

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA
CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DA ADAPTAÇÃO
FUNCIONAL DO ENXERTO RENAL PELA
DEPURAÇÃO DE INULINA EM
RECEPTORES PEDIÁTRICOS E SUA
RELAÇÃO COM O TIPO DE DOADOR**

TESE DE DOUTORADO

VANDRÉA CARLA DE SOUZA

Porto Alegre, Brasil - 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA
E DO ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DA ADAPTAÇÃO FUNCIONAL DO
ENXERTO RENAL PELA DEPURAÇÃO DE
INULINA EM RECEPTORES PEDIÁTRICOS E
SUA RELAÇÃO COM O TIPO DE DOADOR**

VANDRÉA CARLA DE SOUZA

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Mário Bernardes Wagner

Coorientadora: Clotilde Druck Garcia

Porto Alegre, Brasil, 2015

CIP - Catalogação na Publicação

de Souza, Vandréa Carla

Avaliação da adaptação funcional do enxerto renal pela depuração de inulina em receptores pediátricos e sua relação com o tipo de doador / Vandréa Carla de Souza. -- 2015.

177 f.

Orientador: Mario Bernardes Wagner.

Coorientadora: Clotilde Druck Garcia.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Transplante de rim. 2. Doadores vivos. 3. Adaptação fisiológica. 4. Pediatria. 5. Testes de função renal. I. Bernardes Wagner, Mario, orient. II. Druck Garcia, Clotilde, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA
E DO ADOLESCENTE

Esta tese foi defendida publicamente em:

16 de Junho de 2015,

sendo avaliada pela seguinte banca examinadora:

PROF. DR. PAULO CESAR KOCH NOGUEIRA

Departamento de Pediatria - UNIFESP

PROF. DR. CARLOS EDUARDO POLI DE FIGUEIREDO

Departamento de Medicina Interna- Nefrologia- PUC-RS

PROF. DR. CLÉCIO HOMRICH DA SILVA

Programa de pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente -

UFRGS

DEDICATÓRIA

Às crianças do mundo: que elas reconstruam
o sonho do humanismo, no qual todos
os homens sejam semelhantes.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador, Professor Dr. Mário Bernardes Wagner, por me guiar nesta pesquisa e ensinar os mais diversos tópicos: da análise estatística à construção de banco de dados.

À coorientadora, Professora Dra. Clotilde Garcia, por suas valiosas contribuições no estudo e por servir de inspiração profissional.

Ao professor Dr. Pierre Cochat, chefe do serviço de Nefrologia Pediátrica de Lyon, por gentilmente me receber em seu Serviço, mesmo antes da pesquisa iniciar e facilitar os contatos que tornaram possível minha estadia em Lyon.

À Dra. Laurence Dubourg, chefe do laboratório de exploração funcional renal de Lyon, por idealizar e participar ativamente neste estudo.

À Dra. Muriel Rabilloud por me receber no laboratório de Bioestatística de Lyon para estágio de Doutorado sanduíche, além de participar ativamente nas análises e redação dos artigos.

A Jean Iwaz, profundo conhecedor da língua inglesa, por suas contribuições na redação dos artigos.

A Luciano Selistre, grande parceiro em todos os momentos e também na pesquisa, por sempre incentivar o meu progresso.

À família e amigos, pelo suporte emocional e afetivo recebido.

A CAPES, por proporcionar a bolsa de Doutorado Sanduíche no exterior, sem a qual este estudo não teria sido possível.

EPÍGRAFE

“A sinergia entre enriquecimento e conhecimento desenvolve em níveis inimagináveis os recursos técnicos disponíveis. Infelizmente não avança, na mesma proporção, o acesso das crianças a eles. Na parte rica da sociedade global, em qualquer país do mundo, as crianças nascem ricas e saudáveis; recebem boa alimentação, atendimento médico e cuidados especiais se deles necessitarem; entram e se mantêm na escola; usam modernos recursos educacionais. Chances remotas para as crianças das famílias pobres de qualquer nacionalidade. Quatro em cada cinco crianças do mundo nascem em berços excluídos pela modernidade.”

‘La synergie entre La richesse et les connaissances a fini par porter à un niveau inimaginable les possibilites technologiques disponible ainsi, hélas!, que l’inégalité des chances qui sont offertes aux enfants pour y accéder; em fait, ceux qui sont nés au sein d’une famille appartenant à La partie riche de La société globale – indépendamment du pays concerne – bénéficient de conditions plus favorables de survie dès leur naissance, de rester em bonne santé et d’obtenir de la nourriture et de l’assistance médicale, d’avoir recours à des soins spéciaux em cas de besoin, d’accéder à lécole et d’y accomplir leur cursus, ainsi que d’utiliser la technologie éducative moderne...toutes choses que les enfants issus de la partie pauvre du monde, quel que soit leur pays d’origine –n’auront jamais à leur disposition. Dans notre monde actuel, sur 5 enfants, 4 risquent sérieusement de croupir dans des berceaux exclus par la modernité.’

(Cristovam Buarque e Sebastião Salgado)

RESUMO

Introdução: O conhecimento da função renal é fundamental para o seguimento dos receptores de transplante renal pediátrico. A habilidade do enxerto em adaptar-se a uma demanda aumentada durante o crescimento parece um fator importante para a função do aloenxerto no longo prazo. O estudo tem por objetivo comparar a função do enxerto renal em receptores pediátricos de acordo com o tipo de doador: adulto ou pediátrico e vivo ou falecido.

Metodologia: Examinamos a taxa de filtração glomerular, através da depuração de inulina, em uma coorte pediátrica submetida a transplante renal no período de 2000 a 2010 e a sua associação com as idades do receptor e do doador. Um modelo de classe latente foi utilizado para identificar trajetórias de evolução da função renal pós-transplante. O seguindo passo da análise foi quantificar os efeitos dos fatores de risco na probabilidade de pertencer ao grupo de trajetória de pior evolução.

Resultados: Este modelo identificou três trajetórias de função do enxerto renal após o transplante: “baixa e decrescente”, “moderada e estável” e “alta e decrescente”. A probabilidade de pertencer à trajetória de pior resultado (baixa e decrescente) aumentou com o doador falecido comparativamente ao vivo (*odds ratio* ajustado: 50), com a idade do receptor (*odds ratio* ajustado: 1,2 por ano de vida do receptor) e com a diferença de idade receptor-doador (*odds ratio* ajustado: 1,13 por ano adicional).

Conclusão: O presente estudo identifica três trajetórias de função do enxerto renal após o transplante renal pediátrico. Os achados sugerem que

o doador vivo e o recurso de doadores mais jovens são fatores importantes para a função do enxerto no longo prazo.

Palavras-chave:

Transplante de rim, doadores vivos, adaptação fisiológica, Pediatria, testes de função renal.

ABSTRACT

Introduction: The knowledge of renal function is crucial for the management of pediatric kidney transplant recipients. The graft ability to adapt to an increasing demand during growth is an important factor for long-term allograft function. We aimed to evaluate the long-term progress of glomerular filtration rate in pediatric recipients and the importance of the recipient and donor ages in predicting the risk of poor transplant outcome

Methods: We examined the glomerular filtration rate using inulin clearance in a pediatric cohort who underwent kidney transplantation between 2000 and 2010. A longitudinal latent class modeling technique was used to identify renal function trajectories after transplant. The second step of the analysis was the quantification of the effects of the risk factors on the probability of belonging to the poor outcome trajectory group.

Results: The study identified three trajectories of renal allograft function after pediatric kidney transplantation: “low and decreasing”, “moderate and stable”, and “high and sharply decreasing” trajectories. The observed probability to belong to the poor outcome group (low and decreasing) increased with deceased versus living donor (adjusted odds ratio: 50), with age recipient (adjusted odds ratio: 1,2 per year of recipient ageing), and with the donor-recipient age difference (adjusted odds ratio: 1,13 per additional year).

Conclusion: The present evaluation identified three trajectories of renal allograft function after pediatric kidney transplantation. This result suggests that donor source (living or deceased), age recipient, and age difference

between the donor and the recipient are important factors for long-term allograft function.

Key words: Kidney transplantation, living donors, adaptação fisiológica, Pediatrics, glomerular filtration rate.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estimativa de evolução do enxerto de acordo com o tipo de doador.....	26
Figura 2- Trajetórias de TFG ao longo do tempo de todos os pacientes do estudo sem classificação.....	51
Figura 3- Trajetórias individuais de TFG ao longo do tempo.....	53
Figura 4- Modelo com duas trajetórias de função renal ao longo do tempo	54
Figura 5- Modelo com três trajetórias de função renal ao longo do tempo.....	55
Figura 6. Modelo com quatro trajetórias de função renal ao longo do tempo.....	56
Figura 7- Corresponde à Figura 1 do primeiro artigo em língua Portuguesa: Fluxograma de seleção dos pacientes.....	87
Figura 8- Corresponde à Figura 2 do primeiro artigo em língua Portuguesa: Três grupos de trajetórias de evolução da depuração de inulina ao longo do tempo após 67 transplantes em 67 crianças.....	88
Figura 9- Corresponde à Figura 3 do primeiro artigo em língua Portuguesa: Probabilidade de ser membro do grupo 1 de acordo com as cinco classes de diferença de idade doador- receptor.....	88
Figura 10- Corresponde à Figura 1 do primeiro artigo em língua Inglesa: Patient selection flow diagram.....	109
Figura 11- Corresponde à Figura 2 do primeiro artigo em língua Inglesa: The three groups of change of inulin clearance over time after 67 kidney transplantations in 67 children.....	109

Figura 12- Corresponde à Figura 3 do primeiro artigo em língua Inglesa: Probabilities of Group 1 membership according to the five classes of donor- recipient age difference.....	110
Figura 13- Corresponde à Figura 1 do segundo artigo em língua Portuguesa: Gráficos de Bland - Altman mostrando a diferença média versus a TFG mensurada como padrão ouro.....	137
Figura 14- Corresponde à Figura 1 do segundo artigo em língua Inglesa: Bland and Altman plots showing the bias; i.e., estimated GFR minus measured GFR versus measured GFR as gold standard.....	166

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Equações usadas para estimar a taxa de filtração glomerular em Pediatria.....	40
Tabela 2- Categorias de diferença de idade entre doador e receptor.....	49
Tabela 3- Critério de informação Bayesiana.....	52
Tabela 4- Corresponde à Tabela 1 no primeiro artigo em língua Portuguesa: Características dos pacientes.....	83
Tabela 5- Corresponde à Tabela 2 no primeiro artigo em língua Portuguesa: Efeito das características do enxerto na probabilidade de pertencimento ao grupo 1.....	86
Tabela 6- Corresponde à Table 1 no primeiro artigo em língua Inglesa: Patients characteristics at baseline.....	106
Tabela 7- Corresponde à Table 2 no primeiro artigo em língua Inglesa: Effects of graft characteristics on the probability of belonging to Group 1.....	108
Tabela 8- Corresponde à Tabela 1 no segundo artigo em língua Portuguesa: Equações usadas para estimar a Taxa de Filtração Glomerular	132
Tabela 9- Corresponde à Tabela 2 do segundo artigo em língua Portuguesa: Características dos receptores de transplante renal pediátrico.....	133
Tabela 10- Corresponde à Tabela 3 no segundo artigo em língua Portuguesa: Coeficiente de correlação de concordância, acurácia 10% e acurácia 30% das seis fórmulas usadas para estimar a Taxa de Filtração Glomerular.....	134
Tabela 11- Corresponde à Tabela 4 do segundo artigo em língua Portuguesa: Área sob a curva ROC e percentagens de pacientes bem classificados versus inulina em diferentes pontos de corte de TFGm.....	136
Tabela 12- Corresponde à Table 1 no segundo artigo em língua Inglesa: Equations used to estimate the glomerular filtration rate (eGFR) in mL/min/1.73 m ²	161
Tabela 13- Corresponde à Table 2 no segundo artigo em língua Inglesa: Baseline characteristics of the pediatric kidney transplant recipients.....	162

Tabela 14- Corresponde à Table 3 no segundo artigo em língua Inglesa: Concordance correlation coefficient, 10% accuracy, and 30% accuracy of the six estimating GFR formulas163

Tabela 15- Corresponde à Table 4 no segundo artigo em língua Inglesa: Area under the receiver operating curves and percentages of well-classified patients versus inulin at different mGFR thresholds.....165

LISTA DE ABREVIATURAS

CDC	<i>Complement Dependent Cytotoxicity</i>
CrP	creatinina plasmática
CrU	creatinina urinária
DCE	depuração de creatinina endógena
DCV	doença cardiovascular
DSA	<i>donor-specific HLA antibodies</i>
HLA	antígeno de histocompatibilidade humana
IDMS	espectrometria de massa com diluição isotópica
IIQ	intervalo interquartil
NAPRTCS	<i>North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies</i>
PRA	anticorpos reativos contra painel
TFG	taxa de filtração glomerular
TFGe	taxa de filtração glomerular estimada
TFGm	taxa de filtração glomerular medida
TR	transplante renal
UNOS	<i>United Network for Organ Sharing</i>

SUMÁRIO

1 Introdução.....	19
2 Revisão da literatura.....	21
2.1 O transplante renal.....	21
2.1.1 Sobrevida do receptor.....	22
2.1.1.1 Fatores que influenciam a sobrevida do receptor.....	23
2.1.2 Sobrevida do enxerto.....	24
2.1.2.1 Fatores que influenciam a sobrevida do enxerto.....	24
2.2 Avaliando a função do enxerto.....	29
2.2.1 Filtração glomerular.....	29
2.2.1.1 Como medir a taxa de filtração glomerular	30
2.2.2 Marcadores exógenos de filtração glomerular.....	30
2.2.3 Marcadores endógenos de filtração glomerular.....	32
2.2.3.1 Creatinina plasmática.....	32
2.2.3.2 Cistatina C plasmática.....	34
2.2.4 Estimativas da TFG usando fórmulas matemáticas.....	36
2.2.4.1 Fórmulas matemáticas baseadas em creatinina	36
2.2.4.2 Fórmulas matemáticas baseadas em Cistatina C.....	38
2.2.4.3 Fórmulas pediátricas usando creatinina e Cistatina C.....	38
3 Justificativa.....	41
4 Questão de pesquisa.....	42

5 Hipótese.....	43
6 Objetivos.....	44
6.1 Objetivo central.....	44
6.2 Objetivos específicos.....	44
7 Metodologia.....	45
7.1 População.....	45
7.1.1 Critérios de inclusão.....	45
7.1.2 Critérios de exclusão.....	45
7.2 Protocolo imunossupressor.....	46
7.3 Avaliação da função renal.....	46
7.3.1 Técnica de dosagem da inulina.....	46
7.3.2 Medida da creatinina plasmática.....	47
7.4 Variáveis do estudo.....	48
7.4.1 Variável de desfecho.....	48
7.4.2 Variáveis preditoras.....	48
7.4.3 Co-variáveis.....	48
7.5 Análise estatística.....	50
7.5.1 Análise descritiva.....	50
7.5.2 Identificação de trajetórias de função renal.....	50

7.5.2 Identificação dos grupos.....	57
7.5.3 Quantificação dos efeitos de risco.....	57
7.6 Aspectos éticos.....	58
7 Referências.....	59
9 Resultados- Artigos científicos.....	69
9.1 primeiro artigo versão em língua portuguesa: Trajetorias e preditores da disfunção do aloenxerto após transplante renal pediátrico.....	70
9.2 primeiro artigo versão em língua inglesa: Trajectories and predictors of allograft dysfunction after renal transplantation in children.....	93
9.3 segundo artigo versão em língua portuguesa: Acurácia de diferentes equações de estimação de filtração glomerular em receptores de transplante renal pediátrico.....	115
9.4 segundo artigo versão em língua inglesa: Accuracy of different equations in estimating glomerular filtration rate in pediatric kidney transplant recipients.....	141
10 Considerações finais.....	170
Anexo A: Parecer do comitê de ética francês.....	172
Anexo B: Artigo publicado.....	175

1. INTRODUÇÃO

O transplante renal (TR) é atualmente o tratamento de escolha em crianças com doença renal terminal. Os índices de sucesso melhoraram consideravelmente nas últimas décadas, como reflexo dos avanços cirúrgicos, médicos e imunológicos neste campo (KASISKE *et al.*, 2005). Apesar disso, a taxa de mortalidade em TR pediátrico é 12 vezes superior a da população geral da mesma faixa etária (REES *et al.*, 2007). Embora a taxa de sobrevida no TR pediátrico esteja aumentando, é importante manter uma função do enxerto (taxa de filtração glomerular, TFG) adequada por períodos prolongados, no intuito de acompanhar o crescimento destes pacientes (KASISKE *et al.*, 2005; GERA *et al.*, 2007). Até recentemente somente a sobrevida do enxerto no primeiro ano, mas não a função do enxerto no longo prazo, era o argumento fundamental para decidir quais rins deveriam ser utilizados em receptores pediátricos (PAPE *et al.*, 2006). Nos anos 90, alguns autores relataram redução da sobrevida do enxerto e do paciente quando o TR envolvia doadores muito jovens (<10 anos) ou muito velhos (>70 anos) (ALEXANDER *et al.*, 1994; NEUMAYER *et al.*, 1994; CICCARELLI *et al.*, 1999; BRESNAHAN *et al.*, 2001). Além disso, outros autores mostraram que a função do enxerto (TFG) de doadores pediátricos melhorava ao longo do tempo em receptores pediátricos e adaptava-se ao crescimento corporal, ao passo que a TFG de enxertos de doadores adultos declinava e falhava em acompanhar o crescimento do receptor (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2004; FELTRAN *et al.*, 2014). Desta forma, o número de néfrons funcionantes no enxerto e sua habilidade em adaptar-se ao aumento de demanda durante o crescimento somático

surgem como fatores importantes para seu funcionamento adequado no longo prazo (DUBOURG *et al.*, 1998; DUBOURG *et al.*, 2002).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O TRANSPLANTE RENAL

O TR pediátrico tem muitos aspectos similares aos de adultos, como os protocolos imunossupressores, a creatinina plasmática (CrP) como principal biomarcador utilizado e os mecanismos de rejeição ao enxerto (DHARNIDHARKA *et al.*, 2014). Outros aspectos diferem entre esses dois grupos: os fatores imunológicos, as etiologias da doença renal crônica (DRC), as políticas de alocação de órgãos de doador falecido, as técnicas cirúrgicas e o metabolismo de drogas (DHARNIDHARKA *et al.*, 2014).

A rejeição ao enxerto continua constituindo um grande desafio à imunologia de transplantes. As principais moléculas responsáveis pela resposta alogênica e, conseqüentemente, pela rejeição, são os antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês, *Human Leukocyte Antigen*) do Complexo Principal de Histocompatibilidade ou MHC (do inglês, *major histocompatibility complex*). O MHC é uma família de genes envolvidos na resposta imune, entre eles os genes HLA, que expressarão seus produtos na superfície celular como glicoproteínas de três classes: I, II e III, conforme a região do MHC. Os anticorpos contra HLA geralmente se desenvolvem em associação com exposição a transfusões de sangue, transplante prévio, gestação ou espontaneamente (REES e KIM, 2015). A formação de anticorpos específicos contra antígenos HLA do doador (DSA, do inglês, *donor-specific HLA antibodies*) aumentam o risco de rejeição mediada por anticorpo, diminuição da sobrevida e aumento das taxas de perda do enxerto

(CAMPOS *et al.*, 2006, LEFAUCHEUR *et al.*, 2008). Historicamente, a detecção dos anticorpos HLA era realizada pela técnica de CDC (do inglês, *Complement Dependent Cytotoxicity*) utilizando um painel de linfócitos com especificidades HLA previamente definidas e que representem a tipagem HLA da população; e a sensibilização do paciente era relatada como um percentual de anticorpos reativos contra painel (PRA, do inglês, *Panel Reactive Antibody*). Anticorpos detectados por CDC geralmente são direcionados contra antígenos HLA, mas, ocasionalmente, podem ser direcionados contra antígenos não-HLA. Atualmente, a triagem de anticorpos HLA e DSA é realizada por técnicas mais sensíveis e específicas que o CDC, como os ensaios de fase sólida que utilizam moléculas HLA purificadas e aderidas em placas (ELISA, do inglês, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) ou microesferas (plataforma Luminex®) (TAIT *et al.*, 2013).

2.1.1 Sobrevida do receptor

A sobrevida do paciente transplantado renal pediátrico varia de 70 a 100% em 5 anos, de 75 a 95% em 10 anos, de 83 a 94% em 15 anos e 54 a 86% em 20 anos, respectivamente (REES, 2009). No relatório do estudo americano NAPRTCS (do inglês, *North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies*), as taxas de sobrevida do receptor foram: 98,4%, 97,7%, 96,1%, 94,2% e 92,4% em um, dois, cinco, sete e dez anos pós-transplante, respectivamente (SMITH *et al.*, 2013). As principais causas de morte são: doença cardiovascular (30 a 36%), infecção (24 a 56%) e neoplasia (11-20%) (VAN DAMME-LOMBAERTS *et al.*, 2001;

GROOTHOFF *et al.*, 2002; JOHNSON *et al.*, 2002; HARZALLAH *et al.*, 2004).

2.1.1.1 Fatores que influenciam a sobrevida do receptor

Idade do receptor

A idade do receptor é um fator importante que ainda afeta a sobrevida do mesmo. Dados alemães mostraram que a taxa de mortalidade foi quase duas vezes maior nos pacientes menores de cinco anos do que nos de 6 a 10 anos (GROOTHOFF *et al.*, 2002). A taxa de mortalidade encontrada por Harambat foi o dobro em transplantados menores de três anos de idade, em relação às crianças maiores (HARAMBAT *et al.*, 2013).

Tipo de doador

Os dados da literatura exibem um benefício ligeiramente superior para os doadores vivos em relação aos falecidos (MEHRABI *et al.*, 2004; HARMON *et al.*, 2005; ROSATI *et al.*, 2005; REES *et al.*, 2007). Shapiro e colegas demonstraram que este benefício é mais importante para receptores menores de 2 anos de idade: sobrevida em 5 anos de 86% se doadores vivos e 70% se doadores falecidos (SHAPIRO, 2006). Em contraste, outros autores não encontraram esta diferença na sobrevida do receptor (VITOLA *et al.*, 2013, HARAMBAT *et al.*).

2.1.2 Sobrevida do enxerto

Nas últimas décadas a sobrevida do enxerto em TR pediátrico apresentou uma melhora significativa. A sobrevida do enxerto em 5 anos passou de 59% na década de 1980 para 78% em 2006 e a sobrevida em 10 anos de 47% para 60% (VAN ARENDONK *et al.*, 2014).

2.1.2.1 Fatores que influenciam a sobrevida do enxerto

Muitos fatores influenciando a sobrevida do enxerto renal têm sido identificados, mas a patogênese dessa disfunção não pode ser explicada somente por fenômenos imunológicos e vários fatores de risco independentes têm sido demonstrados. Qualquer tipo de redução da massa renal, por exemplo, poderia ser um desses fatores, o que resultaria em falência de suprimento na demanda metabólica do receptor, levando à perda do enxerto no longo prazo.

Idade do Doador

No passado, rins de doadores pediátricos foram considerados menos adequados do que os de doadores adultos por vários centros de transplantes. A justificativa era embasada em relatos anteriores que sugeriam menor sobrevida do enxerto e maior incidência de trombose vascular (ALEXANDER *et al.*, 1994; NEUMAYER *et al.*, 1994; BRESNAHAN *et al.*, 2001). El-Sabrouh demonstrou redução do risco de trombose vascular e melhora das sobrevidas do enxerto e do paciente em TR pediátrico com

doadores menores de 5 anos de idade (EL-SABROUT e BUCH, 2005). Estudos demonstram que a função do enxerto pediátrico melhora com o passar do tempo e adapta-se ao crescimento nesses pacientes (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 1998; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2006). Isso parece acontecer devido ao maior número de néfrons funcionantes no rim jovem comparado ao rim do doador adulto, no qual uma perda fisiológica de néfrons poderia ter ocorrido. Concomitantemente, rins de doadores adultos transplantados em receptores pediátricos exibem uma redução na TFG pela dificuldade na adaptação funcional ao crescimento (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2013). O enxerto de doadores adultos sofre uma adaptação ao tamanho corporal do receptor pediátrico nos primeiros meses pós-transplante, mas é incapaz de acompanhar as necessidades do crescimento corporal posterior, conforme descrito por Gellert após 6 anos de TR pediátrico (GELLERT *et al.*, 1996). O risco desse processo na sobrevida e função do enxerto tem aumentado o interesse em explorar essa linha de pesquisa (FELTRAN *et al.*, 2010). Pape e colegas não encontraram diferenças na TFG ou na sobrevida do enxerto no primeiro ano após transplante entre os receptores de enxerto pediátrico ou adulto. No entanto, mostraram que a TFG estimada aos 3 e aos 5 anos após transplante era superior em receptores pediátricos de doadores pediátricos, comparados a receptores pediátricos de doadores adultos (PAPE *et al.*, 2006). Feltran e colegas relataram que a massa e a função do enxerto tendem a convergir após um período de 2 anos após o transplante. Encontraram, em 50 crianças transplantadas, que enxertos pequenos aumentavam em volume e função enquanto os de maior volume reduziram

durante o processo de adaptação do órgão ao receptor (FELTRAN *et al.*, 2013). Filler e colegas mostraram sobrevida e função do enxerto equivalentes em receptores pediátricos de doadores menores de 6 anos comparados com doadores mais velhos (FILLER *et al.*, 1997). Isso provavelmente se deveu a maior capacidade adaptativa à demanda durante o crescimento corporal, fator importante para a função renal no longo prazo do TR pediátrico (DUBOURG *et al.*, 2002). Análise do estudo americano NAPRTCS indicou que a sobrevida do enxerto em 3 anos tem melhorado em receptores pediátricos de doadores menores de 5 anos em relação aos demais doadores (MOUDGIL *et al.*, 2011). A utilização de rins pediátricos em receptores pediátricos demonstrou que os enxertos crescem junto com a criança, melhorando a função no decorrer do tempo, ao contrário de rins de doadores adultos (PAPE *et al.*, 2006).

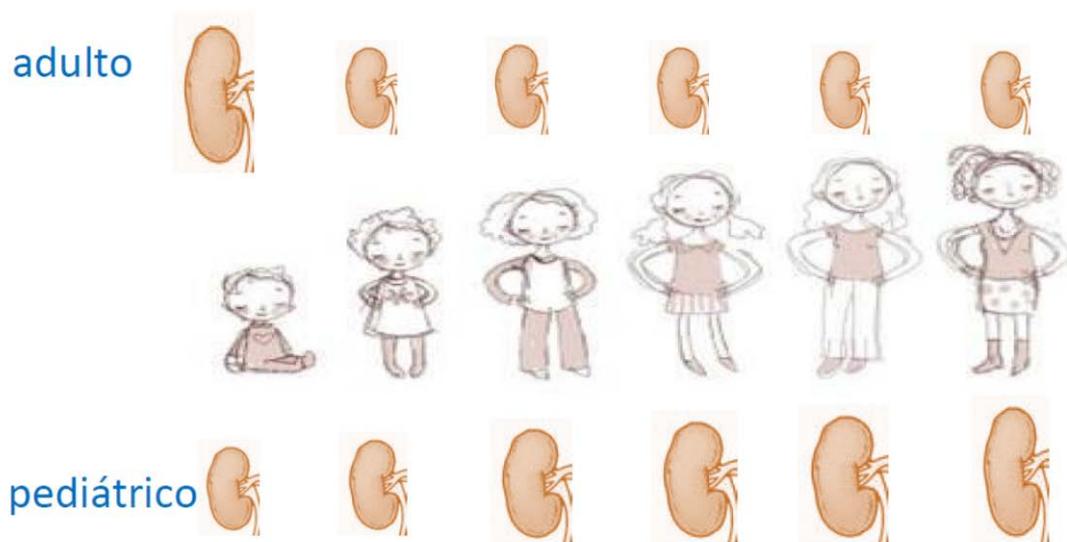


Figura 1- Estimativa de evolução do enxerto de acordo com o tipo de doador. O enxerto proveniente de adultos (acima) tende a reduzir de volume inicialmente para adaptar-se ao tamanho do receptor. O enxerto pediátrico (abaixo) não sofre esta redução e consegue aumentar de tamanho com o crescimento somático das crianças. Fonte: montagem do autor.

Idade do receptor

Receptores renais muito jovens (< 3 anos) têm pior sobrevida do enxerto quando comparados com crianças mais velhas, sendo ainda pior o prognóstico se esses rins são provenientes de crianças também muito pequenas. Isso se deve à alta incidência de trombose vascular, às complicações técnicas e à incidência aumentada de rejeição celular e vascular (REES, 2009).

Tipo de doador

Pitt e colegas encontraram uma sobrevida do enxerto em 5 anos de 87% em receptores de doadores vivos e 58% em doadores falecidos (PITT *et al.*, 2013). Hardy também demonstrou maior sobrevida em transplantes com doadores vivos *versus* falecidos (79 vs 67%) analisando dados do estudo UNOS (do inglês, *United Network for Organ Sharing*) (HARDY *et al.*, 2009). Apesar deste não ser o único fator determinante de sobrevida do enxerto no longo prazo, claramente o doador vivo tem um impacto importante na sobrevida do enxerto em receptores pediátricos. Esta vantagem não se confirma se doador vivo com idade superior a 55 anos (DALE-SHALL *et al.*, 2009). Os receptores pediátricos sensibilizados (PRA> 40%) de doadores falecidos têm sobrevida do enxerto reduzida (GJERTSON e CECKA, 2001). No caso de receptores de doadores vivos, o pico de PRA não tem se mostrado como fator de risco determinante de menor sobrevida do enxerto (ISHITANI *et al.*, 2000). Sendo assim, os transplantes renais pediátricos com doadores falecidos em que ocorre sensibilização

apresentam maior risco para perda do enxerto. Isto justificaria o uso de doadores vivos num primeiro transplante (PITT *et al.*, 2013).

Tempo de isquemia fria

Isquemia fria refere-se ao período de armazenagem fria do enxerto. Inicia-se com a perfusão do líquido de preservação gelado até o momento do ato cirúrgico em que os cliques vasculares são abertos, após as anastomoses. Após o período de isquemia, com privação de oxigênio e nutrientes aos tecidos, segue outro de reperfusão, com reintrodução de oxigênio. A reperfusão pode ser deletéria por significativa produção de radicais livres, que são tóxicos ao parênquima renal (KHALIFEH *et al.*, 2014). O enxerto é submetido a um processo inevitável de isquemia e hipóxia, sendo maior a injúria em doadores falecidos, devido ao maior tempo de isquemia fria e instabilidade hemodinâmica associada ao trauma ou à doença aguda causados pela morte cerebral do doador (KHALIFEH *et al.*, 2014).

Compatibilidade HLA

Quanto maior o número de *mismatch* (incompatibilidade) no sistema de histocompatibilidade, maior o risco de sensibilização (produção de anticorpos HLA) com consequente diminuição da sobrevida do enxerto no longo prazo. Dados do Reino Unido demonstraram um aumento de duas vezes no risco de perda do enxerto associado com dois *mismatches* HLA-

DR em receptores pediátricos. Outros autores não encontraram esta associação (KOUKOULAKIA *et al.*, 2014; HARAMBAT *et al.*, 2013; GRITSCH, *et al.*, 2008). A presença de DSA tem sido associada com rejeição crônica mediada por anticorpo levando à disfunção progressiva e pior sobrevida do enxerto (MIETTINEN *et al.*, 2012). Quinze a vinte por cento dos pacientes desenvolvem DSA 5 anos após o TR e metade destes perderão o enxerto nos cinco anos subsequentes (REES *et al.*, 2015). O risco de desenvolver DSA aumenta com o grau de *mismatch* HLA, particularmente da classe II (DR e DQ). Apesar disso, estudos questionaram a relevância clínica deste achado, por terem descrito adultos com DSA circulante e função do enxerto estável (CLAAS *et al.*, 2010; AUBERT *et al.*, 2009). Miettinen não encontrou associação entre a presença de DSA pós-transplante e pior evolução do enxerto em um grupo de 123 crianças transplantadas (MIETTINEN *et al.*, 2012).

2.2 AVALIANDO A FUNÇÃO DO ENXERTO RENAL

2.2.1 Filtração glomerular

A filtração glomerular ocorre através de três camadas do glomérulo: a parede capilar glomerular, a membrana basal glomerular e os podócitos. A Taxa de Filtração Glomerular (TFG) é definida como depuração de uma substância presente no plasma, eliminada exclusivamente pelos rins e filtrada livremente pelos glomérulos. É expressa como a quantidade desta substância filtrada dos capilares glomerulares renais para a cápsula de Bowman por unidade de tempo. A TFG é igual à soma das TFGs de todos

os néfrons funcionantes, desta forma fornecendo uma medida grosseira do número de néfrons funcionantes. Normalmente, o rim filtra 120mL/min de sangue e o depura de produtos finais do metabolismo proteico enquanto previne a perda de solutos específicos, proteína e os componentes celulares encontrados no sangue (GUYTON e HALL, 2006). A TFG é considerada o melhor índice de função renal, mas não pode ser medida diretamente.

2.2.1.1 Como medir a taxa de filtração glomerular

A técnica mais utilizada para a sua avaliação é a medida da depuração plasmática de certos compostos endógenos ou exógenos pelos rins (SHANNON e SMITH, 1935; STEINBERG *et al.*, 2000; K/DOQI, 2002). Se uma substância em concentração estável no plasma é fisiologicamente inerte, livremente filtrada pelo glomérulo e não é reabsorvida, nem secretada, sintetizada ou metabolizada pelos rins, a quantidade de tal substância filtrada no glomérulo é equivalente à quantidade excretada na urina (FILLER e SHARMA, 2008). A TFG pode ser medida pela técnica de infusão endovenosa contínua de substância exógena, com coletas de urina e sangue com intervalos regulares.

2.2.2 Marcadores exógenos de filtração glomerular

Depuração renal de inulina

A depuração renal de inulina é o padrão ouro de medida da TFG tanto para animais como para o homem. A inulina é um polímero de frutose com peso molecular de aproximadamente 5.200 daltons descoberta em 1934 por Richards ao estudar a reabsorção tubular de água em anfíbios. Logo após, Homer Smith introduziu o conceito de depuração de inulina para medir a TFG (SHANON e SMITH, 1935). Possui todos os atributos de um marcador ideal de filtração glomerular: não se liga às proteínas plasmáticas, distribui-se no fluido extracelular, é livremente filtrada pelos glomérulos, não sofre reabsorção nem secreção pela célula tubular renal (STEINBERG *et al.*, 2000). No método tradicional descrito por Smith, um bolus de inulina é administrado via endovenosa para aumentar a concentração no líquido extracelular e entrar em equilíbrio no plasma. O bolus é seguido por infusões subsequentes por um período de algumas horas até uma concentração constante no plasma ser obtida. Coleções de urina pelo mesmo período são necessárias (SHANON e SMITH, 1935).

A técnica de determinação da TFG por um método padrão ouro como a inulina é complexa, invasiva e tem custo elevado, sendo difícil de realizar na prática diária (BERG *et al.*, 2011).

Outros marcadores exógenos de filtração glomerular

O iohexol é uma alternativa à depuração de inulina, não necessitando de coleta urinária e infusão contínua. O iohexol é um contraste médio não-iônico, de baixa osmolaridade, seguro, com pouca toxicidade e empregado para estudos radiológicos, sendo eliminado exclusivamente por

filtração glomerular. A dissipação do iohexol plasmático segue o padrão de um sistema aberto de dois compartimentos (GASPARI *et al.*, 1995). Berg *et al.* encontraram uma excelente correlação ($r=0,92$) entre iohexol e inulina num grupo de 60 crianças (BERG *et al.*, 2011).

O ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é outro marcador glomerular usado como quelante do cromo 51 (^{51}Cr). Sua depuração plasmática excede a depuração urinária em aproximadamente 6mL/min, especialmente em pacientes com função renal reduzida. Todavia, estudos mostram boa correlação ($r=0,94$) da depuração plasmática de ^{51}Cr -EDTA com a depuração de inulina (REHLING *et al.*, 1984; MEDEIROS *et al.*, 2009).

2.2.3 Marcadores endógenos da função renal

2.2.3.1 Creatinina plasmática

A creatinina é uma pequena molécula de 113,1179 g/mol que não se liga a proteínas plasmáticas e é eliminada principalmente pelos rins em indivíduos com função renal normal. É derivada principalmente do metabolismo da fosfocreatina muscular ou da ingestão de carnes; e a sua produção é diretamente proporcional à massa muscular. A produção de creatinina é maior em homens do que em mulheres e em jovens do que em idosos. Em crianças, a massa muscular aumenta com o crescimento linear e em paralelo aumenta o valor de referência da creatinina. A influência da raça é importante em alguns grupos étnicos como, por exemplo, o negro

americano, que possui maior massa muscular do que o branco. Estas considerações permitem entender a razão da faixa de normalidade tão grande da creatinina plasmática (0,6 a 1,3mg/dL), relatada pela maioria dos laboratórios (DELANAYE *et al.*, 2010).

Depuração de creatinina endógena

A depuração da creatinina endógena (DCE) apresenta boa correlação com a determinação da TFG pela inulina. É diretamente proporcional à geração de creatinina e inversamente proporcional à sua concentração sanguínea. Conceitualmente, ela não preenche os critérios de um marcador ideal da TFG, pois além de ser filtrada, a creatinina é também secretada pelo túbulo proximal, superestimando a TFG. Esta superestimação é maior em valores menores de TFG, podendo chegar a 15-25%. Outro problema é a necessidade de coleta de urina por um período de 24h que pode comprometer o resultado do exame. Sua vantagem é o baixo custo e a ampla disponibilidade nos laboratórios.

A DCE é calculada pela fórmula: $DCE = (CrU \times V) / CrP$, onde CrU é a dosagem da creatinina urinária (mg/dL), V é o volume de urina coletado em 24h e CrP a creatinina plasmática.

Dosagem de creatinina plasmática

Na prática clínica, as determinações da creatinina plasmática (CrP) e da sua depuração em urina de 24 horas são os procedimentos mais

utilizados para a avaliação da TFG (STEINBERG *et al.*, 2000). Entretanto, essas medidas apresentam alguns inconvenientes. Variáveis pré-analíticas, como a perda de urina durante a coleta e a hidratação do paciente bem como a interferência analítica do método de análise, podem prejudicar o uso da CrP. A técnica de *Jaffé* sofre interferência decorrente da presença de bilirrubina, glicose, ascorbato e hemólise, ou substâncias exógenas como as ciclosporinas e cefalosporinas e outros medicamentos e seus metabólitos (K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification, 2002). A desproteinização de amostras e o uso de métodos enzimáticos foram implantados na prática laboratorial para extrair esses interferentes (DELANAYE *et al.*, 2010).

Recentemente, numerosos esforços foram feitos para padronizar os resultados de CrP. O método considerado de referência é a espectrometria de massa com diluição isotópica (IDMS). Os métodos considerados confiáveis são os calibrados neste método ou rastreáveis ao IDMS. Isto tem um impacto prático importante na estimativa da TFG a partir das fórmulas baseadas na CrP (THIENPONT *et al.*, 1995).

2.2.3.2 Cistatina C plasmática

A cistatina C (CisC) é uma proteína endógena de baixo peso molecular que surgiu como um marcador promissor que parecia superar as limitações da CrP (POGE *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2006; FILLER e SHARMA, 2008; MAILLARD *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2011). No entanto, preenche somente alguns critérios de marcador ideal: é produzida a níveis constantes,

é filtrada livremente no glomérulo sem secreção tubular, porém é catabolizada nos túbulos (FILLER *et al.*, 2005).

A CisC é inibidora da proteinase da cistina, que é produzida pela maioria das células nucleadas e está presente em todos os líquidos biológicos em concentrações fisiologicamente relevantes (BOKENKAMP *et al.*, 1998; STICKLE *et al.*, 1998). A concentração média normal desta proteína é de 0,7 mg/L e aumenta proporcionalmente com a diminuição da TFG. Esta alta sensibilidade deve-se ao fato de a CisC ser produzida de forma constante, sem influência dos processos inflamatórios, dieta, massa muscular e sexo (FILLER *et al.*, 1999). Estudos mostram que os níveis de CisC aumentam com a TFG menor que 88 mL/min/1.73m² enquanto a concentração de CrP aumenta com a TFG abaixo de 75 mL/min/1.73m² (LARSSON *et al.*, 2004; FILLER *et al.*, 2005). Não estão descritas rotas extrarrenais de eliminação da CisC.

A técnica de dosagem da CisC utiliza principalmente dois métodos: nefelometria e imunoturbidimetria. Ambas utilizam equipamento que mede o comportamento da luz ao passar por uma solução contendo complexos imunológicos. A principal diferença entre nefelometria e a turbidimetria é que na nefelometria a luz é difundida, ou seja, atravessa a solução, enquanto que na turbidimetria mede-se a luz não difundida (absorvida) (HILLS e TIFFANY, 1980; FLODIN *et al.*, 2006).

Os relatos do valor de CisC como marcador de TFG, particularmente em TR pediátrico, têm sido contraditórios devido à influência da prednisona e dos inibidores de calcineurina na sua concentração (BOKENKAMP *et al.*,

1999; KRIESER *et al.*, 2002). O uso de doses elevadas de corticóides tem sido associado com a elevação nos níveis séricos de CisC, secundário ao aumento da sua produção celular. A disfunção da tireóide, mesmo que leve, pode alterar os seus níveis, sendo reduzidos no hipotireoidismo e elevados no hipertireoidismo.

2.2.4 Estimativas da TFG usando fórmulas matemáticas

Nos consensos de nefrologia, recomenda-se a aplicação de fórmulas matemáticas para estimar a TFG em vez da DCE (KDIGO, 2013) Essas equações propõem-se a minimizar os fatores que interferem na CrP, tais como altura, idade, sexo e método analítico laboratorial. Cada equação foi desenvolvida em populações específicas, sendo difícil extrapolar os resultados para populações diversas.

2.2.4.1 Fórmulas pediátricas baseadas em creatinina plasmática

A precisão das fórmulas baseadas na CrP é diretamente dependente da precisão de medida da CrP, tanto em populações pediátricas quanto adultas (DELANAYE *et al.*, 2010; KDIGO, 2013). Como exemplo, o método de CrP rastreável ao IDMS não permite calcular um valor de TFG pela fórmula de Schwartz-1976 ($k= 0,55$), sendo necessário utilizar a fórmula atualizada ($k=0,413$).

Em 1976, Schwartz e colegas descreveram uma fórmula simplificada de estimação da TFG a partir de uma população de 186 crianças com idades entre 6 meses e 20 anos. Utilizaram a DCE como método de referência para TFG. É importante salientar que as constantes da fórmula foram geradas a

partir de valores de creatinina mensuradas com o método colorimétrico de *Jaffe*. Embora seja simples de utilizar, a fórmula de Schwartz-1976 proporciona estimativas imprecisas e enviesadas da TFG. A fórmula final: **TFGe = k*E/CrP**, onde **TFGe** é a TFG estimada em mL/min/1,73 m², **k** é a constante determinada empiricamente por Schwartz, **E** é a estatura em cm, CrP é medida em mg/dL. Uma análise dimensional de **k** (miligramas de creatinina /100 min×cm×1.73 m²) indica que **k** é equivalente à (U_{Cr} x V) / E, que é diretamente relacionada à excreção urinária de creatinina e proporcional à massa corporal magra. Nesta descrição, encontraram valores de **k** de 0,45 para recém-nascidos a termo, 0,55 para crianças e adolescentes femininas e 0,7 para adolescentes masculinos. Os coeficientes foram determinados através de análise de regressão entre DCE e a relação E/CrS (SCHWARTZ *et al.*, 1976).

Em 2009, o mesmo grupo de Schwartz atualizou a fórmula utilizando uma dosagem de creatinina rastreável ao IDMS, que foi correlacionada fortemente com a TFG mensurada pela curva de desaparecimento do Iohexol. Para isso, utilizaram uma coorte americana de 349 crianças, com uma idade mediana de 10,8 anos (1 a 16) sofrendo de DRC e notável retardo de crescimento (SCHWARTZ *et al.*, 2009). A TFG mediana nesta população foi de 41,3 mL/min/1,73 m² (32,0 à 51,7) e 61% era do gênero masculino.

Em 2012, de Souza e colegas descreveram uma fórmula localmente adaptada, baseada na fórmula de Schwartz (Schwartz-Lyon) em uma população de 360 crianças, sendo possível estabelecer diferentes

coeficientes para sexo e idade. A mesma foi validada numa população externa de crianças suecas (DE SOUZA *et al.*, 2012).

Na população pediátrica, a diretriz KDIGO (do inglês, *Kidney Disease Improving Global Outcomes*) para TR recomenda o uso da fórmula baseada na CrP proposta por Schwartz em 2009, para estimação da TFG (Tabela 1) (PLANCHAMP *et al.*, 2009; SCHWARTZ *et al.*, 2009).

2.2.4.2 Fórmulas pediátricas baseadas em Cistatina C

Em 2003, Hoek e colegas descreveram uma fórmula baseada em CisC a partir de uma população mista de adultos e crianças com idade mediana de 50 anos (11 - 77). A TFG de referência foi determinada com iotalamato, sendo obtida no estudo uma boa correlação da TFG com o inverso da CisC (HOEK *et al.*, 2003).

No mesmo ano, Filler e colegas descreveram outra fórmula baseada em CisC numa população de 536 crianças com idade média de $11,2 \pm 4,5$ anos (1 a 18) utilizando a depuração de EDTA como método de referência (FILLER e LEPAGE, 2003).

2.2.4.3 Fórmulas pediátricas usando creatinina e cistatina C

Zappitelli e colegas descreveram em 2006 uma fórmula combinada, utilizando CrP e CisC numa população de 103 crianças com idade média de $12,7 \pm 4,7$ anos. O grupo estabeleceu nesta fórmula fatores de correção para

transplante renal. Atualmente a fórmula de Zappitelli é a única a apresentar fator de correção para TR pediátrico (ZAPPITELLI *et al.*, 2006).

Schwartz descreveu, em 2009, uma equação mais complexa, utilizando CrP, CisC e uréia (SCHWARTZ *et al.*, 2009). Esta mesma fórmula, conhecida como CKiD, foi atualizada em 2012, com métodos de dosagem de CisC através de imunonefelometria, numa população de 495 crianças sofrendo de doença renal crônica (SCHWARTZ *et al.*, 2012).

Tabela 1 – Equações usadas para estimar a taxa de filtração glomerular (TFGe) em pediatria mL/min/1.73 m².

Nome	Fórmula
Fórmulas usando CrP	
Schwartz-2009	$K \times \text{altura} / \text{CrP}$, (K = 0,413)
Schwartz-Lyon	$K \times \text{altura} / \text{CrP}$, (K = 0,413 em meninos > 13 anos e K = 0,367 nos demais)
Fórmulas usando CisC	
Hoek	$- 4.32 + (80.35 / \text{CisC})$
Filler	$\text{Log}(\text{TFGe}) = 1,962 + [1,123 \times \text{log}(1/\text{CisC})]$
Fórmulas combinadas	
CKiD 2012	$39,8 \times (\text{altura} / \text{CrP})^{0,456} \times (1,8 / \text{CisC})^{0,418} \times (30/\text{BUN})^{0,079} \times (1,076)^{\text{masculino}} \times (\text{altura}/1,4)^{0,179}$
Zappitelli	$[43,82 \times e^{0,003 \times \text{altura (m)}}] / [\text{CisC}^{0,635}] \times [\text{CrP}^{0,547}]$
	Se transplantado renal: x 1,165

CrP: creatinina plasmática, expressa em mg/dL - CisC: Cistatina C, expressa em mg/L - BUN: expresso em mg/dL – altura é expressa em centímetros em Schwartz-2009, Schwartz-Lyon e Zappitelli e em metros em CkiD.

3. JUSTIFICATIVA

Embora a sobrevida do transplante renal pediátrico esteja aumentando, permanece a importância de manter uma função renal preservada por décadas. O número de néfrons funcionantes e a habilidade do enxerto em adaptar-se a uma demanda aumentada durante o crescimento parecem fatores importantes para manter sua função preservada no longo prazo.

Predizer a função do enxerto é importante para seguimento dos pacientes transplantados renais. Identificar os determinantes da sobrevida do enxerto nos receptores pediátricos é fundamental para otimizar o pool de doadores e reduzir a necessidade de retransplante precoce.

O presente estudo examina a taxa de filtração glomerular ao longo do tempo em uma coorte de transplantados renais e a importância das idades do receptor e do doador em prever piores resultados desta evolução.

O estudo oferece possibilidade de gerar conhecimento para confirmar e justificar a utilização de rins de doadores pediátricos em receptores pediátricos, melhorando os resultados destes procedimentos.

4. QUESTÃO DE PESQUISA

A função do enxerto renal proporcionada por doadores pediátricos adapta-se melhor às crianças transplantadas no longo prazo do que a proporcionada por doadores adultos?

5. HIPÓTESE

A função do enxerto renal proporcionada por doadores pediátricos adapta-se melhor às crianças transplantadas no longo prazo do que a proporcionada por doadores adultos.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO CENTRAL

O objetivo deste estudo é comparar a função do enxerto renal em receptores pediátricos ao longo do tempo, de acordo com o tipo de doador: doadores adultos e doadores pediátricos.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar a evolução da função do enxerto de receptores pediátricos ao longo do tempo, de acordo com o tipo de doador: doadores vivos e doadores falecidos.

Predizer a evolução da função renal a partir das características clínicas dos receptores.

Avaliar se características do doador têm influência na evolução do enxerto renal no longo prazo.

7. METODOLOGIA

7.1 POPULAÇÃO

Crianças e adolescentes que foram submetidos a transplante renal no período de 2000 a 2010 pertencentes ao serviço de nefrologia pediátrica do *Hôpital Femme Mère Enfant* (Lyon, França). Os pacientes foram incluídos de forma consecutiva na base de dados.

7.1.1 Critérios de inclusão

- Pacientes menores de 18 anos transplantados de rim no serviço de nefrologia pediátrica do *Hôpital Femme Mère Enfant* no período de 2000 à 2010.
- Pacientes submetidos à exploração funcional renal em pelo menos duas ocasiões.

7.1.2 Critérios de exclusão

- Perda do enxerto dentro do primeiro ano de transplante, pela impossibilidade de seguir a avaliação da função renal ao longo do tempo.
- Transferência de serviço.

7.2 PROTOCOLO IMUNOSSUPRESSOR

O protocolo de imunossupressão consistiu de metilprednisolona 60 mg/m² no período pré-operatório, seguido por 60 mg/m²/dia de prednisona até o 14^o dia pós-transplante; a dose tardia foi reduzida gradualmente até 2,5 mg/m²/dia. A terapia de indução foi realizada com basiliximab nos dias 0 e 4 e micofenolato mofetil no período pré-operatório na dose de 500 mg/m² e após 1200 mg/m²/dia após o transplante. O inibidor de calcineurina utilizado foi a ciclosporina A em pacientes com risco para infecção por vírus Epstein-Barr e tacrolimo nos pacientes sem este risco.

7.3 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

No serviço de nefrologia pediátrica do *Hôpital Femme Mère Enfant* (Lyon-França) a função renal é rotineiramente verificada por medida da TFG usando a depuração de inulina que é um método padrão ouro. A TFG é verificada no primeiro, terceiro e então a cada 5 anos pós-transplante, como rotina de seguimento destes pacientes.

7.3.1 Técnica de dosagem da inulina

A TFG foi mensurada através da depuração renal de inulina (polyfructosan, Inutest®, Fresenius Kagi, Graz, Austria). A medida foi realizada após um período de jejum de 12h e durante o período da medida as crianças foram mantidas em repouso, decúbito dorsal no laboratório, adquirindo a posição ortostática apenas nos momentos de coleta urinária.

Uma técnica padrão foi utilizada por uma equipe treinada com infusão inicial de polyfructosan 30 mg/kg diluído em 100mL de cloreto de sódio 0,9%, seguida de infusão contínua (1mg/Kg/min). A diurese foi induzida por administração oral de 5 mL/kg de água seguido por 3 mL/kg cada 30 minutos. Esta medida estimula os pacientes a esvaziarem espontaneamente a bexiga a cada 30 minutos. Quatro amostras de urina foram coletadas e nos intervalos destas, uma coleta de amostra de sangue foi realizada. Os valores de depuração, calculados pela fórmula $U_{in}V/P_{in}$, foram obtidos dos valores médios dos quatro períodos de depuração; onde U_{in} é a dosagem de inulina urinária, V é o volume urinário a cada período de depuração e P_{in} é a dosagem de inulina plasmática. Medidas plasmáticas e urinárias do polyfructosan foram realizadas usando o mesmo método enzimático. Os resultados foram expressos em $1,73m^2$ de superfície corporal, que foi calculada pela fórmula de Dubois: $SC = altura^{0.725} \times peso^{0.425} \times 0.007184$ (DUBOIS e DUBOIS, 1916).

7.3.2 Medida da creatinina plasmática

A CrP foi obtida por técnica de cinética colorimétrica de Jaffe compensado (Roche Modular, Meylan, France). Todas as CrPs foram dosadas pelo mesmo método durante o período do estudo. Os resultados foram padronizados por ajuste através de regressão linear das concentrações obtidas pelo método de Jaffe compensado e IDMS. A equação de calibragem foi: creatinina plasmática padronizada = $0,9395 \times$

(CrP por Jaffe compensado em $\mu\text{mol/L}$) + 4,6964. O coeficiente de correlação foi $r= 0,97$.

7.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

7.4.1 Variável de Desfecho

A variável de desfecho considerada foi a função renal, mensurada por depuração de inulina.

7.4.2. Variáveis Preditoras

As variáveis preditoras foram o tipo de doador em relação à idade: doador pediátrico (idade inferior a 18 anos) ou doador adulto (≥ 18 anos) e em relação à origem: doador vivo ou falecido. A idade foi avaliada também na forma de variável numérica, considerando a diferença de idade do receptor menos a idade do doador em anos. Esta diferença de idade receptor-doador também é categorizada em 5 grupos (Tabela 2).

7.4.3 Covariáveis

Foram recuperadas informações dos bancos de dados referentes aos dados antropométricos dos pacientes, como peso (Kg), altura (cm), índice de massa corporal. Também foram coletados dados referentes à etiologia da doença renal crônica, idade do receptor e do doador (em anos), gênero do receptor e do doador, tempo de isquemia fria (horas), número de

incompatibilidades HLA, tipo de imunossupressão, episódios de rejeição aguda, retardo no funcionamento do enxerto.

A etiologia da doença renal crônica foi classificada em três grupos principais: displasias e anomalias congênitas do trato urinário, doenças glomerulares e outras doenças.

Os episódios de rejeição aguda não são sistematicamente submetidos à biópsia sendo considerados clinicamente quando houver uma aumento na CrP de base levando a tratamento específico de rejeição.

Retardo no funcionamento do enxerto foi considerado quando houve necessidade de diálise na primeira semana após o transplante.

Tabela 2. Categorias de diferença de idade entre doador e receptor

Grupo	idade do doador menos idade do receptor
1	doador mais de 2 anos mais jovem que o receptor
2	doador com diferença de até 2 anos mais jovem ou mais velho que o receptor
3	doador dois a oito anos mais velho que receptor
4	doador oito a vinte anos mais velho que o receptor
5	doador mais de 20 anos mais velho que o receptor

7.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

7.5.1 Análise descritiva

Realizada análise descritiva da população utilizando mediana e intervalo interquartil por representarem melhor a população.

7.5.2 Identificação de trajetórias de função renal

Inicialmente a análise consistiu na identificação de trajetórias típicas de TFG utilizando um modelo de mistura de trajetórias latentes.²⁸ A TFG foi adicionada no modelo sem efeitos fixos, apenas aleatórios e o tempo na forma quadrática (tempo em anos + tempo ao quadrado). Um intercepto, uma inclinação e um efeito quadrático foram estimados para cada trajetória. O motivo para usar um elemento quadrático no modelo foi o fato de as trajetórias de TFG não serem lineares ao longo do tempo, como observado em todo o grupo de pacientes (Figura 1) ou nas trajetórias individuais (Figura 2). Foram construídos modelos com duas (Figura 3), três (Figura 4) e quatro (Figura 5) trajetórias latentes.

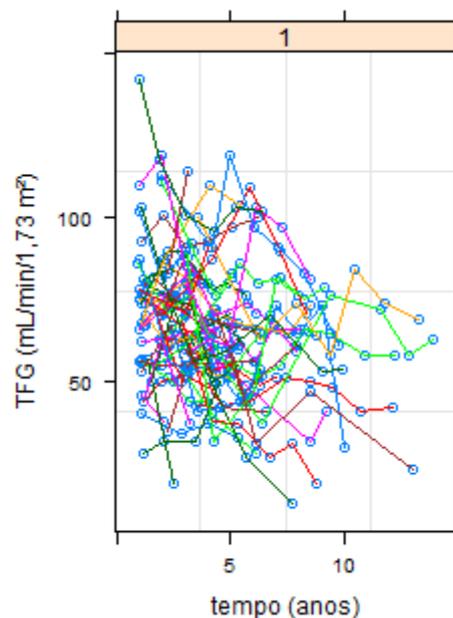


Figura 2. Trajetórias de TFG ao longo do tempo de todos os pacientes do estudo sem classificação.

O ajuste de cada modelo foi verificado usando o critério de informação Bayesiana (Tabela 3) e ferramentas gráficas (Figura 1). O critério de informação Bayesiana (BIC) foi calculado a partir da fórmula: $BIC = \log(L) - 0,5k \times \log(n)$; onde L é o máximo de verossimilhança do modelo, n é a amostra e k é o número de parâmetros do modelo, que é determinado pela ordem do polinômio usado para modelar cada trajetória e o número de grupos. Como foi utilizado o efeito quadrático, foram necessários três parâmetros para cada trajetória (β_0 , $\beta_1 \cdot \text{tempo}$ e $\beta_1 \cdot \text{tempo}^2$). Para medir as probabilidades o número de parâmetros considerado foi 1 menos a soma de probabilidade dos grupos. No grupo de 3 trajetórias, por exemplo, foram necessários 9 parâmetros para as trajetórias (3 para cada trajetória) e dois para as probabilidades (3-1), num total de 11 parâmetros.

Tabela 3- Critério de informação Bayesiana

Trajetórias	log(L)	k	n	BIC
2	-1188,15	7	278	-1196,72
3	-1167,3	11	278	-1180,76
4	-1163,1	15	278	-1181,45

O modelo com três trajetórias apresentou o maior valor de BIC e a melhor apresentação gráfica, sendo finalmente selecionado entre os demais.

A probabilidade de pertencer a cada grupo de trajetórias foi utilizada para classificar as crianças nos grupos de trajetórias. A análise foi realizada utilizando a função “allvc” do pacote npmlreg no software R para Windows versão 3.2.0.

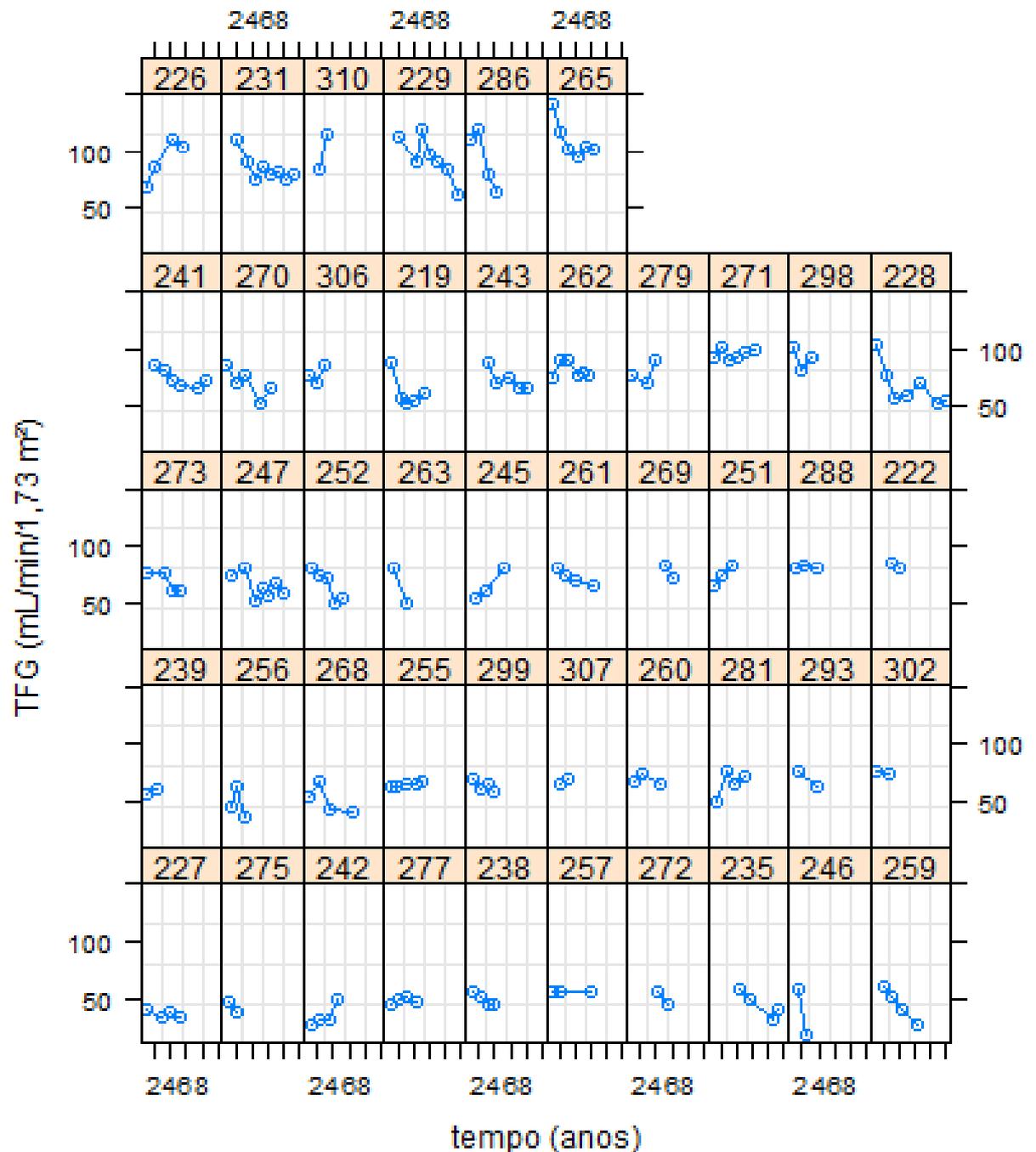


Figura 3. Trajetórias individuais de TFG ao longo do tempo (representação parcial dos pacientes). Cada retângulo representa um indivíduo e sua respectiva trajetória de evolução da função renal. A numeração acima de cada retângulo representa a identificação dos indivíduos. O tempo em anos é sinalizado no eixo X para cada retângulo, como 2, 4, 6 e 8 anos.

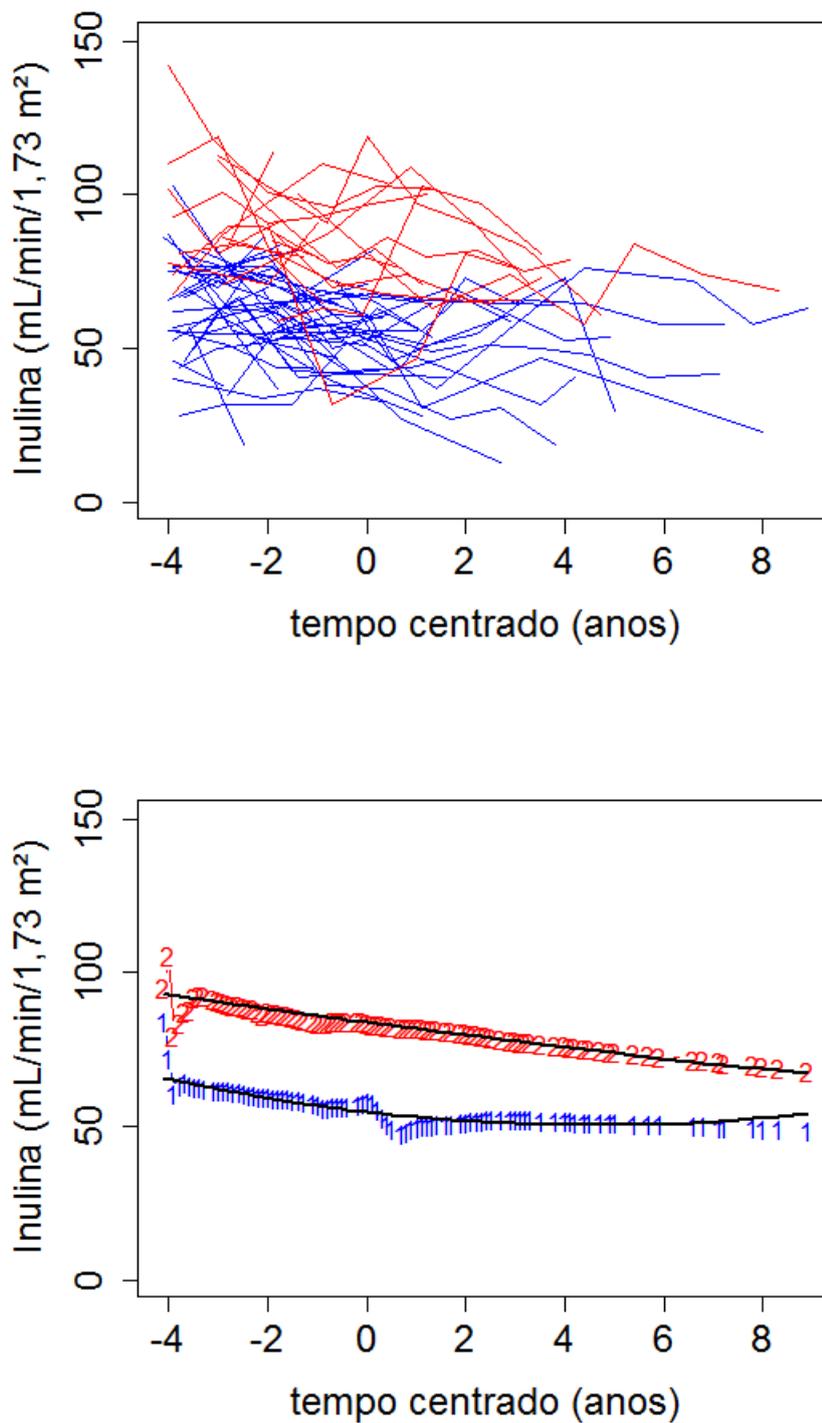


Figura 4. Modelo com duas trajetórias de função renal (inulina) ao longo do tempo. Acima: trajetórias individuais dos pacientes; abaixo: trajetórias agrupadas. O eixo x apresenta o tempo pós-transplante centrado em 5 anos que corresponde ao valor 0 neste eixo.

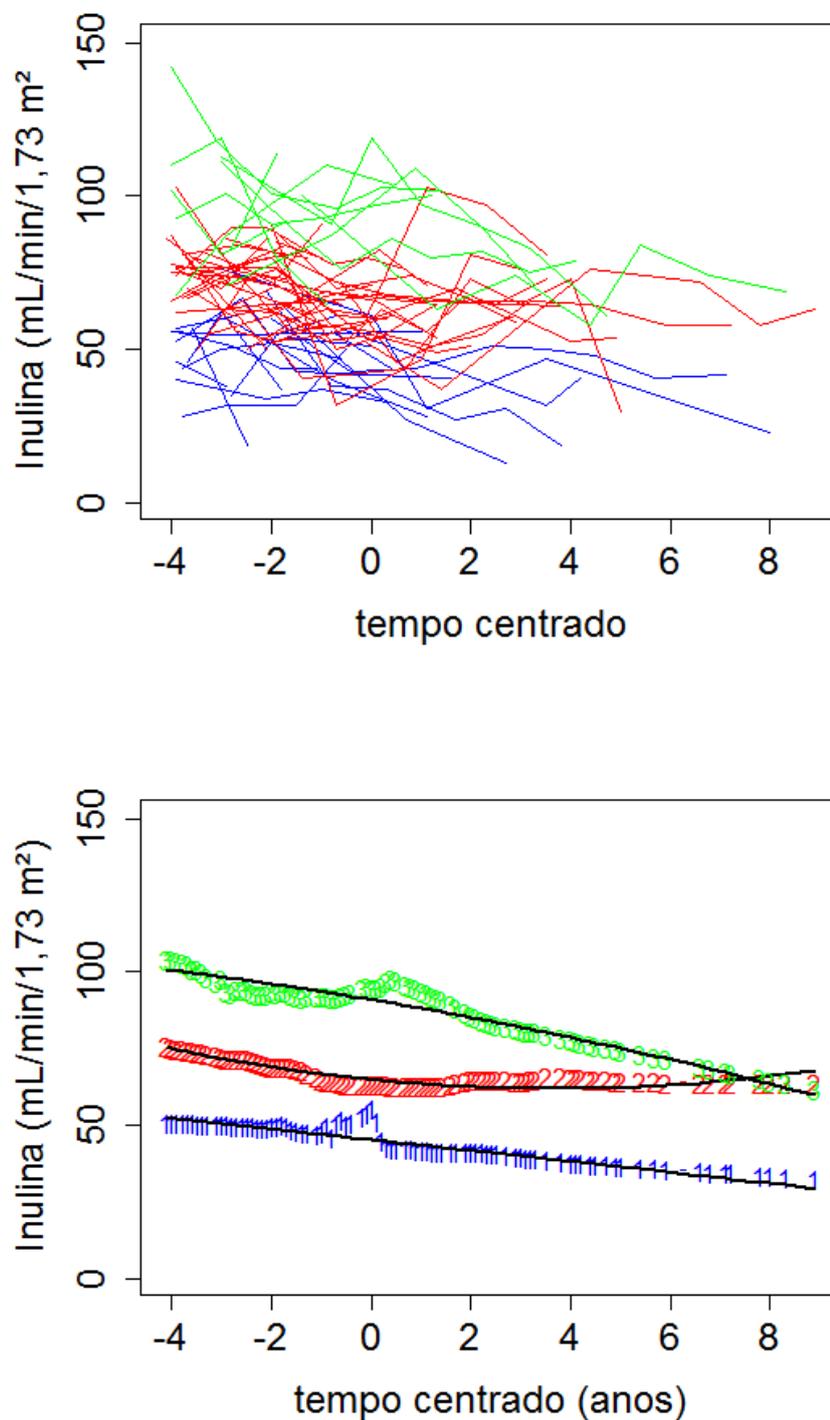


Figura 4. Modelo com três trajetórias latentes de função renal (inulina em mL/min/1,73 m²). Acima: trajetórias individuais dos pacientes; abaixo: trajetórias agrupadas. O eixo x apresenta o tempo pós-transplante centrado em 5 anos que corresponde ao valor 0 neste eixo.

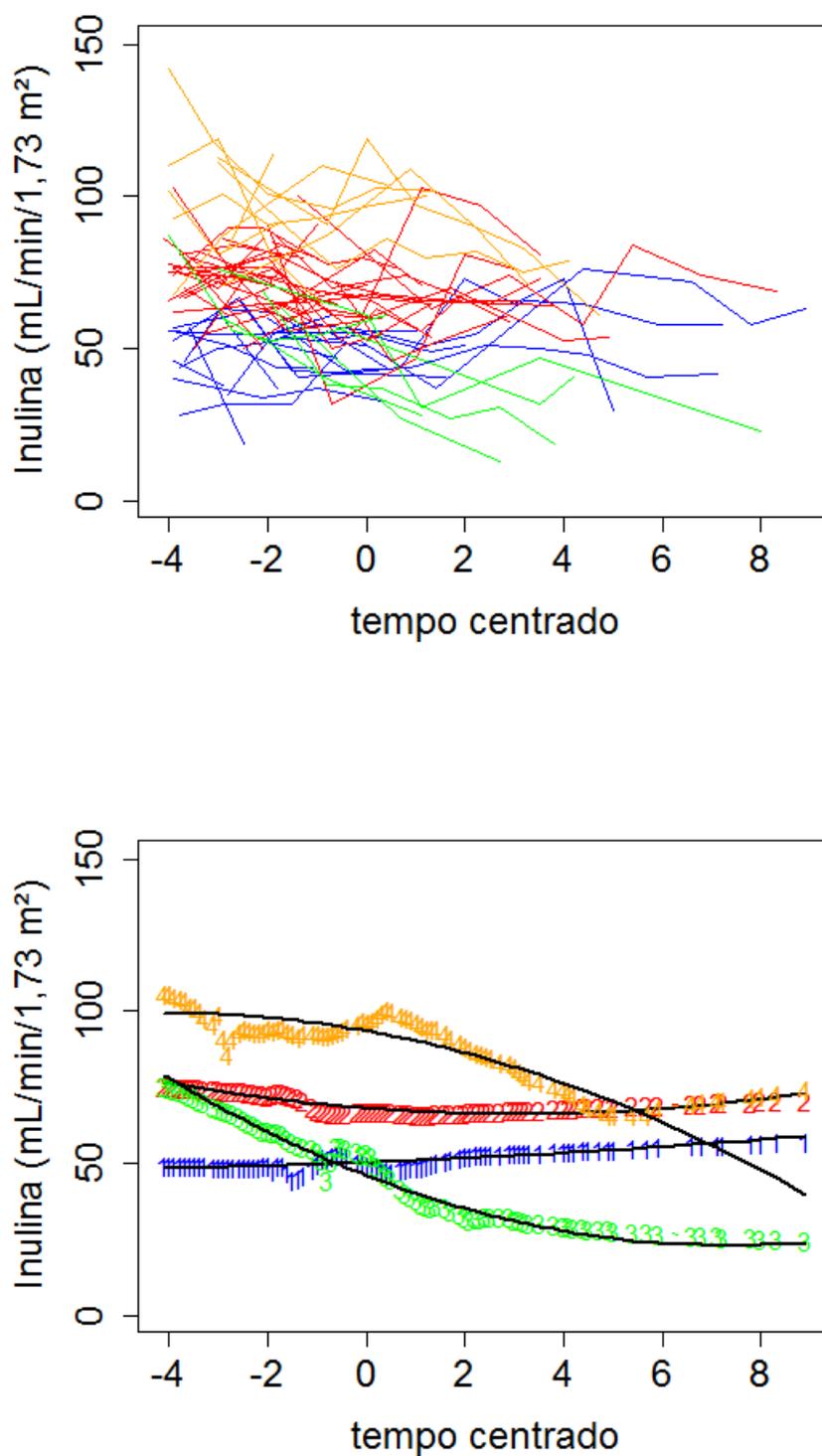


Figura 5. Modelo com quatro trajetórias latentes de função renal (inulina em mL/min/1,73 m²). Acima: trajetórias individuais dos pacientes; abaixo: trajetórias agrupadas. O eixo x apresenta o tempo pós-transplante centrado em 5 anos que corresponde ao valor 0 neste eixo.

7.5.2 Identificação dos grupos

A partir da escolha do modelo de 3 trajetórias, a próxima etapa foi de descrição das características dos diferentes grupos, com atenção às possíveis diferenças entre eles. Para isso, usamos a probabilidade *a posteriori* de pertencimento a cada grupo. Com base na descrição das características dos indivíduos em cada grupo e nos dados encontrados na literatura foi realizada a escolha das variáveis a incluir no próximo modelo, um modelo de regressão logística.

7.5.3 Quantificação dos efeitos de risco

O passo seguinte da análise foi a quantificação dos efeitos de fatores de risco (idade do receptor, diferença de idade doador – receptor, número de incompatibilidades HLA, doador falecido, sexo do receptor e retardo no funcionamento do enxerto) na probabilidade de pertencer ao grupo de trajetória de pior evolução. A análise foi realizada utilizando modelo de regressão logística com grupo de trajetória de pior evolução como variável resposta. Como a variável tipo de doador (falecido versus vivo) teve um forte efeito na TFG pós-transplante, a regressão logística foi estratificada neste fator.

7.6 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo está de acordo com as normas e diretrizes regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde). Também está de acordo com o artigo L1126-1 do código de saúde pública francês e do artigo L1122-2 da lei francesa Huriot-Serusclet (lei 2004-806 de 9 de Agosto de 2004) que tratam da pesquisa biomédica com menores de idade.

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética do hospital *Edouard Herriot – Hospices Civils de Lyon*, complexo hospitalar do qual faz parte o serviço de nefrologia do *Hôpital Femme Mère Enfant* (IRB nº 11263). Consentimento informado foi obtido dos responsáveis ou representantes legais no momento da realização da medida de TFG.

Neste estudo, os possíveis riscos para os sujeitos da pesquisa, seriam os ligados à possível quebra de confidencialidade de dados contidos no prontuário médico. No entanto, para minimizar o risco, a equipe de pesquisa se comprometeu a proteger a privacidade e manter confidencialidade dos dados. Além disso, não há identificação direta dos sujeitos de pesquisa. Não obstante, os riscos potenciais do presente estudo são admissíveis, pois o estudo oferece elevada possibilidade de gerar conhecimento para confirmar e justificar a utilização de rins de doadores pediátricos em receptores pediátricos, melhorando os resultados destes procedimentos.

8 REFERÊNCIAS

ALEXANDER, J. W. et al. Effect of donor age on outcome of kidney transplantation. A two-year analysis of transplants reported to the United Network for Organ Sharing Registry. **Transplantation**, Baltimore, v. 57, n. 6, p. 871-876, mar. 1994.

ASSADI, F. et al. Pediatric kidney transplantation: kids are different. **Iran J Kidney Dis**, Tehran, v. 7, n. 6, p. 429-431, nov. 2013.

AUBERT, V. et al. Are all donorspecific antibodies detected by solid-phase assay before transplantation clinically relevant? **Transplantation**, Baltimore, v. 87, n 12, p.1897–1898, jun. 2009.

BERG, U. B. et al. Comparison of plasma clearance of iohexol and urinary clearance of inulin for measurement of GFR in children. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 57, n. 1, p. 55-61, jan. 2011.

BERGLUND, F.; et al. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on the renal excretion of creatinine in man. **J Urol**, Baltimore, v. 114, n. 6, p. 802-808, dec. 1975.

BOKENKAMP, A. et al. Cystatin C--a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. **Pediatrics**, Evanston, v. 101, n. 5, p. 875-881, may 1998.

BOKENKAMP, A. et al. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. **Clin Chem**, New York, v. 45, n. 10, p. 1866-1868, oct. 1999.

BRESNAHAN, B. A. et al. Risk factors for renal allograft survival from pediatric cadaver donors: an analysis of united network for organ sharing data. **Transplantation**, Baltimore, v. 72, n. 2, p. 256-261, jul. 2001.

BROCHARD, K. et al. Phenotype-genotype correlation in antenatal and neonatal variants of Bartter syndrome. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 1455-1464, may 2009.

CAMPOS EF, et al. Post-transplant anti-HLA class II antibodies as risk factor for late kidney allograft failure. **Am J Transpl**, Copenhagen, v 6, n 10, p. 2316-2320, aug. 2006.

CICCIARELLI, J.; et al. The influence of donor age on kidney graft survival in the 1990s. **Clin Transpl**, Copenhagen, p. 335-340, 1999.

CLAAS, F.H. et al. Clinical relevance of circulating donor-specific HLA antibodies. **Curr Opin Organ Transplant**, Hagerstown, v 15, n 4, p.462–466, aug. 2010.

DALE-SHALL, A. W. et al. The relationship of donor source and age on short- and long-term allograft survival in pediatric renal transplantation. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 13, n. 6, p. 711-718, sep. 2009.

DE SOUZA, V. C. et al. Schwartz formula: is one k-coefficient adequate for all children? **PLoS One, San Francisco**, v. 7, n. 12, p. e53439, dec. 2012.

DELANAYE, P. et al. [Creatinine: past and present]. **Ann Biol Clin**, Paris, v. 68, n. 5, p. 531-543, sep-oct. 2010.

DELANGHE, J. R. et al. How to estimate GFR in children. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 714-716, mar. 2009.

DHARNIDHARKA, V. R.; et al. Kidney transplantation in children. **N Engl J Med**, Boston, v. 371, n. 6, p. 549-558, aug. 2014.

DU BOIS, D.; DU BOIS, E. F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. **Nutrition**, Paris, v. 5, n. 5, p. 303-311; discussion 312-313, sep-oct. 1989.

DUBOIS, D.; DUBOIS, E. F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 17, p. 863-871, 1916.

DUBOURG, L. et al. Better long-term functional adaptation to the child's size with pediatric compared to adult kidney donors. **Kidney Int**, New York, v. 62, n. 4, p. 1454-1460, oct. 2002.

DUBOURG, L. et al. Role of the donor in post-transplant renal function. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 13, n. 6, p. 1494-1498, jun. 1998.

EL-SABROUT, R.; BUCH, K. Outcome of renal transplants from pediatric donors <5 yr of age. **Clin Transplant**, Copenhagen, v. 19, n. 3, p. 316-320, jun. 2005.

FELTRAN, L. D. et al. Does graft mass impact on pediatric kidney transplant outcomes? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v 29, n 2, p.297-304, feb. 2014.

FELTRAN et al. A one year prospective comparison of kidney growth and function in children recipients of grafts from children and adults. **Transplantation**, Baltimore, v. 90, n. 7, p. 777-781, oct. 2010.

FILLER, G. et al. Cystatin C as a marker of GFR--history, indications, and future research. **Clin Biochem**, New York, v. 38, n. 1, p. 1-8, jan. 2005.

FILLER, G.; LEPAGE, N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 18, n. 10, p. 981-985, oct. 2003.

FILLER, G. et al. Renal transplantation from donors aged < 6 years into children yields equal graft survival when compared to older donors. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 1, n. 2, p. 119-123, nov. 1997.

FILLER, G. et al. Diagnostic sensitivity of serum cystatin for impaired glomerular filtration rate. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 13, n. 6, p. 501-505, aug. 1999.

FILLER, G.; SHARMA, A. P. How to monitor renal function in pediatric solid organ transplant recipients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 12, n. 4, p. 393-401, jun. 2008.

FLODIN, M.; et al. Variations in assay protocol for the Dako cystatin C method may change patient results by 50% without changing the results for controls. **Clin Chem Lab Med**, Berlin, v. 44, n. 12, p. 1481-1485, 2006.

FRANCO, M. C. et al. Cystatin C and renal function in pediatric kidney transplant recipients. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 42, n. 12, p. 1225-1229, dec. 2009.

GASPARI, F. et al. Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 6, n. 2, p. 257-263, aug. 1995.

GELLERT, S. et al. Donor age and graft function. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 10, n. 6, p. 716-719, dec. 1996.

GERA, M. et al. Assessment of changes in kidney allograft function using creatinine-based estimates of glomerular filtration rate. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 7, n. 4, p. 880-887, apr. 2007.

GJERTSON, D. W.; CECKA, J. M. Determinants of long-term survival of pediatric kidney grafts reported to the United Network for Organ Sharing kidney transplant registry. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 1, p. 5-15, feb. 2001.

GRITSCH, H.A.; et al. Should pediatric patients wait for HLA-DR-matched renal transplants? **Am J Transplant**, Copenhagen, v 8, n 10, p. 2056-2061, oct. 2008.

GROOTHOFF, J. W. et al. Long-term follow-up of renal transplantation in children: a Dutch cohort study. **Transplantation**, Copenhagen, v. 78, n. 3, p. 453-460, aug. 2004.

GROOTHOFF, J. W. et al. Mortality and causes of death of end-stage renal disease in children: a Dutch cohort study. **Kidney Int**, New York, v. 61, n. 2, p. 621-629, feb. 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Urine Formation by the Kidneys: Glomerular Filtration, Renal Blood Flow, and Their Control. In: **Textbook of Medical Physiology**. 11th. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, 2006. cap. 26, p.307-326.

HARAMBAT, J. et al. Long-term critical issues in pediatric renal transplant recipients: a single-center experience. **Transpl Int**, Heildelberg, v. 26, n. 2, p. 154-161, feb. 2013.

HARDY, B. E. et al. Kidney transplantation in children and adolescents: an analysis of United Network for Organ Sharing Database. **Transplant Proc**, New York, v. 41, n. 5, p. 1533-1535, jun. 2009.

HARMAN, G. et al. Accuracy of cystatin C-based estimates of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients: a systematic review. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, dec. 2012.

HARMON, W. E. et al. Pediatric transplantation, 1994-2003. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 4 Pt 2, p. 887-903, apr. 2005.

HARZALLAH, K. et al. [Mortality in pediatric renal transplants: 15 years' experience]. **Arch Pediatr**, New York, v. 11, n. 8, p. 916-920, aug. 2004.

HILLS, L. P.; TIFFANY, T. O. Comparison of turbidimetric and light-scattering measurements of immunoglobulins by use of a centrifugal analyzer with absorbance and fluorescence/light-scattering optics. **Clin Chem**, New York, v. 26, n. 10, p. 1459-1466, sep. 1980.

HOEK, F. J.; et al. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 18, n. 10, p. 2024-2031, oct. 2003.

HUANG, Y.; SAMANIEGO, M. Preemptive kidney transplantation: has it come of age? **Nephrol Ther**, Paris, v. 8, n. 6, p. 428-432, nov. 2012.

ISHITANI, M. et al. Predictors of graft survival in pediatric living-related kidney transplant recipients. **Transplantation**, Baltimore, v. 70, n. 2, p. 288-292, jul. 2000.

JOHNSON, R. J. et al. The outcome of pediatric cadaveric renal transplantation in the UK and Eire. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 6, n. 5, p. 367-377, oct. 2002.

KDIGO.: Definition, identification, and prediction of CKD progression. **Kidney Int Suppl**, New York, v. 3, n. 1, p. 63-72, jan. 2013.

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 39, n. 2 Suppl 1, p. S1-266, feb. 2002.

KASISKE, B. L. et al. Long-term deterioration of kidney allograft function. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 6, p. 1405-1414, jun. 2005.

KASISKE, B. L. et al. Preemptive kidney transplantation: the advantage and the advantaged. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 13, n. 5, p. 1358-1364, may 2002.

KHALIFEH, T; et al. Strategies to optimize kidney recovery and preservation in transplantation: specific aspects in pediatric transplantation. **Pediatr Nephrol**, Berlin, sep. 2014.

KOUKOULAKIA, M; et al. Immunologic Prognostic Factors of Renal Allograft Survival, **Transplantation Proceedings**, New York, v 46, n 9, p. 3175-3178, nov. 2014.

KIVELA, J. M. et al. Long-term renal function in children after liver transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v. 91, n. 1, p. 115-120, jan. 15 2011.

KRIESER, D. et al. The relationship between serum creatinine, serum cystatin C and glomerular filtration rate in pediatric renal transplant recipients: a pilot study. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 6, n. 5, p. 392-395, oct. 2002.

LARSSON, A. et al. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. **Scand J Clin Lab Invest**, Oslo, v. 64, n. 1, p. 25-30, 2004.

LEFAUCHEUR C, et al. Clinical relevance of performed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. **Am J Transplant**, Copenhagen, v 8, n. 2, p. 324-331, feb. 2008.

LIEM, Y. S.; WEIMAR, W. Early living-donor kidney transplantation: a review of the associated survival benefit. **Transplantation**, Baltimore, v. 87, n. 3, p. 317-318, feb. 2009.

LIN, L. I. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, Washington, v. 45, n. 1, p. 255-268, mar. 1989.

MAILLARD, N. et al. Cystatin C-based equations in renal transplantation: moving toward a better glomerular filtration rate prediction? **Transplantation**, Baltimore, v. 85, n. 12, p. 1855-1858, jun. 2008.

MEDEIROS, F. S. et al. Validation of plasma clearance of ⁵¹Cr-EDTA in adult renal transplant recipients: comparison with inulin renal clearance. **Transpl Int**, Heidelberg, v. 22, n. 3, p. 323-331, mar. 2009.

MEHRABI, A. et al. Long-term results of paediatric kidney transplantation at the University of Heidelberg: a 35 year single-centre experience. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 19 Suppl 4, p. iv69-74, jul. 2004.

MEIER-KRIESCHE, H. U.; KAPLAN, B. Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes: a paired donor kidney analysis. **Transplantation**, Baltimore, v. 74, n. 10, p. 1377-1381, nov. 2002.

MEMBERS-KB. Chapter 1: Definition and classification of CKD. **Kidney Int Suppl (2011)**, New York, v. 3, n. 1, p. 19-62, jan. 2013.

MIETTINEN, J; et al. Donor-specific HLA antibodies and graft function in children after renal transplantation. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v 27, n 6, p. 1011-1019, jun. 2012.

MOUDGIL, A. et al. Good outcome of kidney transplants in recipients of young donors: a NAPRTCS data analysis. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 15, n. 2, p. 167-171, mar. 2011.

NEUMAYER, H. H. et al. Kidneys from pediatric donors: risk versus benefit. **Clin Nephrol**, Deisenhofen, v. 41, n. 2, p. 94-100, feb. 1994.

PAPE, L. et al. Development and validation of a new statistical model for prognosis of long-term graft function after pediatric kidney transplantation. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 28, n. 3, p. 499-505, mar. 2013.

PAPE, L. et al. Superior long-term graft function and better growth of grafts in children receiving kidneys from paediatric compared with adult donors. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 21, n. 9, p. 2596-2600, sep. 2006.

PAPE, L. et al. Renal allograft function in matched pediatric and adult recipient pairs of the same donor. **Transplantation**, Baltimore, v. 77, n. 8, p. 1191-1194, apr. 2004.

PAPEZ, K. E. et al. Iothalamate versus estimated GFR in a Hispanic-dominant pediatric renal transplant population. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 28, n. 12, p. 2369-2376, dec. 2013.

PITT, S. C. et al. Organ allocation in pediatric renal transplants: is there an optimal donor? **Clin Transplant**, Copenhagen, v. 27, n. 6, p. 938-944, nov-dec. 2013.

PLANCHAMP, F. et al. [Active drug monitoring of adverse drug reactions in pediatric emergency department]. **Arch Pediatr**, New York, v. 16, n. 2, p. 106-111, feb. 2009.

POGE, U. et al. Cystatin C-based calculation of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. **Kidney Int**, New York, v. 70, n. 1, p. 204-210, jul. 2006.

POSTLETHWAITE, R.J.; et al. The outcome of pediatric cadaveric renal transplantation in the UK and Eire. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v 6, n 5, p. 367-367, oct. 2002.

REES, L HLA sensitisation: can it be prevented? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 30, n. 3, p. 577-587, mar. 2015.

REES, L. Long-term outcome after renal transplantation in childhood. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 24, n. 3, p. 475-484, mar. 2009.

REES, L. et al. Long-term outcome of paediatric renal transplantation: follow-up of 300 children from 1973 to 2000., **Nephron Clin Pract**, London, v. 105, n. 2, p. c68-76, 2007.

REHLING, M. et al. Simultaneous measurement of renal clearance and plasma clearance of 99mTc-labelled diethylenetriaminepenta-acetate, 51Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate and inulin in man. **Clin Sci**, London, v. 66, n. 5, p. 613-619, may 1984.

ROSATI, P. et al. Pediatric renal transplantation: 13 years of experience--report from the Chilean Cooperative Multicenter Group. **Transplant Proc**, New York, v. 37, n. 3, p. 1569-1573, apr. 2005.

SHANNON JA, SMITH HW. The Excretion of Inulin, Xylose and Urea by Normal and Phlorizinized Man. **J Clin Invest**, New York, v.14, p. 393-401, feb. 1935.

SHAPIRO, R. Living donor kidney transplantation in pediatric recipients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 10, n. 7, p. 844-850, nov. 2006.

SHARMA, A. P. et al. Diagnostic accuracy of cystatin C-based eGFR equations at different GFR levels in children. **Clin J Am Soc Nephrol**, Washington, v. 6, n. 7, p. 1599-1608, jul. 2011.

SCHWARTZ, G. J. et al. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. **Pediatrics**, Evanston, v. 58, n. 2, p. 259-263, aug. 1976.

SCHWARTZ, G. J. et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 20, n. 3, p. 629-637, mar. 2009.

SCHWARTZ, G. J. et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. **Kidney Int**, New York, v. 82, n. 4, p. 445-453, aug. 2012.

SMITH, J.M., et al. Pediatric kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks, 1987-2010: a report of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v 17, n 2, p. 149-157, mar. 2013.

STAPLES, A. et al. Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 25, n. 11, p. 2321-2326, nov. 2010.

STEINBERG, E. P. et al. Methods used to evaluate the quality of evidence underlying the National Kidney Foundation-Dialysis Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines: description, findings, and implications. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 36, n. 1, p. 1-11, jul. 2000.

STICKLE, D. et al. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. **Clin Chem**, New York, v. 44, n. 6 Pt 1, p. 1334-1338, jun. 1998.

TAIT B. D. et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v 95, n 1, p.19-47, jan. 2013.

TANGERAAS, T. et al. Long-term outcome of pediatric renal transplantation: the Norwegian experience in three eras 1970-2006. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 12, n. 7, p. 762-768, nov. 2008.

THIENPONT, L. M. et al. Candidate reference method for determining serum creatinine by isocratic HPLC: validation with isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry and application for accuracy assessment of routine test kits. **Clin Chem**, New York, v. 41, n. 7, p. 995-1003, jul. 1995.

TSAMPALIEROS, A.; et al. Intraindividual variability of the modified Schwartz and novel CKiD GFR equations in pediatric renal transplant patients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 15, n. 7, p. 760-765, nov. 2011.

VAN ARENDONK, K. J. et al. National trends over 25 years in pediatric kidney transplant outcomes. **Pediatrics**, Evanston, v. 133, n. 4, p. 594-601, apr. 2014.

VAN DAMME-LOMBAERTS, R. et al. Pediatric renal transplantation: a single Belgian center experience over 20 years. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 6, p. 447-451, dec. 2001.

VATS, A. N. et al. Pretransplant dialysis status and outcome of renal transplantation in North American children: a NAPRTCS Study. North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. **Transplantation**, Baltimore, v. 69, n. 7, p. 1414-1419, apr. 2000.

VERGHESE, P.S.; et al. Impaired graft survival in pediatric renal transplant recipients with donor-specific antibodies detected by solid-phase assays. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v 14, n 6, p. 730-734, sep. 2010.

VITOLA, S.P.; et al. Kidney transplantation in children weighing less than 15 kg: Extraperitoneal surgical access—experience with 62 cases. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v 17 , n 5 , p. 445-453, aug. 2013.

WARADY, B. A.; et al. Optimal care of the infant, child, and adolescent on dialysis: 2014 update. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 64, n. 1, p. 128-142, jul. 2014.

WHITE, C. A.; et al. Measuring vs estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation. **Transplant Rev**, Copenhagen, v. 24, n. 1, p. 18-27, jan. 2010.

XU, H. et al. Assessment of glomerular filtration rate in renal transplant patients using serum cystatin C. **Transplant Proc**, New York, v. 38, n. 7, p. 2006-2008, sep. 2006.

YANG, Q. et al. Is cystatin C a better marker than creatinine for evaluating residual renal function in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis? **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 26, n. 10, p. 3358-3365, oct. 2011.

ZAPPITELLI, M. et al. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 48, n. 2, p. 221-230, aug. 2006.

9. ARTIGOS CIENTÍFICOS

9.1 PRIMEIRO ARTIGO: VERSÃO EM LÍNGUA PORTUGUESA

Trajetórias e preditores da disfunção do aloenxerto após transplante renal pediátrico

Vandréa de Souza, MD;¹⁻⁴ Muriel Rabilloud, MD, PhD;⁵⁻⁸ Pierre Cochat, MD, PhD;^{5,9-10} Mario Wagner, MD, PhD;^{1,11}; Clotilde Druck Garcia, MD, PhD;¹² Bruno Ranchin, MD;¹⁰ Jean Iwaz, PhD;⁵⁻⁸; Luciano Selistre, MD, PhD;^{2-4,11}; Laurence Dubourg, MD, PhD.^{3,5,9}

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Programa de Pós graduação em Saúde da Criança e do Adolescente- Porto Alegre- Brazil.

² Universidade de Caxias do Sul- Centro de Ciências da Saúde- Caxias do Sul- Brazil.

³ Exploration Fonctionnelle Rénale et Métabolique, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France.

⁴ Fellow CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasilia/DF, Brazil.

⁵ Université de Lyon, Lyon, France.

⁶ Université Lyon 1, Villeurbanne, France

⁷Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

- ⁸ CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Villeurbanne, France.
- ⁹ UMR 5305 CNRS/Université Claude Bernard, Biologie tissulaire et Ingénierie thérapeutique, Lyon, France.
- ¹⁰ Centre de Référence des Maladies Rénales Rares, Service de Néphrologie Rhumatologie Dermatologie Pédiatriques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.
- ¹¹ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil
- ¹² Fundação Universidade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre- Brazil

palavras chave: crianças, transplante renal, taxa de filtração glomerular, trajetórias clínicas

número de palavras no resumo: 219

número de palavras no texto: 2148

Resumo

Embora a sobrevida do transplante renal pediátrico esteja aumentando, permanece a importância de manter uma função renal preservada por décadas. O número de néfrons funcionantes e a habilidade do enxerto em adaptar-se a uma demanda aumentada durante o crescimento parecem ser os fatores mais importantes para a função do aloenxerto no longo prazo. O presente estudo examina a taxa de filtração glomerular em uma coorte de transplantados renais e a importância das idades do receptor e do doador em prever piores resultados. Dados de 67 crianças transplantadas de rim que realizaram 278 medidas de depuração de inulina entre 2000 e 2010 foram examinados. Um modelo de classe latente foi utilizado para identificar trajetórias de função renal e classificar as crianças. Este modelo identificou três trajetórias de função do enxerto renal após o transplante: “baixa e decrescente”, “moderada e estável” e “alta e decrescente”. A probabilidade de pertencer à trajetória baixa e decrescente, a de pior resultado, aumentou com o doador falecido versus doador vivo (odds ratio ajustado:50), a idade do receptor (odds ratio ajustado: 1,2 por ano de vida do receptor) e diferença de idade receptor-doador (odds ratio ajustado: 1,13 por ano adicional). Estes resultados contribuem para a evolução do transplante renal permitindo uma melhor seleção do pool de doadores e diminuindo a necessidade de um segundo transplante precocemente.

Introdução

O índice de sucesso do transplante renal melhorou consideravelmente nas décadas recentes; tornando o transplante renal a opção preferida em crianças com doença renal crônica em estágio terminal. Esta melhora reflete os avanços cirúrgicos, médicos e imunológicos neste campo.¹ Além da sobrevida, é importante garantir uma ótima função do enxerto (taxa de filtração glomerular, TFG) durante décadas para acompanhar o crescimento do receptor (KASISKE *et al.*, 2005; GERA *et al.*, 2007).

Geralmente, os principais fatores preditores da pior sobrevida do enxerto são: etnia, tipo de doador (vivo ou falecido), critérios de seleção do doador e protocolos de tratamento (YAMADA *et al.*, 2014). Nos anos 90 vários autores relataram sobrevida do enxerto e do paciente reduzidas quando os transplantes tinham doadores muito jovens (< 10 anos) ou muito velhos (>70 anos) (ALEXANDER *et al.*, 1994; NEUMAYER *et al.*, 1994; CICCARELLI *et al.*, 1999; BRESNAHAN *et al.*, 2001). Outros autores mostraram que a função do enxerto proveniente de doadores pediátricos melhorava com o tempo nos receptores pediátricos e adaptava-se ao crescimento corporal, (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 1998; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2006; FELTRAN *et al.*, 2010; MOUDGIL *et al.*, 2011; FELTRAN *et al.*, 2014) e outros que a TFG de enxertos de doadores adultos reduziam e falhavam em seguir o crescimento dos receptores (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2004; FELTRAN *et al.*, 2014). Desta forma, o número de néfrons funcionantes e sua capacidade em adaptar-se às demandas aumentadas do

crescimento são fatores importantes no funcionamento do enxerto no longo prazo (DUBOURG *et al.*, 1998; DUBOURG *et al.*, 2002).

Examinamos aqui as mudanças no longo prazo da TFG e a importância da diferença de idade entre doador e receptor em prever pior resultado no transplante renal em uma coorte de transplantados pediátricos.

Materiais e métodos:

População

O estudo revisou dados médicos de todos os transplantes renais realizados entre Janeiro de 2000 e Dezembro de 2010 em um serviço único (*Hôpital Femme-Mère-Enfant*, Lyon França). Sessenta e sete enxertos em 67 crianças foram incluídos no estudo. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética de Hospices Civils de Lyon (IRB 11263).

Protocolo imunossupressor

O protocolo de imunossupressão consistiu de metilprednisolona 60 mg/m² no período pré-operatório, seguido por 60 mg/m²/dia de prednisona até o 14^o dia pós-transplante; a dose tardia foi reduzida gradualmente até 2,5 mg/m²/dia. A terapia de indução foi realizada com basiliximab nos dias 0 e 4 e micofenolato mofetil no período pré-operatório na dose de 500 mg/m² e após 1200 mg/m²/dia após o transplante. O inibidor de calcineurina utilizado

foi a ciclosporina A em pacientes com risco para infecção por vírus Epstein-Barr e tacrolimo nos pacientes sem este risco.

Coleta de dados e principais definições

Os dados coletados incluíram: características do doador e receptor, dados antropométricos e sociais, tratamento, função do enxerto, episódios de rejeição aguda e principais eventos adversos (morte, perda do enxerto e perda de seguimento). A medida da TFG foi realizada em um e três anos após o transplante e então a cada 5 anos. A TFG foi medida por depuração de inulina (SELISTRE *et al.*, 2012). Os resultados foram padronizados para uma superfície corporal de 1,73m², estimada pela fórmula de Dubois (área= altura^{0.725} x peso^{0.425} x 0.007184).

No modelo de regressão logística para probabilidade de pior resultado, a DIDR foi usada como uma variável contínua. Para os gráficos de mudança na probabilidade observada de pior resultado, a DIDR considerou 5 categorias: doador mais de 2 anos mais jovem que receptor, doador 2 anos mais jovem ou mais velho do que o receptor, doador de 2 a 8 anos mais velho que receptor, doador de 8 a 20 anos mais velho que o receptor e doador mais de 20 anos mais velho que o receptor.

Análise dos dados

O primeiro passo da análise foi a identificação de trajetórias típicas de função renal usando um modelo de mistura de trajetórias latentes. Modelos

com duas, três, e quatro trajetórias latentes foram construídos. Um intercepto, uma inclinação e um efeito quadrático foram estimados para cada trajetória latente. O ajuste de cada modelo foi avaliado utilizando critério de informação Bayesiana e ferramentas gráficas. O modelo com três trajetórias foi finalmente escolhido e a probabilidade a posterior de membro de cada grupo foi usada para classificar as crianças nos grupos de trajetórias. A análise foi realizada utilizando a função “allvc” do pacote estatístico npmlreg do software R.

O segundo passo da análise foi a quantificação dos efeitos dos fatores de risco (idade do receptor, DIDR, número de incompatibilidades HLA, doador falecido, sexo do receptor, retardo no funcionamento do enxerto) na probabilidade de pertencimento ao grupo de trajetória “baixa e decrescente”. A análise foi realizada usando regressão logística com “pertencimento ao grupo de trajetória “baixa e decrescente” como uma variável dependente. Devido ao importante efeito do tipo de doador (vivo versus falecido) na função renal pós-transplante, a regressão logística foi estratificada neste fator secundariamente.

Resultados

Entre 108 transplantes renais realizados em 106 crianças, 41 casos foram excluídos: 19 sem medidas da TFG, 18 com somente uma medida, 3 perdas do enxerto no primeiro ano e 1 transferência para outra unidade. Sessenta e sete pacientes com pelo menos duas medidas de TFG por inulina (totalizando 278 medidas) foram mantidos na análise (Figura 1).

A tabela 1 mostra as características dos pacientes. Os principais diagnósticos primários foram anomalias congênitas do rim e do trato urinário (CAKUT, do inglês, *congenital anomalies of the kidney and urinary tract*, 46%) e glomerulopatia (29%). Um grande percentual de crianças (82%) recebeu enxertos de doadores falecidos.

A figura 2 mostra as três trajetórias de TFG medida (TFGm) que resultou de uma modelagem de classe latente. No grupo 1, as TFGm médias (erro padrão, EP) em 1, 5 e 10 anos foram 52 (1,9), 48 (1,0) e 36 (2,1) mL/min/1.73m², respectivamente. Este padrão constantemente baixo de função renal pós-transplante nos levou a considerar o grupo 1 como grupo de trajetória de TFG “baixa e decrescente”. No grupo 2, as TFGm médias (EP) em 1, 5 e 10 anos foram 75 (1,4), 69 (0,7) e 65 (0,8) mL/min/1.73m², respectivamente. Este padrão de função renal pós-transplante levou-nos a considerar o grupo 2 como grupo de trajetória de TFG “moderada e estável”. No grupo 3, as TFGm médias (EP) em 1, 5 e 10 anos foram 100 (2,3), 91 (1,4), e 75 (2,6) mL/min/1.73m², respectivamente. Neste grupo, um alto nível de função renal no período pós-transplante precoce foi seguido por um declínio contínuo ao longo de 12 anos. Isso levou-nos a considerar o grupo 3 como grupo de trajetória de TFG “alta e decrescente”.

A distribuição dos 67 pacientes nos três grupos foi: 18 (27%) no grupo 1, 39 (58%) no grupo 2 e 10 (15%) no grupo 3. A tabela 1 lista as características dos pacientes por grupo de trajetória. Em relação à idade, 45% dos pacientes do grupo 1 apresentaram idade superior a 12 anos e nenhum tinha idade inferior a 2 anos, enquanto 50% dos pacientes grupo 3 tinham idade inferior a 5 anos. Relativo ao diagnóstico, CAKUT foi

encontrado em 50, 41 e 60% dos grupos 1 ao 3 respectivamente. Percentagens semelhantes de pacientes com glomerulopatia foram encontrados nos grupos 1 e 2 (28 e 33% respectivamente), mas esta percentagem foi muito menor no grupo 3 (10%).

A probabilidade observada de pertencer ao grupo de pior evolução (grupo1) aumentou com a diferença de idade doador-receptor (DIDR), exceto para DIDR superior a 20 anos (Figura 3), onde 90% das crianças tinham doadores vivos, que foi um fator benéfico contra o pertencimento ao grupo 1; a razão de chance ajustada (do inglês, adjusted odds ratio, ORa) [intervalo de confiança 95%, IC 95%] foi 0,02 ([0, 0,67], $p=0,03$). Nas crianças que tinham doadores falecidos, a probabilidade observada de pertencer ao grupo 1 aumentou com a DIDR e foi máxima para DIDR acima de 20 anos (Figura 3). O ORa [IC 95%] relativo à variável “idade do receptor” foi estimado em 1,20 ([0,99; 1,46], $p=0,07$), correspondendo a um aumento de 20% na chance de pertencer ao grupo 1 para cada ano de aumento na idade do receptor. O ORa [IC 95%] relativo à variável “DIDR” foi estimado em 1,13 ([0,99, 1,31], $p=0,07$), que corresponde a um aumento de 13% na chance de pertencer ao grupo 1 por ano adicional de DIDR (tabela2). Um efeito benéfico (embora não estatisticamente significante) foi encontrado para a variável “transplante preemptivo” (OR [IC 95%]: 0,15 [0,01; 1,78], $p=0,13$).

Discussão

Identificar os determinantes da sobrevida do enxerto em receptores renais é importante para otimizar o pool de doadores e reduzir a necessidade de re-transplante precoce. O seguimento longitudinal da TFGm nesta coorte de crianças transplantadas renais encontrou: i) três perfis de evolução da TFGm; ii) transplante com doador vivo como um fator benéfico contra o pertencimento ao grupo de pior evolução (grupo 1) e iii) o aumento na idade do receptor e na DIDR aumentou a probabilidade de pertencer ao grupo 1. Os valores associados de “p”, embora não estritamente inferiores a 5%, foram baixos (7%), o que favorece o real efeito destes fatores.

Predizer a função do enxerto é importante para seguimento dos pacientes transplantados renais. Aqui, as três trajetórias foram caracterizadas essencialmente pelo nível da TFGm no primeiro ano pós-transplante e pelas diferenças na evolução da TFGm relativas a estes níveis. No transplante renal de adultos, Ferro e colegas encontraram uma redução da TFGm não linear e não progressiva (FERRO *et al.*, 2014). Eles relataram também períodos prolongados de estabilidade da TFGm e períodos de rápido declínio. Os autores sugeriram que uma vez iniciado o declínio, ele geralmente prossegue (FERRO *et al.*, 2014). Aqui, 58% das crianças experimentaram períodos de estabilidade após ligeiras reduções da função do enxerto, o que está em desacordo com os achados de Ferro e colegas. Os pacientes do grupo 3 (aqueles com a mais elevada TFGm basal) não mostraram períodos de estabilidade. Eles experimentaram um ligeiro declínio da função renal nos 5 anos pós-transplante seguidos por aceleração

do declínio. Nos pacientes com a menor TFGm após transplante (grupo 1), o declínio da função do enxerto foi constante.

O presente estudo encontrou que ter um doador vivo é um forte fator de proteção para não pertencer ao grupo 1 (OR 0,02). Outros relatos têm encontrado melhor sobrevida do enxerto em receptores pediátricos de doadores vivos versus falecidos (GJERTSON e CECKA, 2001; HARDY *et al.*, 2009; PITT *et al.*, 2013). Em contraste, em um modelo de prognóstico de TFG após transplante renal pediátrico, Pape e colegas não confirmaram que enxertos de doadores vivos melhoram a TFG (PAPE *et al.*, 2013). Além disso, o relato anual de 2010 do NAPRTCS mencionou que a depuração de creatinina basal é mais baixa em receptores de doadores falecidos (versus vivos), mas que os valores de depuração tendem a convergir sete anos após (NAPRTCS, 2010).

As crianças do grupo 1 (trajetória “baixa e decrescente”), em torno de 45%, tinham idade superior a 12 anos; o pior resultado poderia estar relacionado à pobre adesão ao tratamento imunossupressor nestes receptores (SHELLMER *et al.*, 2011). Neste modelo de predição encontramos um aumento de 20% na chance de pertencer ao grupo de pior resultado por ano de aumento na idade do receptor. Na verdade, nas últimas décadas, as melhoras na sobrevida do enxerto foram alcançadas em crianças com idade inferior a 5 anos, enquanto os adolescentes tinham os piores resultados a longo prazo entre todos os grupos etários pediátricos e eram os receptores de mais alto risco (HARMON *et al.*, 2005; DHARNIDHARKA *et al.*, 2014).

Aqui, a probabilidade de pertencer ao grupo 1 foi positivamente correlacionada com a DIDR. Noppakun e colegas também encontraram, em adultos, que a DIDR teve um impacto na sobrevida do enxerto em receptores com menos de 50 anos de idade [HR: 1,03 (1,02; 1,04) para cada ano de diferença, $p < 0.0001$] (NOPPAKUN *et al.*, 2011). Shin e colegas demonstraram, também em adultos, que o recurso do doador mais jovem que o receptor poderia proporcionar excelentes resultados a longo prazo e que a DIDR, bem como a idade do doador, foram fortes preditores de sobrevida do enxerto censurada por morte (SHIN *et al.*, 2013). De forma similar, Dubourg demonstrou, em 134 crianças, que a TFG do enxerto proveniente de doadores pediátricos aumentava para coincidir com o crescimento corporal do receptor, levando a uma TFG estável no receptor por muitos anos após o transplante renal (DUBOURG *et al.*, 2002). Adicionalmente, Pape demonstrou que a TFGm aumentou significativamente 3 a 5 anos após o transplante em crianças com enxertos pediátricos e que estes pareciam dobrar em tamanho enquanto os enxertos de adultos não aumentavam. Da mesma forma, Feltran encontrou que os enxertos com menor massa aumentam em volume e função caracterizando uma adequada adaptação e os enxertos de maior massa apresentam redução de volume com TFG estável (FELTRAN *et al.*, 2014).

Por nosso conhecimento, este é o primeiro estudo utilizando um modelo baseado em grupos de trajetórias para identificar trajetórias típicas de função renal após transplante renal pediátrico. Outro ponto forte é o uso de depuração de inulina para mensurar a TFG. Por outro lado, o estudo admite duas principais limitações: i) um tamanho de amostra relativamente

pequeno, que dificulta análises de subgrupo; ii) uma grande inclusão de pacientes caucasianos que impede generalização direta para todas as populações pediátricas.

Em conclusão, o presente estudo identifica três trajetórias de função do enxerto renal após o transplante renal pediátrico. Os achados sugerem que o doador vivo e o recurso de doadores mais jovens são fatores importantes para a função do enxerto no longo prazo.

Conflito de interesse

Os autores deste manuscrito não têm conflito de interesse a divulgar, conforme solicitado pela revista *Journal of the American Society of Nephrology*.

Tabela 1 – Características dos pacientes.

	Perfis de evolução da TFG				Valor P
	Toda a coorte	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	
Pacientes (n)	67	18	39	10	-
Medidas de TFG	278	68	158	52	-
Feminino (%)	30 (45)	10 (56)	16 (42)	4 (40)	0,56
Idade no transplante, n (%)					
0-2 anos	4 (6)	0 (0)	3 (8)	1 (10)	0,44
2-5 anos	12 (18)	4 (22)	4 (10)	4 (40)	0,08
5-12 anos	26 (39)	6 (33)	17 (44)	3 (30)	0,63
>12 anos	25 (37)	8 (45)	15 (38)	2 (20)	0,43
Diagnóstico primário					
CAKUT	31 (46)	9 (50)	16 (41)	6 (60)	0,52
Glomerulopatia	19 (29)	5 (28)	13 (33)	1 (10)	0,34

GESF	4 (21)	3 (60)	1 (8)	0	0,08
Outro	17 (25)	4 (22)	10 (26)	3 (30)	0,90
Doador falecido	55 (82)	16 (89)	32 (82)	7 (70)	0,46
Idade do doador vs receptor					
Mais de 2 anos mais jovem	6 (9)	1 (6)	4 (10)	1 (10)	0,84
2 anos mais jovem ou mais velho	15 (23)	2 (11)	11 (28)	1 (10)	0,22
2 a 8 anos mais velho	17 (25)	6 (33)	9 (23)	8 (80)	0,003*
8 a 20 anos mais velho	17 (25)	6 (33)	8 (21)	0	0,11
Mais de 20 anos mais velho	12 (18)	3 (17)	7 (18)	0	0,35
Transplante preemptivo	16 (24)	3 (17)	10 (26)	3 (30)	0,67
Incompatibilidade HLA †					
1	2 (3)	0	2 (5)	0	0,48
2	12 (18)	3 (17)	8 (21)	1 (10)	0,73
3	21 (32)	3 (17)	14 (36)	4 (40)	0,28
4	22 (33)	8 (45)	13 (33)	1 (10)	0,17
5	6 (9)	1 (6)	2 (5)	3 (30)	0,04*

>5	2 (3)	1 (6)	0 (0)	1 (10)	0,19
Hipertensão [‡]	31 (46)	9 (50)	17 (44)	5 (50)	0,87

Valores são expressos como n (%) - [†] Dois dados faltantes nas colunas 2 e 3 - [‡] Três dados faltantes. *Valor-P menor do que 0,05

Tabela 2 – Efeito das características do enxerto na probabilidade de pertencimento ao grupo 1 (pior resultado).

Variáveis	Odds ratio ajustado [IC 95%]	Valor P
Doador vivo (vs. falecido)	0.02 [0; 0.67]	0.03
Idade do receptor (por ano adicional)	1.20 [0.99; 1.46]	0.07
IDRD (por ano adicional)	1.13 [0.99; 1.31]	0.07
Sexo receptor (masculino vs. feminino)	1.09 [0.27; 4.37]	0.89
Transplante preemptivo (sim vs. não)	0.15 [0.01; 1.78]	0.13
Incompatibilidade HLA	1.39 [0.64; 3.00]	0.40
Retardo funcionamento do enxerto (sim vs. não)	0.70 [0.04; 11.95]	0.80

IC 95%: interval de confiança 95% - DIDR: Diferença de idade doador-receptor.

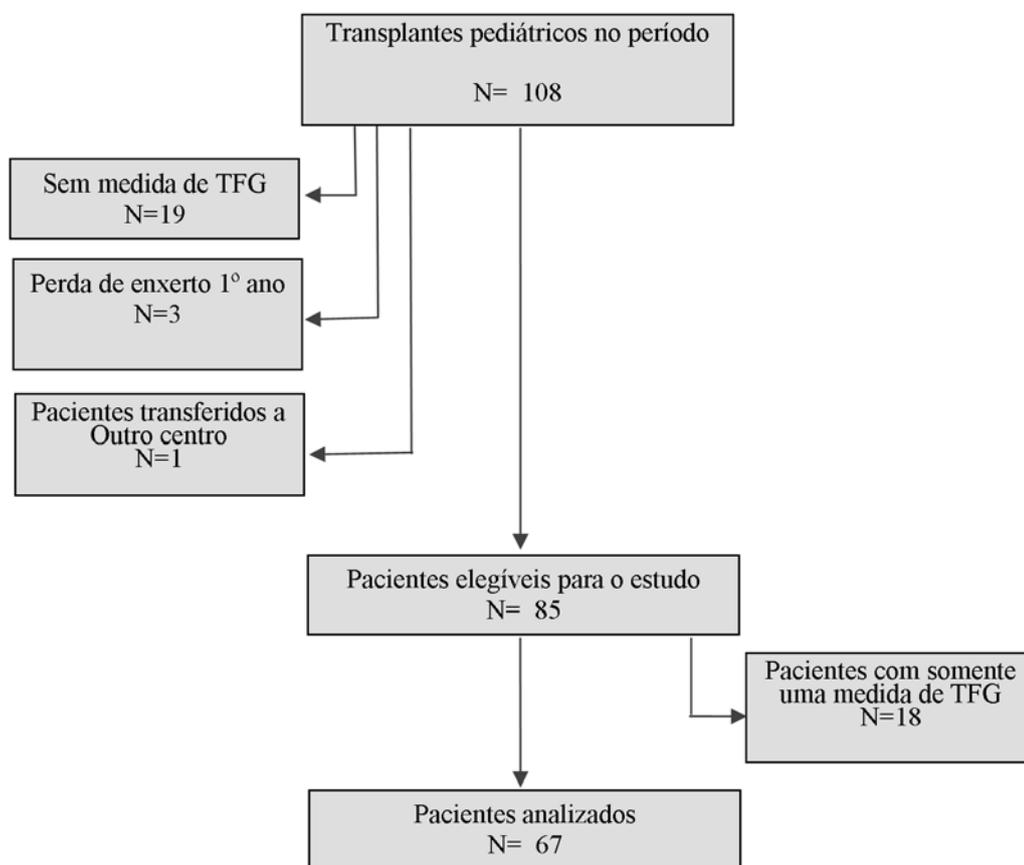


Figura 1. – Fluxograma de seleção dos pacientes. TFG= taxa de filtração glomerular

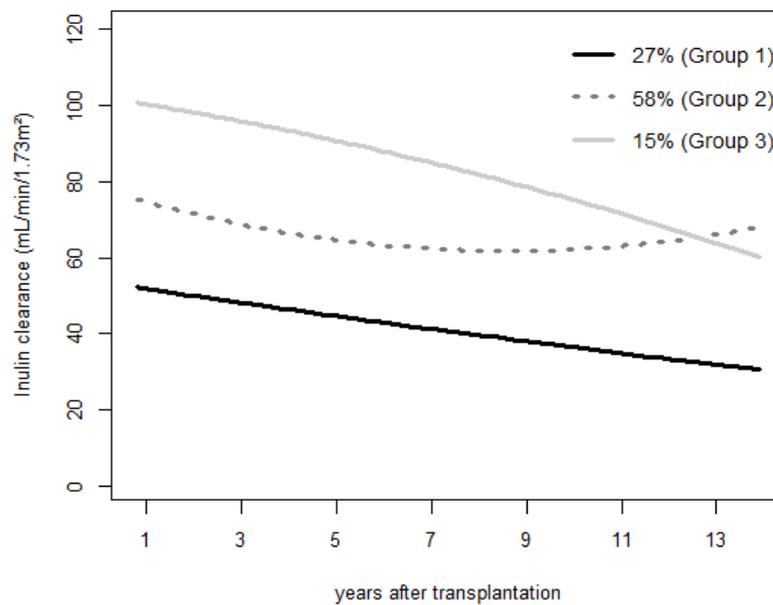


Figura 2 - Três grupos de trajetórias de evolução da depuração de inulina ao longo do tempo após 67 transplantes em 67 crianças.

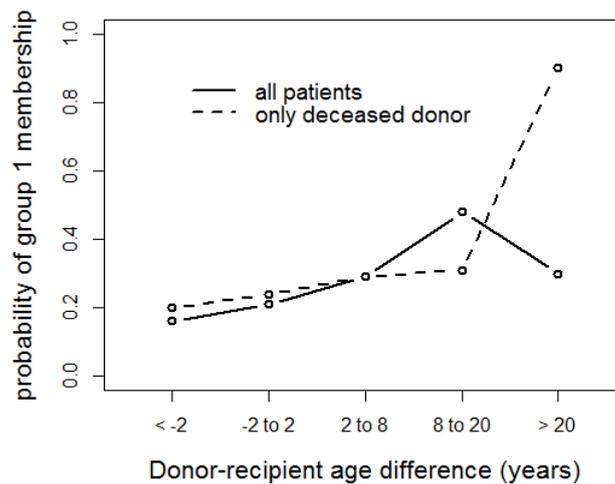


Figura 3 – Probabilidade de ser membro do grupo 1 de acordo com as cinco classes de diferença de idade doador- receptor. < -2= >2 anos mais jovem; 0±2= 2 anos mais jovem ou dois anos mais velho; 2 à 8= 2 a 8 anos mais velho; 8 à 20= 8 a 20 anos mais velho; > 20= >20 anos mais velho.

Referências

ALEXANDER, JW, BENNETT, LE, BREEN, TJ. Effect of donor age on outcome of kidney transplantation. A two-year analysis of transplants reported to the United Network for Organ Sharing Registry. **Transplantation**, Baltimore, v. 57, n. 6, p. 871-876, mar. 1994.

BRESNAHAN, BA, et al. Risk factors for renal allograft survival from pediatric cadaver donors: an analysis of united network for organ sharing data. **Transplantation**, Baltimore, v. 72, n. 2, p. 256-261, jul. 2001.

CICCIARELLI, J, IWAKI, Y, MENDEZ, R. The influence of donor age on kidney graft survival in the 1990s. **Clin Transpl**, Copenhagen, p. 335-340, 1999.

DHARNIDHARKA, VR, FIORINA, P, HARMON, WE. Kidney transplantation in children. **N Engl J Med**, Boston, v. 371, n. 6, p. 549-558, aug. 2014.

DUBOURG, L. et al. Role of the donor in post-transplant renal function. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 13, n. 6, p. 1494-1498, jun. 1998.

DUBOURG, L. et al. Better long-term functional adaptation to the child's size with pediatric compared to adult kidney donors. **Kidney Int**, New York, v. 62, n. 4, p. 1454-1460, oct. 2002.

FELTRAN L. et al. Does graft mass impact on pediatric kidney transplant outcomes? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 29, n. 2, p. 297-304, feb. 2014.

FELTRAN L. et al. A one year prospective comparison of kidney growth and function in children recipients of grafts from children and adults. **Transplantation**, Baltimore, v. 90, n. 7, p. 777-781, oct. 2010.

FERRO, CJ. et al. Bayesian Analysis of Glomerular Filtration Rate Trajectories in Kidney Transplant Recipients: A Pilot Study. **Transplantation**, Baltimore, v. 99, n.3, p. 533-539, mar. 2015.

GELLERT, S. et al. Donor age and graft function. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 10, n. 6, p. 716-719, dec. 1996.

GERA, M. et al. Assessment of changes in kidney allograft function using creatinine-based estimates of glomerular filtration rate. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 7, n. 4, p. 880-887, apr. 2007.

GJERTSON, DW, CECKA, JM. Determinants of long-term survival of pediatric kidney grafts reported to the United Network for Organ Sharing kidney transplant registry. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 5, n.1, p. 5-15, feb. 2001.

HARDY, BE. et al. Kidney transplantation in children and adolescents: an analysis of United Network for Organ Sharing Database. **Transplant Proc**, New York, v. 41, n. 5, p. 1533-1535, jun. 2009.

HARMON, WE. Et al. Pediatric transplantation, 1994-2003. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 4, p. 887-903, apr. 2005.

KASISKE, BL. et al. Long-term deterioration of kidney allograft function. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 6, p. 1405-1414, jun. 2005.

MOUDGIL, A. et al. Good outcome of kidney transplants in recipients of young donors: a NAPRTCS data analysis. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 15, n.2, p. 167-171, mar. 2011.

NAGIN, DS, ODGERS, CL. Group-based trajectory modeling in clinical research. **Annu Rev Clin Psychol**, Palo Alto, v. 6, p. 109-138, 2010.

NAPRTCS, The North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies, 2010 Annual Transplant Report. NAPRTCS Website. Disponível em : https://web.emmes.com/study/ped/annlrept/2010_Report.pdf, acesso em 01 de abril de 2015.

NEUMAYER, HH. et al. Kidneys from pediatric donors: risk versus benefit. **Clin Nephrol**, Deisenhofen, v. 41, n.2, p. 94-100, feb. 1994.

NOPPAKUN, K. et al. Living donor age and kidney transplant outcomes. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 11, n. 6, p. 1279-1286, jun. 2011.

PAPE, L. et al. Renal allograft function in matched pediatric and adult recipient pairs of the same donor. **Transplantation**, Baltimore, v. 77, n. 8, p. 1191-1194, 2004.

PAPE, L. et al. Development and validation of a new statistical model for prognosis of long-term graft function after pediatric kidney transplantation. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 28, n.3, p. 499-505, mar. 2013.

PAPE, L. et al. Superior long-term graft function and better growth of grafts in children receiving kidneys from paediatric compared with adult donors. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 21, n. 9, p. 2596-2600, sep. 2006.

PITT, SC. et al. Organ allocation in pediatric renal transplants: is there an optimal donor? **Clin Transplant**, Copenhagen, 27, n. 6, p. 938-944, nov-dec. 2013.

SELISTRE, L. et al. GFR estimation in adolescents and young adults. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 23, n. 6, p. 989-996, jun. 2012.

SHELLMER, DA, DABBS, AD, DEW, MA. Medical adherence in pediatric organ transplantation: what are the next steps? **Curr Opin Organ Transplant**, Hagerstown, v. 16, n. 5, p. 509-514, oct. 2011.

SHIN, M. et al. Implication of donor-recipient age gradient in the prognosis of graft outcome after deceased-donor kidney transplantation. **Transplant Proc**, New York, v. 45, n. 8, p. 2907-2913, oct. 2013.

YAMADA, A. et al. Long-term outcome of pediatric renal transplantation: A single center study in Japan. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 18, n.5, p. 453-462, aug. 2014.

9.2 PRIMEIRO ARTIGO: VERSÃO ORIGINAL EM LÍNGUA INGLESA

A disposição do texto está de acordo com a solicitação da revista para a qual o mesmo foi submetido: *Journal of the American Society of Nephrology*.

Trajectories and predictors of allograft dysfunction after renal transplantation in children

Vandréa de Souza, MD;¹⁻⁴ Muriel Rabilloud, MD, PhD;⁵⁻⁸ Pierre Cochat, MD, PhD;^{5,9-10} Mario Wagner, MD, PhD;^{1,11}; Clotilde Druck Garcia, MD, PhD;¹² Bruno Ranchin, MD;¹⁰ Jean Iwaz, PhD;⁵⁻⁸; Luciano Selistre, MD, PhD;^{2-4,11}; Laurence Dubourg, MD, PhD.^{3,5,9}

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Programa de Pós graduação em Saúde da Criança e do Adolescente- Porto Alegre- Brazil.

² Universidade de Caxias do Sul- Centro de Ciências da Saúde- Caxias do Sul- Brazil.

³ Exploration Fonctionnelle Rénale et Métabolique, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France.

⁴ Fellow CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasilia/DF, Brazil.

⁵ Université de Lyon, Lyon, France.

⁶ Université Lyon 1, Villeurbanne, France

⁷Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

- ⁸ CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Villeurbanne, France.
- ⁹ UMR 5305 CNRS/Université Claude Bernard, Biologie tissulaire et Ingénierie thérapeutique, Lyon, France.
- ¹⁰ Centre de Référence des Maladies Rénales Rares, Service de Néphrologie Rhumatologie Dermatologie Pédiatriques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.
- ¹¹ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil
- ¹² Fundação Universidade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre- Brazil

KEYWORDS: children, kidney transplantation, GFR, trajectories

ABSTRACT WORD COUNT: 197

TEXT WORD COUNT: 1475

Abstract

Although the survival of renal transplant children is improving, it remains important to ensure optimal renal function over decades. The number of functioning nephrons and the graft ability to adapt to an increasing demand during body growth seem to be the most important factors for long-term allograft function.

The present study examined the long-term change of glomerular filtration rate in a pediatric kidney transplant cohort and the importance of the recipient and donor ages in predicting poor transplant outcome. Data on 67 renal transplant children who underwent 278 inulin-clearance measurements between 2000 and 2010 were examined. A longitudinal latent class model was used to identify renal function trajectories and classify the children.

This model identified three trajectories of renal allograft function after pediatric kidney transplantation: “low and decreasing”, “moderate and stable”, and “high and sharply decreasing”. The probability of belonging to the low and decreasing trajectory --i.e., the poorer outcome-- increased with deceased versus living donor (adjusted odds ratio: 50), recipient age (adjusted odds ratio: 1.20 per year of recipient ageing), and donor-recipient age-difference (adjusted odds ratio: 1.13 per additional year). These results should help optimizing the donor pool and decreasing the need for early retransplantation.

The success rate of renal transplantation improved markedly over the recent decades; transplantation became the preferred option in children with end-stage renal disease. This improvement reflects surgical, medical, and immunological advances in this field.¹ Beyond survival, it is important to ensure optimal graft function (i.e., glomerular filtration rate, GFR) over decades to accompany recipient growth (KASISKE *et al.*, 2005; GERA *et al.*, 2007).

Usually, the major factors assumed to predict poor allograft survival are: ethnicity, donor type (living or deceased), recipient selection criteria, and management protocols (YAMADA *et al.*, 2014). In the nineties, several authors reported reduced graft and recipient survivals when the transplants belonged either to very young (<10 yrs) or very old (>70 yrs) donors (ALEXANDER *et al.*, 1994; NEUMAYER *et al.*, 1994; CICCARELLI *et al.*, 1999; BRESNAHAN *et al.*, 2001). Besides, some reports showed that the function of pediatric-donor grafts improved over time in pediatric recipients and adapted to the growing bodies (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 1998; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2006; FELTRAN *et al.*, 2010; MOUDGIL *et al.*, 2011; FELTRAN LDE *et al.*, 2014) and others that the GFRs of adult-donor grafts declined and failed to follow the recipients' growths (GELLERT *et al.*, 1996; DUBOURG *et al.*, 2002; PAPE *et al.*, 2004; FELTRAN LDE *et al.*, 2014). Thus, both the graft's number of functioning nephrons and its ability to adapt to an increasing demand during growth are important factors for long-term functioning (DUBOURG *et al.*, 1998; DUBOURG *et al.*, 2002).

We examine here the long-term change of the GFR in a pediatric kidney transplant cohort and the importance of age difference between recipient and donor in predicting a poor transplantation outcome.

Among 108 renal transplantations performed in 106 children, 41 cases were excluded: 19 with no GFR measurements, 18 with only one measurement, 3 graft loss within one year, and 1 transfer to another unit. Sixty-seven patients with at least two inulin-clearance measurements (totaling 278 measurements) were thus kept for the analysis.

Table 1 shows the characteristics of the patients. The main primary diagnoses were congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT, 46%) and glomerulopathy (28%). A high percentage of children (82%) received grafts from deceased donors.

Figure 1 shows the three trajectories of measured GFRs (mGFR) that stemmed from a latent class modeling.

In Group 1, the mean (Standard error, SE) mGFRs at 1, 3, 5, and 10 years were 52 (1.9), 48 (1.0), 45 (1.3), and 36 (2.1) mL/min/1.73m², respectively. This consistently post-transplant low pattern of renal function led us to consider Group 1 as the "low and decreasing" GFR trajectory group.

In Group 2, the mean (SE) mGFRs at 1, 3, 5, and 10 years were 75 (1.4), 69 (0.7), 65 (0.8), and 62 (1.4)mL/min/1.73m², respectively. This post-transplant pattern of renal function led us to consider Group 2 as the "moderate and stable" GFR trajectory group.

In Group 3, the mean (SE) mGFRs at 1, 3, 5, and 10 years were 100 (2.3), 96 (1.2), 91 (1.4), and 75 (2.6) mL/min/1.73m², respectively. In this group, a high level of renal function during the early post-transplant period was followed by a steady decline over twelve years. This led us to consider Group 3 as the "high and sharply decreasing" trajectory group.

The distribution of the 67 patients among the three groups was: 18 (27%) in Group 1, 39 (58%) in Group 2, and 10 (15%) in Group 3.

Table 1 lists the patient characteristics per trajectory groups. Regarding age, 45% of Group 1 patients were >12 years and none was <2 years whereas 50% of Group 3 patients were <5 years. Regarding the diagnosis, CAKUT was found in 50, 41, and 60% of Groups 1 to 3, respectively. Close percentages of patients with glomerulopathy were found in Groups 1 and 2 (28 and 33%, respectively) but this percentage was much lower in Group 3 (10%).

The observed probability of belonging to the poor outcome group (Group 1) increased with the donor-recipient age difference (DRAD), except for DRADs >20 years (Figure 2) where 90% of the children had living donors, which was a beneficial factor against belonging to Group 1; the adjusted Odds Ratio (aOR) [95% confidence interval, 95% CI] was 0.02 [0; 0.67], p=0.03). In children who had deceased donors, the observed probability of belonging to Group 1 increased with the DRAD and was maximal for DRADs >20 years (Figure 2). The aOR [95% CI] relative to variable "recipient age" was estimated at 1.20 ([0.99; 1.46], p=0.07), which is a 20% increase of the odds

of belonging to Group 1 per year of recipient ageing. The aOR [95% CI] relative to variable "DRAD" was estimated at 1.13 ([0.99; 1.31], $p=0.07$), which is a 13% increase of the odds of belonging to Group 1 per additional year of DRAD (Table 2). A beneficial effect (though not statistically significant) was found for variable "preemptive transplantation" (OR [95% CI]: 0.15 [0.01; 1.78], $p=0.13$).

Identifying the determinants of allograft survival in pediatric renal recipients is important to optimize the donor pool and decrease the need for early retransplantation. The longitudinal follow-up of the mGFR in the pediatric kidney transplant cohort has found: i) three mGFR change profiles (see above); ii) living donor transplantation was a beneficial factor against belonging to the poor outcome group (Group 1); and iii) increased recipient age and DRADs increased the probability of belonging to Group 1. The associated p -values, though not strictly $<5\%$, were nevertheless low (7%), which is in favor of real effects of these factors.

Predicting graft function is important to prevent rejection. Here, the three trajectories were essentially characterized by the level of the mGFR during the first year after transplantation and by differences in mGFR change relative to these levels. In an adult kidney transplant cohort, Ferro *et al.* found non-linear and non-progressive post-transplant declines of renal functions (FERRO *et al.*, 2014). They reported also extended periods of non-progression of mGFR and rapid declines. They suggested that once a decline has started, it usually continues. Here, 58% of the children experienced non-progressions after slight decreases of graft function, which disagrees with the finding of Ferro *et al.* Group 3 patients (those with the

highest baseline mGFRs) did not show a non-progression period. They experienced a slight decline of the graft function over 5 years after transplantation followed by decline acceleration. In the patients with the lowest mGFRs after transplantation (Group 1), the decline of the graft function was constant.

The present study found that having a living donor is a strong beneficial factor against belonging to Group 1 (OR: 0.02). Other reports have already found statistically significant longer graft survivals in pediatric recipients of grafts from living vs. deceased donors (GJERTSON e CECKA, 2001; HARDY *et al.*, 2009; PITT *et al.*, 2013). In contrast, in a model of GFR prognosis after pediatric kidney transplantation, Pape *et al.* did not find that living kidney donation improves GFR (PAPE *et al.*, 2013). Also, the NAPRTCS Annual Report 2010 mentioned that the baseline creatinine clearance is lower in recipients of deceased (vs. living) donor kidneys but that clearance values tended to converge seven years later (NAPRTCS, 2010).

In Group 1 children (low and decreasing trajectory), nearly 45% were >12 years; the poor outcomes may be related to poor compliance with anti-rejection treatment among these recipients (SHELLMER *et al.*, 2011). In our prediction model, we found a 20% increase of the odds of belonging to the poor outcome group per year of recipient ageing. Actually, over the last decades, the highest improvements were achieved in children ≤ 5 years whereas adolescents had the worst long-term graft survivals among all pediatric-recipient age groups and were the highest-risk recipients (HARMON *et al.*, 2005; DHARNIDHARKA *et al.*, 2014).

Here, the probability of belonging to Group 1 was positively correlated with the DRAD. Noppakun *et al.* have also found, in adults, that the DRAD had a significant impact on graft survival in recipients <50 years [HR: 1.03 (1.02; 1.04) per one-year difference, $p < 0.0001$] (NOPPAKUN *et al.*, 2011). Shin *et al.* demonstrated, also in adults, that the recourse to younger donors than the recipients could provide excellent long-term results and that the age difference between donor and recipient as well as the donor's age were strong predictors of post-transplant death-censored graft survival (SHIN *et al.*, 2013). Similarly, in 134 children, Dubourg *et al.* have demonstrated that the GFR of a graft from a pediatric donor increases to match the recipient body growth, leading to a stable GFR in the recipient for many years after transplantation (DUBOURG *et al.*, 2002). In addition, Pape *et al.* have demonstrated that the mGFR increased significantly 3 to 5 years after transplantation in children with pediatric grafts and that these grafts seemed to double in size whereas adult grafts did not enlarge. Also, Feltran *et al.* have found that the function of low-mass kidneys could improve over two years to reach the efficiency of higher-mass kidneys with stable function over the same period (FELTRAN *et al.*, 2014).

To our knowledge, here is the first study that used a group-based trajectory modeling to identify clinically significant typical trajectories of renal function after pediatric kidney transplantation. Another asset is the use of inulin clearance for GFR measurement. However, the study admits two main limitations: i) a relatively small sample size that prevented subgroup analyses; ii) a strong inclusion of Caucasian patients that prevents direct generalization to all pediatric populations.

In conclusion, the present study identified three trajectories of renal allograft function after pediatric kidney transplantation. It suggests that living donation and the recourse to younger donors are important favorable factor for long-term allograft function.

Concise Methods

Patient population

The study reviewed the medical records of all consecutive renal transplantation performed between January 2000 and December 2010 in a single department (Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France). Sixty-seven grafts in 67 children were included in the study. The study was approved by the institutional review board of Hospices Civils de Lyon (IRB 11263).

Immunosuppression protocol

The immunosuppression protocol consisted of 60 mg/m² methylprednisolone given preoperatively followed by 60 mg/m²/day prednisone until day 14 post-transplantation; the latter dosage was progressively tapered to 2.5 mg/m²/day. The induction therapy consisted of basiliximab at days 0 and 4 and mycophenolate mofetil administered preoperatively at 500 mg/m² then at 1200 mg/m²/day after transplantation. The calcineurin inhibitor was cyclosporine A in children or patients at risk of Epstein-Barr virus infection and Tacrolimus in adolescents without risk of Epstein-Barr virus infection.

Data collection and main definitions

The data collected for the present study included: the recipient and donor characteristics, anthropometric and social data, the treatments, graft function,

acute rejection episodes, and main outcome events (death, graft failure, loss to follow-up).

The assessment of renal function was performed at one year and three years after transplantation then each five years thereafter. The GFR was measured by inulin clearance (SELISTRE *et al.*, 2012). The results were standardized to 1.73 m² body surface area as estimated by Dubois formula ($\text{area} = \text{height}^{0.725} \times \text{weight}^{0.425} \times 0.007184$).

In the logistic regression modeling of the probability of a poor outcome, the DRAD was used as a continuous variable. For graphing the change in the observed probability of poor outcome, the DRAD considered five categories: donor more than two years younger than the receiver, donor 2 years younger to two years older, donor 2 to 8 yrs older, donor 8 to 20 yrs older, and donor more than 20 yrs older.

Data analysis

The first step of the analysis was the identification of typical renal function trajectories using a model of mixture of latent trajectories. Models with two, three, four, and five latent trajectories were built. An intercept, a slope, and a quadratic effect were estimated for each latent trajectory. The fit of each model was assessed using the Bayesian Information Criterion and graphical tools. The model with three trajectory groups was finally retained and the posterior probability of group membership was used to classify the children into trajectory groups. The analysis was carried out using “allvc” function of npmlreg package of R software.

The second step of the analysis was the quantification of the effects of the risk factors (i.e., recipient age, donor-recipient age difference, number of HLA-mismatches, deceased donor, recipient sex, delayed graft functioning) on the probability of belonging to the "low and decreasing" trajectory group. The analysis was carried out using a logistic regression with "belonging to the low and decreasing trajectory group" as dependent variable. Because of the important effect of the type of donor (deceased vs. living) on the post-transplantation renal function, a logistic regression stratified on this factor was carried out secondarily.

Disclosure

The authors of this manuscript have no conflicts of interest to disclose as described by the Journal of the American Society of Nephrology.

Table 1 – Patients characteristics at baseline.

	Whole cohort	mGFR change profiles			P-value
		Group 1	Group 2	Group 3	
Patients (n)	67	18	39	10	-
GFR measurements	278	68	158	52	-
Females (%) [*]	30 (45)	10 (56)	16 (42)	4 (40)	0.56
Age at transplantation, n (%)					
0-2 yrs	4 (6)	0 (0)	3 (8)	1 (10)	0.44
2-5 yrs	12 (18)	4 (22)	4 (10)	4 (40)	0.08
5-12 yrs	26 (39)	6 (33)	17 (44)	3 (30)	0.63
>12 yrs	25 (37)	8 (45)	15 (38)	2 (20)	0.43
Primary diagnosis					
CAKUT	31 (46)	9 (50)	16 (41)	6 (60)	0.52
Glomerulopathy	19 (29)	5 (28)	13 (33)	1 (10)	0.34
Other	17 (25)	4 (22)	10 (26)	3 (30)	0.90
Deceased donors	55 (82)	16 (89)	32 (82)	7 (70)	0.46
Donor vs. recipient age					

More than 2 yrs younger	6 (9)	1 (6)	4 (10)	1 (10)	0.84
2 yrs younger to 2 yrs older	15 (23)	2 (11)	11 (28)	1 (10)	0.22
2 to 8 yrs older	17 (25)	6 (33)	9 (23)	8 (80)	0.003*
8 to 20 yrs older	17 (25)	6 (33)	8 (21)	0	0.11
More than 20 yrs older	12 (18)	3 (17)	7 (18)	0	0.35
Preemptive transplantation	16 (24)	3 (17)	10 (26)	3 (30)	0.67
HLA mismatching †					
1	2 (3)	0	2 (5)	0	0.48
2	12 (18)	3 (17)	8 (21)	1 (10)	0.73
3	21 (32)	3 (17)	14 (36)	4 (40)	0.28
4	22 (33)	8 (45)	13 (33)	1 (10)	0.17
5	6 (9)	1 (6)	2 (5)	3 (30)	0.04*
>5	2 (3)	1 (6)	0 (0)	1 (10)	0.19
Hypertension‡	31 (46)	9 (50)	17 (44)	5 (50)	0.87

Values are expressed as n (%) - † percentages are group (column) percentages - ‡ Two missing data in columns 2 and 3 - † Three missing data. * P-value <0.05

Table 2 – Effects of graft characteristics on the probability of belonging to Group 1 (poor outcome).

Variables	Adjusted Odds ratio [95% CI]	P value
Living donor (vs. deceased)	0.02 [0; 0.67]	0.03
Recipient age (per year ageing)	1.20 [0.99; 1.46]	0.07
DRAD (per additional year)	1.13 [0.99; 1.31]	0.07
Recipient sex (male vs. female)	1.09 [0.27; 4.37]	0.89
Preemptive transplant (yes vs. no)	0.15 [0.01; 1.78]	0.13
HLA mismatch (per mismatch number)	1.39 [0.64; 3.00]	0.40
Delayed graft functioning (yes vs. no)	0.70 [0.04; 11.95]	0.80

95% CI: 95% confidence interval - DRAD: Donor-recipient age difference.

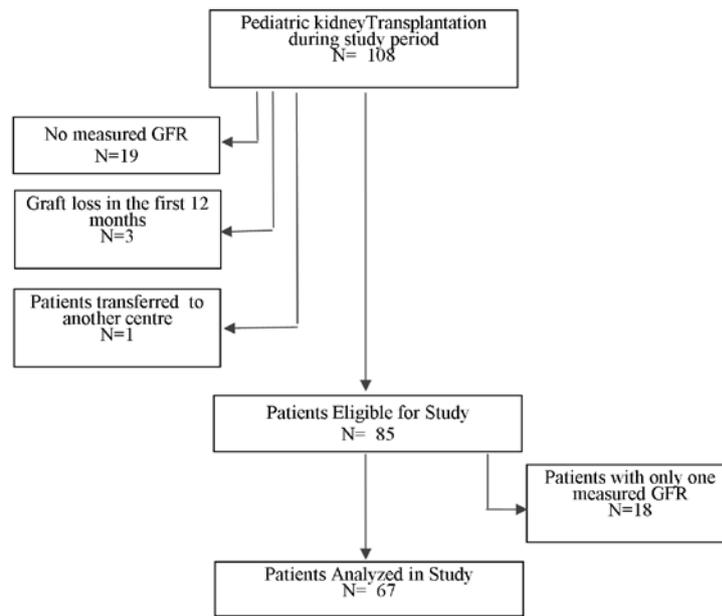


Figure 1. Patient selection flow diagram. GFR: glomerular filtration rate.

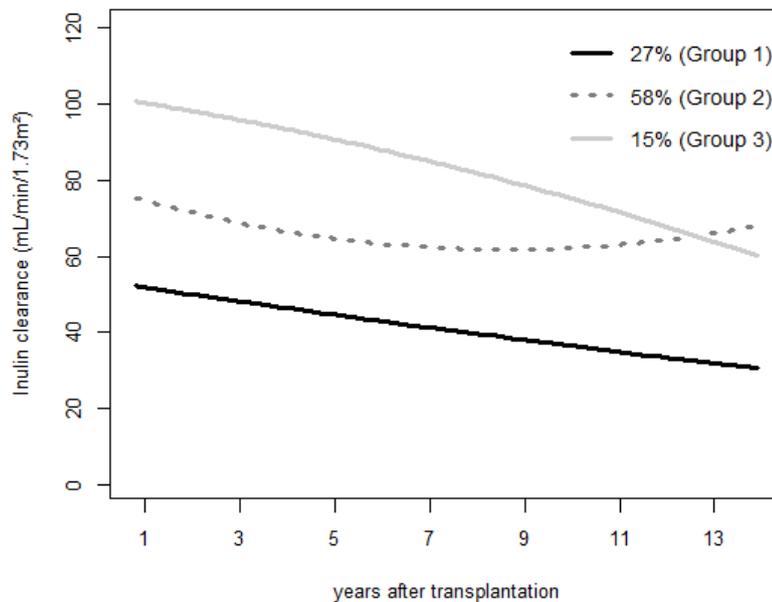


Figure 1 - The three groups of change of inulin clearance over time after 67 kidney transplantations in 67 children.

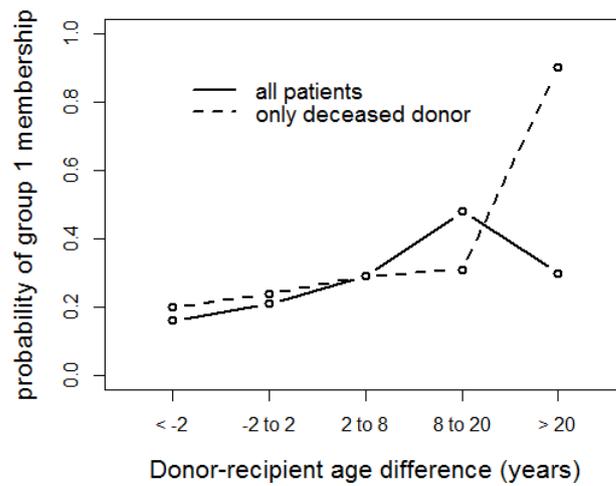


Figure 3 - Probabilities of Group 1 membership according to the five classes of donor-recipient age difference. < -2= >2 yrs younger; 0±2= 2 yrs younger to 2 yrs older; 2 à 8=2 to 8 yrs older; 8 à 20= 8 to 20 yrs older, > 20= >20 yrs older.

References

ALEXANDER, JW, BENNETT, LE, BREEN, TJ. Effect of donor age on outcome of kidney transplantation. A two-year analysis of transplants reported to the United Network for Organ Sharing Registry. **Transplantation**, Baltimore, v. 57, n. 6, p. 871-876, mar. 1994.

BRESNAHAN, BA, et al. Risk factors for renal allograft survival from pediatric cadaver donors: an analysis of united network for organ sharing data. **Transplantation**, Baltimore, v. 72, n. 2, p. 256-261, jul. 2001.

CICCIARELLI, J, IWAKI, Y, MENDEZ, R. The influence of donor age on kidney graft survival in the 1990s. **Clin Transpl**, Copenhagen, p. 335-340, 1999.

DHARNIDHARKA, VR, FIORINA, P, HARMON, WE. Kidney transplantation in children. **N Engl J Med**, Boston, v. 371, n. 6, p. 549-558, aug. 2014.

DUBOURG, L. et al. Role of the donor in post-transplant renal function. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 13, n. 6, p. 1494-1498, jun. 1998.

DUBOURG, L. et al. Better long-term functional adaptation to the child's size with pediatric compared to adult kidney donors. **Kidney Int**, New York, v. 62, n. 4, p. 1454-1460, oct. 2002.

FELTRAN L. et al. Does graft mass impact on pediatric kidney transplant outcomes? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 29, n. 2, p. 297-304, feb. 2014.

FELTRAN L. et al. A one year prospective comparison of kidney growth and function in children recipients of grafts from children and adults. **Transplantation**, Baltimore, v. 90, n. 7, p. 777-781, oct. 2010.

FERRO, CJ. et al. Bayesian Analysis of Glomerular Filtration Rate Trajectories in Kidney Transplant Recipients: A Pilot Study. **Transplantation**, Baltimore, v. 99, n.3, p. 533-539, mar. 2015.

GELLERT, S. et al. Donor age and graft function. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 10, n. 6, p. 716-719, dec. 1996.

GERA, M. et al. Assessment of changes in kidney allograft function using creatinine-based estimates of glomerular filtration rate. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 7, n. 4, p. 880-887, apr. 2007.

GJERTSON, DW, CECKA, JM. Determinants of long-term survival of pediatric kidney grafts reported to the United Network for Organ Sharing kidney transplant registry. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 5, n.1, p. 5-15, feb. 2001.

HARDY, BE. et al. Kidney transplantation in children and adolescents: an analysis of United Network for Organ Sharing Database. **Transplant Proc**, New York, v. 41, n. 5, p. 1533-1535, jun. 2009.

HARMON, WE. Et al. Pediatric transplantation, 1994-2003. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 4, p. 887-903, apr. 2005.

KASISKE, BL. et al. Long-term deterioration of kidney allograft function. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 6, p. 1405-1414, jun. 2005.

MOUDGIL, A. et al. Good outcome of kidney transplants in recipients of young donors: a NAPRTCS data analysis. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 15, n.2, p. 167-171, mar. 2011.

NAGIN, DS, ODGERS, CL. Group-based trajectory modeling in clinical research. **Annu Rev Clin Psychol**, Palo Alto, v. 6, p. 109-138, 2010.

NAPRTCS, The North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies, 2010 Annual Transplant Report. NAPRTCS Website. Disponível em : https://web.emmes.com/study/ped/annlrept/2010_Report.pdf. acesso em 01 de abril de 2015.

NEUMAYER, HH. et al. Kidneys from pediatric donors: risk versus benefit. **Clin Nephrol**, Deisenhofen, v. 41, n.2, p. 94-100, feb. 1994.

NOPPAKUN, K. et al. Living donor age and kidney transplant outcomes. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 11, n. 6, p. 1279-1286, jun. 2011.

PAPE, L. et al. Renal allograft function in matched pediatric and adult recipient pairs of the same donor. **Transplantation**, Baltimore, v. 77, n. 8, p. 1191-1194, 2004.

PAPE, L. et al. Development and validation of a new statistical model for prognosis of long-term graft function after pediatric kidney transplantation. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 28, n.3, p. 499-505, mar. 2013.

PAPE, L. et al. Superior long-term graft function and better growth of grafts in children receiving kidneys from paediatric compared with adult donors. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 21, n. 9, p. 2596-2600, sep. 2006.

PITT, SC. et al. Organ allocation in pediatric renal transplants: is there an optimal donor? **Clin Transplant**, Copenhagen, 27, n. 6, p. 938-944, nov-dec. 2013.

SELISTRE, L. et al. GFR estimation in adolescents and young adults. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 23, n. 6, p. 989-996, jun. 2012.

SHELLMER, DA, DABBS, AD, DEW, MA. Medical adherence in pediatric organ transplantation: what are the next steps? **Curr Opin Organ Transplant**, Hagerstown, v. 16, n. 5, p. 509-514, oct. 2011.

SHIN, M. et al. Implication of donor-recipient age gradient in the prognosis of graft outcome after deceased-donor kidney transplantation. **Transplant Proc**, New York, v. 45, n. 8, p. 2907-2913, oct. 2013.

YAMADA, A. et al. Long-term outcome of pediatric renal transplantation: A single center study in Japan. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 18, n.5, p. 453-462, aug. 2014.

9.3 SEGUNDO ARTIGO: VERSÃO EM LÍNGUA PORTUGUESA

Acurácia de diferentes equações de estimação de filtração glomerular em receptores de transplante renal pediátrico

Vandréa de Souza, MD¹⁻⁴, Pierre Cochat, MD, PhD⁵⁻⁷, Muriel Rabilloud, MD, PhD^{6,8,9}, Luciano Selistre, MD, PhD^{2-4,10}, Mario Wagner, MD, PhD^{1,10}, Aoumeur Hadj-Aissa, MD, PhD^{3,6}, Olga Dolomanova, MD, PhD³, Bruno Ranchin, MD⁵, Jean Iwaz, PhD^{6,8,9}, Laurence Dubourg, MD, PhD^{3,6,7}

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, Brazil.

² Universidade de Caxias do Sul, Centro de Ciências da Saúde, Caxias do Sul, Brazil.

³ Exploration Fonctionnelle Rénale et Métabolique, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁴ Fellow CAPES-Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasilia/DF, Brazil.

⁵ Centre de Référence des Maladies Rénales Rares, Service de Néphrologie et Rhumatologie Pédiatriques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁶ Université Claude Bernard, Lyon 1, Lyon, France.

⁷ CNRS UMR 5305, Biologie tissulaire et Ingénierie thérapeutique, Lyon, France.

⁸ Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁹ CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Villeurbanne, France.

¹⁰ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

KEYWORDS: renal function, children, kidney transplantation

Resumo

Introdução e objetivo. O conhecimento da função renal é crucial no manejo das crianças receptoras de transplante renal. As fórmulas comumente usadas para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) baseadas em creatinina plasmática (CrP)- e/ou cistatina C (CisC) podem ter um desempenho inadequado nesta população (e.g., corticóides e trimetoprim podem impactar na concentração de CrP, enquanto prednisona e inibidores de calcineurina podem alterar a concentração de CisC). O estudo avalia o desempenho de seis fórmulas em receptores pediátricos de transplante renal.

Delineamento, população e metodologia. O estudo usa equações baseadas em CrP (Bedside-Schwartz, Schwartz-Lyon), em CisC (Hoek, Filler), e combinadas CisC (Chronic Kidney Disease in Children CKiD 2012 e Zappitelli). O desempenho destas fórmulas foi examinado versus depuração de inulina (TFG_m) e de acordo com estágios de doença renal crônica em uma coorte de 73 receptores renais pediátricos (199 medidas). A habilidade das fórmulas em identificar TFG <60, <75, e <90 mL/min/1.73 m² também foi avaliada.

Resultados. Quando TFG_m ≥90 mL/min/1.73 m² (9 pacientes; 23 medidas), a fórmula Zappitelli teve a mais alta acurácia 30% (P30) (95%; 95% CI [87-100]) e a Bedside-Schwartz teve a mais alta acurácia 10% (P10) (56% [32-72]). Quando TFG_m ≥60 e <90 mL/min/1.73 m² (22 pacientes; 91 medidas), todas as fórmulas tiveram valores de P30 superiores a 80%. No entanto, somente CKiD 2012 teve um valor de P10 >50%. Quando TFG_m <60

mL/min/1.73 m² (42 pacientes; 85 medidas), as fórmulas CKiD 2012 e Schwartz-Lyon tiveram o mais alto P10 (45% [34-55] e 43% [33-54]) e P30 (90% [84-97] e 91% [86-98]). Todas as equações estudadas, exceto Hoek e Filler, tiveram áreas sob a curva ROC significativamente >90% em discriminar pacientes com disfunção renal em diversos estágios de doença renal crônica (TFGm <60, <75, and <90 mL/min/1.73 m²).

Conclusão. Em receptores renais pediátricos, a fórmula CKiD 2012 teve o melhor desempenho em TFGm <90 mL/min/1.73 m². Fórmulas baseadas em CisC não foram superiores às baseadas em CrP.

Palavras-chave: função renal, criança, transplante renal.

Introdução

O conhecimento da taxa de filtração glomerular (TFG) é de grande importância no manejo de pacientes pediátricos transplantados de rim, porém a determinação da TFG usando métodos de referência (inulina, iohexol, etc.) consome tempo, tem custo elevado e expõe o paciente a risco. Este é o motivo pelo qual medidas de marcadores sanguíneos endógenos para estimar a TFG tornaram-se uma prática comum. A creatinina plasmática (CrP), apesar de várias limitações, (FILLER e SHARMA, 2008; DELANGHE, 2009) é o marcador mais usado para esta proposta.

Uma limitação maior da CrP é a variabilidade de seus níveis entre os laboratórios, devido a variedade de métodos utilizados. A padronização do método de determinação da CrP (IDMS, do inglês, isotope-dilution mass spectrometry) é atualmente parte das recomendações internacionais e tem superado esta limitação.

A influência da massa muscular na CrP permanece como uma restrição maior ao seu uso na avaliação da TFG em todos os pacientes. Nos pacientes transplantados renais outros fatores podem impactar o metabolismo da creatinina. Os corticóides, por exemplo, podem alterar a relação massa muscular - peso corporal e o uso de drogas como trimetoprim pode afetar a secreção de creatinina no túbulo proximal (BERGLUND *et al.*, 1975; WHITE *et al.*, 2010).

A cistatina C plasmática (CisC), uma proteína endógena de pequeno peso molecular, supera estas limitações da CrP (POGE *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2006; FILLER e SHARMA, 2008; MAILLARD *et al.*, 2008; YANG *et al.*,

2011). A CisC preenche somente alguns critérios de marcador ideal pois é produzida a níveis constantes e é filtrada livremente no glomérulo sem secreção tubular, porém é catabolizada nos túbulos (FILLER *et al.*, 2005). Os relatos do valor de CisC como marcador de TFG, particularmente em transplante renal pediátrico, têm sido contraditórios devido à influência da prednisona e dos inibidores de calcineurina na sua concentração (BOKENKAMP *et al.*, 1999; KRIESER *et al.*, 2002). Assim, equações de estimação da TFG baseadas em CystC ou combinadas PCr- CystC tem sido estabelecidas em diversas populações, especialmente em pacientes pediátricos, (FILLER e LEPAGE, 2003; HOEK *et al.*, 2003; ZAPPITELLI *et al.*, 2006; DE SOUZA *et al.*, 2012) mas poucas equações tem sido desenvolvidas especificamente para pacientes transplantados: somente a fórmula Zappitelli tem um fator de correção para paciente transplantado renal pediátrico (ZAPPITELLI *et al.*, 2006).

A diretriz de transplante renal recentemente publicada "Melhorando os resultados globais da doença renal" (Kidney Disease Improving Global Outcomes -KDIGO) recomenda estimação da TFG em crianças e adolescentes transplantados usando CrP, através da fórmula de Schwartz 2009 a qual é adaptada para determinação de CrP rastreável ao método IDMS (SCHWARTZ *et al.*, 2009). No entanto, devido ao retardo de crescimento da população utilizada no estudo, a fórmula apresenta um único coeficiente para todos os grupos etários e foi validada em crianças com e sem doença renal crônica (DRC) (STAPLES *et al.*, 2010). Em 2012, De Souza e colegas descreveram uma fórmula localmente adaptada baseada em Schwartz (fórmula Schwartz-Lyon, com dois coeficientes para sexo e

idade) e validada em uma população externa (DE SOUZA *et al.*, 2012). Finalmente, Schwartz estabeleceu uma nova equação combinada CrP-CisC: a fórmula CKiD, (SCHWARTZ *et al.*, 2009) que foi atualizada em 2012 usando determinação da CisC por imunonefelometria (SCHWARTZ *et al.*, 2012).

O presente estudo foi conduzido no intuito de avaliar o desempenho das principais fórmulas de estimação da TFG baseadas em CrP e CisC em uma coorte de receptores pediátricos de transplante renal com uma ampla variação de TFG. O desempenho destas equações foi analisado em comparação com a depuração de inulina utilizando metodologia analítica desenvolvida pela diretriz KDIGO. A habilidade destas equações em classificar os pacientes receptores de transplante renal em diferentes estágios de DRC de acordo com as recomendações da KDIGO também foi avaliada.

Materiais e métodos

Pacientes

Estimativas de TFG (TFGe) após transplante renal com diversas fórmulas baseadas em CrP e/ou CisC foram comparadas com TFG medida por depuração de inulina (TFGm) em uma coorte histórica de 73 pacientes pediátricos transplantados de rim.

As crianças eram provenientes da coorte francesa utilizada para estabelecer a fórmula Schwartz-Lyon (DE SOUZA *et al.*, 2012). Elas foram

referenciadas para a unidade de exploração de função renal "Exploration Fonctionnelle Rénale et Métabolique" para medida da depuração de inulina no hospital Edouard Herriot (Lyon, França) entre Julho de 2003 e Julho de 2010. O estudo nesta coorte foi aprovado pelo comitê de ética do hospital Edouard Herriot (nº 11263) e consentimento informado foi obtido dos responsáveis ou representantes legais.

De fato, a depuração de inulina foi parte do seguimento de rotina pós transplante renal e foi realizada 1 ano, 3 anos e então a cada 5 anos após o transplante. No total os pacientes foram submetidos à 199 medidas de inulina (6 medidas em 4 pacientes, 5 em 7, 4 em 9, 3 em 15, 2 em 21 e somente 1 em 17). Todos os pacientes estavam recebendo um regime padrão de imunossupressão (< 2.5 mg/m²/dia de corticóide). No momento da realização da depuração de inulina nenhum estava recebendo trimetoprim.

Medida da creatinina plasmática

A CrP foi obtida através de técnica cinética colorimétrica compensada de Jaffé (Roche Modular, Meylan, França). Todas as medidas de CrP foram realizadas com o mesmo método em todo o período do estudo. Os resultados foram padronizados por ajuste através de regressão linear das concentrações obtidas pelo método Jaffé compensado e cromatografia líquida- espectrometria de massa.

A equação de calibragem foi: CrP padronizada= 0.9395 x (CrP Jaffé compensado em µmol/L) + 4.6964. O coeficiente de correlação foi r = 0.97.

Esses valores de CrP padronizados foram utilizados nas fórmulas Bedside-Schwartz e CKiD.

Medida da Cistatina C

Antes do advento do material de referência europeu emitido pela International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (ERM-DA471/IFCC), as amostras de CisC foram analisadas com o kit Siemens N-latex Cystatin C usando o sistema BN systems™, mas os valores obtidos foram recalculados de acordo com as recomendações do fabricante. Houve necessidade de um fator de correção de 1,11 para ajustar os valores de acordo com a nova preparação de referência internacional (IRP)- ERM-DA471/IFCC, conforme recomendado pela KDIGO (MEMBERS-KB, 2013).

Medidas da TFG

A TFGm foi obtida pela depuração de inulina (polyfructosan, Inutest®, Fresenius Kagi, Graz, Austria). Uma técnica padrão foi utilizada por uma equipe treinada com infusão contínua após uma primeira dose de inulina de polyfructosan (30 mg/kg). A diurese foi induzida através da administração oral de água 5ml/Kg seguida por 3ml/Kg cada 30 minutos associada a infusão intravenosa de cloreto de sódio 0,9%. Esta medida ajuda o paciente a esvaziar a bexiga a cada 30 minutos. Todos os pacientes necessitando cateterismo vesical intermitente foram excluídos do estudo. Três a quatro amostras de urina foram coletadas e uma amostra de sangue nos intervalos de coleta de urina. A depuração calculada pela fórmula UV/P foi obtida dos

valores médios dos períodos de 3 a 4 medidas. As medidas de polyfructosan plasmáticas e urinárias foram realizadas utilizando o mesmo método enzimático. Os resultados foram corrigidos para a superfície corporal (SC) de 1,73m² de acordo com a fórmula de Dubois $SC = altura^{0.725} \times peso^{0.425} \times 0.007184$ (DU BOIS e DU BOIS, 1989).

Estimativa da TFG

A TFGe foi obtida usando seis fórmulas: i) duas baseadas na CrP: Bedside-Schwartz (SCHWARTZ *et al.*, 2009) e Schwartz-Lyon; (DE SOUZA *et al.*, 2012) ii) duas baseadas em CisC: Hoek (HOEK *et al.*, 2003) and Filler (FILLER e LEPAGE, 2003); e duas fórmulas combinadas: CKiD (SCHWARTZ *et al.*, 2012) que utiliza CrP, CisC, e ureia e Zappitelli (ZAPPITELLI *et al.*, 2006) que utiliza CrP e CisC. Todas as TFGes foram padronizadas para a superfície corporal de 1,73m² e expressas em mL/min/1.73 m². As equações utilizadas para determinar as TFGes estão descritas na tabela 1.

Análise estatística

O desempenho das seis fórmulas foi comparado à TFGm, inicialmente em toda a população e posteriormente nos seguintes grupos de DRC: TFG > 90 mL/min/1.73 m², 60 ≤ TFG < 90 mL/min/1.73 m², e TFG < 60 mL/min/1.73 m².

A concordância entre os valores de TFGm e TFGe (obtido com as seis fórmulas) foi avaliado pelo viés (diferença média TFGe - TFGm), pelos limites de concordância e pelas acurácias 10% (P10) e 30% (P30) de acordo com a diretriz do KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) (K/DOQI, 2002) P10 e P30 são as proporções de TFGe que se encontram no intervalo $TFGm \pm 10\%$ e $\pm 30\%$, respectivamente. O coeficiente de correlação de concordância (CCC) também foi estimado para quantificar a concordância. O CCC ajusta o coeficiente de correlação de Pearson para baixo sempre que há um desvio sistemático entre os métodos que estão sendo comparados. Ele mede, ao mesmo tempo, precisão (a dispersão dos dados em torno da reta de regressão) e o viés (quanto esta linha se distancia da linha de perfeita concordância - linha de 45°) (LIN, 1989).

As comparações entre os vieses, os CCCs, os P10 e P30 foram realizadas utilizando respectivamente, teste t pareado, intervalos de confiança (IC) a 95% das diferenças entre os CCCs com método de Bootstrap e teste de McNemar.

Um modelo linear com intercepto aleatório foi utilizado para estimar o viés e o desvio padrão do viés. Este modelo levou em conta as medidas repetidas no mesmo sujeito e as variâncias intra-sujeito e inter-sujeito, com a finalidade de estimar a variância do viés (que é a soma das duas variâncias).

A habilidade das fórmulas em prever uma TFG < 60 , < 75 , and < 90 mL/min/1.73 m² foi avaliada utilizando área sob a curva ROC (AUC). Os percentuais de pacientes bem classificados em duas classes de TFG como

determinada por cada um dos pontos de corte também foram calculados para cada equação.

Os gráficos de Bland e Altman foram construídos utilizando valores de TFGm no eixo X por que a TFGm (i.e., depuração) é considerada como método padrão ouro para medida de TFG.

Todas as análises foram realizadas usando o software R para windows, versão 2.15. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

A coorte incluiu 73 indivíduos transplantados de rim pediátricos (55% masculino) com uma idade mediana de 11,5 anos que foram submetidos à 199 medidas de depuração de inulina (de 1 a 6 medidas por paciente). Nesta população 57% (n=42) dos indivíduos tinham uma TFGm <60 mL/min/1.73 m² (Tabela 2).

Desempenho das fórmulas na população total

As fórmulas CKiD 2012 e Schwartz-Lyon foram as mais acuradas em estimar a TFGm na coorte de transplantados pediátricos de rim: elas mostraram os maiores valores de P30, 98 e 97% respectivamente (IC 95% [96-99%] e [94-98%] respectivamente). No entanto, a fórmula CKiD 2012 teve a menor variabilidade da diferença TFGe - TFGm como demonstrado

pelos limites de concordância mais estreitos (Figura 1). Além disso, os valores de CCC para as fórmulas CKiD 2012 e Schwartz-Lyon foram significativamente mais elevados do que os encontrados nas demais fórmulas. Na Figura 1, o gráfico de Bland e Altman com depuração de inulina no eixo X permite observar a tendência do viés para cada fórmula, de acordo com a TFGm. O viés varia de acordo com a depuração de inulina: a superestimação da TFGm aumenta com a redução da TFGm em todas as fórmulas testadas, exceto Zappitelli.

Desempenho das fórmulas de acordo com subgrupos de DRC

Os resultados revelam uma subestimação da TFGm quando TFGm ≥ 90 mL/min/1.73 m², exceto com a fórmula Zappitelli (-0.5 ± 17.2 , -5.4 ± 16.5 , -22.9 ± 13.4 , -6.3 ± 17.3 , -5.9 ± 12.1 , and 7.6 ± 17.8 , respectivamente) (Tabela 3). Neste nível de TFGm, a fórmula Zappitelli tem o valor mais elevado de P30 (95%) e Bedside-Schwartz tem o valor mais elevado de P10 (56%).

Nos níveis de TFGm variando entre 60 e 90 mL/min/1.73 m², o viés da fórmula CKiD foi estatisticamente inferior ao das outras fórmulas, exceto a fórmula Schwartz-Lyon. No entanto, a fórmula CKiD mostrou a menor variabilidade do viés, ou seja, um intervalo mais estreito para os limites de concordância a 95%. Nesta variação de TFGm todas as fórmulas tiveram valores de P30 $> 80\%$, entretanto, importante salientar que a fórmula CKiD 2012 foi a única com valor P10 $> 50\%$ (Tabela 3).

Uma superestimação foi encontrada quando $\text{TFGm} < 60$ mL/min/1.73 m², exceto com a fórmula Hoek (Tabela 3). Para as fórmulas Bedside-Schwartz, Schwartz-Lyon, Hoek, Filler, CKiD 2012 e Zappitelli, as diferenças médias (DP) foram $5,7 \pm 9,4$, $1,3 \pm 8,2$, $-0,2 \pm 11,7$, $8,2 \pm 14,5$, $2,7 \pm 7,6$ e $8,0 \pm 11,8$, respectivamente. As fórmulas CKiD 2012 e Schwartz-Lyon tiveram os valores mais elevados de P10 (45 e 43%) e P30 (90 e 91%, respectivamente).

A Tabela 4 mostra que todas as equações estudadas, exceto Hoek e Filler, tinham AUCs significativamente superiores a 90% em discriminar pacientes com disfunção renal em diversos estágios de DRC ($\text{TFG} < 60$, < 75 , and < 90 mL/min/1.73 m²). As fórmulas CKiD 2012 e Schwartz-Lyon apresentaram as maiores AUCs qualquer que fosse o estágio de DRC. A tabela 4 também mostra os percentuais de classificação correta de cada fórmula versus depuração de inulina em diversos pontos de corte de TFGm (90, 75, ou 60 mL/min/1.73 m²).

Discussão

O presente estudo, comparando o desempenho de fórmulas TFGe em receptores de transplante renal pediátrico, encontrou: i) um melhor desempenho das fórmulas CKiD 2012 e Schwartz-Lyon em relação às demais quando $\text{TFGm} < 90$ mL/min/1.73 m²; e ii) uma não superioridade de fórmulas baseadas em CisC sobre as baseadas em CrP qualquer que fosse o subgrupo de TFGm (ou DRC).

A fórmula Bedside-Schwartz, como previamente descrito, (KIVELA *et al.*, 2011; TSAMPALIEROS *et al.*, 2011) superestima a TFG em média em 10%. Este dado está de acordo com o relato de Tsampalieros, (TSAMPALIEROS *et al.*, 2011) que em pacientes transplantados de rim encontrou uma superestimação da TFGm de 9% e também em concordância com Kivela (KIVELA *et al.*, 2011) que encontrou uma superestimação da TFGm de 11% em pacientes pediátricos com transplante duplo rim-fígado. Além disso, na presente coorte, a fórmula Bedside-Schwartz mostrou um desempenho significativamente superior ao da formula CKiD 2012.

O presente estudo demonstrou que a fórmula Schwartz-Lyon (uma fórmula baseada em CrP) e a fórmula CKiD 2012 (uma fórmula de estimação de TFG combinada CrP-CisC) tem viés e P30s similares. Estes valores foram respectivamente menores e mais elevados do que as demais fórmulas, ou seja, têm um desempenho melhor em estimar a TFG em pacientes pediátricos transplantados de rim. O uso de coeficientes específicos na fórmula Schwartz-Lyon ($k= 32,5$ em crianças < 13 e meninas ≥ 13 anos, em função da menor massa muscular em meninas do que em meninos adolescentes) pode ter melhorado o desempenho desta fórmula. Além disso, a população do presente estudo contribuiu com 20% da coorte usada para estabelecer a fórmula Schwartz-Lyon.

Até o momento poucos estudos tem comparado equações baseadas em CrP e CisC em pacientes pediátricos transplantados de rim. O presente estudo mostrou que equações baseadas em CrP ou combinadas CrP-CisC tiveram mais concordância com a TFGm do que as baseadas em CisC. Resultados similares foram obtidos pelo estudo piloto conduzido por Kivela e

colegas (KRIESER *et al.*, 2002) em 19 receptores pediátricos de rim (idade mediana 13,5 anos) os quais não suportaram o uso de CisC no monitoramento da função renal em receptores pediátricos de rim (KRIESER *et al.*, 2002). Recentemente, Papez (PAPEZ *et al.*, 2013) demonstrou um desempenho aceitável das fórmulas Bedside-Schwartz, CKiD 2009 e Zappitelli em uma população pediátrica de transplantados de rim predominantemente hispânica (n=47) com uma TFG média (medida com Iotalamato) de 90 mL/min/1.73 m². Em uma revisão sistemática avaliando 14 diferentes fórmulas baseadas em CisC em transplantados de rim adultos, Harman (HARMAN *et al.*, 2012) encontrou uma heterogeneidade no desempenho das fórmulas. Além disso, Sharma (SHARMA *et al.*, 2011) analisando 240 crianças demonstrou que a acurácia diagnóstica de diversas equações baseadas em CisC variaram com a TFGm. Algumas equações tiveram melhor desempenho em níveis reduzidos de TFGm e outras em níveis elevados de TFGm. Franco (FRANCO *et al.*, 2009) encontrou superioridade da fórmula Zappitelli baseada em CisC sobre outra baseada em CrP em 50 receptores pediátricos de transplante renal, mas estes autores utilizaram a fórmula de Schwartz previamente descrita em 1976 (ZAPPITELLI *et al.*, 2006; BROCHARD *et al.*, 2009).

No presente estudo, conduzido com dosagens padronizadas de ambos marcadores (CrP e CisC), o desempenho da fórmula CKiD 2012 (equação combinada CrP-CisC) foi similar ao desempenho de Schwartz-Lyon. Schwartz e colegas utilizaram um método de imunonefelometria para dosagem de CisC mas sem calibragem padronizada; isto pode ter diminuído a performance desta fórmula na presente população. A fórmula Zappitelli,

apesar do uso específico de um fator de correção para transplante renal pediátrico, não mostrou melhor desempenho do que as demais equações, exceto quando $\text{TFGm} \geq 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$. No entanto, este grupo teve um número reduzido de pacientes (23 medidas em 9 pacientes) que também se refletiu nos ICs alargados de P30 e P10.

Um ponto forte deste estudo foi o uso de método de referência para medida de TFG (i.e., depuração de inulina) e dosagens padronizadas de CrP e CisC de acordo com recomendações internacionais. Contudo, o estudo admite algumas limitações: i) pouquíssimos pacientes ($n=7$) tinham DRC estágio IV ou V; ii) a performance das fórmulas TFGe em pacientes com $\text{TFGm} < 30 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ não pode ser examinada em função do pequeno número de pacientes; iii) a influência do regime imunossupressor não pode ser testada pois esta informação não estava regularmente disponível para todos os pacientes; e iv) a população estudada incluiu crianças francesas e desta forma, os resultados não podem ser extrapolados para uma população pediátrica não europeia.

Concluindo, a presente avaliação de fórmulas TFGe sugere que a fórmula CKiD 2012 tenha a melhor performance em receptores pediátricos de transplante renal quando $\text{TFGm} < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$. Além disso, a utilização de ambos CrP e CisC é obviamente mais dispendiosa que a CrP sozinha nas avaliação clínica de rotina. As equações baseadas em CrP permanecem confiáveis na verificação da função renal quando um método rastreável ao IDMS for utilizado. A relação custo benefício precisa ser avaliada em condições clínicas específicas como o transplante.

Finalmente, apesar de refinamentos contínuos nas equações de predição da TFG, estas equações permanecem insuficientemente confiáveis em receptores pediátricos de transplante renal com níveis elevados de TFGm. A habilidade de estimar de forma acurada a TFG pós-transplante -- quando é esperado que seus níveis sejam mais elevados-- é importante para monitorar a progressão da DRC, especialmente em seus estágios precoces. Os métodos de referência de determinação da TFG (inulina ou outro método) devem então ser realizados sempre que uma medida fidedigna seja necessária.

Conflitos

Os autores declaram que não possuem conflitos de interesse em relação a este manuscrito.

Agradecimentos

O período durante o qual o estudo foi realizado teve suporte de bolsa do governo brasileiro (CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior – Processos 11083-13-1 e 3677-14-1).

Tabela 1 – Equações usadas para estimar a taxa de filtração glomerular (TFGe) em mL/min/1.73 m².

Nome	Fórmula
<i>Fórmulas usando CrP</i>	
Bedside-Schwartz	$K \times \text{altura} / \text{CrP}$, com $K = 0,413$
Schwartz-Lyon	$K \times \text{altura} / \text{CrP}$, com $K = 0,413$ in meninos > 13 anos e $K = 0,367$ nos demais
<i>Fórmulas usando CisC</i>	
Hoek	$- 4.32 + (80.35 / \text{CisC})$
Filler	$\text{Log}(\text{TFGe}) = 1,962 + [1,123 \times \text{log}(1/ \text{CisC})]$
<i>Fórmulas combinadas</i>	
CKiD 2012	$39,8 \times (\text{altura}/\text{CrP})^{0,456} \times (1.8/\text{CisC})^{0,418} \times$ $(30/\text{BUN})^{0,079} \times (1,076)^{\text{masculino}} \times (\text{altura}/1,4)^{0,179}$
Zappitelli	$[43,82 \times e^{0,003 \times \text{altura(m)}}] / [\text{CisC}^{0,635}] \times [\text{CrP}^{0,547}]$ Se transplante renal: $\times 1,165$ Se espinha bífida: $1,57 \times \text{CrP}^{0,925}$

CrP: Creatinina plasmática, em mg/dL - CisC: Cistatina C, em mg/L - BUN: Nitrogênio ureico, em mg/dL – Altura é expressa em cm em Bedside-Schwartz, Schwartz-Lyon e Zappitelli e em m em CKiD formulas.

Tabela 2 – Características dos receptores de transplante renal pediátrico.

Características	Valores
Total de pacientes	73
Masculino (n (%))	40 (55)
Idade (anos; mediana [IIQ])	11.5 [7.7 to 15.1]
Meninos > 13 anos	26
Peso (kg; mediana [IIQ])	35.6 [22.0 - 48.0]
Altura (cm; mediana [IIQ])	140.0 [119.5 - 154.0]
ASC (m ² ; mediana [IIQ])	1.2 [0.9 - 1.4]
Creatinina, (mg/dL; mediana [IIQ])	0.87 [0.67-1.20]
Pacientes (medidas) por subgrupos de TFGm	
TFGm ≥ 90 mL/min/1.73 m ²	9 (23)
60 ≥ TFGm < 90 mL/min/1.73 m ²	22 (91)
TFGm < 60 mL/min/1.73 m ²	42 (85)
Tempo do transplante até a TFGm (anos, mediana [IIQ])	4.0 [2.2 – 6.0]

IIQ: Intervalo interquartil – ASC: área de superfície corporal – TFGm: taxa de filtração glomerular medida.

Tabela 3 – Coeficiente de correlação de concordância, acurácia 10% e acurácia 30% de seis fórmulas para estimar TFG (comparadas com TFG medida) em toda a coorte. Diferença média (viés) nos três subgrupos de DRC.

	<i>Equações usando CrP</i>		<i>Equações usando CisC</i>		<i>Equações usando CrP e CisC</i>	
	<i>Bedside-Schwartz</i>	<i>Schwartz-Lyon</i>	<i>Hoek</i>	<i>Filler</i>	<i>CKiD 2012</i>	<i>Zappitelli</i>
<i>Todas as medidas (N=199)</i>						
<i>TFGm = 64.3 ± 20.8 mL/min/1.73 m²</i>						
TFGe (mL/min/1.73 m ²)	69.8 ± 22.5 *	65.0 ± 21.8	57.8 ± 17.4 *	69.0 ± 21.6 *	62.5 ± 16.8	73.4 ± 24.7 *
CCC [IC 95%]	0.81 [0.68 - 0.89]	0.85 [0.80 - 0.88] ^a	0.72 [0.65 - 0.77]	0.75 [0.68 - 0.80]	0.85 [0.81 - 0.88] ^a	0.79 [0.74 - 0.83]
Acurácia 10% [IC 95%]	38 [31 - 46]	44 [36 - 53]	34 [28 - 41]	32 [26 - 39]	47 [40 - 58]	35 [28 - 43]
Acurácia 30% [IC 95%]	92 [85 - 95]	97 [94 - 98]	85 [78 - 89]	82 [75 - 87]	98 [96 - 99]	85 [77 - 90]
<i>TFG ≥ 90 mL/min/1.73 m² (N=23)</i>						
<i>TFGm = 102.2 ± 12.4 mL/min/1.73 m²</i>						
TFGe (mL/min/1.73 m ²)	101.7 ± 19.9	96.7 ± 19.1	79.2 ± 13.7 *	95.9 ± 14.5	86.8 ± 14.4 *	109.8 ± 17.4
Viés ± DP	-0.5 ± 17.2	-5.4 ± 16.5	-22.9 ± 13.4	-6.3 ± 17.3	-5.9 ± 12.1	7.6 ± 17.8
Acurácia 10% [IC 95%]	56 [32-72]	52 [19-84]	17 [2-33]	34 [15-54]	35 [15-54]	48 [27-68]
Acurácia 30% [IC 95%]	91 [80-99]	86 [73-100]	69 [50-88]	50 [29-70]	91 [79-98]	96 [87-100]
<i>60 ≥ TFG < 90 mL/min/1.73 m² (N=91)</i>						
<i>TFGm = 71.8 ± 8.7 mL/min/1.73 m²</i>						
TFGe (mL/min/1.73 m ²)	78.6 ± 15.7 *	73.5 ± 15.5	63.6 ± 12.6 *	76.1 ± 15.8 *	69.1 ± 10.6	82.3 ± 16.3 *
Viés ± DP	6.7 ± 12.8	1.7 ± 12.8 ^a	-8.2 ± 10.7	4.3 ± 14.5	-2.7 ± 8.1 ^a	10.5 ± 14.3
Acurácia 10% [IC 95%]	42 [31-51]	46 [36-56]	38 [28-48]	37 [27-47]	51 [41-62]	39 [29-50]
Acurácia 30% [IC 95%]	87 [79-93]	93 [88-98]	88 [81-95]	90 [84-96]	100 [100-100]	83 [76-91]
<i>TFG < 60 mL/min/1.73 m² (N=85)</i>						
<i>TFGm = 46.0 ± 8.7 mL/min/1.73 m²</i>						
TFGe (mL/min/1.73 m ²)	51.7 ± 12.7*	47.3 ± 11.0	45.8 ± 13.7	54.2 ± 16.7*	48.7 ± 10.1	54.0 ± 15.5*
Viés ± DP	5.7 ± 9.4	1.3 ± 8.2 ^b	-0.2 ± 11.7 ^b	8.2 ± 14.5	2.7 ± 7.6 ^b	8.0 ± 11.8
Acurácia 10% [IC 95%]	29 [19-39]	43 [33-54]	35 [25-45]	26 [16-35]	45 [34-55]	29 [20-39]
Acurácia 30% [IC 95%]	81 [73-89]	91 [86-98]	82 [74-90]	66 [56-76]	90 [84-97]	76 [67-85]

Os resultados são expressos como médias \pm desvio padrão - * $p < 0.05$ entre TFGm e TFGe - ^a $p < 0.05$ para a diferença entre a fórmula CKiD e as outras equações (sem diferença com a fórmula Schwartz-Lyon) - ^b $p < 0.05$ para a diferença entre a fórmula CKiD e as outras equações (sem diferença com a fórmula Schwartz-Lyon ou Hoek) - TFGm: taxa de filtração glomerular medida por depuração de Inulina - TFGe: taxa de filtração glomerular estimada por fórmulas matemáticas - CCC: coeficiente de correlação de concordância.

Tabela 4 – Área sob a curva ROC e percentagens de pacientes bem classificados versus inulina em diferentes pontos de corte (<90, <75 e <60 mL/min/1.73 m²).

Ponto de corte TFGm	AUC (IC 95%*)	Pacientes bem classificados (%)
TFGm < 90 mL/min/1.73 m ²		N = 64
Bedside-Schwartz	0.94 (0.92, 0.96)	90
Schwartz-Lyon	0.95 (0.93, 0.96)	93
Hoek	0.91 (0.88, 0.94)	89
Filler	0.91 (0.88, 0.93)	89
CKiD 2012	0.96 (0.94, 0.97)	98
Zappitelli	0.93 (0.91, 0.95)	83
TFGm < 75 mL/min/1.73 m ²		N= 59
Bedside-Schwartz	0.94 (0.92, 0.96)	82
Schwartz-Lyon	0.95 (0.93, 0.97)	89
Hoek	0.92 (0.89, 0.95)	96
Filler	0.92 (0.89, 0.95)	79
CKiD 2012	0.96 (0.94, 0.98)	94
Zappitelli	0.93 (0.91, 0.95)	73
TFGm < 60 mL/min/1.73 m ²		N= 42
Bedside-Schwartz	0.96 (0.94, 0.98)	75
Schwartz-Lyon	0.97 (0.95, 0.98)	96
Hoek	0.92 (0.89, 0.95)	88
Filler	0.92 (0.89, 0.95)	70
CKiD 2012	0.96 (0.95, 0.98)	96
Zappitelli	0.94 (0.92, 0.96)	70

AUC: área sob a curva ROC – IC 95%: intervalo de confiança 95%.

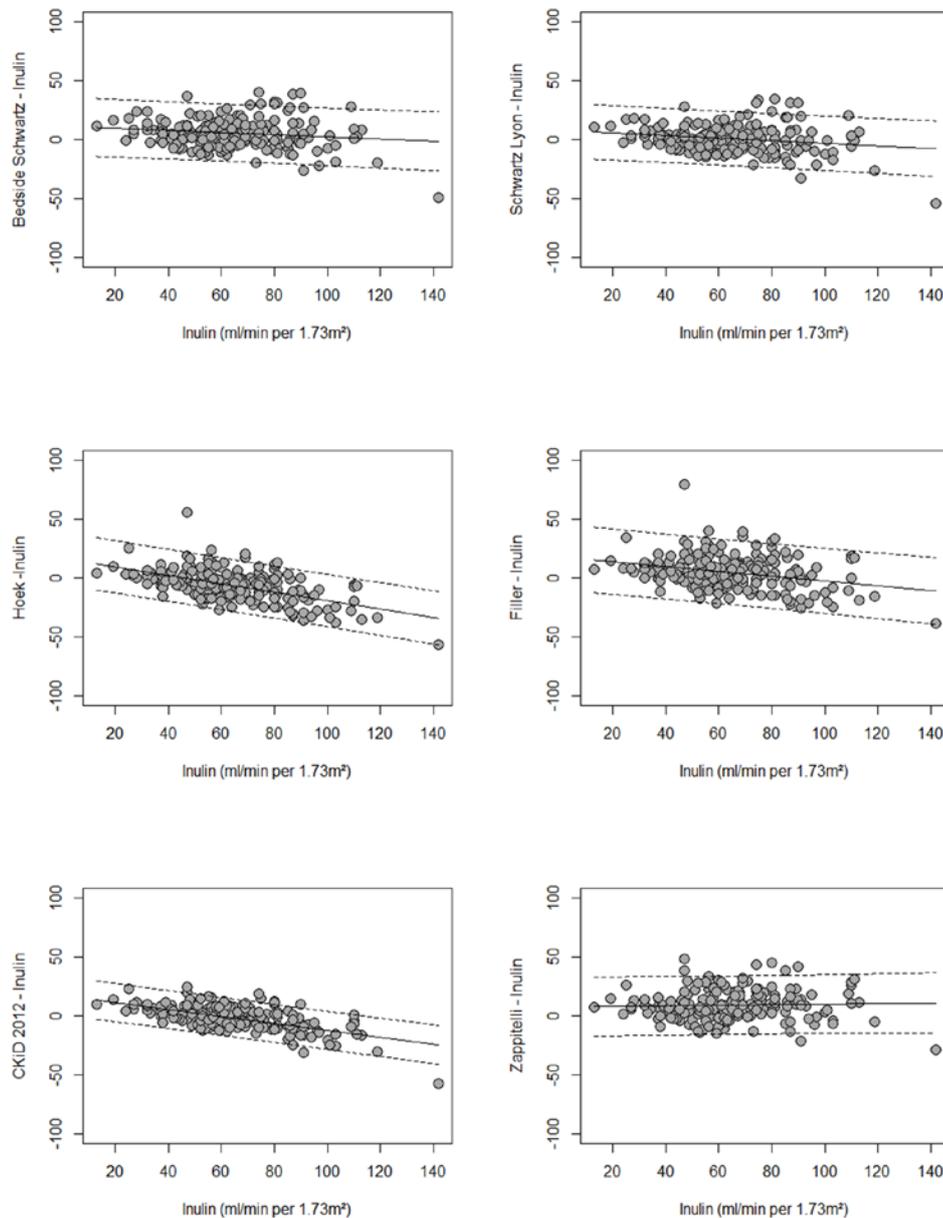


Figura 1 - Gráficos de Bland - Altman mostrando a diferença média (TFG estimada menos a TFG medida, no eixo y); versus a TFG mensurada como padrão ouro (no eixo x). As linhas sólidas representam a diferença média TFG3 - TFGm, as linhas pontilhadas representam os limites de concordância de 95%.

Referências

- BERGLUND, F. et al. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on the renal excretion of creatinine in man. **J Urol**, Baltimore, v. 114, n. 6, p. 802-808, dec. 1975.
- BOKENKAMP, A. et al. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. **Clin Chem**, New York, v. 45, n. 10, p. 1866-1868, oct. 1999.
- BROCHARD, K. et al. Phenotype-genotype correlation in antenatal and neonatal variants of Bartter syndrome. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 1455-1464, may 2009.
- DE SOUZA, V. C. et al. Schwartz formula: is one k-coefficient adequate for all children? **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 12, p. e53439, dec. 2012.
- DELANGHE, J. R. How to estimate GFR in children. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 714-716, mar. 2009.
- DU BOIS, D.; DU BOIS, E. F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. **Nutrition**, Paris, v. 5, n. 5, p. 303-311; discussion 312-313, sep-oct. 1989.
- FILLER, G. et al. Cystatin C as a marker of GFR--history, indications, and future research. **Clin Biochem**, Toronto, v. 38, n. 1, p. 1-8, jan. 2005.
- FILLER, G.; LEPAGE, N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 18, n. 10, p. 981-985, oct. 2003.
- FILLER, G.; SHARMA, A. P. How to monitor renal function in pediatric solid organ transplant recipients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 12, n. 4, p. 393-401, jun. 2008.
- FRANCO, M. C. et al. Cystatin C and renal function in pediatric kidney transplant recipients. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 42, n. 12, p. 1225-1229, dec. 2009.
- HARMAN, G. et al. Accuracy of cystatin C-based estimates of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients: a systematic review. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 741-757, dec. 2012.

HOEK, F. J. et al. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 18, n. 10, p. 2024-2031, oct. 2003.

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 39, n. 2 Suppl 1, p. S1-266, feb. 2002.

KIVELA, J. M. et al. Long-term renal function in children after liver transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v. 91, n. 1, p. 115-120, jan. 2011.

KRIESER, D. et al. The relationship between serum creatinine, serum cystatin C and glomerular filtration rate in pediatric renal transplant recipients: a pilot study. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 6, n. 5, p. 392-395, oct. 2002.

LIN, L. I. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, Washington, v. 45, n. 1, p. 255-268, mar. 1989.

MAILLARD, N. et al. Cystatin C-based equations in renal transplantation: moving toward a better glomerular filtration rate prediction? **Transplantation**, Baltimore, v. 85, n. 12, p. 1855-1858, jun. 2008.

MEMBERS-KB. Definition and classification of CKD. **Kidney Int Suppl**, New York, v. 3, n. 1, p. 19-62, jan. 2013.

PAPEZ, K. E. et al. Iothalamate versus estimated GFR in a Hispanic-dominant pediatric renal transplant population. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 28, n. 12, p. 2369-2376, dec. 2013.

POGE, U. et al. Cystatin C-based calculation of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. **Kidney Int**, New York, v. 70, n. 1, p. 204-210, jul. 2006.

SCHWARTZ, G. J. et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 20, n. 3, p. 629-637, mar. 2009.

SCHWARTZ, G. J. et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. **Kidney Int**, New York, v. 82, n. 4, p. 445-453, aug. 2012.

SHARMA, A. P. et al. Diagnostic accuracy of cystatin C-based eGFR equations at different GFR levels in children. **Clin J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 6, n. 7, p. 1599-1608, jul. 2011.

STAPLES, A. et al. Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 25, n. 11, p. 2321-2326, nov. 2010.

TSAMPALIEROS, A. et al. Intraindividual variability of the modified Schwartz and novel CKiD GFR equations in pediatric renal transplant patients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 15, n. 7, p. 760-765, nov. 2011.

WHITE, C. A. et al. Measuring vs estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation. **Transplant Rev**, Copenhagen, v. 24, n. 1, p. 18-27, jan. 2010.

XU, H. et al. Assessment of glomerular filtration rate in renal transplant patients using serum cystatin C. **Transplant Proc**, New York, v. 38, n. 7, p. 2006-2008, sep. 2006.

YANG, Q. et al. Is cystatin C a better marker than creatinine for evaluating residual renal function in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis? **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 26, n. 10, p. 3358-3365, oct. 2011.

ZAPPITELLI, M. et al. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 48, n. 2, p. 221-230, aug. 2006.

9.4 SEGUNDO ARTIGO: VERSÃO ORIGINAL EM LÍNGUA INGLESA

**Accuracy of different equations in estimating glomerular filtration rate
in pediatric kidney transplant recipients**

*Vandréa de Souza, MD¹⁻⁴, Pierre Cochat, MD, PhD⁵⁻⁷, Muriel Rabilloud,
MD, PhD^{6,8,9}, Luciano Selistre, MD, PhD^{2-4,10}, Mario Wagner, MD, PhD^{1,10},
Aoumeur Hadj-Aissa, MD, PhD^{3,6}, Olga Dolomanova, MD, PhD³, Bruno
Ranchin, MD⁵, Jean Iwaz, PhD^{6,8,9}, Laurence Dubourg, MD, PhD^{3,6,7}*

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, Brazil.

² Universidade de Caxias do Sul, Centro de Ciências da Saúde, Caxias do Sul, Brazil.

³ Exploration Fonctionnelle Rénale et Métabolique, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁴ Fellow CAPES-Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasilia/DF, Brazil.

⁵ Centre de Référence des Maladies Rénales Rares, Service de Néphrologie et Rhumatologie Pédiatriques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁶ Université Claude Bernard, Lyon 1, Lyon, France.

⁷ CNRS UMR 5305, Biologie tissulaire et Ingénierie thérapeutique, Lyon, France.

⁸ Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁹ CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Villeurbanne, France.

¹⁰ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

KEYWORDS: renal function, children, kidney transplantation

WORD COUNTS: Abstract: 293 - Text: 2802

Abstract

Background and Objectives. The knowledge of renal function is crucial for the management of pediatric kidney-transplant recipients. In this population, the most commonly used plasma creatinine (PCr)- and/or cystatin C (CystC)-based glomerular filtration rate (GFR) predicting formulas may underperform (e.g., corticosteroids and trimethoprim may impact PCr concentration whereas prednisone and calcineurin-inhibitor may impact CystC concentration). The study evaluates the performance of six formulas in pediatric kidney transplant recipients.

Design, setting, participants, and measurements. The study used PCr-based formulas (Bedside-Schwartz, Schwartz-Lyon), CystC-based formulas (Hoek, Filler), and combined PCr-CystC-based formulas (Chronic Kidney Disease in Children CKiD 2012 and Zappitelli). The performance of these formulas was examined versus inulin clearance and according to chronic kidney disease stages in a historical cohort including 73 pediatric kidney transplant recipients (199 measurements). The ability of the formulas to identify GFRs <60 , <75 , and <90 mL/min/1.73 m² was assessed.

Results. At mGFR ≥ 90 mL/min/1.73 m² (9 patients; 23 measurements), Zappitelli formula had the highest 30% accuracy (P30) (95%; 95% CI [87-100]) and the Bedside-Schwartz had the highest 10% accuracy (P10) (56% [32-72]). At mGFR ≥ 60 and <90 mL/min/1.73 m² (22 patients; 91 measurements), all formulas had P30 values greater than 80%. However, only CKiD 2012 formula had a P10 value $>50\%$. At mGFR <60 mL/min/1.73 m² (42 patients; 85 measurements), CKiD 2012 and Schwartz-Lyon formulas

had the highest P10 (45% [34-55] and 43% [33-54]) and P30 (90% [84-97] and 91% [86-98]). All studied equations, except Hoek and Filler, had areas under the ROC curves significantly >90% in diCrPiminating patients with renal dysfunction at various CKD stages (GFR <60, <75, and <90 mL/min/1.73 m²).

Conclusions. In pediatric kidney transplant recipients, CKiD 2012 formula had the best performance at mGFRs <90 mL/min/1.73 m². CystC-based formulas were not superior to plasma creatinine-based formulas.

Introduction

Knowing the glomerular filtration rate (GFR) is of major importance in the management of pediatric kidney-transplant patients but determining the GFR by the reference methods (inulin, iohexol, etc.) is time-consuming, expensive, and entails some risks for the patients. This is why the measurement of endogenous blood markers to estimate GFR has become a common practice. Currently, despite several limitations, (FILLER e SHARMA, 2008; DELANGHE, 2009) plasma creatinine (PCr) is the most used marker for this purpose.

One major limitation with PCr is the variability of its levels between laboratories due to the variety of the assays used. The standardization of the PCr determination method (i.e., isotope-dilution mass spectrometry –IDMS– standardization) is now part of the international recommendations and has overcome this limitation.

The influence of the muscle mass on PCr remains the major restriction to the use of PCr in GFR evaluation in all patients. In kidney-transplant patients, many other factors may impact creatinine metabolism. For example, corticosteroids may alter the muscle mass to total body weight ratio (WHITE *et al.*, 2010) and the use of drugs, such as trimethoprim, may affect creatinine secretion in the proximal tubule (BERGLUND *et al.*, 1975; WHITE *et al.*, 2010).

Plasma cystatin C (CystC), an endogenous small molecular weight protein, has been shown to overcome PCr limitations (POGE *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2006; FILLER e SHARMA, 2008; MAILLARD *et al.*, 2008; YANG *et al.*,

2011). CystC fills only a few criteria of an ideal renal function marker because it is produced at a constant rate and freely filtered in the glomerulus without tubular secretion; however, it is catabolized in the tubulus (FILLER *et al.*, 2005). However, the reports about the value of CystC as a GFR marker, particularly in pediatric kidney transplantation, have been contradictory because of the influence of prednisone and calcineurin-inhibitor on CystC concentration (BOKENKAMP *et al.*, 1999; KRIESER *et al.*, 2002). Therefore, CystC-based or combined PCr-CystC GFR predicting equations have been established in various populations, especially in pediatric patients (FILLER e LEPAGE, 2003; HOEK *et al.*, 2003; ZAPPITELLI *et al.*, 2006; DE SOUZA *et al.*, 2012) but few equations have been specifically developed for transplant patients: only the Zappitelli formula has a correction factor for pediatric kidney-transplant patients (ZAPPITELLI *et al.*, 2006).

The recently published Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines on Kidney transplantation recommend estimating GFR in transplant children and adolescents with PCr, using the 2009-Schwartz formula which has an adapted coefficient for IDMS calibrated PCr determination (SCHWARTZ *et al.*, 2009). However, due to the growth retardation characteristic of the studied population, this formula has a single coefficient for all age groups but was though validated in children with and without CKD (STAPLES *et al.*, 2010). In 2012, De Souza *et al.* described a locally-adapted Schwartz formula (the Schwartz-Lyon formula with two coefficients for sex and age) and validated it in an external population (DE SOUZA *et al.*, 2012). Finally, Schwartz *et al.* established a new combined PCr-CystC equation: the CKiD formula, (SCHWARTZ *et al.*, 2009) which was

updated in 2012 using immunonephelometric CystC determination (SCHWARTZ *et al.*, 2012).

The present study was conducted to assess the performance of the most commonly used PCr-based and CystC-based formulas in a cohort of pediatric kidney transplant recipients with a broad spectrum of GFRs. The predictive performance of these equations was analyzed in comparison with inulin clearance using the analytical methodology developed in the KDIGO guidelines. The abilities of these GFR estimates to classify pediatric kidney transplant recipients into the different CKD stages according to the KDIGO recommendations were also assessed.

Materials and methods

Patients

Estimated GFRs (eGFRs) after transplant with various formulas based on PCr and/or CystC were compared with GFRs as measured by inulin clearance (mGFR) in a historical cohort of 73 pediatric kidney transplant recipients.

These children belonged to the French cohort used for establishing Schwartz-Lyon formula (DE SOUZA *et al.*, 2012). They were referred to the Unit "Exploration Fonctionnelle Rénale et Métabolique" for measurement of inulin clearance at Hôpital Edouard Herriot (Lyon, France) between July 2003 and July 2010. The study on this cohort was approved by the institutional

review board of Hôpital Edouard Herriot (n° 11263) and appropriate informed consents were obtained from the patients legal representatives.

In fact, inulin clearance was part of the post-transplantation routine follow-up and was performed 1 year and 3 years, then each 5 years thereafter. In total, the patients underwent 199 inulin measurements (6 measurements in four patients, 5 in 7, 4 in 9, 3 in 15, 2 in 21, and only 1 in 17). All the patients were receiving a standard immunosuppressive regimen (< 2.5 mg/m²/day corticosteroid doses). At the time of inulin clearance, none of them was receiving trimethoprim.

Measurement of plasma creatinine

PCr was obtained from a kinetic colorimetric compensated Jaffé technique (Roche Modular, Meylan, France). All PCr measurements were performed with the same method over the whole study period. The results were standardized by linear regression adjustment of the concentrations obtained by the compensated Jaffé assay and liquid chromatography-mass spectrometry.

The calibration equation was: Standardized plasma creatinine = 0.9395 x (Jaffé compensated plasma creatinine in µmol/L) + 4.6964. The coefficient of correlation was $r = 0.97$. These standardized creatinine values were used for the Bedside-Schwartz and the CKiD formulas.

Measurement of cystatin C

Before the advent of the European Reference Material by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (ERM-DA471/IFCC), CystC samples were assessed with the Siemens N-latex Cystatin C kit using the BN systems™ but the values obtained were recalculated according to the recommendations of the manufacturer. This required a correction factor of 1.11 to adjust the values to the new traceable International Reference Preparation (IRP) ERM-DA471/IFCC, as recommended by the KDIGO (MEMBERS-KB, 2013).

Measurement of the GFR

The mGFR was obtained by the renal clearance of inulin method (polyfructosan, Inutest®, Fresenius Kagi, Graz, Austria). A standard technique was used by a trained staff with a continuous infusion after a priming dose of polyfructosan (30 mg/kg). Water diuresis was induced by oral administration of 5 mL/kg of water followed by 3 mL/kg every 30 minutes combined with an intravenous infusion of 0.9% sodium chloride. This enabled the patients to spontaneously empty their bladder every 30 minutes. All patients needing intermittent urethral catheterization were excluded from this study. Three to four urine samples were collected and a blood sample was drawn mid-way through each collection period. The clearance values, calculated by the standard UV/P formula, were obtained from the mean values of the three to four clearance periods. The measurements of plasma and urine polyfructosan were performed using the same enzymatic method. The results were corrected to 1.73 m² body surface area (BSA) according to

Dubois formula: $BSA = \text{height}^{0.725} \times \text{weight}^{0.425} \times 0.007184$ (DU BOIS e DU BOIS, 1989).

Estimation of the GFR

The eGFR was obtained using six formulas: i) two creatinine-based formulas: the Bedside-Schwartz (SCHWARTZ *et al.*, 2009) and the Schwartz-Lyon; (DE SOUZA *et al.*, 2012) ii) two cystatin C-based formulas: Hoek (HOEK *et al.*, 2003) and Filler (FILLER e LEPAGE, 2003); and, (iii) two combined formulas: the CKiD (SCHWARTZ *et al.*, 2012) that uses PCr, CystC, and urea, and the Zappitelli formula (ZAPPITELLI *et al.*, 2006) that uses PCr and CystC. All the eGFRs were standardized for a BSA of 1.73 m^2 and expressed in $\text{mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$. The equations used to determine eGFRs are shown in Table 1.

Statistical analysis

The performances of the six formulas were compared regarding mGFR, first in the whole dataset, then in the following CKD subgroups: $\text{GFR} > 90 \text{ mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$, $60 \leq \text{GFR} < 90 \text{ mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$, and $\text{GFR} < 60 \text{ mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$.

The agreement between mGFR and eGFR values (as obtained with the six formulas) was evaluated by the bias (mean of $\text{eGFR} - \text{mGFR}$ differences), the agreement limits, and the 10% (P10) and 30% (P30) accuracies according to the Clinical Practice Guidelines of the Kidney

Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) (K/DOQI, 2002) P10 and P30 are the proportions of the eGFR estimates that fall within the interval $mGFR \pm 10\%$ and the interval $mGFR \pm 30\%$, respectively. The Concordance Correlation Coefficient (CCC) was also estimated to quantify the agreement. The CCC adjusts the Pearson correlation coefficient downward whenever there is a systematic bias between the methods being compared. It measures, at the same time, precision (the closeness to the best-fit line) and bias (how far the best-fit line deviates from the concordance line) (LIN, 1989).

The comparisons of the biases, the CCCs, the P10, and the P30 used, respectively, a paired t test, the bootstrap 95% confidence intervals (CI) of the differences between CCCs, and a McNemar's test.

A random intercept linear model without covariates was used to estimate the bias and the standard deviation of the bias. This allowed taking into account the repeated measurements in the same patients and estimating intra-patient and inter-patient variances in order to estimate the variance of the bias (which is the sum of the two variances).

The ability of the formulas to predict a GFR < 60 , < 75 , and < 90 mL/min/1.73 m² was assessed using areas under the corresponding ROC curves (AUCs). The percentages of well-classified patients into the two classes of GFR as determined by each of the three thresholds with each equation were also calculated.

Bland and Altman graphs were built using the mGFR values on the x-axis because the mGFR (i.e., clearance) is considered as the gold standard method for GFR measurement.

All the analyses were performed using R for windows, version 2.15. A p value < 0.05 was considered for statistical significance.

Results

The cohort of pediatric kidney-transplant included 73 patients (55% males) whose median age was 11.5 years. These patients contributed 199 measurements (1 to 6 measurements per patient). In this cohort, 57% (N=42) of the patients had a mGFR < 60 mL/min/1.73 m² (Table 2).

Formula performance in the whole kidney-transplant population

CKiD 2012 and Schwartz-Lyon formulas were the most accurate in estimating GFR in the pediatric kidney-transplant cohort: they showed the highest P30 values; i.e., 98% and 97% respectively (with 95% CIs [96-99%] and [94-98%], respectively). However, the CKiD 2012 formula had the lowest eGFR – mGFR differences variability as shown by narrowest 95% limits of agreement (Figure 1). In addition, the CCCs for CKiD 2012 and Schwartz-Lyon formulas were significantly higher than those of the other formulas. In Figure 1, Bland and Altman plots with inulin clearance on the x-axis allowed us to see the trend of the bias of each formula according to the mGFR. Bias changed according to inulin clearance: the overestimation of mGFR increased with the decrease of GFR with all tested equations, except Zappitelli.

Formula performance according to the CKD subgroups

The results revealed an underestimation of mGFR at GFRs ≥ 90 mL/min/1.73 m², except with Zappitelli formula (-0.5 ± 17.2 , -5.4 ± 16.5 , -22.9 ± 13.4 , -6.3 ± 17.3 , -5.9 ± 12.1 , and 7.6 ± 17.8 , respectively) (Table 3). At this level of mGFR, Zappitelli formula had the highest P30 (95%) and Bedside-Schwartz had the highest P10 (56%).

At mGFR values ranging between 60 and 90 mL/min/1.73 m², the bias of the CKiD formula were statistically lower than those of the other formulas, except Schwartz-Lyon formula. However, the CKiD formula showed the lowest bias variability; i.e., the narrowest interval between the 95% limits of agreement. In this range of mGFR, all formulas had P30 values $> 80\%$. Meanwhile, note that CKiD 2012 formula was the only one with a P10 value $> 50\%$ (Table 3).

An overestimation of mGFR was found at mGFRs < 60 mL/min/1.73 m², except with Hoek formula (Table 3). For Bedside-Schwartz, Schwartz-Lyon, Hoek, Filler, CKiD 2012, and Zappitelli formulas, the mean (SD) biases were 5.7 ± 9.4 , 1.3 ± 8.2 , -0.2 ± 11.7 , 8.2 ± 14.5 , 2.7 ± 7.6 , and 8.0 ± 11.8 , respectively. CKiD 2012 and Schwartz-Lyon formulas had the highest P10 (45 and 43%) and P30 (90 and 91%, respectively).

Table 4 shows that all the studied equations, except those of Hoek and Filler, had AUCs significantly greater than 90% in discriminating patients with renal dysfunction at various CKD stages (GFR < 60 , < 75 , and < 90 mL/min/1.73 m²). The CKiD 2012 and Schwartz-Lyon equations had the greatest AUCs whatever the CKD stage. Table 4 shows also the percentages

of correct classifications of each formula versus inulin at various mGFR thresholds (90, 75, or 60 mL/min/1.73 m²).

Discussion

Comparing the performance of eGFR formulas in pediatric kidney transplant recipients, the present study found: i) a better performance of CKiD 2012 and Schwartz-Lyon formulas vs. the other formulas when mGFR was <90 mL/min/1.73 m²; and, ii) a non-superiority of CystC-based formulas over creatinine-based formulas whatever the mGFR (or CKD) subgroup.

As previously shown, (KIVELA *et al.*, 2011; TSAMPALIEROS *et al.*, 2011) the Bedside-Schwartz formula overestimated the GFR by 10% on average. This is in agreement with a report by Tsampalieros *et al.* (TSAMPALIEROS *et al.*, 2011) who found that, in kidney-transplant patients, the Bedside-Schwartz formula overestimated the mGFR by 9% and also in agreement with a recent study by Kivela *et al.* (KIVELA *et al.*, 2011) who found, in pediatric liver-transplant patients, that the Bedside-Schwartz formula overestimated the mGFR by 11%. In addition, in the present cohort, the Bedside-Schwartz formula showed a significantly lower performance than the CKiD 2012 formula.

Conversely, the present study demonstrated that Schwartz-Lyon formula (a PCr-based formula) and the CKiD 2012 formula (a combined PCr-CystC-prediction equation) have similar biases and P30s; the latter values were, respectively, lower and higher than those of other formulas; that is, have a higher performance than the other formulas in estimating GFR in pediatric kidney transplant recipients. The use of specific coefficients with Schwartz-Lyon formula ($k = 32.5$ in children < 13 and girls ≥ 13 years of age,

because of a lower muscle mass in female than in male adolescents) might improve the performance of Schwartz-Lyon formula up to the level of the CKiD 2012. Furthermore, the population of the present study contributed 20% of the cohort used to establish Schwartz-Lyon formula.

Up to now, few studies have compared PCr- and CystC-based equations in pediatric kidney transplant recipients. The present study showed that PCr-based equations or combined PCr-CystC-based equations were more in agreement with mGFR than CystC-based ones. Similar results were obtained by the pilot study conducted by Krieser *et al.* (KRIESER *et al.*, 2002) in 19 pediatric kidney transplant recipients (median age: 13.5 yrs) who did not support the use of serum CystC measurements for monitoring the renal function in pediatric kidney transplant recipients (KRIESER *et al.*, 2002). Recently, Papez *et al.* (PAPEZ *et al.*, 2013) demonstrated an acceptable performance of Bedside-Schwartz, CKiD 2009, and Zappitelli equations in a pediatric renal-transplant Hispanic-dominant population (n=47) with a mean GFR (iothalamate) of 90 mL/min/1.73 m². In a systematic review evaluating 14 different CystC-based equations in kidney-transplant adults, Harman *et al.* (HARMAN *et al.*, 2012) found a considerable heterogeneity in the performance of CystC-based equations. In addition, analyzing data on 240 children, Sharma *et al.* (SHARMA *et al.*, 2011) found that the diagnostic accuracy of various CystC-based equations varied with mGFR. Some equations performed better at low mGFR levels and others at high mGFR levels. Franco *et al.* (FRANCO *et al.*, 2009) found a superiority of the CystC-based Zappitelli equation over a PCr-based equation in 50 pediatric kidney

transplant recipients but these authors used the previous Schwartz equation established in 1976 (ZAPPITELLI *et al.*, 2006; BROCHARD *et al.*, 2009).

In the present study conducted with both an IDMS standardized PCr measurement and a standardized method for CystC determination, the performance of the CKiD 2012 (a combined PCr-CystC equation) was similar to that of Schwartz-Lyon formula. In fact, Schwartz *et al.* have used an immunonephelometric method of CystC measurement but could not use the standardized CystC calibrators; this might have decreased the performance of their formula in the present cohort. Besides, despite the use of a specific correction factor for pediatric kidney transplant recipients, the Zappitelli formula did show a better performance than other equations but only at $\text{mGFR} \geq 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$. However, this group had a very small number of patients (23 measurements in 9 patients), which was also reflected by the large CIs of P30 and P10.

One strength of the present study is the use of the reference standard for GFR measurement (i.e., inulin clearance) and the standardization of PCr and CystC measurements according to the international recommendations. However, the study admits a few limitations: i) very few patients ($n=7$) had CKD stage IV or V; ii) the performance of eGFR equations in patients with $\text{mGFR} < 30 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ could not be examined because of the small number of patients; iii) the influence of the immunosuppressive regimen could not be tested because this information was not regularly available for all patients; and, iv) the study population included French patients; thus, the results cannot be readily extrapolated to non-European pediatric populations.

In conclusion, the present evaluation of eGFR formulas suggests that the CKiD 2012 formula has the best performance in pediatric kidney transplant recipients at $mGFR < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$. Besides, the use of both PCr and CystC is obviously more expensive than PCr alone in routine clinical evaluation. PCr-based equations remain reliable for the assessment of renal function when an IDMS standardized measurement of PCr is used. The cost/performance ratio has thus to be evaluated in specific clinical conditions such as transplantation.

Finally, despite continuous refinements of the GFR-predicting equations, these equations remain insufficiently reliable in pediatric kidney transplant recipients at high mGFR levels. The ability to accurately estimate post-transplant GFR --when it is expected to be at its highest levels-- is important to monitor the progression of CKD, especially at its early stages. The reference methods of GFR determination (inulin or other method) should then be performed whenever a reliable measurement is needed.

Disclosures

The authors declare that they have no conflicts of interest in relationship with this manuscript.

Acknowledgments

The fellowship period during which the study was supported by a grant from the Brazilian government (CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior –Process 11083-13-1 and 3677-14-1).

Table 1 – Equations used to estimate the glomerular filtration rate (eGFR) in mL/min/1.73 m².

Name	Formula
<i>PCr based formulas</i>	
Bedside-Schwartz	$K \times \text{height} / \text{PCr}$, with $K = 0.413$
Schwartz-Lyon	$K \times \text{height} / \text{PCr}$, with $K = 0.413$ in males > 13 years and $K = 0.367$ in others
<i>CystC based formulas</i>	
Hoek	$- 4.32 + (80.35 / \text{CystC})$
Filler	$\text{Log}(e\text{GFR}) = 1.962 + [1.123 \times \text{log}(1 / \text{CystC})]$
<i>Combined formulas</i>	
CKiD 2012	$39.8 \times (\text{height} / \text{PCr})^{0.456} \times (1.8 / \text{CystC})^{0.418} \times (30 / \text{BUN})^{0.079} \times (1.076)^{\text{male}} \times (\text{height}/1.4)^{0.179}$
Zappitelli	$[43.82 \times e^{0.003 \times \text{height (m)}}] / [\text{Cys}^{0.635}] \times [\text{PCr}^{0.547}]$
	In kidney-transplant subjects: $\times 1.165$
	In spina bifida: $1.57 \times \text{PCr}^{0.925}$

PCr: Plasma creatinine, expressed in mg/dL - CystC: Cystatin C, expressed in mg/L - BUN: Blood Urea Nitrogen, expressed in mg/dL - Height is expressed in cm in Bedside-Schwartz and Schwartz-Lyon, and in m in Zappitelli and CKiD formulas), weight in kg, and age in years.

Table 2 - Baseline characteristics of the pediatric kidney transplant recipients.

Characteristics	Values
Total number of patients	73
Males (n (%))	40 (55)
Age (yrs; median [IQR])	11.5 [7.7 to 15.1]
Number of boys > 13 yrs	26
Weight (kg; median [IQR])	35.6 [22.0 - 48.0]
Height (cm; median [IQR])	140.0 [119.5 - 154.0]
BSA (m ² ; median [IQR])	1.2 [0.9 - 1.4]
Creatinine, (mg/dL; median [IQR])	0.87 [0.67-1.20]
Patients (measurements) per mGFR subgroup	
mGFR \geq 90 mL/min/1.73 m ²	9 (23)
60 \geq mGFR < 90 mL/min/1.73 m ²	22 (91)
mGFR < 60 mL/min/1.73 m ²	42 (85)
Transplantation-mGFR delay (yrs; median [IQR])	4.0 [2.2 – 6.0]

IQR: Interquartile range – BSA: body surface area – mGFR: measured glomerular filtration rate.

Table 3 – Concordance correlation coefficient, 10% accuracy, and 30% accuracy of the six estimating GFR formulas (compared with measured GFR) in the whole cohort. Bias in the three CKD subgroups.

	<i>PCr-based equations</i>		<i>CystC-based equations</i>		<i>Combined PCr-CystC-based equations</i>	
	<i>Bedside-Schwartz</i>	<i>Schwartz-Lyon</i>	<i>Hoek</i>	<i>Filler</i>	<i>CKiD 2012</i>	<i>Zappitelli</i>
<i>All measurements (N=199)</i>						
<i>mGFR = 64.3 ± 20.8 mL/min/1.73 m²</i>						
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	69.8 ± 22.5 *	65.0 ± 21.8	57.8 ± 17.4 *	69.0 ± 21.6 *	62.5 ± 16.8	73.4 ± 24.7 *
CCC [95% CI]	0.81 [0.68 - 0.89]	0.85 [0.80 - 0.88] ^a	0.72 [0.65 - 0.77]	0.75 [0.68 - 0.80]	0.85 [0.81 - 0.88] ^a	0.79 [0.74 - 0.83]
10 % accuracy [95% CI]	38 [31 - 46]	44 [36 - 53]	34 [28 - 41]	32 [26 - 39]	47 [40 - 58]	35 [28 - 43]
30% accuracy [95% CI]	92 [85 - 95]	97 [94 - 98]	85 [78 - 89]	82 [75 - 87]	98 [96 - 99]	85 [77 - 90]
<i>GFR ≥ 90 mL/min/1.73 m² (N=23)</i>						
<i>mGFR = 102.2 ± 12.4 mL/min/1.73 m²</i>						
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	101.7 ± 19.9	96.7 ± 19.1	79.2 ± 13.7 *	95.9 ± 14.5	86.8 ± 14.4 *	109.8 ± 17.4
Bias ± SD	-0.5 ± 17.2	-5.4 ± 16.5	-22.9 ± 13.4	-6.3 ± 17.3	-5.9 ± 12.1	7.6 ± 17.8
10% accuracy [95% CI]	56 [32-72]	52 [19-84]	17 [2-33]	34 [15-54]	35 [15-54]	48 [27-68]
30% accuracy [95% CI]	91 [80-99]	86 [73-100]	69 [50-88]	50 [29-70]	91 [79-98]	96 [87-100]
<i>60 ≥ GFR < 90 mL/min/1.73 m² (N=91)</i>						
<i>mGFR = 71.8 ± 8.7 mL/min/1.73 m²</i>						
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	78.6 ± 15.7 *	73.5 ± 15.5	63.6 ± 12.6 *	76.1 ± 15.8 *	69.1 ± 10.6	82.3 ± 16.3 *
Bias ± SD	6.7 ± 12.8	1.7 ± 12.8 ^a	-8.2 ± 10.7	4.3 ± 14.5	-2.7 ± 8.1 ^a	10.5 ± 14.3
10% accuracy [95% CI]	42 [31-51]	46 [36-56]	38 [28-48]	37 [27-47]	51 [41-62]	39 [29-50]
30% accuracy [95% CI]	87 [79-93]	93 [88-98]	88 [81-95]	90 [84-96]	100 [100-100]	83 [76-91]
<i>GFR < 60 mL/min/1.73 m² (N=85)</i>						
<i>mGFR = 46.0 ± 8.7 mL/min/1.73 m²</i>						
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	51.7 ± 12.7*	47.3 ± 11.0	45.8 ± 13.7	54.2 ± 16.7*	48.7 ± 10.1	54.0 ± 15.5*
Bias ± SD	5.7 ± 9.4	1.3 ± 8.2 ^b	-0.2 ± 11.7 ^b	8.2 ± 14.5	2.7 ± 7.6 ^b	8.0 ± 11.8

10% accuracy [95% CI]	29 [19-39]	43 [33-54]	35 [25-45]	26 [16-35]	45 [34-55]	29 [20-39]
30% accuracy [95% CI]	81 [73-89]	91 [86-98]	82 [74-90]	66 [56-76]	90 [84-97]	76 [67-85]

The results are expressed as mean \pm standard deviation - ^a $p < 0.05$ between mGFR and eGFR - ^a $p < 0.05$ for the difference between CKiD formula and other equations

(without difference with Schwartz-Lyon formula) - ^b $p < 0.05$ for the difference between CKiD formula and other equations (without difference with Schwartz-Lyon and Hoek's

formulas) - mGFR: measured glomerular filtration rate by Inulin clearance - eGFR: estimated glomerular filtration rate by formula - CCC: concordance correlation coefficient.

Table 4 – Area under the receiver operating curves and percentages of well-classified patients versus inulin at different mGFR thresholds (<90, <75, and <60 mL/min/1.73 m²).

mGFR threshold	AUC (95% CI*)	Well-classified patients (%)
mGFR < 90 mL/min/1.73 m ²		N = 64
Bedside-Schwartz	0.94 (0.92, 0.96)	90
Schwartz-Lyon	0.95 (0.93, 0.96)	93
Hoek	0.91 (0.88, 0.94)	89
Filler	0.91 (0.88, 0.93)	89
CKiD 2012	0.96 (0.94, 0.97)	98
Zappitelli	0.93 (0.91, 0.95)	83
mGFR < 75 mL/min/1.73 m ²		N= 59
Bedside-Schwartz	0.94 (0.92, 0.96)	82
Schwartz-Lyon	0.95 (0.93, 0.97)	89
Hoek	0.92 (0.89, 0.95)	96
Filler	0.92 (0.89, 0.95)	79
CKiD 2012	0.96 (0.94, 0.98)	94
Zappitelli	0.93 (0.91, 0.95)	73
mGFR < 60 mL/min/1.73 m ²		N= 42
Bedside-Schwartz	0.96 (0.94, 0.98)	75
Schwartz-Lyon	0.97 (0.95, 0.98)	96
Hoek	0.92 (0.89, 0.95)	88
Filler	0.92 (0.89, 0.95)	70
CKiD 2012	0.96 (0.95, 0.98)	96
Zappitelli	0.94 (0.92, 0.96)	70

AUC: area under the receiver operating curve - 95% CI: 95% confidence interval.

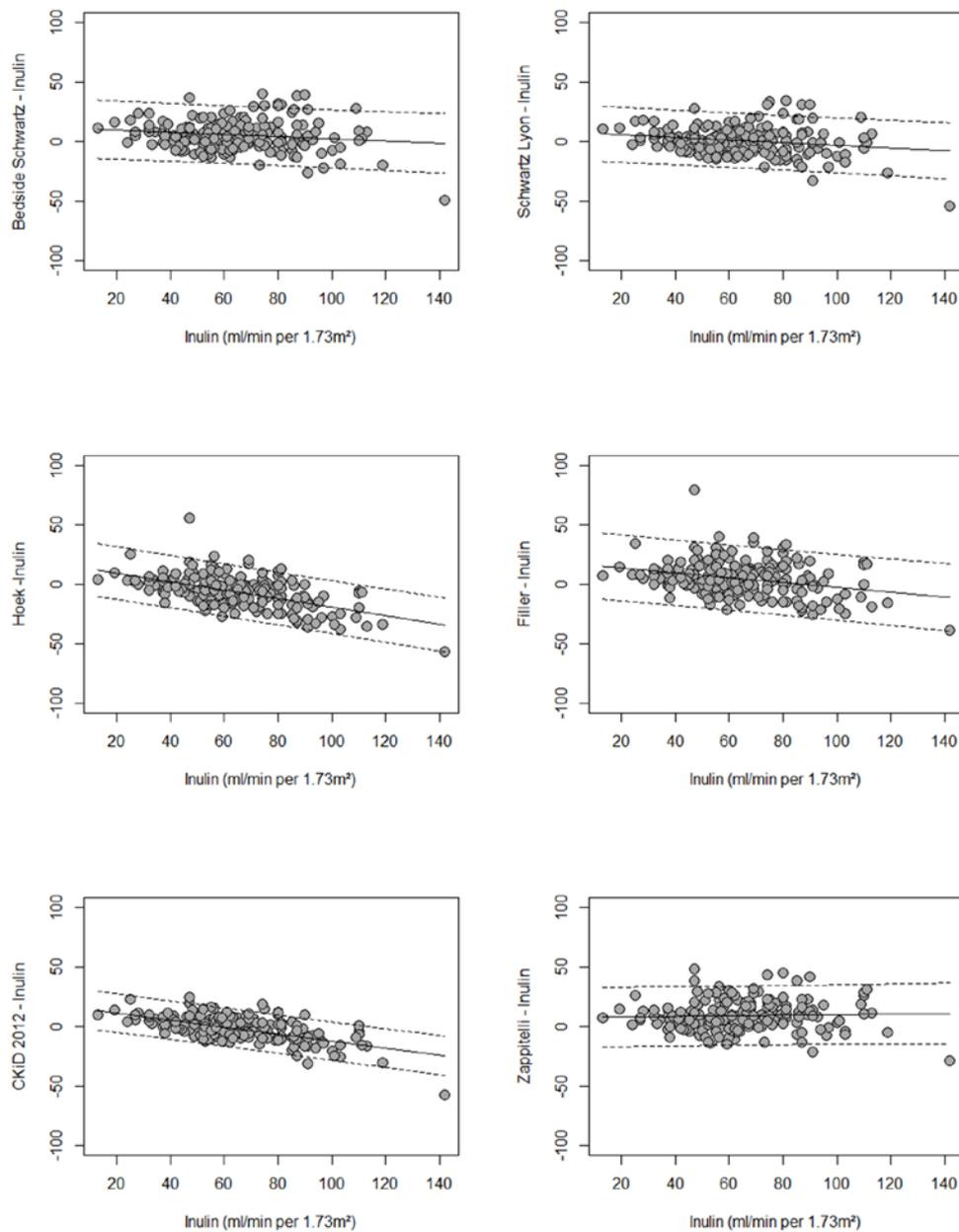


Figure 1 - Bland and Altman plots showing the bias; i.e., estimated GFR minus measured GFR (on the y-axis) versus measured GFR as gold standard (on the x-axis). The solid lines represent the bias eGFR-mGFR; the dotted lines represent the 95% limits of agreement.

References

BERGLUND, F. et al. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on the renal excretion of creatinine in man. **J Urol**, Baltimore, v. 114, n. 6, p. 802-808, dec. 1975.

BOKENKAMP, A. et al. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. **Clin Chem**, New York, v. 45, n. 10, p. 1866-1868, oct. 1999.

BROCHARD, K. et al. Phenotype-genotype correlation in antenatal and neonatal variants of Bartter syndrome. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 1455-1464, may 2009.

DE SOUZA, V. C. et al. Schwartz formula: is one k-coefficient adequate for all children? **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 12, p. e53439, dec. 2012.

DELANGHE, J. R. How to estimate GFR in children. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 714-716, mar. 2009.

DU BOIS, D.; DU BOIS, E. F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. **Nutrition**, Paris, v. 5, n. 5, p. 303-311; discussion 312-313, sep-oct. 1989.

FILLER, G. et al. Cystatin C as a marker of GFR--history, indications, and future research. **Clin Biochem**, Toronto, v. 38, n. 1, p. 1-8, jan. 2005.

FILLER, G.; LEPAGE, N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 18, n. 10, p. 981-985, oct. 2003.

FILLER, G.; SHARMA, A. P. How to monitor renal function in pediatric solid organ transplant recipients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 12, n. 4, p. 393-401, jun. 2008.

FRANCO, M. C. et al. Cystatin C and renal function in pediatric kidney transplant recipients. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 42, n. 12, p. 1225-1229, dec. 2009.

HARMAN, G. et al. Accuracy of cystatin C-based estimates of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients: a systematic review. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 741-757, dec. 2012.

HOEK, F. J. et al. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 18, n. 10, p. 2024-2031, oct. 2003.

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 39, n. 2 Suppl 1, p. S1-266, feb. 2002.

KIVELA, J. M. et al. Long-term renal function in children after liver transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v. 91, n. 1, p. 115-120, jan. 2011.

KRIESER, D. et al. The relationship between serum creatinine, serum cystatin C and glomerular filtration rate in pediatric renal transplant recipients: a pilot study. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 6, n. 5, p. 392-395, oct. 2002.

LIN, L. I. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, Washington, v. 45, n. 1, p. 255-268, mar. 1989.

MAILLARD, N. et al. Cystatin C-based equations in renal transplantation: moving toward a better glomerular filtration rate prediction? **Transplantation**, Baltimore, v. 85, n. 12, p. 1855-1858, jun. 2008.

MEMBERS-KB. Chapter 1: Definition and classification of CKD. **Kidney Int Suppl**, New York, v. 3, n. 1, p. 19-62, jan. 2013.

PAPEZ, K. E. et al. Iothalamate versus estimated GFR in a Hispanic-dominant pediatric renal transplant population. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 28, n. 12, p. 2369-2376, dec. 2013.

POGE, U. et al. Cystatin C-based calculation of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. **Kidney Int**, New York, v. 70, n. 1, p. 204-210, jul. 2006.

SCHWARTZ, G. J. et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 20, n. 3, p. 629-637, mar. 2009.

SCHWARTZ, G. J. et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. **Kidney Int**, New York, v. 82, n. 4, p. 445-453, aug. 2012.

SHARMA, A. P. et al. Diagnostic accuracy of cystatin C-based eGFR equations at different GFR levels in children. **Clin J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 6, n. 7, p. 1599-1608, jul. 2011.

STAPLES, A. et al. Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population. **Pediatr Nephrol**, Berlin, v. 25, n. 11, p. 2321-2326, nov. 2010.

TSAMPALIEROS, A. et al. Intraindividual variability of the modified Schwartz and novel CKiD GFR equations in pediatric renal transplant patients. **Pediatr Transplant**, Copenhagen, v. 15, n. 7, p. 760-765, nov. 2011.

WHITE, C. A. et al. Measuring vs estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation. **Transplant Rev**, Copenhagen, v. 24, n. 1, p. 18-27, jan. 2010.

XU, H. et al. Assessment of glomerular filtration rate in renal transplant patients using serum cystatin C. **Transplant Proc**, New York, v. 38, n. 7, p. 2006-2008, sep. 2006.

YANG, Q. et al. Is cystatin C a better marker than creatinine for evaluating residual renal function in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis? **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 26, n. 10, p. 3358-3365, oct. 2011.

ZAPPITELLI, M. et al. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. **Am J Kidney Dis**, New York, v. 48, n. 2, p. 221-230, aug. 2006.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Predizer a função do enxerto é importante para seguimento dos pacientes transplantados renais. O presente estudo encontrou os seguintes achados:

1) Três trajetórias distintas de TFGm após o transplante renal pediátrico, com uma evolução estabelecida a partir do nível da TFGm no primeiro ano pós-transplante e por suas diferenças relativas a estes níveis.

2) O doador vivo como forte fator protetor para evitar a pior evolução da função renal.

3) O modelo de predição encontrou um aumento de 20% na chance de pertencer ao grupo de pior resultado para cada ano acrescentado na idade do receptor.

4) A probabilidade de pertencer ao pior grupo foi diretamente correlacionada com a diferença de idade doador-receptor.

De acordo com a revisão da literatura, este é o primeiro estudo utilizando um modelo baseado em grupos de trajetórias para identificar padrões de evolução da TFGm após transplante renal pediátrico, usando depuração de inulina. O pequeno tamanho da amostra não permitiu análises de subgrupo.

Os achados do presente estudo apontam o doador vivo e o uso de doadores mais jovens como fatores importantes para a função do enxerto no longo prazo. Outros estudos em populações pediátricas mais numerosas são necessários para confirmação destes achados.

ANEXO A

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA FRANCÊS:

versões original e traduzida

**COMITE DE PROTECTION
DES PERSONNES SUD-EST II**

HOPITAL EDOUARD HERRIOT
Bâtiment 12 - 1^{er} étage
5, Place d'Arsonval
69437 LYON CEDEX 03
Tél : 04.78.42.94.48
Fax : 04.78.42.94.69
Email : francoise.leclet@chu-lyon.fr
Site : www.cppsudest2.fr

Lyon, le 9 Mai 2014

Monsieur le Docteur DUBOURG

Pavillon P

HOPITAL EDOUARD HERRIOT

Réf : CAL n° 2014-017

Monsieur,

Le Comité de Protection des Personnes SUD-EST II, lors de la séance du 7 Mai 2014, a pris connaissance de votre courrier, en date du 8 avril 2014 concernant un projet de recherche intitulé : « **Adaptation fonctionnelle du greffon rénal chez les receveurs pédiatriques en fonction de l'âge du donneur** ».

A l'issue de la délibération et au regard des éléments que vous apportez dans votre courrier, le Comité a considéré que **cette étude n'entre pas dans le champ d'application de la Loi du 9 août 2004**, dans la mesure où il s'agit d'une étude rétrospective reposant sur le recueil et l'analyse de données cliniques et biologiques recueillies pour le soin.
Cet avis tient lieu d'avis éthique (Numéro IRB 11263).

Recevez, Monsieur, nos salutations les meilleures.


Pour le CPP SUD-EST II
La Présidente de séance - Docteur Catherine CORNU

Membres ayant participé à la séance :

AMIET Nicole (Domaine Juridique) - BEAUMONT Laurent (Infirmier) - BIENVENU Jacques (Recherche Biomédicale) - BOISRIVEAUD Christine (Psychologue) - CHAMBOST Véronique (Pharmacienne) - CORNU Catherine (Recherche Biomédicale - méthodologie) Présidente de séance - CROZIER Etienne (Médecin Généraliste) - De SANDOL ROY Brice (Représentant Association Malades et Usagers) - GIMENEZ-GEAY Isabelle (Infirmière) - MARCHAND Janine (Représentant Association Malades et Usagers) - PAULIGNAN Yves (Recherche Biomédicale) - PELEGRIN Serge (Représentant Association Malades et Usagers) - PHILIPPE-JANON Chantal (Domaine Social) - SANN Léon (Domaine éthique).

Lyon, 09 de Maio de 2014.

Comitê de Proteção de pessoas Sud-Est II
Hôpital Edouard Herriot
Bâtiment 12- 1^{er} étage
5, Place d'Arsonval
69437 – Lyon CEDEX 03
Tél: 04.78.42.94.48
Fax: 04.78.42.94.69
Email: francoise.leclet@chu-lyon.fr
Site: www.cppsudest2.fr

Dr. Dubourg
Pavilhão P
Hôpital Edouard Herriot

Ref. CAL nº 2014-017

Prezado Doutor,

O comitê de proteção de pessoas, em sua sessão de 07 de maio, teve conhecimento de vossa correspondência, de 08 de Abril 2014, a respeito de um projeto de pesquisa com o título: “Adaptação Funcional do enxerto renal em receptores pediátricos e sua relação com o tipo de doador.”

Após deliberação e analisando os elementos trazidos em vosso e-mail, a Comissão considerou que este estudo não se insere no âmbito da aplicação da lei de 09 de Agosto de 2004, na medida em que é um estudo retrospectivo baseado na coleta e análise de dados clínicos e biológicos recolhidos para o cuidado prestado.

Este parecer serve como um parecer ético (número IRB 11263).

Receba Senhor, os nossos cumprimentos.

Pelo CPP Sud-Est II
Presidente da sessão Dra. Catherine CORNU

Membros que participaram da sessão:

AMIET Nicole (jurídico) – BEAUMONT Laurent (enfermeira) – BIENVENU Jacques (pesquisa biomédica) – BOISRIVEAUD Christine (psicóloga) – CHAMBOST Véronique (farmacêutica) – CORNU Catherine (pesquisa biomédica – metodologia) Presidente da sessão – CROZIER Etienne (médica generalista) – De SANDOL ROY Brice (representante Associação dos Pacientes e Usuários) – GIMENEZ-GEAY Isabelle (enfermeira) – MARCHAND Janine (representante associação pacientes e usuários) – PAULIGNAN Yves (pesquisa biomédica) – PELEGRIN Serge (representante associação dos pacientes e usuários) – PHILIPPE-JANON Chantal (domínio social) – SANN Léon (domínio ético)

ANEXO B

ARTIGO PUBLICADO

TÍTULO:

Accuracy of Different Equations in Estimating GFR in Pediatric
Kidney Transplant Recipients

REVISTA:

Clinical Journal of American Society of Nephrology

DATA: 10 de Março de 2015

FATOR DE IMPACTO: 5,25