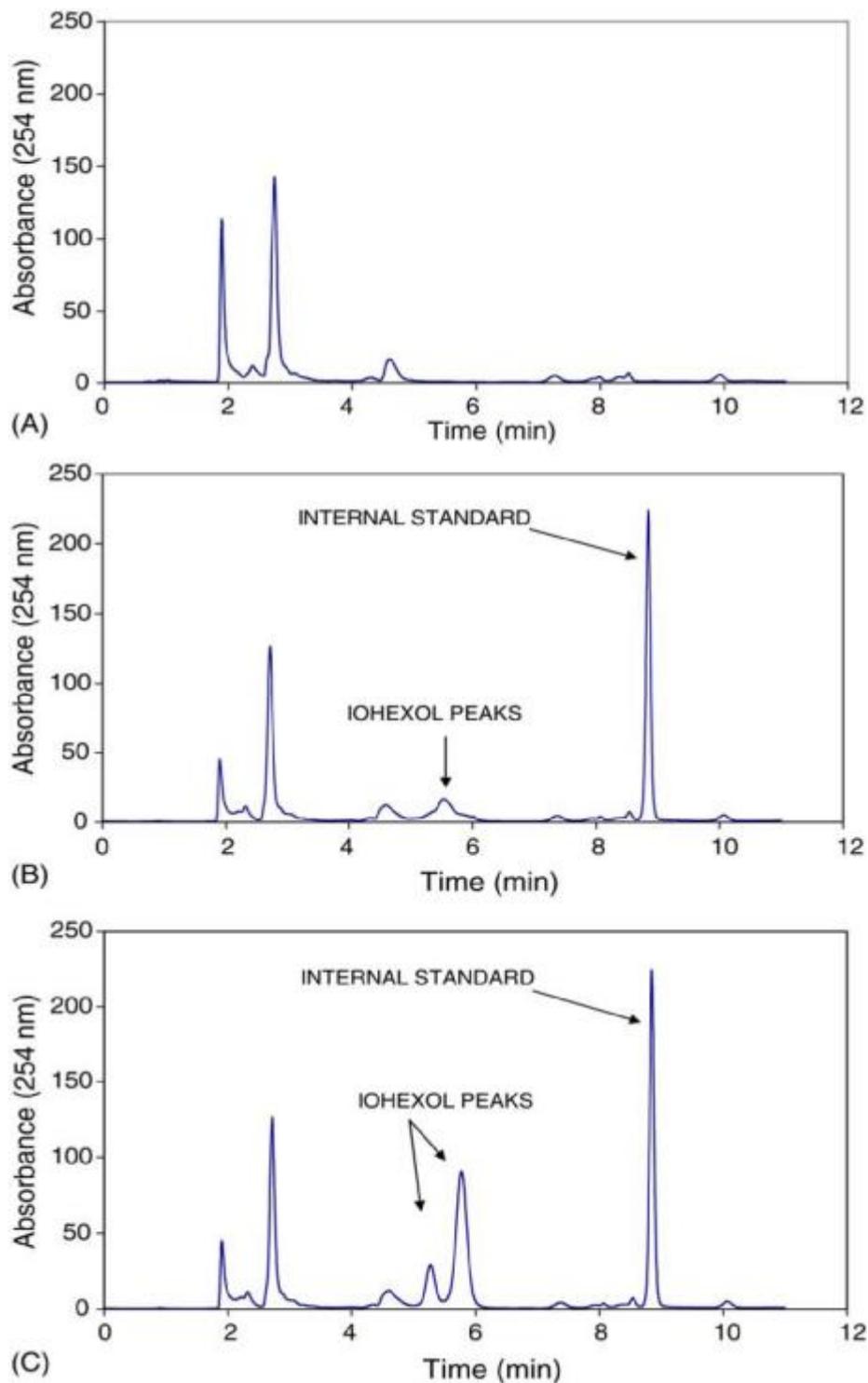


Figure 2 : (A) chromatogramme d iohexol sans plasma. (B) Chromatogramme avec un échantillon de plasma LLOQ (10  $\mu$ g/ml) concentration d iohexol avec étalon interne (5  $\mu$ g/ml). (C) Chromatogramme d'un échantillon plasmatique provenant d'un receveur de transplant rénal contenant de l'iohexol (125  $\mu$ g/ml) avec un étalon interne (50  $\mu$ g/ml).

La mesure de l'iohexol par HPLC-UV est sensible, spécifique et reproductible, permettant l'utilisation de doses minime d'iohexol, et donc de quantifier les concentrations plasmatiques avec précision [27,32, 34, 45,50-57]. C'est la méthode la plus couramment utilisée en Europe [58].

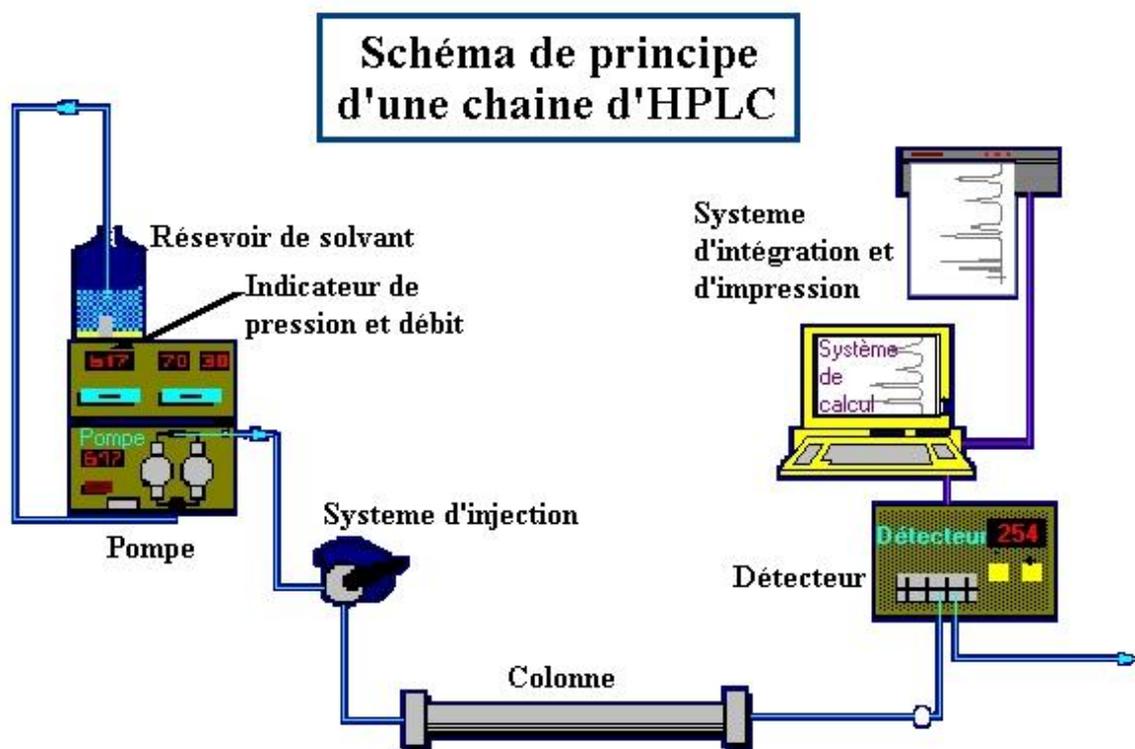


Figure 3 : Schéma de principe d'une chaîne d'HPLC, Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie

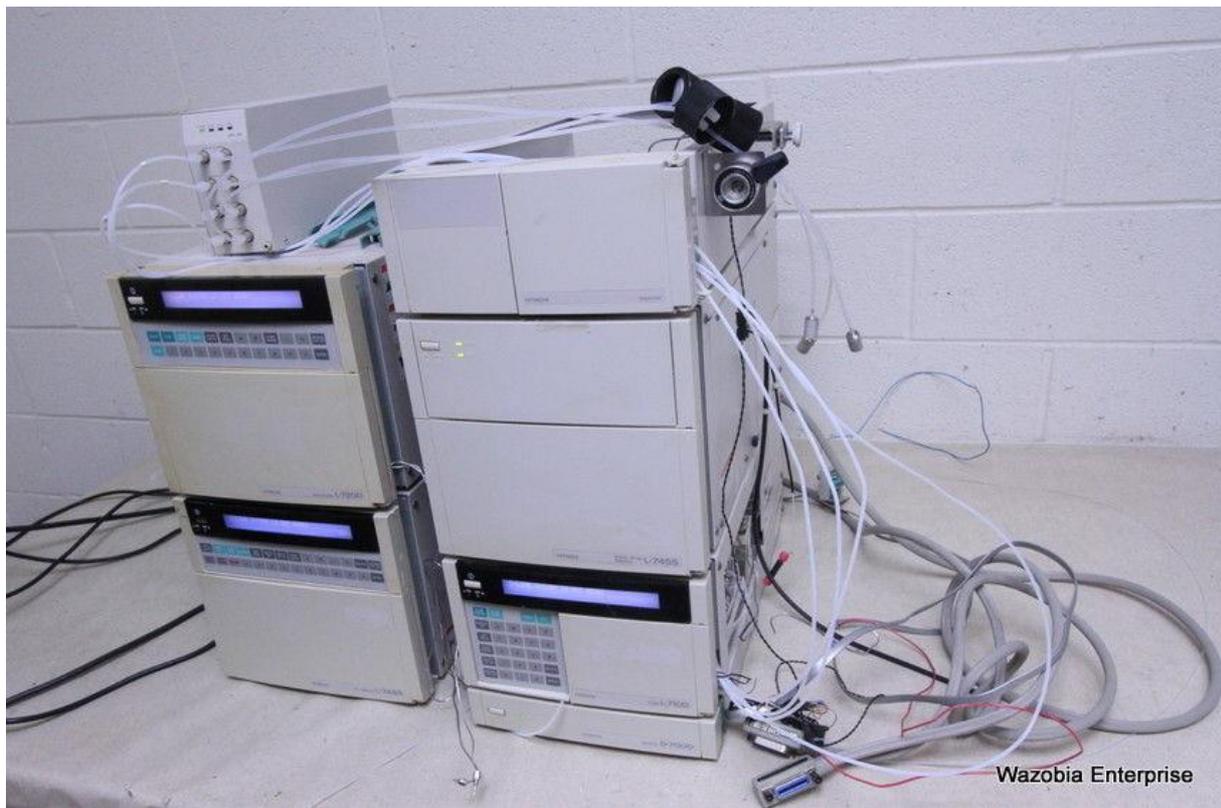


Figure 4 : Exemple de machine D'HPLC : modèle HITACHI 7000 SERIES HPLC CHROMATOGRAPHY L-7200 L-7100 D-7000 L-7455 L-748.

Une question fondamentale est de savoir si les différentes techniques de dosage de l'iohexol affecteront les résultats du DFG, comme cela a été montré pour d'autres marqueurs comme l'inuline ou l'iothalamate [59, 60].

Les données récentes suggèrent une concordance élevée entre les concentrations d'iohexol et la clairance de plasma mesurées par HPLC-UV ou LC-MS/MS chez 102 insuffisants rénaux et sujets sains, mais une correction d'un facteur de 10% doit être appliquée systématiquement [61]. D'autres auteurs ont effectué une comparaison inter-laboratoire de la mesure de l'iohexol. Chez 20 patients en pédiatrie, ils ont comparé les concentrations d'iohexol (Gamme 15-700 µg / mL) mesurées par LC-MS / MS aux États-Unis avec celles déterminées sur les mêmes échantillons par HPLC-UV par un laboratoire européen de référence en Italie. La concordance entre les deux méthodes était très élevée pour les concentrations d'iohexol et les résultats de DFG (différence de <10% entre les deux laboratoires, à l'exception d'un patient) [62]. D'autres recherches sont encore nécessaires pour conclure de l'effet de la méthode de mesure (HPLC ou LCMS /MS) sur les résultats de clairance de l'iohexol.

Deux points analytiques très importants devraient être mis en évidence, en discutant de la mesure du GFR par iohexol. Premièrement, l'iohexol est parfaitement stable à température ambiante, -20 ° C et -80 ° C [36, 63].

Les échantillons peuvent être prélevés dans n'importe quel centre de soins puis acheminés vers un laboratoire spécialisé. La forte stabilité de l'iohexol est un facteur majeur avantageux par rapport aux méthodes isotopiques qui peuvent être effectuées uniquement dans des unités de médecine nucléaire et pour lesquelles des échantillons sont difficiles à stocker.

Deuxièmement, il existe des programmes d'assurance qualité dans plusieurs laboratoires en Suède

Des échantillons de plasma avec de l'iohexol ajouté sont distribués aux différents laboratoires participants, ce programme comprend à la fois des mesures par HPLC-UV et LC-MS / MS et chaque laboratoire peut comparer ses résultats propres à celle des autres laboratoires participants. En 2015, 35 laboratoires ont participé à ce programme. Entre les laboratoires, la reproductibilité pour chaque enquête était de ~ 5% [coefficient de variation (CV)]. Analyse de variance calculée à partir d'une distribution répétée dans un laboratoire interne, des mêmes pools sur une période de 3 ans produit une reproductibilité de 5%, et la reproductibilité entre laboratoires de 3-4% et une variation totale de 5-7%. L'analyse de l'iohexol est facilement reproductible, à notre connaissance aussi, un tel programme de qualité externe n'existe pas pour les autres marqueurs de DFG.

### 2.3.2 Radiofluorescence ou X-ray fluorescence (XRF)

La mesure de l'iohexol par XRF a été également décrite [45, 66-72], mais nécessite une instrumentation spécifique. Peu d'études ont comparé, ces deux méthodes pour la mesure du DFG [69], mais ces données indiquent que la performance de XRF est inférieure à l' HPLC-UV en raison de sa sensibilité inférieure [67, 71].

### 2.3.3 *Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem* (LC-MS/MS)

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (en anglais Liquid chromatography-mass spectrometry ou LC-MS) est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances.

Mesure de l'iohexol par LC-MS / MS a été décrit récemment par plusieurs auteurs [36, 72-77]. Elle est théoriquement plus sensible et spécifique mais est plus complexe et coûteuse que l' HPLC-UV.

## IV -DISCUSSION

### A-Comparaison des méthodes de mesures

La première étude de l'utilisation de l'iohexol chez l'homme a été publiée en 1980 [78]. Ils ont injecté des doses croissantes d'iohexol (125 à 500 mg I / kg) chez des sujets sains. Dans cette étude, ils ont montré que la substance était sûre et entièrement excrétée par les reins, que l'iohexol n'a pas affecté le DFG et que l'iohexol était distribué dans le volume extracellulaire [30]. Ce modèle de distribution d'iohexol s'applique également aux patients IRC et obèses [30, 32,80-82].

D'autres études ont démontré que l'iohexol n'a eu aucun effet sur le niveau du DFG en soi [78, 83].

#### 1-Comparaison de la mesure du DFG par iohexol a celle par de l'inuline

Dans notre recherche, nous n'avons retrouvé que deux études qui ont comparé les clairances urinaires de l'iohexol et celle de l'inuline [84,85] .

Ces deux études ont montré une très bonne corrélation entre les deux méthodes, mais les outils statistiques utilisés dans les publications originales ont des données limitées et la ré-analysées a montré une concordance moins impressionnante [86]. D'autre part, plusieurs études ont comparé la clairance plasmatique de l'iohexol avec celle de l'inuline urinaire [52,87-91].

En général, ces études ont montré une bonne corrélation les méthodes. Les résultats sont moins précis dans l'étude publiée par Erley et al, du probablement au fait que les patients inclus étaient hospitalisés dans une unité de soins intensifs [89]. La valeur de la clairance plasmatique (Quel que soit le marqueur) dans ce paramètre est probablement discutable, parce que le volume extracellulaire, et par conséquent le volume de distribution du marqueur, est assez variable d'un patient à un autre et chez un même patient du aux changements d' infusions de fluides et

dans la perte ou la séquestration de liquides biologiques dans différents compartiments [89, 92].

Les études publiées par Gaspari et al. Chez les adultes [27] et Berg et al. chez les enfants [90] sont plus pertinentes d'un point de vue méthodologique (voir Tableau 3 pour plus de détails). Ils ont montré un faible biais et une relative bonne précision entre les deux méthodes. Les deux études comprenaient un grand nombre d'échantillons comprenant des prélèvements tardifs (600 et 1440 min), ce point étant important, comme nous le décrirons plus loin [27, 90].

Dans une récente revue de la littérature [86], les auteurs ont regroupé les données de sept

études disponibles comparant l'iohexol (clairance plasmatique ou urinaire) avec le DFG mesuré par l'inuline et le biais médian calculé avec une précision entre 30 et 10%. Pour la clairance urinaire d'iohexol,  $\pm$  écart type moyen du DFG mesuré par l'inuline, était de  $81 \pm 38$  mL / min /  $1,73$  m<sup>2</sup>. Le biais médian (correspondant à la différence médiane entre l'iohexol et l'inuline) était de -7% [intervalle de confiance à 95% (CI): -10 à 0]. La précision commune

Dans les 30% était de 100% (CI non signalé) et la précision dans les 10%, était de 53% (95% (CI):41-70). Pour les études de clairance plasmatique par iohexol, le DFG moyen était de  $66 \pm 40$  ml / min /  $1,73$  m<sup>2</sup>, avec un biais médian de + 3% (IC à 95%: 0 à 6). Et la précision globale à 30% était de 86% (IC 95%: 81 à 91); la précision dans les 10% de 50% (IC 95%: 43-58). Nous sommes d'accord avec les conclusions des auteurs de cette analyse que la clairance urinaire de l'iohexol est suffisamment précise pour refléter la clairance de l'inuline, mais les preuves sont limitées à 47 mesures chez seulement 47 participants, cependant la clairance plasmatique de l'iohexol plus suffisamment précise avec des preuves modérément fortes avec 172 mesures effectués chez 172 participants) [86].

Tableau 3 : Etudes comparant l'iohexol à l'inuline

Références	Taille de l'échantillon	Population	DFG (mL/min/1.73 m2)	Méthodologie	Statistiques	Résultats	commentaires
Lewis [87]	29	Transplantation cardiaque (n = 10) Transplantation cardiaque (n = 11) Donneurs vivants (n = 10)	10–117	In UC Io (XRF) PC: samples at 180 and 240 min	Correlation Regression Ratio	0.86 $I_o = 0.85I_n + 8.79$ $1.09 \pm 0.06$	Haute dose d'iohexol Ratio à 1,36 pour 6 patients avec GFR <20 ml / min
Brown [84]	30	Après chirurgie	10–125	In UC Io (XRF) UC (three collections of 30 min) PC: samples at 180 and 240 min + BM correction	Correlation Regression Ratio	UC 0.986 $I_o = 0.998I_n - 2.31$ PC 0.983 $I_o = 0.947I_n + 4.92$ $1.102 \pm 0.286$	1 patient avec des oedemes Haute dose d'iohexol (10–50 cm3)
Lindblad [88]	46	Enfants	25–150	In UC (n = 54) PC (n = 20) Io (XRF) PC: Prélèvement à 60, 120 and 180 min	Correlation	0.766	Différentes doses injectées Correction pour la première courbe NA Corrélation à 0,822 si un patient Néphrotique exclue

## La Mesure du Débit de Filtration Glomérulaire par l'iohexol

<b>Gaspari [27]</b>	41	IRC	6–160	In UC Iohexol (HPLC) PC: Prélèvement à 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 450 e 600 min AUC samples at 120 and 600 min + BM correction	Correlation Regression BA In – Io	AUC 0.97 $I_o = 0.994I_n + 2.339$ $1.02 \pm 7$ BM 0.982 $I_o = 0.994I_n + 1.809$	4 avaient un oedème Modéré La régression n'est pas différente de Ligne d'identité Résultats chez 20 patients avec (BM): $r = 0.908$ $I_o = 0.852I_n + 4.789$
<b>Erley [89]</b>	31	Unité de soins intensifs	10–130	In UC Io (XRF) PC: Prélèvement à 150, 195, 240 et 360 min (360 si DFGe <30 mL/min)	Correlation Regression BA Io – In	0.98 $I_o = 0.971I_n + 7.65$ $=8.67 \pm 7.21$	Les auteurs ne mentionnent pas comment la clairance plasm a été calculé 9 patients avaient une clairance d'iopromide Au lieu de l'iohexol
<b>Berg [90]</b>	60	Enfants IRC	5–180	In UC Io (HPLC) PC: Prélèvement à 180, 200, 220, 240, 420 and 1440 min (420 si DFGe entre 20 et 50 mL/min et 420 et 1440 si DFGe <20 mL/min)	Correlation Regression BA (PC – In) Précision Dans les 30%	Inuline 0.921 $PC = 0.9I_n + 9.72$ $2.65 \pm 16.26$ 83.3% Iohexol PC 0.659.6	Le DFG moyen n'est pas significativement Différent Intraclass coefficient of correlation: 0.92

AUC, area under the curve; BA, Bland and Altman (bias  $\pm$  standard deviation). BA calculated means that BA results have recalculated from data available in the article. BM, Brochner-Mortensen; HPLC, high performance liquid chromatography; In, inulin; Io, iohexol; NA, not available; PC, plasma clearance; UC, urinary clearance; XRF, X-ray fluorescence. All GFR results are in mL/min or in mL/min/1.73m<sup>2</sup>.

### 2- Etudes comparant l'iohexol à d'autres marqueurs

Le 51Cr-EDTA est l'une des méthodes les plus précises pour la mesure du DFG [86,98,99]. Plusieurs auteurs ont étudié la concordance entre la mesure du DFG par le 51Cr-EDTA et l'iohexol [30,34, 56, 66, 63, 67, 70, 93, 94,95, 96-98]. Parmi ces études, cinq auteurs ont analysé leurs données par la méthode de Bland-Altman, ce qui a permis de limiter le biais (entre 0 et 4 ml / min) et de fournir une excellente précision (95% des résultats entre 8 et 16 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup>) [56, 67, 70, 94, 98]. Ainsi sur la base de ces résultats, on peut conclure que la clairance plasmatique de l'iohexol est concordante avec la clairance plasmatique de 51Cr-EDTA.

Seules quelques études ont comparé le 99Tc-DTPA avec l'iohexol et la majorité avec des méthodologies douteuses [64, 66, 68, 87, 101]. Une étude menée chez 21 patients diabétiques a montré une bonne corrélation, avec un biais de l'ordre de (4 ml / min) et précision acceptable pour la clairance plasmatique de l'iohexol et 99Tc-DTPA [68].

L'iothalamate, est le marqueur de DFG le plus utilisé aux États-Unis, nous avons repertorié cinq études dans la littérature qui ont comparé les deux marqueurs [32, 36, 61, 81, 102].

Deux études réalisées chez des personnes en bonne santé, ont montré un biais constant et plus élevé, avec la clairance à l'iothalamate [32, 102].

Une, comprenait des patients atteints maladies rénales chroniques sévère mais les résultats étaient peu fiables, car les analyses statistiques n'étaient pas adéquates [81].

Dans une autre étude récente, les auteurs ont comparé les clairances urinaires de l'iohexol et celles de l'iothalamate chez 150 receveurs de transplantation rénale. Contrairement à la majorité des autres études, l'iohexol a été mesuré par LC-MS /MS et Les investigateurs ont constaté que la clairance urinaire d'iothalamate était plus élevé (+ 15%, avec un biais constant) [36].

Enfin, et coll ont étudié la clairance plasmatique de l'iohexol et de l'iothalamate chez 102 patients, ils ont trouvé une bonne concordance entre l'iothalamate et l'iohexol mesurée par HPLC, alors que l'iothalamate était systématiquement surestimé (de 10%) par rapport à l'iohexol par la méthode de spectrométrie de masse [61].

Tous les résultats convergent, dans le sens où la clairance mesurée par l'iothalamate donne des résultats plus élevés que l'iohexol. Selon Seegmiller et al. Il existe différentes explications théoriques

Pour cette divergence serait la réabsorption tubulaire de l'iohexol, la sécrétion tubulaire d'iothalamate ou la liaison de l'iohexol aux protéines [36]. Cependant, parmi ces hypothèses, seule la sécrétion tubulaire de iothalamate a été bien décrite dans la littérature [42, 43]. Ces raisons font que l'iohexol est un meilleur marqueur du DFG que l'iothalamate, du fait que sa sécrétion tubulaire fait qu'il conduit à la surestimation du DFG.

### 3-Mesure urinaire ou plasmatique du DFG ?

L'iohexol est injecté sous forme de bolus que ce soit pour la détermination de la clairance urinaire ou celle plasmatique [34, 85, 103].

Plusieurs publications ont comparé les clairances urinaires et plasmatiques de l'iohexol [31, 75, 84, 85, 103, 104, 105, 106].

La plupart des études ont trouvé que les clairances plasmatiques étaient plus élevées que celles urinaires.

Deux points importants sont à souligner, tout d'abord, le moment du dernier échantillon de plasma lors de prélèvements multiples, plus il est tardif, plus la concordance entre la clairance urinaire et plasmatique s'améliore. Cela est particulièrement vrai quand le DFG est très bas [75, 106, 107]. Par conséquent, chez tous les patients atteints de maladie rénale chronique (c.-à-d. DFG <45 mL / min), il devrait être recommandé d'étendre l'échantillonnage au plasma jusqu'à 5, 6 ou même 8 h après l'injection.

Gaspari et al. ont étudié le DFG dans une cohorte de patients atteints d'IRC (DFG <40 mL / min) un échantillon plasmatique était prélevé chaque heure jusqu'à 8 h et le DFG a été calculée en utilisant tous les échantillons disponibles ou en utilisant uniquement ceux recueillis jusqu'à 5 h après injection d'iohexol. Les auteurs ont montré que le DFG était surestimée en moyenne de 7% par rapport au DFG mesuré à 8 h. Un échantillon supplémentaire après 24 h a été recommandé par certains groupes au stade 5 de l'insuffisance rénale [105, 75]. Ce qui n'est cependant pas toujours facile à mettre en œuvre en pratique clinique quotidienne. Cette approche a été mise en doute, en cause la variation nyctéméral du DFG [108, 109, 110].

Deuxièmement, la clairance urinaire est la seule option dans des situations cliniques particulières (3<sup>ème</sup> secteur) où la distribution des marqueurs prend plusieurs jours.

Il est alors recommandé une approche pragmatique lors du choix de la méthode de mesure du DFG : si la clairance urinaire peut être la méthode la plus physiologique et la plus précise pour mesurer la capacité de filtration du rein, il prend du temps et est sujet à des erreurs à cause de la difficulté de la collecte des urinaires. La méthode de la clairance plasmatique reste le meilleur compromis entre le physiologique et la faisabilité pratique, tant dans la routine clinique que dans la recherche [par exemple: REIN (Ramipril Efficacy In Nephropathy), REIN-2 : DEMANDE (Developing Education on Microalbuminuria for Awareness of Renal and Cardiovascular Risk in Diabetes) et ALADIN (A Long-Acting Somatostatin on Disease Progression in Nephropathy due to Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease)] [111- 114].

La surveillance de la clairance plasmatique est beaucoup moins lourde et coûteuse, en particulier chez les personnes âgées, les diabétiques, les patients présentant une dysfonction vésicale et les enfants pour lesquels la collecte d'urine reste difficile [115, 116]. Ces limites sont communes pour tous les marqueurs du DFG.

Le sondage vésical a été utilisé dans de petites études, mais ne pourrait évidemment pas être utilisé en clinique ni dans la recherche.

Il pourrait y avoir une limitation potentielle de la clairance urinaire à l'iohexol, car certains auteurs ont effectivement émis l'hypothèse que la mesure de l'iohexol dans les urines pourrait poser un problème de calcul matriciel. Cet effet matriciel reste cependant purement spéculatif car d'autres auteurs n'ont pas retrouvé ce problème, en quantifiant l'iohexol dans l'urine. Ce point est donc un

sujet de débat et des études supplémentaires seraient nécessaires pour départager les points de vue [106].

#### 4- Un choix pragmatique

Le choix de la procédure (clairance urinaire ou plasmatique, timing entre les prélèvements ou le nombre d'échantillons de plasma) dépendra des ressources humaines et financières de l'expertise et expérience spécifique à chaque centre.

Le choix de la procédure peut dépendre aussi de la raison ou du contexte de la mesure du DFG.

Pour les études de population et la surveillance de la fonction rénale dans de grandes cohortes de patients l'échantillon unique serait la technique de choix. Les prélèvements multiples seraient plus efficaces pour surveiller les changements du DFG chez un même patient au fil du temps.

Dans le tableau 4, quelques suggestions pour le choix de la méthode de mesure du DFG selon le contexte clinique :

Ce tableau représente un consensus basé sur l'opinion d'auteurs sous cités.

Toutes ces méthodes, permettent de faire une bonne mesure du DFG et devraient être considéré comme meilleur reflet du «DFG» mieux que n'importe quelle équation basée sur la créatinine sérique et / ou la cystatine C, car ces biomarqueurs sont influencé par d'autres déterminants.

Table 4 : choix de la méthode de mesure du DFG selon le contexte clinique :

Méthodologie	Indication en pratique clinique	Indication en recherche clinique	Bibliographic
Clairance Urinaire	Augmentation du VEC (oedème, ascites, SI, etc.)	Basic (physiologic) études de populations spécifiques (cirrhotiques, SI, Syn neph, oedemes, etc.)	[88, 73, 117, 118]
Clairance Plasmatique Plusieurs échantillons (1 <sup>er</sup> ou rapide, second ou phase lente de la courbe exponential et calcul de l'aire sous la courbe.)	Valeur DFG haut (hyperfiltration)	Développement des équations d'estimation du DFG dans des études chez des patients qui présentent une hyperfiltration .	[27, 94, 119]
Plusieurs échantillons pour la 2 <sup>e</sup> et phase lente (2 h après injection, 4 Echantillons apres 5 ou 6 h, 1 échantillon/h) + BM correction	Haute précision	Développement des équations d'estimation du DFG en recherche Clinique.	[111, 120]
Idem + échantillons tardifs (8 h or 24 h)	Pré-dialysés	Recherche chez les IRC en pré-dialyse	[27, 75]
2 ou 3 échantillons (2 : 1 <sup>er</sup> à 2 ou 3 h le second à 4 or 5 h) + BM correction	IRC ou sujets sains	Développement des équations d'estimation du DFG.	[67, 99]
Un échantillon + Jacobsson correction [128]	IRC ou sujets sains	Développement des équations d'estimation du DFG en recherche clinique et Epidémiologie.	[122, 121]

### 5-Le besoin d'une méthode standardisée

De nombreux marqueurs existent pour mesurer le DFG, et pour chaque marqueur, différents protocoles ont été décrits, cependant la normalisation est une étape nécessaire pour la standardisation de la mesure du DFG [123, 124].

Chose qui, n'est pas facile, car il a fallu des années pour normaliser la mesure d'un paramètre biologique simple comme la créatinine sérique [125-127].

Aujourd'hui, la mesure de l'iohexol par HPLC-UV est la mesure la plus utilisée et probablement celle qui présente le meilleur équilibre entre la sensibilité - spécifique et le coût. D'un point de vue analytique, les conditions d'application du programme de compétence (contrôle de qualité externe), et de la stabilité de l'iohexol en font deux avantages clés pour ce marqueur. Deuxièmement, nous avons besoin d'une standardisation concernant le marqueur utilisé. Nous ne remettons pas en question l'exactitude des méthodes isotopiques pour la mesure la GFR, mais, par nature, ces méthodes sont difficiles à mettre en œuvre, par conséquent, ils restent limités aux unités de médecine nucléaire. La clairance de l'iothalamate surestime le DFG réelle en raison de la sécrétion tubulaire. Un autre problème majeur avec l'iothalamate est son manque de disponibilité, notamment en Europe. L'inuline quant à elle, est chère et ne peut être utilisé qu'avec des protocoles urinaires.

Tous ces aspects font de l'iohexol le meilleur marqueur pour l'évaluation du DFG, en faveur une meilleure accessibilité, un moindre coût, une faisabilité plus simple et une sécurité.

«La mesure de la GFR est lourde et coûteuse» est une phrase qui est rapportée par de nombreux auteurs, pour justifier l'utilisation du DFG estimée. Il serait contre-productif d'affirmer que la mesure du DFG est aussi simple que la

mesure de la créatinine ou de la cystatine C. Cependant, le DFG mesuré est une méthode de référence.

Et par conséquent, devrait être comparé à d'autres méthodes de référence en pratique médicale, comme la troponine qui est un paramètre biologique clé pour les cardiologues.

Cependant, la sensibilité de la troponine pour détecter l'infarctus du myocarde, mais aussi pour prédire la mortalité n'a toutefois pas remis en question la pertinence de l'angiographie coronarienne comme méthode de référence. La comparaison pourrait être poursuivie, notamment en ce qui concerne les termes «lourds» et «coûteux». Comme la mesure du DFG par la clairance plasmatique de l'iohexol, peut être simplifiée, tout en conservant un degré élevé de précision. En effet l'iohexol est disponible partout dans le monde et fourni sous le nom commercial Omnipaque® ou Accupaque® (240 ou 300 mg I / mL) en Europe. Différentes bouteilles d'iohexol existent et le prix d'une bouteille de 20 cm<sup>3</sup> (à utiliser pour deux ou quatre patients, si 5 ou 10 cm<sup>3</sup> sont injectés) est d'environ 10 euros en Belgique.

Avec le prix de la mesure par HPLC, et en fonction du nombre d'échantillons, la procédure globale coûterait entre 100 et 200 euros par patient. Ce coût est comparable à celui d'autres procédures en médecine, comme le scanner par exemple. L'innocuité des protocoles d'iohexol est également supérieure à celui des autres méthodes de référence en médecine comme la coloscopie ou la coronarographie. Selon les caractéristiques de l'iohexol, nous pensons que l'iohexol plasmatique est clairement la meilleure alternative pour avoir la même méthode standardisée pour la mesure du DFG.

## B- Aspects pratiques de l'utilisation de l'iohexol

### 1-Rôle de l'iohexol en pratique Clinique

Comme nous l'avons relevé plus haut et comme statué dans les KDIGO, des tests supplémentaires pour l'évaluation du DFG sont nécessaires dans des populations spécifiques où les équations basées sur la créatinine sont peu fiables, car elle dépend largement de la masse musculaire [129, 130]. La cystatine C peut être utilisée comme alternative, mais elle est influencée par d'autres facteurs qui sont l'obésité, la dysfonction thyroïdienne ou les facteurs de risque cardiovasculaire [131-136].

Ainsi, la mesure du DFG est recommandée pour des patients avec une masse musculaire très importante ou au contraire très faibles ou une composition corporelle particulière, tels que les patients transplantés, anoréxiques, cirrhotiques, ou obèses [137, 138-143]. Même si, dans la pratique quotidienne, des mesures répétées du DFG dans ces groupes de patients n'est pas réalisable, au moins une mesure du DFG permettrait d'avoir la relation entre la créatinine sérique (ou la cystatine C du plasma) et le «vrai» niveau du DFG.

Le DFG mesuré est le seul test disponible pour certifier de l'atteinte de la fonction rénale, et est donc le moyen le plus approprié pour stadifier le degré de la maladie rénale chronique. Aussi dans des études longitudinales, les auteurs ont décrit les limites des équations d'estimation du DFG pour évaluer de manière adéquate le véritable déclin de la fonction rénale [143-146]. Une autre indication pour la mesure du DFG serait le cas où une valeur exacte du DFG est requise [4]. Les deux exemples typiques sont la détermination du DFG chez un donneur de rein vivant, ou avant de prescrire un médicament hydrosoluble potentiellement toxique avec une fenêtre thérapeutique étroite, comme c'est le cas avec les aminoglycosides ou le cisplatine [147-150].

Aussi sans la mesure du DFG, certaines situations pathologiques en néphrologie resteraient non diagnostiqués, comme c'est l'exemple typique de l'hyperfiltration. Un DFG anormalement élevé correspond à une hyperfiltration, et il a été établie, comme l'étape initiale physiopathologique de la néphropathies diabétique et serait également un marqueur de néphropathie débutante chez les patients obèses, ou présentant un syndrome métabolique [25, 26]. Fait important, les données suggèrent qu'un traitement initié à ce stade par un inhibiteur de l'enzyme de conversion ou un antagoniste des récepteurs de l'angiotensine pourraient être bénéfiques [27, 28]. cependant, il est bien admis que l'hyperfiltration ne peut être dépisté qu'avec une mesure du DFG, car toutes les équations d'estimation sont peu performants dans cette situation [16, 17, 22].

### 2-Role de la mesure du DFG par iohexol en épidémiologie Clinique

La mesure du DFG a été également réalisé dans de grandes études épidémiologiques. Comme c'est le cas dans les études suivantes : CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort), BIS (Étude d'initiative de Berlin), AGES-II (Age, Gene / Environment Susceptibility) et RENIS (Renal Iohexol Clearance Survey)

Dans ces quatre grandes cohortes d'observation le DFG a été mesuré par l'iothalamate dans (CRIC) et l'iohexol dans (BIS, AGES-II et RENIS) [29-33].

L'étude RENIS est une étude observationnelle européenne et la mesure du DFG a été répétée tout au long du suivi [26, 31]. L'étude BIS a également mesuré le DFG par la clairance plasmatique à l'iohexol dans une grande cohorte de patients âgés (âge moyen de 79 ans)[32, 34].

Les données de nombreuses études épidémiologiques montrent des prévalences élevés mais différent de la maladie rénale chronique dans la population générale. En outre, le statut de la maladie rénale chronique est associé à une mortalité cardiovasculaires importante [8, 35-38]. Cependant, la grande

majorité de ces études épidémiologiques sont basées sur l'eGFR. Bien que toutes les équations d'estimation basées sur la créatinine et / ou la cystatine C, ont des limites, en particulier à des niveaux élevés du DFG [2, 39, 40]. Aussi, il a été montré que la prévalence de la maladie rénale chronique est largement dépendante de l'équation [Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Versus Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) versus Cockcroft-Gault] et biomarqueurs utilisés (créatinine Versus cystatine C) [37, 41]. Les principales limitations de l'estimation du DFG comprennent les problèmes d'étalonnage des biomarqueurs [42], les différences de performances des estimateurs selon l'âge [43], et le manque de précision dans les valeurs élevées du DFG [2]. Même si les données sont limitées, nous ne pouvons pas exclure que la prévalence de la maladie rénale dans la population générale, définie comme un DFG  $<60 \text{ mL} / \text{min} / 1,73 \text{ m}^2$ , pourrait être surestimé avec un DFG estimé par rapport à celui mesuré DFG [122].

Le risque de mortalité plus élevé associé à une diminution du DFG est un autre sujet brûlant en épidémiologie clinique [129, 159, 167]. Les associations entre le risque cardiovasculaire et la maladie rénale chronique ont été décrites chez la grande majorité des patients. Ce fait pourrait conduire à une confusion ou à des associations faussement positives, car le DFGe inclut des variables telles que le sexe, l'origine ethnique, le poids et l'âge qui sont des facteurs de risque de morbi-mortalité cardiovasculaires et non des déterminants du DFG, Souvent appelé «déterminant non-GFR». L'intervention de ces facteurs dans différentes équations pourrait expliquer les différences dans l'ampleur de l'association entre les résultats cardiovasculaires et le DFGe [168, 169]. Certains auteurs ont suggéré une association plus importante entre la mortalité et l'équation de Cockcroft-Gault par rapport à l'équation MDRD [168]. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait

que l'âge soit utilisé différemment dans l'équation mathématique. L'association entre le DFG et la mortalité varie également avec le biomarqueur considéré. Pour la cystatine C versus la créatinine, un risque accru de mortalité a été constatée, pour un eGFR  $< 85 \text{ mL} / \text{min} / 1.73 \text{ m}^2$  avec la cystatine C, alors qu'avec la créatinine, le risque est augmenté lorsque le DFG était seulement  $< 60 \text{ ml} / \text{min} / 1,73 \text{ m}^2$  [170, 171].

En outre, l'association classique entre le MDRD (ou CKD-EPI) et la mortalité sont en forme de U, avec une mortalité plus élevée pour les valeurs élevées du DFG. Cette association en U n'a pas été trouvée lorsque le calcul était basé sur la cystatine C [159, 167, 172].

Dans l'ensemble, il est pratiquement impossible de savoir si cette association en U de la mortalité et du niveau de DFG serait un artéfact mathématique, ou due à l'hyperfiltration ou due à la sarcopénie (créatinine faussement basse). Le DFG mesuré a récemment été discrédité parce qu'il était insuffisamment capable de prédire la mortalité par rapport aux équations basées sur la créatinine ou la cystatine C [173].

L'utilisation du DFG est cependant la seule façon d'étudier réellement le lien potentiel entre la diminution de la fonction rénale et la mortalité cardiovasculaire et celle globale [131,132, 134, 174-176].

### 3-Role de la mesure du DFG par iohexol en recherche Clinique

Dans les essais en néphrologie, les paramètres cliniques classiques étudiés sont la mortalité, l'insuffisance rénale au stade terminale ou le doublement de la créatinine sérique.

Cependant, ce sont des événements relativement rares qui se développent sur une longue période, en particulier chez les patients à faible risque. Pour cette raison, les études cliniques en néphrologie nécessitent des échantillons de grandes tailles et une longue durée de suivi. Par conséquent, plusieurs auteurs ont proposé des marqueurs de substitution comme le DFG et l'albuminurie qui sont deux marqueurs fiables et simple d'utilisation [177]. Cependant, le DFGe manque de précision, surtout à des niveaux élevés du DFG, et comme mentionné ci-dessus, non seulement il dépend du DFG, mais également d'autres facteurs non DFG inclus dans les équations. Aussi, plusieurs auteurs ont décrit de grands écarts entre les pentes du DFG mesuré et celle du DFGe [143-147].

La majorité de ces études ont montré que la baisse du DFG mesurée était sous-estimé par rapport au DFGe. Pour ces raisons, la détection de différence de pentes de DFG entre deux groupes (par exemple un traité avec une thérapie active et l'autre avec un placebo) nécessite des tailles d'échantillon plus grands avec l'eGFR qu'avec le DFG mesurée.

Un exemple est l'essai du Belatacept chez des patients transplantés rénaux, qui ont montré un bénéfice de la thérapie de Belatacept lorsque le DFG était mesuré, alors qu'une différence non significative a été observée avec un DFGe [178]. Il est important de noter cependant que le nombre de patients dans les trois groupes était relativement faible (n = 32 dans le Groupe belatacept intensif, n = 37 dans le groupe moins intensif, et n = 27 dans le groupe cyclosporine).

Un autre exemple illustratif ,est l' étude ALADIN (A Long-Acting Somatostatin on Disease Progression in Nephropathy due to Autosomal Dominant Polycystic

Kidney Disease)) dans lequel l'efficacité de la somatostatine dans la maladie polykystique rénale a été étudiée. La pente des mesures du DFG était un critère d'évaluation secondaire important. Les auteurs ont montré que la pente de DFG mesuré était significativement différente dans les groupes de traitement (n = 36 et 34 dans le groupe actif et groupe placebo, respectivement) [111]. De tels résultats importants auraient été manqué si seul le DFG estimé avait été utilisé [147]. Un autre étude avec des résultats similaires a été publiés avec le tolvaptan, les auteurs ont également affiché une pente significativement différente avec le DFG après 3 ans de suivi, entre les groupes tolvaptan et placebo, mais ils ont dû inclure 1445 patients pour détecter cette différence significative [179].

Aussi le manque de précision du DFG est particulièrement important dans le contexte de l'adaptation des doses de médicaments [180]. Pour ces raisons, l'agence européenne des médicaments recommande une méthode de mesure précise du DFG en utilisant un marqueur exogène pour l'étude de la pharmacocinétique des médicaments spécialement chez les patients ayant une baisse de la fonction rénale [181].

## V-CONCLUSIONS

Le recours à une méthode de référence pour mesurer le DFG reste incontournable dans certaines situations. C'est typiquement le cas pour des populations où une mesure très précise du DFG est nécessaire (avant un don de rein, avant une chimiothérapie néphrotoxique ou à index thérapeutique étroit, en recherche clinique néphrologique) ou pour les situations où la créatinine et/ou les formules basées sur la créatinine sont particulièrement inadéquates notamment aux âges extrêmes (122,155).

Bien que la mesure du DFG soit le gold standard pour l'évaluation de la fonction rénale, elle reste peu utilisée en néphrologie, car considérée comme contraignante aussi bien pour le personnel soignant que pour les patients.

Cependant, il est bien admis aujourd'hui que la méthode de mesure du DFG par iohexol comparativement aux autres méthodes de mesures reste un bon compromis entre la physiologie et la faisabilité, et comparativement aux méthodes d'estimations usuelles elle reste plus fiable.

Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que la mesure du DFG par iohexol serait le meilleur moyen pour la mise en œuvre d'un protocole de mesure du DFG standardisée applicable à la fois dans la pratique clinique et dans la recherche.

# BIBLIOGRAPHIE

1. KIDOOI clinical practice guidelines for chronic kidney disease:evaluation, classification, and stratification. *A m J Kidney Dis* 2002;39:S1-266.
2. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005;67:2089—100.
3. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985 ; 28 : 830-8.
4. Kasiske B, Keane w. Laboratory assessment of renal disease:clearance, urinalysis, and renal biopsy. In: Brenner BM, Rector FC, editors. *The kidney*. 6th Philadelphia: w.B. Saunders Company; 2000. p. 1129-1164.
5. Sherwood. Appareil urinaire. In : *Physiologie humaine*.- 2ème édition. Paris : De Boeck université, 2006.- pp 405-442.
6. Daroux, C. Gaxatte, F. Puisieux, B. Corman. Vieillesse rénale : facteurs de risque et néphroprotection. *Presse Méd.* 2009 ; 38 : pp 1667-79.
7. Évaluation du débit de filtration glomérulaire, et du dosage de la créatininémie dans le diagnostic de la maladie rénale chronique chez l'adulte . Rapport HAS Décembre 2011.
8. Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique chez l'adulte. Recommandations pour la pratique clinique. Paris: ANAES; 2002.
9. National Kidney Foundation. Clinical practice guideline for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. New York: NKF; 2002.
10. Agence de la biomédecine. Rapport annuel 2008. Réseau épidémiologie et information en néphrologie 2008.  
<http://www.agencebiomedecine.fr/uploads/document/Rapport -REIN-2008.pdf>

- 11 .Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Nahas ME, Astor BC, Matsushita K, *et al.* The definition, classification and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int* 2010.
12. Krummel T, Bazin D, Faller AL, Hannedouche T. Diagnostic, facteurs de risque et traitement de l'insuffisance rénale chronique de l'adulte. *Encyclop Méd Chir Néphrologie* 2011;18-060-A-05.
13. Kernbaum S, Costa JM, Delatour F, Faurisson F, Girod C, Kamoun P, *et al.* Dictionnaire de médecine. Paris: Médecine-Sciences Flammarion; 1998.
14. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16(1):31-41.
15. Klahr S, Levey AS, Beck GJ, Caggiula AW, Hunsicker L, Kusek JW, *et al.* The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. Modification of diet in renal disease study group. *N Engl J Med* 1994;330(13):877-84.
16. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;130(6):461-70.
17. Levey AS, Greene T, Kusek J, Beck G. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine abstract. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:A0828.
- 18 .Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, *et al.* Expressing the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53(4):766-72.

- 19 .Levey AS, Stevens LA, Schmid CH,Zhang YL, Castro AFI, Feldman HI, *et al.*A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*2009;150(9):604-12.
- 20.Dussol B. Différents stades de l'insuffisance rénale chronique :Recommandations. *Immunol Biol Spec* 2011;26(2):55-9.
21. Boutten A. Créatinine. *Encyclop Méd Chir Biologie Clinique* 2010;90-10-0345.
- 22 .Delanaye P, Cavalier E, Mariat C, Maillard N, Krzesinski J. MDRD or CKDEPIstudy equations for estimating prevalence of stage 3 CKD in epidemiological studies: which difference?Is this difference relevant? *BMC Nephrol* 2010;11:8.
23. Tsinalis D, Binet I. Appréciation de la fonction rénale : créatinine, urée et filtration glomérulaire. *Forum Med Suisse* 2006;6:414-9.
- 24 .Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Dosage de la créatinine, état des lieux, notices et tracabilité. Contrôle de marché 2008-2010. <[http://www.afssaps.fr/var/afssaps\\_site/storage/original/application/e12ecef d10cbaad d6c1ff9ada06eda0a.pdf](http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/e12ecef d10cbaad d6c1ff9ada06eda0a.pdf)>
- 25 .Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Rapport du contrôle de marché des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de dosage de la créatinine. Etat des lieux, notices et tracabilité. Version du 17 février 2010 2010. <[http://www.afssaps.fr/var/afssaps\\_site/storage/original/application/e8d696 8887948105b6a7eafbb55bd12f.pdf](http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/e8d696 8887948105b6a7eafbb55bd12f.pdf)>
- 26 .National Kidney Disease Education Program Laboratory Working Group,Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J,Greenberg N, *et al.* Recommendations for improving serum creatinine measurement:a report from the Laboratory WorkingGroup of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem*2006;52(1):5-18.

- 27 .Gaspari F, Perico N, Ruggenenti P, Mosconi L, Amuchastegui CS, Guerini E, et al. Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol JASN*. 1995 Aug;6(2):257–63.
- 28 .Almén T. Experimental investigations with iohexol and their clinical relevance. *Acta Radiol Suppl* 1983; 366: 9–19.
- 29 . Almén T. Development of nonionic contrast media. *Invest Radiol* 1985; 20: S2–S9.
- 30 . Olsson B, Aulie A, Sveen K et al. Human pharmacokinetics of iohexol. A new nonionic contrast medium. *Invest Radiol* 1983;18: 177–182.
- 31 . Schwartz GJ, Furth S, Cole SR et al. Glomerular filtration rate via plasma iohexol disappearance: pilot study for chronic kidney disease in children. *Kidney Int* 2006; 69: 2070–2077.
- 32 . Bäck SE, Krutzen E, Nilsson-Ehle P. Contrast media as markers for glomerular filtration: a pharmacokinetic comparison of four agents. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 247–253.
- 33.Mutzel W, Siefert HM, Speck U. Biochemical-pharmacologic properties of iohexol. *Acta Radiol Suppl* 1980; 362: 111–115 .
- 34.Krutzen E, Bäck SE, Nilsson-Ehle I et al. Plasma clearance of a new contrast agent, iohexol: a method for the assessment of glomerular filtration rate. *J Lab Clin Med* 1984; 104: 955–961 .
- 35.Skinnemoen K. Physicochemical properties and degree of protein binding of iopentol. *Acta Radiol Suppl* 1987; 370: 33–36.
- 36 .Seegmiller JC, Burns BE, Schinstock CA et al. Discordance between iothalamate and iohexol urinary clearances. *Am J Kidney Dis* 2016; 67: 49–55.
- 37 .Cangiano JL, Genuth SM, Renerts L et al. Simplified measurement of glomerular filtration rate. *Invest Urol* 1971; 9: 34–38.

38. Evans JR, Cutler RE, Forland SC. Pharmacokinetics of iothalamate in endstage renal disease. *J Clin Pharmacol* 1988; 28:826–830.
39. Dowling TC, Frye RF, Fraley DS et al. Comparison of iothalamate clearance methods for measuring GFR. *Pharmacotherapy* 1999;19: 943–950.
40. Jagenburg R, Attman PO, Aurell M et al. Determination of glomerular filtration rate in advanced renal insufficiency. *Scand J Urol Nephrol* 1978; 12: 133–137.
41. Brochner-Mortensen J, Rodbro P. Comparison between total and renal plasma clearance of [51Cr] EDTA. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 247–249.
42. Odland B, Hallgren R, Sohtell M et al. Is 125I iothalamate an ideal marker for glomerular filtration? *Kidney Int* 1985; 27:9–16.
43. Zurth C. Mechanism of renal excretion of various X-ray contrast materials in Rabbits. *Invest Radiol* 1983; 19: 110–115.
44. Heron CW, Underwood SR, Dawson P. Electrocardiographic changes during intravenous urography: a study with sodium iothalamate and iohexol. *Clin Radiol* 1984; 35: 137–141.
45. Aurell M. Accurate and feasible measurements of GFR—is the iohexol clearance the answer? *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9:1222–1224.
46. Nilsson-Ehle P, Grubb A. New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int Suppl* 1994; 47: S17–S19.
47. Nilsson-Ehle P. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate: 15 years' experience in clinical practice. *EJIFCC* 2002; 13: 1–5.
48. P. Delanaye et al. filtration rate in clinical practice and research: a review.  
Part 1: How to *measure glomerular filtration rate with iohexol?* *Clinical Kidney Journal*, 2016, vol. 9, no. 5, 682–699.

49. William T. Cooper, *Normal Phase Liquid Chromatography*, Encyclopedia of Analytical Chemistry, 2006.
- 50 Soman RS, Zahir H, Akhlaghi F. Development and validation of an HPLC-UV method for determination of iohexol in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; 816: 339–343.
51. Cavalier E, Rozet E, Dubois N et al. Performance of iohexol determination in serum and urine by HPLC: validation, risk and uncertainty assessment. *Clin Chim Acta* 2008; 396: 80–85.
52. Farthing D, Sica DA, Fakhry I et al. Simple HPLC-UV method for determination of iohexol, iothalamate, p-aminohippuric acid and n-acetyl-p-aminohippuric acid in human plasma and urine with ERPF, GFR and ERPF/GFR ratio determination using colorimetric analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; 826: 267–272.
53. Castagnet S, Blasco H, Vourc'h P et al. Routine determination of GFR in renal transplant recipients by HPLC quantification of plasma iohexol concentrations and comparison with estimated GFR. *J Clin Lab Anal* 2012; 26: 376–383.
54. Luis-Lima S, Gaspari F, Porrini E et al. Measurement of glomerular filtration rate: internal and external validations of the iohexol plasma clearance technique by HPLC. *Clin Chim Acta* 2014; 430: 84–85.
55. Portal AJ, McPhail MJ, Bruce M et al. Neutrophil gelatinase—associated lipocalin predicts acute kidney injury in patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl* 2010; 16:1257–1266.
- 56 Slack A, Tredger M, Brown N et al. Application of an isocratic methanol-based HPLC method for the determination of iohexol concentrations and glomerular filtration rate in patients with cirrhosis. *Ann Clin Biochem* 2014; 51: 80–88.

57. Bäck SE, Masson P, Nilsson-Ehle P. A simple chemical method for the quantification of the contrast agent iohexol, applicable to glomerular filtration rate measurements. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 825–829.
58. Aakhus T, Sommerfelt SC, Stormorken H et al. Tolerance and excretion of iohexol after intravenous injection in healthy volunteers. Preliminary report. *Acta Radiol Suppl* 1980; 362:131–134.
- 59 Delanaye P, Thibaudin L, Souvignet M et al. Comparison of acid and enzymatic methods for inulin dosage: analytical performances and impact on glomerular filtration rate evaluation. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 556–560 .
60. Seegmiller JC, Burns BE, Fauq AH et al. Iothalamate quantification by tandem mass spectrometry to measure glomerular filtration rate. *Clin Chem* 2010; 56: 568–574.
- 61 Delanaye P, Jouret F, Le Goff C et al. Concordance between iothalamate and iohexol plasma clearance. *Am J Kidney Dis* 2016; Feb 2. pii: S0272-6386(16)00021-4. 2016; 68:329–330.
- 62 Vicente FB, Vespa GK, Carrara F et al. Determination of iohexol in human serum by a semi-automated liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *Clin Biochem* 2015; 48: 679–685.
- 63 O'Reilly PH, Brooman PJ, Martin PJ et al. Accuracy and reproducibility of a new contrast clearance method for the determination of glomerular filtration rate. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 293: 234–236
- 64 O'Reilly PH, Jones DA, Farah NB. Measurement of the plasma clearance of urographic contrast media for the determination of glomerular filtration rate. *J Urol* 1988; 139: 9–11.

65. Bäck SE, Nilsson-Ehle P. Re: Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard. *J Urol* 1993; 149: 378.
66. Effersøe H, Rosenkilde P, Groth S et al. Measurement of renal function with iohexol. A comparison of iohexol,  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA, and  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA clearance. *Invest Radiol* 1990; 25: 778–782.
67. Brandstrom E, Grzegorzcyk A, Jacobsson L et al. GFR measurement with iohexol and  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA. A comparison of the two favoured GFR markers in Europe. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1176–1182.
68. Houlihan C, Jenkins M, Osicka T et al. A comparison of the plasma disappearance of iohexol and  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA for the measurement of glomerular filtration rate (GFR) in diabetes. *Aust N Z J Med* 1999; 29: 693–700.
69. Bird NJ, Peters C, Michell AR et al. Reproducibilities and responses to food intake of GFR measured with chromium-70-EDTA and iohexol simultaneously and independently in normal subjects. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1902–1909.
70. Pucci L, Bandinelli S, Penno G et al. Iohexol plasma clearance in determining glomerular filtration rate in diabetic patients. *Ren Fail* 1998; 20: 277–284.
71. Delanaye P, Cavalier E, Froissart M et al. Reproducibility of GFR measured by chromium-51-EDTA and iohexol. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 4077–4078.
72. Lee SY, Chun MR, Kim DJ et al. Determination of iohexol clearance by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 839: 124–129.

73. Annesley TM, Clayton LT. Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for iohexol in human serum. *Clin Chem* 2009; 55: 1196–1202.
74. Denis MC, Venne K, Lesiege D et al. Development and evaluation of a liquid chromatography-mass spectrometry assay and its application for the assessment of renal function. *J Chromatogr A* 2008; 1189: 410–416.
75. Stolz A, Hoizey G, Toupance O et al. Evaluation of sample bias for measuring plasma iohexol clearance in kidney transplantation. *Transplantation* 2010; 89: 440–445.
76. Braselton WE, Stuart KJ, Kruger JM. Measurement of serum iohexol by determination of iodine with inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy. *Clin Chem* 1997; 43: 1429–1435
77. Vicente FB, Vespa G, Miller A et al. Quantification of iohexol in serum by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Methods Mol Biol* 2016; 1383:185–193.
78. Aakhus T, Sommerfelt SC, Stormorken H et al. Tolerance and excretion of iohexol after intravenous injection in healthy volunteers. Preliminary report. *Acta Radiol Suppl* 1980; 362:131–134.
79. Olsson B, Aulie A, Sveen K et al. Human pharmacokinetics of iohexol. A new nonionic contrast medium. *Invest Radiol* 1983;18: 177–182.
80. Friedman AN, Strother M, Quinney SK et al. Measuring the glomerular filtration rate in obese individuals without overt kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2010; 116: c224–c234.
81. Nossen JO, Jakobsen JA, Kjaersgaard P et al. Elimination of the non-ionic X-ray contrast media iodixanol and iohexol in patients with severely impaired renal function. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55: 341–350.

82. Edelson J, Shaw D, Palace G. Pharmacokinetics of iohexol, a new nonionic radiocontrast agent, in humans. *J Pharm Sci* 1984; 73: 993–995.
83. Olofsson P, Krutzen E, Nilsson-Ehle P. Iohexol clearance for assessment of glomerular filtration rate in diabetic pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996; 64: 63–67.
84. Brown SC, O'Reilly PH. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard. *J Urol* 1991; 146: 675–679
85. 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: 278–285.
86. Soveri I, Berg UB, Björk J et al. Measuring GFR: a systematic review. *Am J Kidney Dis* 2014; 64: 411–424.
87. Lewis R, Kerr N, Van Buren C et al. Comparative evaluation of urographic contrast media, inulin, and <sup>99m</sup>Tc-DTPA clearance methods for determination of glomerular filtration rate in clinical transplantation. *Transplantation* 1989; 48: 790–796.
88. Lindblad HG, Berg UB. Comparative evaluation of iohexol and inulin clearance for glomerular filtration rate determinations. *Acta Paediatr* 1994; 83: 418–422.
89. Erley CM, Bader BD, Berger ED et al. Plasma clearance of iodine contrast media as a measure of glomerular filtration rate in critically ill patients. *Crit Care Med* 2001; 29: 1544–1550.
90. Berg UB, Bäck R, Celsi G et al. Comparison of plasma clearance of iohexol and urinary clearance of inulin for measurement of GFR in children. *Am J Kidney Dis* 2011; 57: 55–61.

91. Brown SC, O'Reilly PH. The estimate of glomerular filtration rate during urography. Acceptability of a nonionic contrast medium as a marker of renal function. *Invest Radiol* 1992;27: 774–778.
92. Skluzacek PA, Szewc RG, Nolan CR III et al. Prediction of GFR in liver transplant candidates. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:1169–1176.
93. Rydström M, Tengstrom B, Cederquist I et al. Measurement of glomerular filtration rate by single-injection, single-sample techniques, using <sup>51</sup>Cr-EDTA or iohexol. *Scand J Urol Nephrol* 1995; 29: 135–139.
94. Pucci L, Bandinelli S, PiloMet al. Iohexol as a marker of glomerular filtration rate in patients with diabetes: comparison of multiple and simplified sampling protocols. *Diabet Med* 2001;18: 116–120.
95. Eriksson CG, Kallner A. Glomerular filtration rate: a comparison between Cr-EDTA clearance and a single sample technique with a non-ionic contrast agent. *Clin Biochem* 1991; 24: 261–264.
96. Lundqvist S, Hietala SO, Berglund C et al. Simultaneous urography and determination of glomerular filtration rate. A comparison of total plasma clearances of iohexol and <sup>51</sup>Cr-EDTA in plegic patients. *Acta Radiol* 1994; 35: 391–395.
97. Lundqvist S, Hietala SO, Groth S et al. Evaluation of single sample clearance calculations in 902 patients. A comparison of multiple and single sample techniques. *Acta Radiol* 1997;38: 68–72
98. Bird NJ, Peters C, Michell AR et al. Comparison of GFR measurements assessed from single versus multiple samples. *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 278–288.
99. Brochner-Mortensen J. A simple method for the determination of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; 30: 271–274.

100. Medeiros FS, Sapienza MT, Prado ES et al. Validation of plasma clearance of <sup>51</sup>Cr-EDTA in adult renal transplant recipients: comparison with inulin renal clearance. *Transpl Int* 2009; 22: 323–331.
101. Stake G, Monn E, Rootwelt K et al. The clearance of iohexol as a measure of the glomerular filtration rate in children with chronic renal failure. *Scand J Clin Lab Invest* 1991; 51: 729–734.
102. Bäck SE, Krutzen E, Nilsson-Ehle P. Contrast media and glomerular filtration: dose dependence of clearance for three agents. *J Pharm Sci* 1988; 77: 765–767.
103. Arvidsson A, Hedman A. Plasma and renal clearance of iohexol—a study on the reproducibility of a method for the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50:757–761.
104. Frennby B, Sterner G, Almen T et al. Determination of low glomerular filtration rate using iohexol clearance. *Invest Radiol* 1994; 29 (Suppl 2): S234–S235.
105. 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: 35–46.
106. Shafi T, Levey AS, Inker LA et al. Plasma iohexol clearance for assessing residual kidney function in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2015; 66: 728–730.
107. Frennby B, Sterner G. Contrast media as markers of GFR. *EurRadiol* 2002; 12: 475–484
108. van Acker BA, Koomen GC, Koopman MG et al. Discrepancy between circadian rhythms of inulin and creatinine clearance. *J Lab Clin Med* 1992; 120: 400–410.
109. Koopman MG, Koomen GC, Krediet RT et al. Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci (Lond)* 1989; 77: 105–111.

110. Sirota JH, Baldwin DS, Villareal H. Diurnal variations of renal function in man. *J Clin Invest* 1950; 29: 187–192.
111. Caroli A, Perico N, Perna A et al. Effect of longacting somatostatin analogue on kidney and cyst growth in autosomal dominant polycystic kidney disease (ALADIN): a randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2013; 382:1485–1495.
112. Ruggenti P, Perna A, Loriga G et al. Blood-pressure control for renoprotection in patients with non-diabetic chronic renal disease (REIN-2): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 939–946.
113. Ruggenti P, Perna A, Gherardi G et al. Renal function and requirement for dialysis in chronic nephropathy patients on long-term ramipril: REIN follow-up trial. Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia (GISEN). Ramipril Efficacy in Nephropathy. *Lancet* 1998; 352:1252–1256.
114. Ruggenti P, Lauria G, Iliev IP et al. Effects of manidipine and delapril in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus: the delapril and manidipine for nephroprotection in diabetes (DEMAND) randomized clinical trial. *Hypertension* 2011; 58: 776–783.
115. Ebert N, Loesment A, Martus P et al. Iohexol plasma clearance measurement in older adults with chronic kidney diseasesampling time matters. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30:1307–1314.
116. Ng DK, Schwartz GJ, Jacobson LP et al. Universal GFR determination based on two time points during plasma iohexol disappearance. *Kidney Int* 2011; 80: 423–430.
117. Henriksen UL, Henriksen JH. The clearance concept with special reference to determination of glomerular filtration rate in patients with fluid retention. *Clin Physiol Funct Imaging* 2015; 35: 7–16.

118. Delanaye P, Cavalier E, Morel J et al. Detection of decreased glomerular filtration rate in intensive care units: serum cystatin C versus serum creatinine. *BMC Nephrol* 2014; 15: 9.
119. Schaeffner ES, Ebert N, Delanaye P et al. Two novel equations to estimate kidney function in persons aged 70 years or older. *Ann Intern Med* 2012; 157: 471–481.
120. Ruggenti P, Porrini EL, Gaspari F et al. Glomerular hyperfiltration and renal disease progression in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35: 2061–2068.
121. Björk J, Grubb A, Sterner G et al. Performance of GFR estimating equations stratified by measured or estimated GFR: implications for interpretation. *Am J Kidney Dis* 2015; 66: 1107–1108.
122. Eriksen BO, Mathisen UD, Melsom T et al. Cystatin C is not a better estimator of GFR than plasmacreatinine in the general population. *Kidney Int* 2010; 78: 1305–1311.
123. Hsu CY, Propert K, Xie D et al. Measured GFR does not outperform estimated GFR in predicting CKD-related complications. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1931–1937.
124. Kwong Y-T, Stevens LA, Selvin E et al. Imprecision of urinary iothalamate clearance as a gold-standard measure of GFR decreases the diagnostic accuracy of kidney function estimating equations. *Am J Kidney Dis* 2010; 56: 39–49.
125. Piéroni L, Delanaye P, Boutten A et al. A multicentric evaluation of IDMS-traceable creatinine enzymatic assays. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 2070–2075.
126. Brochner-Mortensen J. Routine methods and their reliability for assessment of glomerular filtration rate in adults, with special reference to total [51Cr]EDTA plasma clearance. *Dan Med Bull* 1978; 25: 181–202.

127. Groth S, Aasted M. <sup>51</sup>Cr-EDTA clearance determined by one plasma sample in children. *Clin Physiol* 1984; 4: 75–83.
128. Jacobsson L. A method for the calculation of renal clearance based on a single plasma sample. *Clin Physiol* 1983; 3: 297–305.
129. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3: 1–150.
130. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992; 38: 1933–1953.
131. Schei J, Stefansson VTN, Mathisen UD et al. Residual associations of inflammatory markers with eGFR after accounting for measured GFR in a community-based cohort without CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016; 11: 2802–2886.
132. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D et al. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 2004; 65:1416–1421.
133. Coresh J, Selvin E, Stevens LA et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA* 2007; 298:2038–2047
134. Stevens LA, Schmid CH, Greene T et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int* 2009; 75: 652–660.
135. Naour N, Fellahi S, Renucci JF et al. Potential contribution of adipose tissue to elevated serum cystatin C in human obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17: 2121–2126.
136. Fricker M, Wiesli P, BrandleMet al. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003; 63: 1944–1947.
137. Delanaye P, Mariat C. The applicability of eGFR equations to different populations. *Nat Rev Nephrol* 2013; 9: 513–522.

138. Delanaye P, Cavalier E, Radermecker RP et al. Cystatin C or creatinine for detection of stage 3 chronic kidney disease in anorexia nervosa. *Nephron Clin Pract* 2008; 110: c158–c163.
139. Luis-Lima S, Marrero-Miranda D, González-Rinne A et al. Estimated glomerular filtration rate in renal transplantation: the nephrologist in the mist. *Transplantation* 2015; 99:2625–2633.
140. Masson I, Flamant M, Maillard N et al. MDRD versus CKD-EPI equation to estimate glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2013; 95: 1211–1217.
141. Beben T, Rifkin DE. GFR estimating equations and liver disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2015; 22: 337–342.
142. Bouquegneau A, Vidal-Petiot E, Vrtovsnik F et al. Modification of Diet in Renal Disease versus Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation to estimate glomerular filtration rate in obese patients. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28:iv122–iv130.
143. Gaspari F, Ruggenenti P, Porrini E et al. The GFR and GFR decline cannot be accurately estimated in type 2 diabetics. *Kidney Int* 2013; 84: 164–173.
144. Rule AD, Torres VE, Chapman AB et al. Comparison of methods for determining renal function decline in early autosomal dominant polycystic kidney disease: the consortium of radiologic imaging studies of polycystic kidney disease cohort. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 854–862
145. Xie Y, Bowe B, Xian H et al. Rate of kidney function decline and risk of hospitalizations in stage 3A CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 1946–1955
146. Gera M, Slezak JM, Rule AD et al. Assessment of changes in kidney allograft function using creatinine-based estimates of glomerular filtration rate. *Am J Transplant* 2007; 7:880–887.

147. Ruggenenti P, Gaspari F, Cannata A et al. Measuring and estimating GFR and treatment effect in ADPKD patients: results and implications of a longitudinal cohort study. *PLoS One* 2012; 7: e32533.
147. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 2305–2313.
148. Bouquegneau A, Vidal-Petiot E, Moranne O et al. Creatininebased equations for the adjustment of drug dosage in an obese population. *Br J Clin Pharmacol* 2016; 81: 349–361.
149. Pai MP, Nafziger AN, Bertino JS Jr. Simplified estimation of aminoglycoside pharmacokinetics in underweight and obese adult patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:4006–4011.
- 150 Dooley MJ, Poole SG, Rischin D et al. Carboplatin dosing: gender bias and inaccurate estimates of glomerular filtration rate. *Eur J Cancer* 2002; 38: 44–51.
151. Chagnac A, Weinstein T, Korzets A et al. Glomerular hemodynamics in severe obesity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278: F817–F822.
- 152 Melsom T, Schei J, Stefansson VTN et al. Prediabetes and risk of glomerular hyperfiltration and albuminuria in the general nondiabetic population: a prospective cohort study. *Am J Kidney Dis* 2016; 67: 841–850.
153. Brenner BM, Lawler EV, Mackenzie HS. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. *Kidney Int* 1996; 49:1774–1777.
154. Denker M, Boyle S, Anderson AH et al. Chronic Renal Insufficiency Cohort Study (CRIC): overview and summary of selected findings. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 2073–2083.
155. Eriksen BO, Melsom T, Mathisen UD et al. GFR normalized to total body water allows comparisons across genders and body sizes. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1517–1525.

156. Inker LA, Okparavero A, Tighiouart H et al. Midlife blood pressure and late-life GFR and albuminuria: an elderly general population cohort. *Am J Kidney Dis* 2015; 66: 240–248.
157. Schaeffner ES, van der Giet M, Gaedeke J et al. The Berlin initiative study: the methodology of exploring kidney function in the elderly by combining a longitudinal and cross-sectional approach. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 203–210.
158. Hallan SI, Vikse BE. Relationship between chronic kidney disease prevalence and end-stage renal disease risk. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17: 286–291.
159. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010; 375:2073–2081.
160. Brück K, Jager KJ, Dounousi E et al. Methodology used in studies reporting chronic kidney disease prevalence: a systematic literature review. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30: iv6–iv16.
161. Brück K, Stel VS, Gambaro G et al. CKD prevalence varies across the European general population. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27: 2135–2147.
162. Eriksen BO, Tomtum J, Ingebretsen OC. Predictors of declining glomerular filtration rate in a population-based chronic kidney disease cohort. *Nephron Clin Pract* 2010; 115: c41–c50.
163. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150:604–612.
164. Delanaye P, Cavalier E, Moranne O et al. Creatinine- or cystatin C-based equations to estimate glomerular filtration in the general population: impact on the epidemiology of chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 2013; 14: 57.

165. Coresh J, Eknoyan G, Levey AS. Estimating the prevalence of low glomerular filtration rate requires attention to the creatinine assay calibration. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2811–2812.
166. Pottel H, Hoste L, Dubourg L et al. A new estimating glomerular filtration rate equation for the full age spectrum. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 798–806.
167. Hallan SI, Matsushita K, Sang Y et al. Age and association of kidney measures with mortality and end-stage renal disease. *JAMA* 2012; 308: 2349.
168. Sederholm Lawesson S, Alfredsson J, Szummer K et al. Prevalence and prognostic impact of chronic kidney disease in STEMI from a gender perspective: data from the SWEDEHEART register, a large Swedish prospective cohort. *BMJ Open* 2015; 5: e008188.
169. Matsushita K, Mahmoodi BK, Woodward M et al. Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2012; 307: 1941–1951.
170. Shlipak MG, Matsushita K, Arnlov J et al. Cystatin C versus creatinine in determining risk based on kidney function. *N Engl J Med* 2013; 369: 932–943.
171. Delanaye P, Glassock RJ, Pottel H et al. An age-calibrated definition of chronic kidney disease: rationale and benefits. *Clin Biochem Rev* 2016; 37: 17–26.
172. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ et al. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2006; 145: 237–246
173. Hsu CY, Propert K, Xie D et al. Measured GFR does not outperform estimated GFR in predicting CKD-related complications. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1931–1937.
174. Melsom T, Fuskevåg OM, Mathisen UD et al. Estimated GFR is biased by non-traditional cardiovascular risk factors. *Am J Nephrol* 2015; 41: 7–15.

175. Mathisen UD, Melsom T, Ingebretsen OC et al. Estimated GFR associates with cardiovascular risk factors independently of measured GFR. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 927–937.
176. Rule AD, Bailey KR, Lieske JC et al. Estimating the glomerular filtration rate from serum creatinine is better than from cystatin C for evaluating risk factors associated with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2013; 83: 1169–1176.
177. Coresh J, Turin TC, Matsushita K et al. Decline in estimated glomerular filtration rate and subsequent risk of end-stage renal disease and mortality. *JAMA* 2014; 311: 2518–2531.
178. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A et al. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005; 353: 770–781.
179. Torres VE, Chapman AB, Devuyst O et al. Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2012; 367: 2407–2418.
180. Park EJ, Wu K, Mi Z et al. A systematic comparison of cockcroft-gault and modification of diet in renal disease equations for classification of kidney dysfunction and dosage adjustment. *Ann Pharmacother* 2012; 46: 1174–1187.
181. EMA. Guideline on the evaluation of the pharmacokinetics of medicinal products in patients with decreased renal function. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2014/02/WC500162133.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/02/WC500162133.pdf). 2014.