

**Przydatność oznaczania stężenia cystatyny C  
w surowicy i osoczowego klirensu Iohexolu  
do oceny funkcjonowania nerek u kotów**

---

**Lek. wet. Iwona Poświatowska-Kaszczyszyn**

**Praca doktorska wykonana  
w Katedrze Chorób Wewnętrznych  
z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów  
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu**

**Promotor: prof. dr hab. dr h.c. Józef Nicpoń**

**Wrocław 2011**

## **Spis treści**

<b>Index skrótów używanych w pracy .....</b>	<b>4</b>
<b>1. Wstęp .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Cel pracy .....</b>	<b>17</b>
<b>3. Materiał i metody.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1. Grupa badanych zwierząt.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2. Przebieg badania - procedura wstępna .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.1. Przygotowanie zwierząt do badania .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.2. Wywiad i badanie kliniczne kotów .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.3. Badanie hematologiczne krwi .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.4. Badanie biochemiczne krwi.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.5. Badanie moczu .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.6. Badanie usg układu moczowego .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.7. Klasyfikacja kotów .....</b>	<b>20</b>
<b>3.3. Przebieg badania - procedura główna .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.1. Oznaczanie stężenia cystatyny C .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.2. Badanie z wykorzystaniem johexolu .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.2.1. Procedura podawania johexolu .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.2.2. Pobieranie i przechowywanie próbek krwi .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3.2.3. Obliczanie osoczkowego klirensu johexolu .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4. Analiza statystyczna .....</b>	<b>25</b>
<b>4. Zestawienie i omówienie wyników .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1. Wyniki badań laboratoryjnych.....</b>	<b>26</b>
<b>4.1.1. Analiza osoczkowego klirensu johexolu .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1.2. Analiza stężenia cystatyny C w surowicy.....</b>	<b>37</b>

<b>4.1.3. Analiza stężenia mocznika w surowicy .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1.4. Analiza stężenia kreatyniny w surowicy .....</b>	<b>42</b>
<b>4.1.5. Analiza wybranych parametrów na podstawie krzywej ROC .. .....</b>	<b>50</b>
<b>4.1.5.1. Analiza stężenia mocznika w surowicy w oparciu o krzywą ROC .....</b>	<b>51</b>
<b>4.1.5.2. Analiza stężenia kreatyniny w surowicy w oparciu o krzywą ROC .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1.5.3. Analiza osoczowego klirensu johexolu w oparciu o krzywą ROC .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1.5.4. Analiza stężenia cystatyny C w surowicy w oparciu o krzywą ROC .....</b>	<b>54</b>
<b>4.2. Zestawienie wyników badania ultrasonograficznego nerek u wszystkich kotów badanej populacji (70 osobników).....</b>	<b>57</b>
<b>5. DYSKUSJA .....</b>	<b>60</b>
<b>6. WNIOSKI:.....</b>	<b>73</b>
<b>Piśmiennictwo: .....</b>	<b>74</b>

## **Index skrótów używanych w pracy**

ARF - ( Acute Renal Failure) - Ostra Niewydolność Nerek

AUC - ( Area Under Curve) - Obszar pod krzywą

W pracy autorki to pole pod krzywą wykreśloną w oparciu o aktualne stężenie kontrastu w surowicy, w jednostce czasu

Ca<sup>++</sup> - Wapń

CKD - ( Chronic Kidney Disease) - Przewlekła Choroba Nerek

C wł - ciężar właściwy moczu

Cys C- cystatyna C

ECF - ( Extracellular Fluid) - Płyn pozakomórkowy/zewnątrzkomórkowy

ECFV - ( Extracellular Fluid Volume) - Wielkość pozakomórkowej przestrzeni wodnej

ERF – ( End-stage Renal Failure) - Schyłkowa Niewydolność Nerek

FIP – ( Feline Infectious Peritonitis) – Zakaźne Zapalenie Otrzewnej u kotów

FLUTD – (Feline Lower Urinary Tract Disorders) - zaburzenia dolnych dróg moczowych u kotów

GFR - ( Glomerular Filtration Rate) - Wielkość Filtracji Kłębuszkowej

Glu - Glukoza

Gr IRIS – grupa wg klasyfikacji IRIS

Htc - Hematokryt

Hb - Hemoglobina

HPLC - ( High-Performance liquid chromatography) - Wysokosprawna chromatografia cieczowa

IRIS - ( International Renal Interest Society) - Międzynarodowe Stowarzyszenie Nefrologiczne

K<sup>+</sup> - Potas

Na<sup>+</sup> - Sód

Nabł - Nabłonki

Np. – Numer pacjenta

p - Poziom istotności

Pcio – ( Plasma clearance of iohexol) - Osoczowy klirens iohexolu

W pracy autorki termin oznacza objętość oczyszczonego z iohexolu osocza w jednostce czasu ( ml/min), w przeliczeniu na kg mc zwierzęcia

PENIA - ( Particie Enhanced Nephelometric Immunoassay) - Nefelometryczna metoda oparta na reakcji immunologicznej wykorzystująca przyspieszenie cząsteczek

pH - Odczyn moczu

PLT - Płytki krwi

P - Fosfor

PU/PD - ( Poliuria/Polidypsja)- Wielomocz/Zwiększone pragnienie

ROC – ( Receiver Operating Characteristic) – analiza umożliwiająca, na podstawie wykreślonej krzywej, porównanie wartości diagnostycznych ( np. specyficzność i czułość) wybranych metod badawczych

RBC - Erytrocyty

RI - ( Resistance Index) - Wskaźnik Oporu Naczyniowego

Scr – ( Serum creatinine) – stężenie kreatyniny w surowicy

WBC - Leukocyty

## **1. Wstęp**

Nerki odgrywają istotną rolę w regulowaniu homeostazy organizmu. Dzięki selektywnej filtracji kłębuszkowej i modyfikacji składu przesącza utrzymują stały skład i objętość płynu zewnątrzkomórkowego ( ECF). Biorąc udział w produkcji erytropoetyny, reniny, wodorowęglanów i kalcitriolu- kontrolują metabolizm organizmu. To dzięki ich pracy usuwane są końcowe produkty przemiany azotowej i nieprzyswajalne, czasem toksyczne substancje pochodzenia egzogenne. Dzięki zależności renina- angiotensyna- aldosteron, nerki zawiadują całą hemodynamiką filtracji kłębuszkowej i wchłaniania zwrotnego. Zaburzenie tego układu prowadzi do rozwoju nadciśnienia ogólnoustrojowego i niedoborów elektrolitowych a w konsekwencji do rozwoju kwasicy metabolicznej.

W wyniku niewydolności nerek dochodzi do azotemii- wzrostu stężenia mocznika i kreatyniny we krwi, znacznego spadku wielkości filtracji kłębuszkowej ( GFR), w końcu mocznicy - gdy dodatkowo dochodzi do zaburzenie świadomości zwierzęcia. Konsekwencją upośledzenia czynności wydalniczej, wewnątrzwydzielniczej czy regulacyjnej nerek jest często: niedokrwistość, nadciśnienie, spadek absorpcji wapnia z demineralizacją kośćca i nefrokalcynoza ( **Jarocki, 2001**). Pełen zespół objawów klinicznych niewydolności nerek, łącznie z izostenurią, poliurią i polidypsją, ale czasem oligurią czy anurią, rozwija się w momencie uszkodzenia od 67 % ( koty ) do 75% mięszu nerek u psów ( **Kinsey i wsp., 1992, Jarocki, 2001**). Choroba rozwija się w różnym tempie. Do rozwoju ostrej niewydolności nerek ( ARF) może dojść w ciągu kilku godzin czy dni. Przewlekła niewydolność nerek ( CKD) rozwija się tygodniami, miesiącami ( psy) lub latami ( koty) ( **Kinsey i wsp., 1992**). Zagadnienia fizjologii i patologii pracy nerek u kotów przez wiele lat nie wzbudzały zainteresowania. Nie widziano potrzeby badania zmian kompensacyjnych w strukturze i czynności nerek po zmniejszeniu czynnej funkcjonalnie tkanki, choć takie badania przeprowadzano u psów ( **Ross i wsp., 1981**). Do oceny funkcji nerek u kotów wykorzystywano testy przeprowadzone u psów, zakładając duże podobieństwo w pracy nerek u obu gatunków. Dopiero w latach 70-tych przeprowadzono badania, które wykazały istotne różnice.

Okazało się, że koty mają fizjologicznie większą zdolność zagęszczania moczu, niż psy czy ludzie. Ciężar właściwy moczu u zdrowych kotów może wynosić  $1.067 \pm 0.015$

(**Ross i wsp., 1981**). Biorąc pod uwagę ograniczoną liczbą badań przeprowadzonych u tego gatunku poddano w wątpliwość sens oceny pracy nerek kotów w oparciu o wynik badań przeprowadzonych u innych gatunków zwierząt (**Ross i wsp., 1981**).

Choroby nerek, zwłaszcza przewlekłe to główna przyczyna zachorowań i śmierci starszych kotów (**Lund i wsp., 1999**). Wykazano, że blisko 62% kotów z chroniczną niewydolnością nerek to koty 10-letnie lub starsze (**Lulich i wsp., 1992, Miyamoto, 2001**). Teoretycznie spadek wydolności narządu można by uznać za naturalną konsekwencję starzenia się organizmu, gdyby nie fakt, że chorują także osobniki młode, różnej płci i rasy, zwierzęta trzymane w domu jak i wychodzące, skarmiane karmą domową i komercyjną. Dla właścicieli zwierząt początek choroby jest często niezauważalny, a wystąpienie charakterystycznych objawów klinicznych może oznaczać wejście w ostatni etap choroby nerek, zwanej schyłkową niewydolnością nerek (ERF)

(**Kinsey i wsp., 1992**). W zależności od opinii różnych autorów pełen zespół mocznicowy „ujawnia się” w momencie uszkodzenia od 67% (koty) do 75% (psy) czynnego mięszu nerek (**Jarocki, 2001**). To często za późno by powstrzymać rozwój choroby lub cofnąć zmiany, do których już doszło. Uzasadnionym wydaje się by okresowej kontroli pracy nerek podlegały nie tylko osobniki wykazujące predyspozycje do zakażeń układu moczowego, ale też osobniki pozornie zdrowe. Diagnostyczne testy „przesiewowe” umożliwiają szybsze wychwycenie osobników z zaburzoną pracą nerek i wczesne rozpoczęcie diety- i farmakoterapii. Taka profilaktyka zwiększa szanse zwierzęcia na powrót do zdrowia lub wydłużenie okresu przeżycia przez spowolnienie rozwoju choroby.

W praktyce by ocenić pracę nerek najczęściej wykonuje się standardowe badanie laboratoryjne krwi i moczu oraz badanie ultrasonograficzne nerek. Rzadziej wykonywana jest biopsja nerek z powodu złożonej procedury i konieczności odpowiedniego przygotowania pacjenta. Badanie ultrasonograficzne i biopsja nerek- ze względu na możliwość oceny struktury narządu, przydatne są w rozpoznawaniu ostrej niewydolności nerek i różnicowaniu zaawansowania zmian w nerkach. Analiza krwi i

moczu sprawdza się głównie w diagnostyce przewlekłej choroby nerek, umożliwiając lepsze monitorowanie tempa rozwoju choroby i odpowiedni dobór leku oraz dostosowanie jego dawki do etapu choroby (**Elliott wsp., 2007**).

Standardowe badania laboratoryjne obejmują pomiar stężenia mocznika i kreatyniny w surowicy oraz analizę moczu. W badaniu moczu szczególnie istotnym elementem jest określenie jego ciężaru właściwego - co umożliwia ocenę zdolności nerek do zagęszczania moczu i z tym związany stopień uszkodzenia rdzennej części nerek (**Elliott i wsp., 2007**). Oznaczenie stężenia mocznika i kreatyniny w surowicy obarczone jest dużym błędem. Wynika to z faktu, że wiele czynników pozanerkowych ma wpływ zarówno na wielkość wytwarzania, jak i eliminację tych substancji z organizmu (**Moe i wsp., 1995**). O stężeniu mocznika w surowicy decyduje zawartość białka w diecie, współistniejące choroby wątroby, zwłaszcza występowanie hemolizy i żółtaczk (**Khyse-Andersen i wsp., 1994**), a także stosowane leki (np. glukokortykosterydy). Do tej listy można dodać wszelkie infekcje, gorączkę czy krwawienia z przewodu pokarmowego. Koncentracja mocznika i kreatyniny w surowicy uzależniona jest od wieku, płci (**Sulicka i wsp., 2005, Obrenović i wsp., 2006, Herget-Rosental i wsp., 2007**), stopnia odwodnienia, jak i czasu ostatniego posiłku (**Elliott i wsp., 2007**). Wielkość "produkcji" kreatyniny zależy głównie od masy mięśniowej osobnika. W przypadku osobników o małej masie mięśniowej lub kachektycznych z powodu wyniszczenia chorobą przewlekłą, wielkość filtracji kłębuszkowej nerek, szacowana na podstawie samego stężenia kreatyniny w surowicy, będzie zawyżona (**Herget - Rosental i wsp., 2007, Jarocki, 2001**). Stężenie kreatyniny w osoczu mieszczące się w granicach wartości referencyjnych wcale nie wyklucza istotnego zaburzenia funkcji nerek (**Duncun i wsp., 2001**). Powyższe doniesienia stanowią powód by w ocenie pracy nerek nie opierać się wyłącznie na pomiarze stężenia kreatyniny w surowicy, gdyż jest to wskaźnik mało wiarygodny.

Według niektórych autorów dopiero zmniejszenie filtracji kłębuszkowej (GFR) o 50%, a według innych o 70% daje zauważalny wzrost stężenia kreatyniny czy mocznika w osoczu (**Sulicka i wsp., 2005, Obrenović i wsp., 2006, Elliott i wsp., 2007, Moe i wsp., 1995, Wieczorowska -Tobis, 2002**). To już często za późno na samą tylko



modyfikację dawek leków np. antybiotyków czy wprowadzenie dietoterapii. Te fakty utwierdzają w przekonaniu, że potrzebny jest czulszy marker pracy nerek, wychwytyjący jeszcze bardziej subtelne zmiany w funkcjonowaniu tego narządu.

Testem czynnościowym ułatwiającym ocenę zdolności wydalniczej nerek jest klirens osoczowy określonej substancji, czyli pomiar szybkości jej eliminacji z osocza. Jeśli substancja jest swobodnie filtrowana przez kłębuszki nerkowe, nie ulega zwrotnemu wchłanianiu lub wydalaniu w kanalikach nerkowych, wielkość jej klirensu osoczowego jest równa wielkości filtracji kłębuszkowej nerek (**Elliott i wsp., 2007, Kinsey i wsp., 1992**). Pomiar GFR uznano za najlepszy pojedynczy parametr wykorzystywany do oceny pracy nerek. (**Moe i wsp., 1995**), najbardziej wiarygodny i najczulszy spośród dotychczas stosowanych (**Almy i wsp., 2002**).

Wśród substancji, które posłużyły do oceny wielkość filtracji kłębuszkowej nerek były między innymi: inulina, endogenna lub egzogenna kreatynina. Oznaczenie klirensu inuliny i kreatyniny nazwano „złotym standardem” dla oceny GFR w weterynarii (**Miyamoto, 2001**). Badanie to zyskało największą akceptację w szacowaniu wielkości filtracji kłębuszkowej u kotów (**Miyamoto, 2001**). Niestety w praktyce rzadko wykorzystuje się te związki z powodu istotnych ograniczeń badania jak konieczność korzystania z pompy infuzyjnej dla zapewnienia stałego stężenia inuliny w osoczu, czy konieczność cewnikowania zwierząt dla uzyskania moczu w ściśle określonym czasie. Taka procedura jest kosztowna, skomplikowana i czasochłonna (**Gleadhill i wsp., 1996**), a każde cewnikowanie wiąże się z ryzykiem zakażenia układu moczowego (**Miyamoto, 2001, Brown i wsp., 1996**). Dodatkowo w przypadku pomiaru klirensu kreatyniny metoda ta okazała się mało dokładna z uwagi na szlaki metaboliczne tego związku w organizmie. W medycynie ludzkiej wykazano, że u pacjentów z ostrą niewydolnością nerek do 66% kreatyniny jest metabolizowane drogą pozanerkową (**Elliott i wsp., 2007**). Większość kreatyniny przechodzi do jelita i tam rozkładana jest przez bakterie jelitowe. Nie przeprowadzono podobnych badań u zwierząt, dlatego trudno określić na ile pomiar GFR oszacowany na podstawie klirensu kreatyniny jest obiektywny. Alternatywną metodą oznaczenia GFR miał być pomiar szybkości eliminacji z surowicy, podawanych dożylnie, substancji radioaktywnych

( **Brown i wsp., 1996**). Jednak trudności obiektywne - jak konieczność posiadania licznika promieni gamma oraz przepisy związane z ochroną radiologiczną, ograniczają w istotny sposób możliwości oznaczanie osoczkowego klirensu chromu ( Cr-EDTA). W medycynie ludzkiej i w badaniach u psów czasami korzystano z Technetu (TcDPA) ze względu na krótszy okres półtrwania związku i przydatność w innych diagnostycznych procedurach. ( **Moe i wsp., 1995**). Sama procedura badania jest prostsza gdyż nie potrzebna jest zbiórka moczu ( **Elliott i wsp., 2007**), ale niestety niezbędny jest specjalistyczny sprzęt do pomiaru stężenia substancji promieniotwórczej. W praktyce stosunkowo dobrym rozwiązaniem okazało się określanie GFR w oparciu o pomiar klirensu osoczkowego podawanych dożylnie jodowych środków kontrastowych. Wyniki badań przeprowadzonych u świń, psów, kotów i koni potwierdziły przydatność np. Iohexolu w szacowaniu wielkości filtracji kłębuszkowej nerek u tych gatunków zwierząt ( **Gleadhill i wsp., 1996, Goy-Thollot i wsp., 2006, Frennby i wsp., 1996, Brown i wsp., 1996, Miyamoto, 2001, Moe i wsp., 1995, Gleadhill i wsp., 1996, Elliott i wsp., 2007**). Niestety, brak standaryzowanych zakresów referencyjnych dla johexolu u zwierząt zdrowych ograniczyło możliwość wykorzystania tego związku w praktyce ( **Goy- Thollot i wsp., 2006**).

Iohexol to jodowy, rozpuszczalny w wodzie środek kontrastowy używany rutynowo w diagnostyce radiologicznej w medycynie człowieka i popularny w radiologii weterynaryjnej ( **Brown i wsp., 1996**). To związek bardzo bezpieczny, stosowany dożylnie np. w urografii nawet u pacjentów podwyższonego ryzyka ( **Moe i wsp., 1995**) np. hemodynamicznie niestabilnych, u których wykonywanie badań z zastosowaniem innych środków kontrastowych mogłoby doprowadzić do dodatkowego pogorszenia pracy nerek ( **Elliott i wsp., 2007**). Dzięki takim cechom związku jak niskoosmolalność i brak jonowości, ryzyko wystąpienia nefrotoksyczności po jego dożylnym podaniu jest niższe w porównaniu z innymi kontrastowymi związkami jodowymi. Równie istotnym jest fakt, że nie zauważono skutków ubocznych po jego stosowaniu. ( **Gleadhill i wsp., 1996, Goy-Thollot i wsp., 2006, Moe i wsp., 1995, Elliott i wsp., 2007**). Dodatkowe zalety johexolu to: stosunkowo niska cena, zakup możliwy w każdej hurtowni farmaceutycznej, łatwość pomiaru stężenia jodu w osoczu.

Zasada pomiaru osoczonego klirensu Iohexolu oparta jest na podzieleniu zastosowanej dawki środka kontrastowego przez pole powierzchni pod krzywą (AUC), wykreśloną na podstawie aktualnego stężenia kontrastu w surowicy w jednostce czasu. Wykorzystywany w medycynie ludzkiej aparat RENALYSER ma już gotowe oprogramowanie do oznaczania GFR na podstawie koncentracji jodu w próbkach krwi pobieranych w czasie od dwóch do czterech godzin po dożylnym podaniu kontrastu

(**Elliott i wsp., 2007**). Dzięki dużej stabilności jodu – możliwe jest też przesyłanie zamrożonych próbek do referencyjnych laboratoriów, co dodatkowo obniża koszty badania i upraszcza procedurę. Nie ma potrzeby zbiórki moczu, co wyklucza ryzyko infekcji układu moczowego, a procedura nie wymaga stałej podaży Iohexolu

(**Miyamoto, 2001**). Dla psów i kotów zostały opracowane procedury pomiaru osoczonego klirensu Iohexolu (**Brown i wsp., 1996, Goy-Thollot i wsp., 2006, Moe i wsp., 1995, Miyamoto, 2001**). W zależności od autorów dawki Iohexolu podawane dożylnie zwierzętom wynosiły: u psów 300mg/kg mc (**Goy-Thollot i wsp., 2006**) lub 300mg/kg mc u osobników zdrowych i 150mg/kg mc u psów ze zredukowaną masą nerek (**Delmar i wsp., 2001**), u kotów te dawki wynosiły odpowiednio: 450 mg/kg mc

(**Goy-Thollot i wsp., 2006**) lub 90 mg Iohexolu /kg mc u zdrowych, z prawidłową funkcją nerek i 45 mg/kg mc u kotów z usuniętą 75% do 83,3% tkanki nerek

(**Miyamoto, 2001**).

Na podstawie danych bibliograficznych, pomiar osoczonego klirensu Iohexolu dla oceny wielkości filtracji kłębuszkowej nerek u kotów, wydaje się czulszym parametrem niż pomiar stężenia mocznika czy kreatyniny w surowicy. Można już wyliczyć na podstawie ograniczonej do trzech liczby próbek surowicy o stosunkowo niewielkiej objętości – 50 mikrolitrów (0,5 ml) każda (**Miyamoto, 2001**). Zauważono ścisłą zależność między wielkością osoczonego klirensu Iohexolu a GFR (**Miyamoto, 2001**). Ma to związek z tym, że Iohexolu praktycznie nie wiąże się z białkami osocza (< 1%) i eliminowany jest głównie drogą filtracji kłębuszkowej. Z organizmu kontrast zostaje wydalony w ciągu 24 godzin od dożylnego podania. Pomiar objętości Iohexolu, jaka w jednostce czasu, jest usuwana z surowicy, po dożylnym podaniu kontrastu, wiarygodnie odzwierciedla sprawność nerek. Dodatkowym atutem tego badania jest to,

że można je przeprowadzić u kotów poddanych znieczuleniu złożonemu thiamylan\_sodu plus halotan ( **Brown i wsp., 1996**) lub ketamina ( **Miyamoto, 2001**) jak i świadomych – bez użycia środka farmakologicznego ( **Miyamoto, 2001**).

Jedną z nielicznych wad procedury jest czasochłonność - według standardów pobieranie próbek trwa do pięciu godzin. Względny przeciwwskazaniem do wykorzystania tego kontrastu u pacjentów jest padaczka i astma. W przypadku przeprowadzania badania u zwierząt świadomych, czyli bez użycia środków uspokajających, podanie dożylnie kontrastu może być utrudnione, ale nie niemożliwe.

Pewnym przełomem w ocenie funkcji wydalniczej nerek, okazało się odkrycie swoistego białka w surowicy - cystatyny C. Białko to zostało wyizolowane z białka jaja kurzego w 1968 r przez Fossum i Whitakera, ale dopiero Barrett w 1981r. użył nazwy „cystatyna” ( **Reed, 2000**). Ze względu na swoje właściwości, zainteresowanie tym peptydem w nefrologii było tak duże, że już od 1985 r. uznawany jest on jako wskaźnik GFR, wyznacznik funkcji nerek i dodatkowo czynnik prognostyczny chorób sercowo-naczyniowych ( **Imiela i wsp., 2007, Sesin i wsp., 2002**). W medycynie ludzkiej wyniki badań potwierdziły przydatność cystatyny C, jako „wczesnego markera przewlekłej choroby nerek w stadiach przedklinicznych i w umiarkowanej niewydolności nerek”, co jest równoznaczne z GFR na poziomie 30-59 ml/min/1.73m kwadratowego ( **Imiela, i wsp., 2007**). W weterynarii pozytywne próby z wykorzystaniem pomiarów koncentracji cystatyny C w surowicy dla oceny funkcji nerek przeprowadzono u szczurów ( **Bokenkamp i wsp., 2001**) i psów ( **Almy i wsp., 2002, Wehner i wsp., 2008**). U tych ostatnich użyto testu z przeciwciałami przeciwko ludzkiej cystatynie C wykazując przy tym dodatnią reakcję krzyżową w stosunku do cystatyny C psiej ( **Almy, 2002**).

Na podstawie badania przeprowadzonego przez Wehnera i wsp., ( **2008**) określono zakres referencyjny stężenia cystatyny C w surowicy psów. Wyniki badania ukazywały również silniejszą zależność pomiędzy stężeniem cystatyny C a GFR, niż pomiędzy kreatyniną a GRF, określanym na podstawie osoczkowego klirensu egzogennej kreatyniny.

U szczurów, podobnie wykazano, że stężenia cystatyny C lepiej odzwierciedla wielkość filtracji kłębuszkowej, niż stężenie kreatyniny w surowicy, a sam peptyd nie

jest eliminowany z surowicy w przebiegu dializy ( **Bokenkamp i wsp., 2001**). Dodatkowo u szczurów po obustronnej nefrektomii, użytych jako modelu krańcowej niewydolności nerek, wykazano ośmiokrotny wzrost stężenia cystatyny C w surowicy w porównaniu ze stężeniem tego białka u osobników zdrowych ( **Bokenkamp i wsp., 2001**). Niestety brak doniesień w literaturze światowej o próbach z zastosowaniem oznaczeń stężenia cystatyny C w surowicy kotów.

Cystatyna C to białko należące do rodziny inhibitorów proteaz cysteinowych, produkowane ze stałą prędkością przez wszystkie komórki jądrzaste organizmu ( **Sulicka i wsp., 2005, Marchewka, 2006, Tamba i wsp., 2001**). Powszechnie występuje w świecie roślin i zwierząt, u ludzi głównie w surowicy, płynie mózgowo-rdzeniowym, nasieniu, mazi stawowej, nerkach, CUN oraz śliniankach ( **Braun i wsp, 2002, Marchewka, 2006, Reed, 2000**). Cystatyna w białku jaja kurzego, pełni ważną rolę ochronną w procesie rozwoju zarodka. Istnieją doniesienia o właściwościach przeciwbakteryjnych, przeciwwirusowych i insektobójczych cystatyn stąd możliwość praktycznego zastosowania jej w medycynie człowieka ( **Trziszka i wsp., 2004, Bjorck i wsp., 1989, Ebina i wsp., 1991, Koiwa i wsp, 1998**).

W nefrologii ta endogenna substancja uważana jest za marker funkcji wydalniczej nerek przynajmniej tak samo czuły lub nawet czulszy niż kreatynina ( **Newman i wsp., 1995, Obrenović i wsp, 2006**). Peptyd ten ze względu na posiadane właściwości biologiczne i biochemiczne określany jest mianem idealnej substancji endogennej pozwalającej ocenić GFR. Niska masa cząsteczkowa ( 13 kD) i wysoki punkt izoelektryczny cystatyny C umożliwia jej swobodną filtrację kłębuszkową, a po wchłonięciu w kanaliku proksymalnym ulega rozkładowi, nie wracając do krążenia ( **Imiela i wsp., 2007, Sulicka i wsp., 2005, Marchewka, 2006**). Praktycznie nie przechodzi do moczu chyba, że dojdzie do uszkodzenia kanalików bliższych ( **Trof i wsp., 2006, Colle i wsp., 1990**). Wywołane eksperymentalnie, toksyczne uszkodzenie kanalików nerkowych u szczurów, przez podanie chromianu sodu, spowodowało drastyczny wzrost stężenia cystatyny C w moczu. Obniżenie stężenia cystatyny C w moczu nastąpiło w ciągu tygodnia od odstawienia czynnika toksycznego ( **Colle i wsp., 1990**). W związku ze stałą produkcją, swobodną filtracją przez kłębuszki nerkowe i

brakiem powrotu do krążenia, stężenie cystatyny C w osoczu zależy głównie od wielkości filtracji kłębuszkowej, a zatem w istotny sposób koreluje ze zdolnością wydalniczą nerek ( **Obrenović i wsp., 2006, Newman i wsp., 1995, Sulicka i wsp., 2005, Braun i wsp., 2002, Trof i wsp., 2006**).

W badaniach przeprowadzonych u ludzi wykazano, że pomiar stężenia cystatyny C jest znacznie czulszym wskaźnikiem spadku GFR w przewlekłej chorobie nerek, niż pomiar stężenia kreatyniny, czy innych nisko cząsteczkowych białek w surowicy. Co więcej wykazano wzrost stężenia cystatyny C już przy nieznacznym spadku wielkości filtracji kłębuszkowej nerek ( GFR na poziomie 70-90 ml/min), który jest przedziałem nieuchwytnym, dosłownie „ślepy” dla kreatyniny ( „**creatinine-blind range**” )

( **Herget-Rosenthal i wsp., 2007**). Pomiar cystatyny C jest czułym wskaźnikiem pracy nerek jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych choroby i we wczesnym jej stadium ( **Imiela i wsp., 2007**). W badaniach przeprowadzonych u psów cystatyna C była podwyższona u 98% osobników z niewydolnością nerek, nawet w przypadku, gdy stężenie kreatyniny w surowicy pozostawało w granicach normy ( **Braun i wsp., 2002**).

To marker szczególnie przydatny w wykrywaniu jeszcze niewielkich zmian w GRF, a oznaczanie jej koncentracji w surowicy wydaje się mieć większą wartość niż pomiar stężenia kreatyniny ( **Dharnidharka i wsp., 2002**).

Produkcja cystatyny C warunkowana jest przez pojedynczy gen typu ”housekeeper”, co gwarantuje stałą wielkość tej produkcji ( **Ylinen i wsp., 1999**).

Na wytwarzanie cystatyny C nie mają wpływu czynniki pozanerkowe, jak masa mięśniowa ( **Obrenović i wsp., 2006, Sulicka i wsp., 2005, Herget - Rosenthal i wsp., 2007, Newman i wsp., 1995, Antognoni i wsp., 2005**). Nie wpływają także: stan zapalny, nowotwory, czynniki reumatoidalne, hemoliza czy stężenie bilirubiny poniżej 150 mikromol /l ( **Newman i wsp., 1995, Kyhse - Andersen i wsp., 1994, Herget - Rosenthal i wsp., 2007, Wehner i wsp., 2008**). To marker niezależny od stanu wyniszczenia, chorób towarzyszących, w których ocena nerek oparta na pomiarze kreatyniny charakteryzuje się małą dokładnością ( **Imiela i wsp., 2007**).

Co do wpływu wieku osobnika i diety na koncentrację cystatyny C w surowicy zdania są podzielone. Większość jednak autorów uważa, że stężenie cystatyny C nie

zależy od wieku, dane dotyczą dorosłych, poniżej 50 roku życia i dzieci powyżej 1 roku życia ( **Ylinen i wsp., 1999, Sulicka i wsp., 2005, Finney i wsp., 1999, Fliser i wsp., 2001, Newman i wsp., 1995**). U noworodków i osób starszych jej stężenie jest nieco niższe, co wynika z fizjologicznie mniejszej wielkości filtracji kłębuszkowej w tych grupach wiekowych ( **Braun i wsp., 2002**). Podobnie u zwierząt, wiek osobnika nie ma istotnego wpływu na stężenie cystatyny C w surowicy, której koncentracja zależy głównie od wielkości filtracji kłębuszkowej u danego zwierzęcia.

Dieta, według większości autorów, nie wpływa na stężenie cystatyny C w surowicy u ludzi i zwierząt. Tylko w jednej pracy zasugerowano spadek stężenia cystatyny C w surowicy psów do 9 godzin po spożytym posiłku mięsnym i powrót do wartości wyjściowej w 12-tej godzinie ( **Braun i wsp., 2002**). Ten spadek można jednak wytłumaczyć zwiększonym metabolizmem i z tym związanym wzrostem klirensu nerkowego białek, co bezpośrednio daje wzrost GFR po posiłku ( **Tarif i wsp., 2008, Braun i wsp., 2002**). Uzyskane dane sugerują, że u zdrowych zwierząt, po posiłku bogato białkowym, GFR rośnie średnio o 41%. Procentowo niższy wzrost zanotowano u zwierząt z niewydolnością nerek, gdzie średni wzrost GFR po posiłku mięsnym wynosi 21% ( **Braun i wsp., 2002**). Zakładając, że badania diagnostyczne przeprowadza się u zwierząt przegłodzonych ( posiłek odstawiony na minimum 12 godzin) fakt ten eliminuje ewentualny wpływ diety na stężenie cystatyny C w surowicy i dokładność oznaczenia GFR. Przebieg metabolizmu cystatyny C w organizmie zwierząt i ludzi zwłaszcza w przewlekłej chorobie nerek można analizować dzięki powszechnie już stosowanym w medycynie ludzkiej metodom badawczym: nefelometrycznej, immunoturbidymetrycznej ( **Braun i wsp., 2002, Kyhse-Andersen i wsp., 1994**), czy bezpośredniej **RIA** ( Radioimmunoassay) ( **Colle i wsp., 1990**).

W związku z tym, że stężenie cystatyny C w surowicy uzależnione jest głównie od wielkości filtracji kłębuszkowej nerek, a jej przechodzenie do moczu następuje w momencie uszkodzenia kanalików proksymalnych nerek, równoczesny pomiar koncentracji cystatyny C w surowicy i w moczu daje możliwość wiarygodniejszej oceny pracy nerek. Zestawienie obu pomiarów umożliwia wczesne wychwycenie spadku GFR jak i procesu uszkodzenia kanalików proksymalnych nerek ( **Obrenović i wsp., 2006, Trof i wsp., 2006**).

Cystatyna C to marker bardzo przydatny - „śledząc” stężenia cystatyny C w surowicy i w moczu można nie tylko odpowiednio wcześniej wykryć niewydolność nerek, ale także szybciej wykazać podjęcie przez nerkę prawidłowej funkcji. Jego wartość już doceniono już u ludzi po przeszczepach nerek, czy w trakcie chemioterapii ( **Sulicka i wsp., 2005**), w pediatrii ( **Ylinen i wsp., 1999**), u pacjentów geriatrycznych ( **Sulicka i wsp., 2005**), a także u pacjentów z uszkodzeniem kręgosłupa, u których wzrasta ryzyko rozwoju niewydolności nerek ( **Thomassen i wsp., 2002**). W weterynarii również zasugerowano przydatność cystatyny C, jako istotnego wskaźnika niewydolności nerek zwłaszcza u psów, u których stężenie kreatyniny w surowicy zbliżone było do górnej granicy zakresu normy ( **Braun i wsp., 2002**).



## **2. Cel pracy**

Celem pracy było:

- 1.** Określenie wartości referencyjnych dla stężenie cystatyny C w surowicy u kotów zdrowych
- 2.** Ocena wpływu czynników pozanerkowych na stężenie cystatyny C w surowicy kotów
- 3.** Porównanie wiarygodności pomiaru stężeń: cystatyny C i kreatyniny w surowicy badanych kotów jako wykładnika pracy nerek w zestawieniu z GFR, uzyskanym na podstawie osoczkowego klirensu Iohexolu. ( Analiza na podstawie krzywej ROC)
- 4.** Ocena przydatności pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy jako markera we wczesnej diagnostyce niewydolności nerek u kotów.

### **3. Materiał i metody**

#### **3.1. Grupa badanych zwierząt**

Badanie przeprowadzono u 70 domowych kotów różnej płci, rasy, wieku i masy ciała. Większość stanowiły koty rasy europejskiej ( 67 osobników). Inne rasy reprezentowały: Pers ( 1) i Devon Rex ( 2).Badanie obejmowało koty w przedziale wiekowym od 9 miesięcy do 17,5 roku. Masa ciała badanych osobników była zróżnicowana ( 2-8 kg).

Wszystkie koty były pacjentami ambulatorium Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, w latach 2007-2009 r.

Z badań wykluczono koty z rozpoznaniem padaczki lub astmy, kotki ciężarne i kocięta poniżej 6-go miesiąca życia.

#### **3.2. Przebieg badania - procedura wstępna**

##### **3.2.1. Przygotowanie zwierząt do badania**

U kotów zastosowano standardową procedurę dotyczącą przygotowania pacjenta do badania krwi. Obejmowała ona 12- godz. głodówkę, ze swobodnym dostępem do wody.

##### **3.2.2. Wywiad i badanie kliniczne kotów**

U wszystkich kotów z grupy badanej przeprowadzono wywiad i badanie kliniczne. Uzyskane dane, w zestawieniu z wynikami badań laboratoryjnych, stanowiły podstawę dla podziału kotów na osobniki zdrowe i chore oraz pomagały uściślić informacje dotyczące czasu trwania choroby.

### 3.2.3. Badanie hematologiczne krwi

Próbki krwi przeznaczone do wykonania badań hematologicznych pobierano z żyły odpromieniowej i bezpośrednio po ich uzyskaniu dostarczano do laboratorium analitycznego Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów.

Analizę krwi wykonano na aparacie Animal Blood Counter ABC Vet firmy Horiba ABX. Za normy przyjęto wartości referencyjne opracowane przez Winnicką

( **1997**).

### 3.2.4. Badanie biochemiczne krwi

Próbki krwi przeznaczone do wykonania badań biochemicznych pobierano z żyły odpromieniowej i bezpośrednio po ich uzyskaniu dostarczano do laboratorium analitycznego Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów. Badanie wykonano na aparacie Max Mat PI firmy Alfa diagnostics oceniając takie parametry jak stężenie mocznika, kreatyniny, sodu, potasu, chloru, wapnia i fosforu. Opierano się na wartościach referencyjnych opracowanych przez Winnicką ( **1997**).

### 3.2.5. Badanie moczu

Badanie ogólne moczu z osadem wykonywano w laboratorium analitycznym Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, w czasie dwóch godzin od pobrania próbki moczu od kota.

### 3.2.6. Badanie usg układu moczowego

Badanie ultrasonograficzne zostało wykonane u wszystkich kotów ( 70 osobników) aparatem Envisor C firmy Philips, przy użyciu głowicy linearnej o zakresie częstotliwości od 3 do 12 MHz. Badanie to miało wykluczyć bądź wykazać ewentualne zmiany w strukturze nerek czy wzrost oporu naczyniowego ( RI) w nerkach mogącego sugerować nieprawidłowości w pracy narządu.

### 3.2.7. Klasyfikacja kotów

#### **Podział podstawowy:**

**I grupa:** koty zdrowe ( 24 osobniki), które utworzyły grupę kontrolną. Grupa ta obejmuje osobniki, u których:

- w wywiadzie klinicznym brak informacji o chorobie układu moczowego, w badaniu klinicznym brak zmian chorobowych
- wyniki badań laboratoryjnych ( badanie krwi i moczu) mieszczą się w zakresach referencyjnych dla osobników zdrowych ( zestawienie uzyskanych wyników w tabeli nr 1, nr 7 i nr 8)
- w badaniu ultrasonograficznym nerek brak zmian patologicznych ( wyniki badania przedstawione w tabeli nr 9).

To koty, które dostarczono do kliniki w związku z profilaktyką chorób zakaźnych ( 14 osobników) i pasożytniczych ( 10 osobników).

**II grupa:** koty chore ( 46 osobników). Zestawienie wyników badania krwi zawiera tabela nr 2. Wyniki badania moczu przedstawione zostały w tabeli nr 7 i tabeli nr 8. Grupa ta obejmuje osobniki, u których występowały odchylenia przynajmniej w jednym z czterech wyznaczników określających stan zdrowia:

- informacje uzyskane z wywiadu klinicznego sugerowały problemy z układem moczowym lub chorobę, dającą powikłanie ze strony nerek:

kot leczony glikokortykosterydami w związku z rzekomo rozpoznanym nowotworem nerek ( z wywiadu: kot otrzymywał ponad pół roku encorton, usg wykonane w ramach badania wstępnego nie potwierdziło procesu nowotworowego w nerkach, ale wykazało wzrost RI)

koty leczone z powodu cukrzycy ( 2 osobniki)

koty leczone z powodu nawracających zaburzeń dolnych dróg moczowych ( FLUTD) ( 10 osobników)

lub badanie kliniczne wykazało zmiany chorobowe mogące świadczyć o chorobie nerek czy predyspozycji do rozwoju choroby nerek np. osobniki z zapaleniem cewki moczowej ( 12 osobników, w tym 1 kot, u którego pośmiertnie zdiagnozowano Zakaźne Zapalenie Otrzewnej Kotów (FIP), choć testy przyżyciowe nie potwierdziły choroby zakaźnej)

- wyniki badań laboratoryjnych ( badanie krwi, moczu) wykraczały poza zakresy referencyjne: np. kot z nowotworem wątroby i dystrofią nerek ( rozsiany nowotwór wątroby potwierdzony badaniem histopatologicznym) lub
- badanie ultrasonograficzne nerek wykazywało zmiany patologiczne w nerkach ( 36 osobników). Wśród nich, 31 osobników wykazywało zmiany w strukturze nerek, ( torbiele - 5 osobników, wodonercze - 1 osobnik, dystrofia nerek –2 osobniki), a u 9 osobników zarejestrowano podwyższone wartości oporu naczyniowego ( RI)

W grupie tej znalazły się koty leczone z powodu:

- mocznicy ( 14 kotów)

- FLUTD ( 13 kotów)

- grzybicy włosa + objawy FLUTD ( 1 osobnik)

- grzybicy pazurów ( onychodystrofia) + objawy FLUTD i dwukrotnie przekroczenie zakresu referencyjnego dla stężenia mocznika w surowicy ( 1osobnik)

- koty z przewlekłymi zaparciami ( dane z wywiadu), u których usg nerek wykazało poszerzenie miedniczek nerkowych ( 2 osobniki)

- niedowładu kończyn tylnych, z porażeniem neurogennym pęcherza moczowego, zapaleniem cewki moczowej ( 1 osobnik)-kot po upadku z 4 piętra

- ziarniniaka liniowego ( okresowa sterydoterapia), u którego na podstawie epikryzy podejrzewano chorobę nerek ( 1 osobnik)
- wymiotów i wstępnego rozpoznania choroby nerek ( na podstawie wcześniejszych zmian w usg), u których w czasie badania wstępnego, usg wykazało guz żołądka średnicy 3,5 cm ( 1osobnik)

**Osobniki chore dodatkowo podzielono na 4 grupy w oparciu o stężenie kreatyniny w surowicy ( podział przyjęty według klasyfikacji IRIS):**

**Grupa I:** koty bez klinicznych objawów choroby nerek ( 16 osobników)

( brak azotemii, stężenie kreatyniny w surowicy poniżej 140  $\mu\text{mol/l}$ )

Zestawienie wyników badań krwi zawarte w tabeli nr 3.

**Grupa II:** koty z podejrzeniem zaburzeń w funkcjonowaniu nerek ( 16 osobników)

( kliniczne objawy syndromu urologicznego, łagodna azotemia nerkowa, stężenie kreatyniny w zakresie 140-249  $\mu\text{mol/l}$ ). Zestawienie wyników badań krwi zawarte w tabeli nr 4.

**Grupa III:** koty z rozpoznaną dysfunkcją nerek ( 6 osobników)

( objawy systemowe chorób nerek jak: zwiększone pragnienie i zwiększone oddawanie moczu, niedokrwistość, wymioty, brak łaknienia, umiarkowana azotemia nerkowa, stężenie kreatyniny w zakresie 250-439  $\mu\text{mol/l}$ ) Zestawienie wyników badań krwi zawarte w tabeli nr 5.

**Grupa IV:** koty z objawami klinicznymi przewlekłej niewydolności nerek

( 8 osobników)

( ciężka azotemia nerkowa, stężenie kreatyniny powyżej 440  $\mu\text{mol/l}$ , zaburzenia w gospodarce wodno- elektrolitowej, całkowity brak łaknienia, wymioty, zaparcia, niedokrwistość nieregeneratywna) Zestawienie wyników badań krwi zawarte w tabeli nr 6.

Zastosowanie powyższej procedury umożliwiło obiektywizm w ocenie aktualnego statusu zdrowotnego zwierząt.

### **3.3. Przebieg badania - procedura główna**

#### **3.3.1. Oznaczanie stężenia cystatyny C**

Próbkę surowicy od każdego kota dostarczano w przeciągu 24 godzin do laboratorium przy Zakładzie Analityki Medycznej Akademii Medycznej w celu określenia koncentracji cystatyny C. Pomiar stężenie cystatyny C w surowicy kotów wykonywano na nefelometrze firmy Dade Behring ( automat II) z wykorzystaniem komercyjnych testów N Latex Cystatin C OQNM11, w dniu dostarczenia próbki. Metoda immunonefelometryczna ( **PENIA**) wykorzystana w tym badaniu oparta jest na reakcji immunologicznej. Reakcja ta zachodzi pomiędzy gotowym, handlowym odczynnikiem ( immunocząsteczkami opłaszczonymi przeciwciałami królika), a ludzką i zwierzęcą, w tym kocią, cystatyną C.

Istnienie cystatyny C u kotów i zachodzenie krzyżowej reakcji pomiędzy nią a ludzką cystatyną C potwierdzają wyniki badania przeprowadzonego, metodą Western Blott, przez Federica. Almy w 2002 r. ( **Almy i wsp., 2002**)

#### **3.3.2. Badanie z wykorzystaniem johexolu**

##### **3.3.2.1. Procedura podawania johexolu**

Po pobraniu krwi z żyły odpromieniowej- próbka zero w ilości 1 ml, podano do niej

preparat Omnipaque, w dawce 90mg/kg mc -w przypadku kotów bez azotemii i 45mg/kg mc - w przypadku kotów z azotemią ( dawki johexolu zgodne z protokołem doświadczenia Miyamoto z 2002 r).

### **3.3.2.2. Pobieranie i przechowywanie próbek krwi**

Próbki krwi ( w ilości 0,5 ml każda) pobierano od każdego badanego kota, z żyły dostopowej, kolejno, po upływie: 2, 3, 4 i 5 - godzin od czasu dożylnego podania johexolu. Po odwirowaniu krwi, oznakowane próbki surowicy były zamrażane i w ciągu 24 godzin dostarczane do Zakładu Analityki Medycznej i Laboratorium Analitycznego Akademii Medycznej.

### **3.3.2.3. Obliczanie osoczkowego klirensu johexolu**

Oznaczenia klirensu johexolu przeprowadzano wykorzystując pomiar zawartości jodu w surowicy, w Zakładzie Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Stężenie johexolu w surowicy oznaczane było metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej ( HCLP) z użyciem aparatu HP1100 firmy Hewlett Packard.

Klirens osoczowy johexolu obliczano z wykorzystaniem modelu jednokompartimentowego metodą opracowaną przez Krutzen Back i Nilsson-Ehl

( **Krutzen i wsp., 1984**). Wartości klirensu osoczkowego johexolu normalizowano w oparciu o masę ciała kotów. W przypadku tego gatunku zwierząt, jest ona równoważna normalizacji w oparciu o pole powierzchni ciała ( metr kwadratowy) czy wielkość pozakomórkowej przestrzeni wodnej ( **ECFV**) ( **Goy- Thollot i wsp., 2006**). Wyliczenie GFR na podstawie osoczkowego klirensu johexolu było możliwe dzięki metodzie opracowanej przez J. Brochner – Mortensena ( **Brochner-Mortensen, 1982**).

**W trakcie przeprowadzenia badań koty nie były pod wpływem działania środków uspokajających by zachować obiektywizm badań i zmniejszyć ryzyko dodatkowego, niepotrzebnego, obciążenia nerek.**



### **3.4. Analiza statystyczna**

Badane cechy ciągłe charakteryzowano parametrami rozkładu tych cech tj. wartością średnią i odchyleniem standardowym ( SD) oraz liczebnością N próby. Do analizy materiału statystycznego posłużono się: dla cech ciągłych – jednoczynnikową analizą wariancji ( ANOVA), wykorzystując testy post-hoc Tukeya oraz wieloczynnikową analizą wariancji ( MANOVA) W przypadku, w którym badane cechy nie miały rozkładu normalnego do analizy statystycznej posłużono się nieparametrycznym testem Manna-Whitneya. Powiązanie tych cech między sobą badano za pomocą wyznaczenia współczynnika korelacji Spearmana. Dopuszczalny błąd oceny statystycznej przyjęto na poziomie 5%, oznaczając go jako poziom istotności statystycznej  $p < 0,05$ .

Jeśli poziom istotności jest większy niż 0,05, wówczas mówimy o braku różnicy istotnie statystycznej i oznaczamy przez NS. W pracy przedstawiono również wyniki różniące się na poziomach istotności  $p < 0,01$  oraz  $p < 0,001$ .

#### **Zgoda komisji etycznej**

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Nr 15/2008 II Lokalnej Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach we Wrocławiu na mocy uchwały NR 7/2009 z dnia 09.02.2009 r.

## 4. Zestawienie i omówienie wyników

### 4.1. Wyniki badań laboratoryjnych

**Tabela nr 1.** Zestawienie wyników badania krwi uzyskanych w grupie kotów zdrowych ( 24 osobniki). Ocena wielkości klirensu osoczonego iohexolu ( P<sub>cio</sub> = GFR) szacowana w oparciu o dawkę iohexolu: 90 mg/kg mc.

Pacjent nr	WBC	RBC	Hb	Htc	Plt	Mocznik	Scr	Ca <sup>++</sup>	P	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	P <sub>cio</sub>	Cys C
14	10,7	9,5	9,3	0,43	429	9,5	125	2,1	1,2	155	4,08	1,08	0,59
15	13,6	9,33	8,7	0,46	548	11,2	221	2,15	1,6	153	4,51	1,57	0,6
20	5,4	8,98	9,8	0,48	320	9,18	93	2,48	1,25	149	4,13	2,05	0,91
21	5,7	9,25	10,4	0,47	352	8,7	138	2,92	1,64	155	4,45	0,65	0,77
29	20	9,13	8,6	0,43	271	8,22	112	2,53	1,63	153	4,3	2,89	0,87
32	8,6	9,83	9,6	0,46	376	8,4	145	2,74	1,92	153	4,61	1,12	0,99
35	10,3	9,08	7,6	0,37	304	10,3	173	2,3	1,46	151	4,72	2,86	0,84
37	19,3	7,92	7,7	0,45	212	7,34	202	2,11	1	149	4,09	2,1	0,57
41	9,6	9,57	8,7	0,42	241	10,04	150	2,79	1,52	152	3,77	1,91	0,72
42	9,6	8,75	8,4	0,43	217	8,85	156	2,75	1,14	153	4,51	1,23	0,61
44	11,8	8,35	10,6	0,47	156	7,97	158	2,68	1,52	159	4,88	2,71	0,49
45	9,6	8,32	7,1	0,35	263	9,9	152	2,04	1,62	152	4,19	1,69	1,05
46	9,8	9,98	9,9	0,47	257	6,76	102	2,62	1,21	159	4,11	3,34	0,18
47	7,8	9,92	8,8	0,41	439	10,47	98	2,64	1,69	152	4,1	2,93	0,63
48	14,5	8,39	10,1	0,5	216	11,11	116	2,51	1,8	152	4,62	2,71	0,67
49	7,4	9,96	9,4	0,46	343	9,84	114	2,63	1,94	151	4,61	2,26	1,05
50	16,5	9,79	7,8	0,41	162	6,58	90	2,43	1,88	151	4,9	3,12	0,82
51	17,1	8,1	7	0,37	333	4,8	78	2,22	1,44	155	5,85	3,5	0,82
52	10,6	9,46	9,3	0,34	368	11,56	133	2,98	1,76	155	4,48	2,77	0,26
53	19,4	8,89	7,8	0,45	148	8,17	114	2,18	1,76	155	4,11	2,61	0,37
55	9,4	8,32	6,6	0,36	365	9,7	111	2,23	1,42	152	3,9	3,42	0,67
56	17,5	7,75	7,1	0,34	160	9	126	2,39	1,63	150	3,99	2,95	0,82
58	11,1	9,57	7,4	0,37	266	7,8	118	2,39	1,34	153	3,95	2,83	0,73
59	19,5	8,89	6,8	0,33	285	8,6	120	2,38	1,47	152	3,75	3,15	0,66
<b>ŚR</b>	<b>12,3</b>	<b>9,04</b>	<b>8,52</b>	<b>0,42</b>	<b>293</b>	<b>8,92</b>	<b>131</b>	<b>2,47</b>	<b>1,54</b>	<b>153</b>	<b>4,36</b>	<b>2,39</b>	<b>0,70</b>
<b>S.D.</b>	<b>4,60</b>	<b>0,68</b>	<b>1,26</b>	<b>0,06</b>	<b>100,0</b>	<b>1,76</b>	<b>34,3</b>	<b>0,27</b>	<b>0,25</b>	<b>2,55</b>	<b>0,46</b>	<b>0,82</b>	<b>0,22</b>

ŚR – średnia, SD - odchylenie standardowe

**Tabela nr 2.** Zestawienie wyników badań krwi uzyskanych w grupie kotów uznanych za chore ( 46 osobników). Ocena wielkości klirensu osoczowego johexolu ( P<sub>cio</sub>= GFR) szacowana w oparciu o dawkę johexolu: 45 mg/kg mc.

Np.	Gr IRIS	Wbc	Rbc	Hb	Htc	NA <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mocznik	Scr	P <sub>cio</sub>	Cys C	Ca <sup>++</sup>	P
1	1	17,7	8,5	8,3	0,379	153	4,22	8,25	107	1,62	1,21	2,1	2,5
2	2	13,6	11	11,1	0,502	154	5,55	9,16	184	1,47	1,75	2,3	2,43
3	3	13	5,87	6,1	0,289	154	4,26	40,7	408	0,65	1,57	2,4	2,8
4	4	20,8	4,95	5	0,203	147	3,74	50,1	982	0,28	2,84	2,5	3
5	1	7,5	8,67	8,5	0,413	156	6,35	9,11	123,5	1,61	1,37	2,23	1,79
6	2	7,7	10,4	10,2	0,502	153	4,39	7,41	153	1,10	0,7	2,83	2,2
7	2	5,5	10,3	8,9	0,405	150	4,08	4,8	143	1,34	1,23	2,15	2,65
8	1	10,1	9,13	7,5	0,375	155	3,48	8,75	111	1,32	0,44	2,32	1,4
9	1	20,6	7,47	7	0,344	157	4,36	7,7	115,5	1,29	1,07	2,48	1,96
10	1	7,7	9,85	7,1	0,354	154	4,06	10,6	135	1,18	0,93	2,64	1,85
11	2	18,7	8,39	7,6	0,348	160	5,3	21,01	191	2,17	0,18	2,14	1,43
12	2	13,1	7,44	7,2	0,338	155	5,23	5,8	140	1,13	1,3	2,88	1,96
13	2	17,8	9,58	10,3	0,46	155	4,66	10,25	146	0,91	0,72	2,54	1,56
16	3	8	6,31	7,2	0,329	160	4,05	32,3	376	0,72	0,69	2,54	3,12
17	2	6,3	11,1	9,3	0,463	150	4,6	11,46	172	1,13	0,78	2,64	1,76
18	2	6,4	10,3	10,3	0,466	147	8,48	11,3	209	0,93	0,82	2,66	1,98
19	1	12,2	9,82	8,6	0,43	156	4,16	9,06	113	1,15	0,81	2,19	1,63
22	1	14,9	10,6	10,8	0,473	155	4,7	9,1	131	1,3	0,77	2,54	1,76
23	2	5,3	10,3	10,3	0,471	153	3,8	9,7	164	1,46	1,17	2,74	1,95
24	1	15,3	12	10,3	0,46	158	3,64	9,07	115	2,37	0,97	2,32	1,45
25	1	31,4	6,76	6,7	0,294	154	4,82	10,83	128	1,97	0,94	2,84	1,98
26	1	12,7	9,29	8,5	0,418	151	5,12	7,62	88	1,84	0,86	2,67	1,54
27	1	5,7	6,27	6,8	0,318	154	6,44	12,47	139	2,14	1,36	2,68	1,93
28	2	10	10,3	9,7	0,446	153	5,02	7,7	157	1,11	2,5	2,63	1,96
30	1	11,6	9,1	7,4	0,373	151	4,49	9	122	0,43	1,73	2,24	1,9
31	1	15,7	8,83	8,5	0,382	150	4,39	9,23	107	3,26	1,37	2,32	1,71
33	1	7,3	13,2	12,6	0,591	150	4,04	6,1	102	1,02	0,9	2,65	1,84
34	2	22,6	10,3	9,1	0,453	156	4,9	8,3	171	1,94	1,11	2,39	1,46
36	2	15,6	7,18	7,5	0,342	158	4,71	8,31	176	1,58	0,9	2,37	1,62
38	2	11,9	9,75	9,2	0,436	152	4,15	14,61	231	2,04	0,9	2,68	2,4
39	2	21,4	9,0	8,6	0,402	158	4,42	9,99	197	1,55	0,63	2,5	1,63
40	2	14,3	9,05	8,2	0,38	153	5,21	12,7	232	0,4	0,56	2,68	1,94
43	2	5	10,9	10	0,47	155	4,61	9,15	197	2,04	0,58	2,6	1,54
54	1	24,3	8,42	8,4	0,407	151	4,52	7,8	124	1,13	1,54	2,39	1,95
57	1	10,9	10,3	8,2	0,399	153	4,19	10,4	123	0,95	1,43	2,3	1,23
60	3	17,4	3,59	3,7	0,191	155	5,97	34,68	293	0,75	1,59	2,34	2,6
61	3	22,8	6,6	5,2	0,256	158	4,4	30,7	279	0,66	1,39	2,53	2,45
62	3	12,3	3,27	3,2	0,146	158	4,46	20,8	393	0,36	1,36	2,61	2,1

**cd. Tabela nr 2.** Zestawienie wyników badań krwi uzyskanych w grupie kotów uznanych za chore ( 46 osobników). Ocena wielkości klirensu osoczowego johexolu ( Pcio = GFR) szacowana w oparciu o dawkę johexolu: 45 mg/kg mc.

Np.	Gr IRIS	Wbc	Rbc	Hb	Htc	NA <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mocznik	Scr	Pcio	Cys C	Ca <sup>++</sup>	P
63	4	7,5	10,1	8,7	0,406	146	4,65	91,1	1692	0,32	0,89	2,69	4,64
64	4	20,3	5,94	5,1	0,253	152	3,93	39,32	639	0,43	1,84	2,43	3,3
65	4	18,6	4,77	5,2	0,232	149	3,57	54,86	627	0,38	1,08	2,72	4,62
66	3	16,6	5,55	5,7	0,271	150	4,43	21,4	359	1,34	1,6	2,5	2,8
67	4	8,8	10,9	9,8	0,453	142	10	101,9	2347	0,22	2,68	2,6	4,5
68	4	6,5	4,33	4,2	0,192	160	4,36	58,31	826	0,38	2,53	2,78	4,22
69	4	24,3	5,01	4,9	0,247	158	3,2	20,32	519	1,32	1,62	2,2	3,8
70	4	10,9	11,5	9,3	0,418	152	4,6	59,5	1162	0,72	2,4	2,8	4
	<b>ŚR</b>	<b>13,7</b>	<b>8,51</b>	<b>7,96</b>	<b>0,373</b>	<b>153</b>	<b>4,73</b>	<b>20,93</b>	<b>340,2</b>	<b>1,21</b>	<b>1,25</b>	<b>2,5</b>	<b>2,34</b>
	<b>SD</b>	<b>6,25</b>	<b>2,41</b>	<b>2,1</b>	<b>0,097</b>	<b>3,88</b>	<b>1,19</b>	<b>22,06</b>	<b>437,66</b>	<b>0,66</b>	<b>0,6</b>	<b>0,21</b>	<b>0,92</b>

ŚR – wartość średnia wyników, SD - odchylenie standardowe

**Tabela nr 3.** Zestawienie wyników badań krwi uzyskanych u osobników z pierwszej grupy według klasyfikacji IRIS

Np.	Gr IRIS	WBC	RBC	Hb	Htc	Plt	NA <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mocznik	Scr	Pcio	Cys C	Ca <sup>++</sup>	P
1	1	17,7	8,5	8,3	0,38	299	153	4,22	8,25	107	1,62	1,21	2,1	2,5
5	1	7,5	8,67	8,5	0,41	129	156	6,35	9,11	123,5	1,61	1,37	2,23	1,79
8	1	10,1	9,13	7,5	0,38	292	155	3,48	8,75	111	1,32	0,44	2,32	1,4
9	1	20,6	7,47	7	0,34	142	157	4,36	7,7	115,5	1,29	1,07	2,48	1,96
10	1	7,7	9,85	7,1	0,35	632	154	4,06	10,6	135	1,18	0,93	2,64	1,85
19	1	12,2	9,82	8,6	0,43	49	156	4,16	9,06	113	1,15	0,81	2,19	1,63
22	1	14,9	10,6	10,8	0,47	382	155	4,7	9,1	131	1,3	0,77	2,54	1,76
24	1	15,3	12	10,3	0,46	606	158	3,64	9,07	115	2,37	0,97	2,32	1,45
25	1	31,4	6,76	6,7	0,29	228	154	4,82	10,8	128	1,97	0,94	2,84	1,98
26	1	12,7	9,29	8,5	0,42	316	151	5,12	7,62	88	1,84	0,86	2,67	1,54
27	1	5,7	6,27	6,8	0,32	123	154	6,44	12,5	139	2,14	1,36	2,68	1,93
30	1	11,6	9,1	7,4	0,37	587	151	4,49	9	122	0,43	1,73	2,24	1,9
31	1	15,7	8,83	8,5	0,38	195	150	4,39	9,23	107	3,26	1,37	2,32	1,71
33	1	7,3	13,2	12,6	0,59	272	150	4,04	6,1	102	1,02	0,9	2,65	1,84
54	1	24,3	8,42	8,4	0,41	299	151	4,52	7,8	124	1,13	1,54	2,39	1,95
57	1	10,9	10,3	8,2	0,4	331	153	4,19	10,4	123	0,95	1,43	2,3	1,23
	<b>ŚR</b>	<b>14,1</b>	<b>9,26</b>	<b>8,45</b>	<b>0,4</b>	<b>305,13</b>	<b>153,63</b>	<b>4,56</b>	<b>9,07</b>	<b>117,8</b>	<b>1,54</b>	<b>1,11</b>	<b>2,43</b>	<b>1,78</b>
	<b>SD</b>	<b>6,84</b>	<b>1,76</b>	<b>1,59</b>	<b>0,07</b>	<b>174,99</b>	<b>2,5</b>	<b>0,82</b>	<b>1,51</b>	<b>13,15</b>	<b>0,67</b>	<b>0,34</b>	<b>0,21</b>	<b>0,3</b>

ŚR – wartość średnia wyników, SD - odchylenie standardowe

**Tabela nr 4.** Zestawienie wyników badań krwi uzyskanych u osobników z drugiej grupy według klasyfikacji IRIS

Np.	Gr IRIS	WBC	RBC	Hb	Ht	Plt	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mocznik	Scr	Pcio	Cys C	Ca <sup>++</sup>	P
2	2	13,6	11	11,1	0,5	94	154	5,55	9,16	184	1,47	1,75	2,3	2,43
6	2	7,7	10,4	10,2	0,5	256	153	4,39	7,41	153	1,10	0,7	2,83	2,2
7	2	5,5	10,3	8,9	0,41	598	150	4,08	4,8	143	1,34	1,23	2,15	2,65
11	2	18,7	8,39	7,6	0,35	477	160	5,3	21	191	2,17	0,18	2,14	1,43
12	2	13,1	7,44	7,2	0,34	184	155	5,23	5,8	140	1,13	1,3	2,88	1,96
13	2	17,8	9,58	10,3	0,46	65	155	4,66	10,3	146	0,91	0,72	2,54	1,56
17	2	6,3	11,1	9,3	0,46	369	150	4,6	11,5	172	1,13	0,78	2,64	1,76
18	2	6,4	10,3	10,3	0,47	302	147	8,48	11,3	209	0,93	0,82	2,66	1,98
23	2	5,3	10,3	10,3	0,47	379	153	3,8	9,7	164	1,46	1,17	2,74	1,95
28	2	10	10,3	9,7	0,45	411	153	5,02	7,7	157	1,11	2,5	2,63	1,96
34	2	22,6	10,3	9,1	0,45	152	156	4,9	8,3	171	1,94	1,11	2,39	1,46
36	2	15,6	7,18	7,5	0,34	288	158	4,71	8,31	176	1,58	0,9	2,37	1,62
38	2	11,9	9,75	9,2	0,44	274	152	4,15	14,6	231	2,04	0,9	2,68	2,4
39	2	21,4	9,0	8,6	0,4	103	158	4,42	9,99	197	1,55	0,63	2,5	1,63
40	2	14,3	9,05	8,2	0,38	424	153	5,21	12,7	232	0,4	0,56	2,68	1,94
43	2	5	10,9	10	0,47	188	155	4,61	9,15	197	2,04	0,58	2,6	1,54
<b>ŚR</b>		12,2	9,74	9,22	0,43	285,25	153,88	4,94	10,1	178,9	1,41	0,99	2,54	1,91
<b>SD</b>		5,91	1,22	1,16	0,05	151,1	3,304	1,06	3,81	29,03	0,5	0,54	0,23	0,38

ŚR – wartość średnia wyników, SD - odchylenie standardowe

**Tabela nr 5.** Zestawienie wyników badań krwi uzyskanych u osobników z trzeciej grupy według klasyfikacji IRIS

Np.	Gr IRIS	WBC	RBC	Hb	Htc	Plt	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mocznik	Scr	Pcio	Cys C	Ca <sup>++</sup>	P
3	3	13	5,87	6,1	0,29	224	154	4,26	40,7	408	0,65	1,57	2,4	2,8
16	3	8	6,31	7,2	0,33	160	160	4,05	32,3	376	0,72	0,69	2,54	3,12
60	3	17,4	3,59	3,7	0,19	217	155	5,97	34,7	293	0,75	1,59	2,34	2,6
61	3	22,8	6,6	5,2	0,26	206	158	4,4	30,7	279	0,66	1,39	2,53	2,45
62	3	12,3	3,27	3,2	0,15	257	158	4,46	20,8	393	0,36	1,36	2,61	2,1
66	3	16,6	5,55	5,7	0,27	104	150,4	4,43	21,4	359	1,34	1,6	2,5	2,8
<b>ŚR</b>		15	5,2	5,18	0,25	194,67	155,9	4,6	30,1	351,3	0,75	1,37	2,49	2,65
<b>SD</b>		5,09	1,42	1,5	0,07	54,39	3,47	0,69	7,76	53,38	0,32	0,35	0,1	0,35

ŚR – wartość średnia wyników, SD - odchylenie standardowe

**Tabela nr 6.** Zestawienie wyników badań krwi uzyskanych u osobników z czwartej grupy według klasyfikacji IRIS

Np.	Gr IRIS	WBC	RBC	Hb	Htc	Plt	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mocznik	Scr	Pcio	Cys C	Ca <sup>++</sup>	P
4	4	20,8	4,95	5	0,2	793	147	3,74	50,1	982	0,28	2,84	2,5	3
63	4	7,5	10,1	8,7	0,41	276	146	4,65	91,1	1692	0,32	0,89	2,69	4,64
64	4	20,3	5,94	5,1	0,25	154	152	3,93	39,3	639	0,43	1,84	2,43	3,3
65	4	18,6	4,77	5,2	0,23	303	149	3,57	54,9	627	0,38	1,08	2,72	4,62
67	4	8,8	10,9	9,8	0,45	282	141,5	10	102	2347	0,22	2,68	2,6	4,5
68	4	6,5	4,33	4,2	0,19	208	159,5	4,36	58,3	826	0,38	2,53	2,78	4,22
69	4	24,3	5,01	4,9	0,25	184	158	3,2	20,3	519	1,32	1,62	2,2	3,8
70	4	10,9	11,5	9,3	0,42	305	152	4,6	59,5	1162	0,72	2,4	2,8	4
	<b>ŚR</b>	14,7	7,18	6,53	0,3	313,13	150,63	4,76	59,4	1099	0,51	1,99	2,59	4,01
	<b>SD</b>	7,01	3,06	2,31	0,11	202,08	6,0637	2,18	26,3	629,3	0,36	0,74	0,2	0,61

ŚR – wartość średnia wyników, SD - odchylenie standardowe

**Tabela nr 7.** Zestawienie wyników badania ogólnego moczu u osobników w całej grupie badanej ( 70 kotów)

L.p.	Barwa moczu	C. wł.	pH	Białko g/l	Glu mmol/l	Aceton	Krew	Urobil	B.ż.
1	krwisty, mętny	1040	7,5	0,8	nb	nb	ob.	wn	nb
2	j. żółty, mętny	1050	6,5	nb	nb	nb	śląd	wn	nb
3	j. żółty, mętny	1011	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
4	żółty, l. mętny	1020	6	1,7	nb	nb	nb	wn	nb
5	żółty, klarowny	1030	6,5	0,3	nb	nb	nb	wn	nb
6	żółty, mętny	1060	7,5	nikły ślad	nb	nb	nb	wn	nb
7	j. żółty, l. mętny	1022	6	nb	nb	nb	śląd	wn	nb
8	żółty, klarowny	1018	5,5	nikły ślad	nb	nb	nb	wn	nb
9	żółty, mętny	1040	6,5	0,5	nb	nb	ob.	wn	nb
10	żółty, mętny	1036	8,3	nikły ślad	nb	nb	nb	wn	nb
11	żółty	1040	6	śląd	nb	nb	ob.	wn	nb
12	j. żółty, l. mętny	1026	6,5	śląd	nb	nb	ob.	wn	nb
13	żółty	1040	7	nb	nb	nb	nb	wn	nb
14	żółty	1030	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
15	żółty	1030	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
16	żółty, mętny	1011	6	0,3	nb	nb	ob.	wn	nb
17	żółty, l. mętny	1041	8,5	nikły ślad	nb	nb	ob.	wn	nb
18	j. żółty, klarowny	1030	5,5	śląd	210	nb	nb	wn	nb
19	żółty, mętny	1040	6	0,7	nb	nb	ob.	wn	nb

**cd. Tabela nr 7.** Zestawienie wyników badania ogólnego moczu u osobników w całej grupie badanej ( 70 kotów)

L.p.	Barwa moczu	C. wł.	pH	Białko g/l	Glu mmol/l	Aceton	Krew	Urobil	B.ż.
20	żółty, l. mętny	1040	6,5	nb	nb	nb	ob.	wn	nb
21	j. żółty, klarowny	1045	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
22	żółty, mętny	1040	7	śląd	nb	nb	ob.	wn	nb
23	żółty, mętny	1012	6	0,3	nb	nb	nb	wn	nb
24	żółty, mętny	1060	7,5	nb	nb	śląd	ob.	wn	nb
25	żółty, mętny	1040	7	nb	nb	nb	nb	wn	nb
26	żółty, mętny	1038	8,5	nb	nb	nb	ob.	wn	nb
27	żółty, klarowny	1040	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
28	żółty, lekko mętny	1020	7	nb	nb	nb	nb	wn	nb
29	żółty, l. mętny	1040	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
30	żółty, mętny	1022	6,5	śląd	nb	nb	nb	wn	nb
31	żółty, klarowny	1040	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
32	żółty, klarowny	1040	5,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
33	j. żółty mętny	1049	6,5	0.4	295	nb	nb	wn	nb
34	żółty, mętny	1040	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
35	żółty	1025	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
36	żółty	1036	7,5	nikły śląd	nb	nb	nb	wn	nb
37	żółty, lekko mętny	1027	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
38	j. żółty	1032	7	śląd	nb	nb	nb	wn	nb
39	krwisty, mętny	1040	8,5	śląd	nb	nb	ob.	wn	nb
40	żółty, klarowny	1040	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
41	żółty	1049	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
42	żółty	1040	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
43	j. żółty, przejrzysty	1015	7,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
44	żółty	1025	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
45	żółty, l. mętny	1036	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
46	żółty	1040	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
47	żółty, klarowny	1060	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
48	żółty	1045	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
49	j. żółty	1025	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
50	żółty	1030	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
51	j. żółty	1025	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
52	żółty	1040	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
53	słomkowy	1025	5,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
54	j. żółty, klarowny	1028	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
55	j. żółty	1025	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
56	j. żółty	1030	6,5	nb	nb	nb	nb	wn	nb
57	żółty	1040	7,5	śląd	nb	nb	nb	wn	nb
58	żółty	1045	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb

cd. **Tabela nr 7** Zestawienie wyników badania ogólnego moczu u osobników w całej grupie badanej ( 70 kotów)

L.p.	Barwa moczu	C. wł.	pH	Białko g/l	Glu mmol/l	Aceton	Krew	Urobil	B.ż.
59	j. żółty	1035	6	nb	nb	nb	nb	wn	nb
60	żółty, l. mętny	1020	6	ob.++	nb	nb	ob.+++	wn	nb
61	j. żółty	1020	6,5	ob.0,5g/l	nb	nb	śląd	wn	nb
62	żółty, l. mętny	1015	6,5	0,8g/l	nb	nb	ob.+++	wn	nb
63	j. żółty	1011	6	0,2g/l	nb	nb	śląd	wn	nb
64	żółty, klarowny	1012	6	0,7g/l	nb	nb	ob.+	wn	nb
65	żółty	1011	5,5	0,2g/l	nb	nb	nb	wn	nb
66	żółty	1013	6	0,2g/l	nb	nb	nb	wn	nb
67	żółty, wodojasny	1010	6,5	1,2g/l	nb	nb	śląd	wn	nb
68	żółty, klarowny	1012	6	0,7g/l	nb	nb	śląd	wn	nb
69	żółty	1015	6,5	0,4 g/l	nb	nb	nb	wn	nb
70	żółty, wodojasny	1008	6	1,4g/l	nb	nb	ob.(+)	wn	nb

ŚR – wartość średnia wyników, SD - odchylenie standardowe, Urobil – Urobilinogen, B.ż – Barwniki żółciowe, wn - w normie, nb – nieobecny, ob - obecny

Tło koloru żółtego oznacza osobniki chore, białe tło dotyczy osobników zdrowych

**Tabela nr 8.** Zestawienie wyniki badania osadu moczu wszystkich kotów badanej populacji ( 70 osobników).

L.p.	Eryocyty	Leukocyty	Nabłonki	Bakterie	Składniki mineralne	Inne
1	świeże luźno zal pw,wyl.3- 6 wpw	2-10 wpw	plaskie. poj+ okrągłe 0-2 wpw	b. liczne	struwity liczne	
2	św.4-8 wpw	2-6 wpw	pl.poj	nb	nb	
3	nb	40-50 wpw, liczne zlepy	pl. nieliczne, okr 6-8 wpw	b. liczne	nb	
4	św.4-8 wpw, wyl.0-1 wpw	2-4 wpw	pl. poj. wpw. nerkowe 1-3 wpw	nb	nb	wałeczki szkliste 0-1 wpw
5	nb	0-1wpw	pl. poj	nb	szczawiany wapnia	
6	św. poj	1-3 wpw	pl. poj	nieliczne	d. liczne struwity	
7	św.15-18 wpw	0-1wpw	pl. poj	d. liczne	nb	
8	św.0-1wpw. wyl.0-2 wpw	0-2 wpw	pl. poj	d. liczne	nb	liczne pasma śluzu
9	św. masowo zal. pw	5-10 wpw	pl. poj	liczne	struwity liczne	
10	nb	1-3 wpw	pl. poj	masowo zal. pw	liczne	
11	św. luźno zal pw	0-3 wpw	pl. poj wpw	poj.wpw	nb	



**cd Tabela nr 8.** Zestawienie wyniki badania osadu moczu wszystkich kotów badanej populacji ( 70 osobników).

L.p.	Erytrocyty	Leukocyty	Nabłonki	Bakterie	Składniki mineralne	Inne
12	św.6-12 wpw	2-4 wpw	płaskie poj wpw, okrągłe 0-2 wpw	b. liczne	nb	
13	nb	0-2 wpw	płaskie. poj wpw	poj. wpw	nb	
14	nb	1-3 wpw	płaskie poj wpw	nieliczne	nb	
15	nb	nb	płaskie poj wpw	nieliczne	nb	
16	św.12-16 wpw, wył. 1-2wpw	0-2 wpw	płaskie poj wpw, okrągłe 0-1wpw.	nieliczne	nb	
17	wył..1-2 wpw	2-4-8 wpw	płaskie. poj wpw	gęsto usiewają pw	liczne struwity	
18	św. poj w prep	0-2 wpw	płaskie. poj wpw	nb	nb	śluz poj. pasma
19	wył. luźno zal. pw	2-5 wpw	płaskie, poj wpw	d.liczne	nb	
20	nb	0-2 wpw	pł. poj w prep	nieliczne	nb	
21	nb	0-1wpw	pł. poj. w prep	poj.w prep	nb	
22	św. i wył. gęsto zal. pw	4-10 wpw	płaskie poj. wpw	nb	nb	
23	św.0-3 wpw	0-1wpw	płaskie poj. wpw	nieliczne	nb	
24	św. morwowate, mas. zal. pw. ,wył. mas. zal. pw	2-6 wpw	płaskie. poj., okrągłe poj.	poj	nb	
25	nb	2-4 wpw	płaskie. 2-4 wpw	nieliczne	poj	
26	św.8-10 wpw, cz. wył. 2-5 w pw	0-1wpw	płaskie. poj	liczne	poj	
27	nb	0-3 wpw	płaskie poj. wpw	poj	nb	śluz poj. pasma
28	nb	0-1wpw	nb	nieliczne	fosforany obojętne d. liczne	
29	nb	0-1 wpw	płaskie d.liczne	poj	nb	
30	0-2 wpw	0-3 wpw	płaskie 0-4 wpw, okrągłe 1-2 wpw	d.liczne	nb	
31	nb	0-1wpw	płaskie poj		nb	
32	nb	1-2 wpw	poj. w prep	poj	nb	
33	nb	0-1 wpw	płaskie poj.	d.liczne	struwity b. liczne	
34	św.2-4 wpw	0-2 wpw	płaskie, poj	poj.	fosforany wapnia nieliczne	
35	nb	nb	płaskie poj.	nb	nb	
36	nb	1-3 wpw	płaskie poj.	liczne	nb	
37	nb	0-1 wpw	płaskie poj.	nb	nb	
38	nb	4-7 wpw	płaskie poj., okrągłe 0-1wpw	nieliczne	nb	
39	św.2-10 wpw, wył 4-6wpw	2-4wpw	płaskie poj.	liczne	struwity nieliczne	
40	nb	0-1 wpw	płaskie poj.	nieliczne	nb	
41	nb	0-1wpw	płaskie poj.	nieliczne	pojedyncze. struwity	
42	nb	nb	płaskie nieliczne	nb	nb	
43	św.15-18wpw	0-1wpw	płaskie poj. w preparacie	nieliczne	nb	

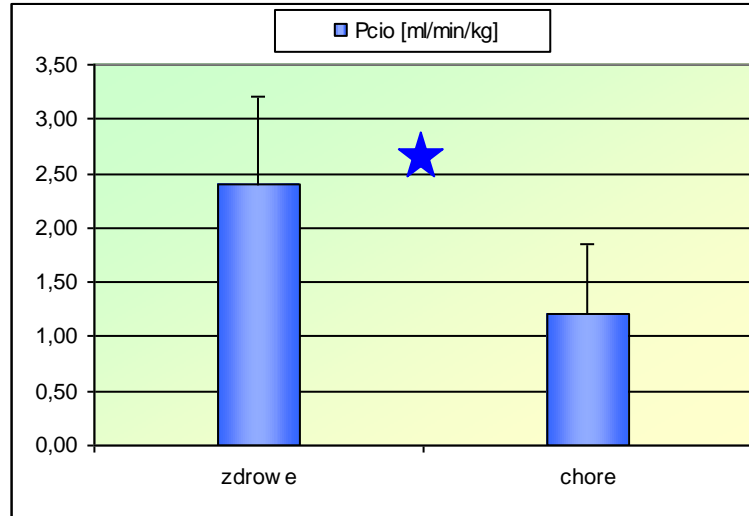
**cd Tabela nr 8.** Zestawienie wyniki badania osadu moczu wszystkich kotów badanej populacji ( 70 osobników).

L.p.	Erytrocyty	Leukocyty	Nabłonki	Bakterie	Składniki mineralne	Inne
44	nb	0-1wpw	płaskie poj.	poj	nb	
45	nb	nb	poj. w prep	nb	nb	
46	nb	1-3wpw	płaskie, poj	nieliczne	nb	
47	św. 0-1 wpw	0-2 wpw	płaskie poj	nb	nb	
48	nb	nb	poj. w prep	nb	nb	
49	nb	nb	poj. w prep	nb	nb	
50	nb	0-1wpw	płaskie poj.	nb	nb	
51	nb	0-1wpw	przejściowe poj.	nb	nb	
52	nb	0-1 wpw	płaskie poj.	poj	nb	
53	nb	0-1wpw	płaskie poj	nb	nb	
54	św.0-4wpw.	0-2wpw	pł poj	d.liczne	szczawiany wapnia poj	
55	nb	nb	poj. w prep	nb	nb	
56	nb	nb	płaskie. poj.	nb	nb	
57	św.2-6wpw, wył .0-1wpw	3-6 wpw	. pł poj	nieliczne	struwity liczne	
58	nb	0-1wpw	pł. poj.	nb	nb	
59	nb	0-1 wpw	pł poj	nb	nb	
60	św. gęsto zal. wpw	5-10 wpw	pł. poj	nieliczne	nb	
61	św.0-1 wpw	0-1 wpw	pł przejściowe	pojedyncze	nb	
62	św.8-10wpw	4-6 wpw	okr.0-1wpw,pł nieliczne	d.liczne	szczawiany wapnia d.liczne	
63	św.10-15 wpw, wył. luźno zal pw	luźno zal. pw	pł. i przejść d. liczne, okr 0-1 wpw	liczne	nb	
64	nb	3-5 wpw	pł poj	poj.	nb	
65	nb	nb	.pł poj	nb	nb	
66	nb	0-3 wpw	pł .poj	nb	nb	
67	św.2-10wpw	zlepy	pł. liczne, okrągłe 0-2 wpw	nieliczne	nb	
68	wył 10-20 wpw	poj. zlepy, 5-8wpw	pł. poj. okrągłe 0- 1wpw	poj	nb	
69	św.0-2 wpw	2-4 wpw	.pł poj., okrągłe 0- 1wpw	nieliczne	nb	
70	św. 10-20 wpw	5-6wpw	okr.6-8wpw,pł nieliczne	poj	nb	

św.- erytrocyty świeże, wył- erytrocyty wyługowane, pł - nabłonki płaskie, okr - nabłonki okrągłe, poj - pojedyncze, d. liczne - dość liczne, zal. wpw - zalegają w polu widzenia, wpw - w polu widzenia ,cz. wył. - częściowo wyługowane, nb – nieobecne, prep – preparat, mas. zal. pw – masowo zalegają pole widzenia

Tło koloru żółtego oznacza osobniki chore, białe tło dotyczy osobników zdrowych

#### 4.1.1. Analiza osoczonego klirensu johexolu

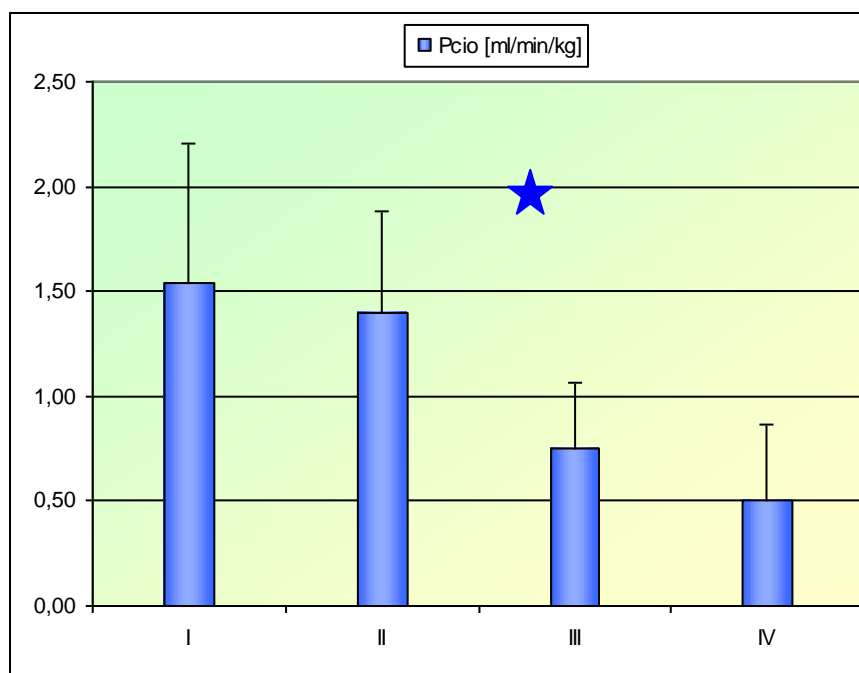


**Ryc.1.** Średnie wartości osoczonego klirensu johexolu [ml/min/kg mc] u kotów zdrowych i chorych. Pcio- klirens osoczowy johexolu standaryzowany w oparciu o masę ciała [ml/min/kg]. „Gwiazdka”- oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

W grupie kotów zdrowych średnia wartość osoczonego klirensu johexolu wynosiła  $2,39 \pm 0,82$  ml/min/kg. U kotów chorych średnia wartość osoczonego klirensu Iohexolu osiągała  $1,20 \pm 0,65$  ml/min/kg.

Zestawiając oba wyniki można zauważyć, że średnia wartość osoczonego klirensu Iohexolu u kotów zdrowych jest wyższa niż u kotów z niewydolnością nerek. Różnica średnich wartości osoczonego klirensu johexolu u osobników zdrowych i chorych jest istotna statystycznie na poziomie  $p < 0,05$ .

## ANALIZA W GRUPACH IRIS:

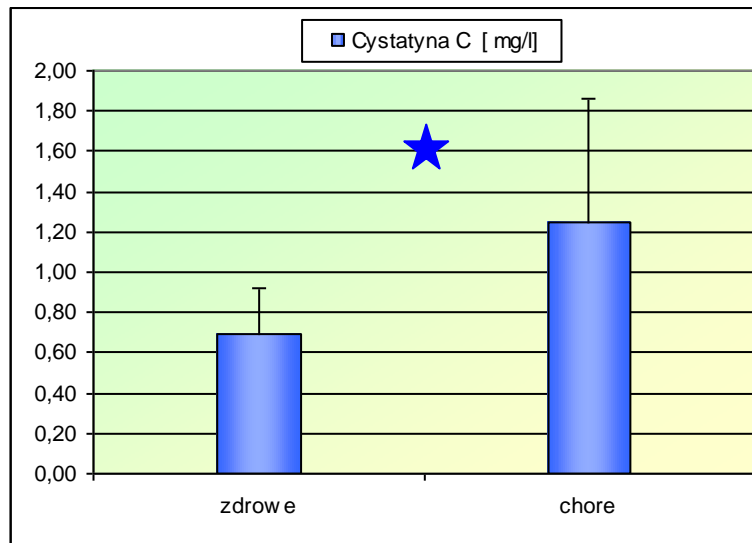


**Ryc.2.** Średnie wartości osoczowego klirensu johexolu [ml/min/kg mc] u kotów chorych, w grupach utworzonych według klasyfikacji IRIS. Pcio- klirens osoczowy johexolu standaryzowany w oparciu o masę ciała [ml/min/kg]. „Gwiazdka” - oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

Średnie wartości osoczowego klirensu johexolu [ml/min/kg mc] w poszczególnych grupach wynosiły: w grupie I:  $1,5 \pm 0,7$ ; w grupie II:  $1,4 \pm 0,5$ ; w grupie III:  $0,7 \pm 0,3$ ; w grupie IV:  $0,5 \pm 0,4$ .

Analizując wyniki badań zauważono tendencję spadkową średnich wartości osoczowego klirensu johexolu wraz ze wzrostem numeru grupy - co jest związane ze stopniem zaawansowania niewydolności nerek. Istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ) różnice między wartościami oczekiwanymi zauważono u osobników grupy I i II, I i III oraz I i IV oraz pomiędzy osobnikami grupy II i III a także III i IV. Nie zauważono statystycznie istotnej ( $p < 0,05$ ) różnicy między wartościami uzyskanymi w grupie III i IV.

#### 4.1.2. Analiza stężenia cystatyny C w surowicy

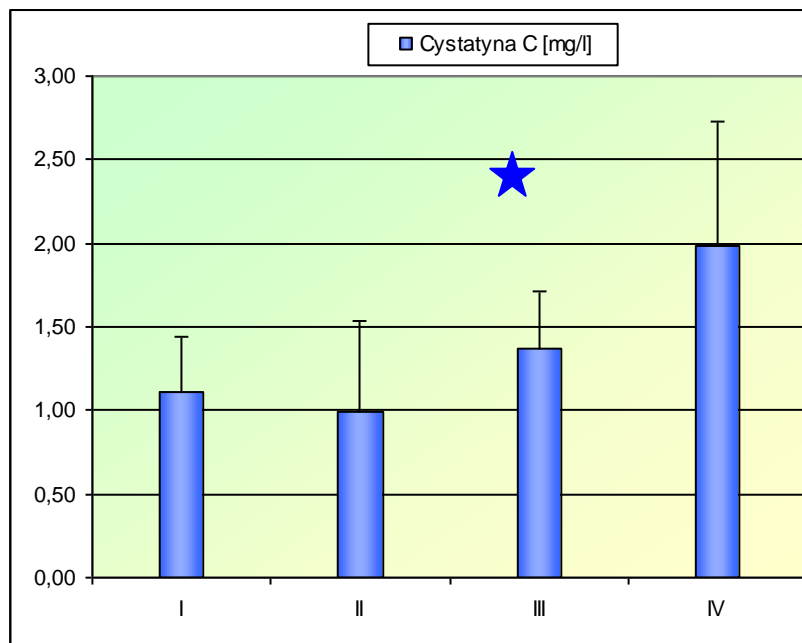


**Ryc.3.** Średnie stężenie cystatyny C [mg/l] w surowicy kotów zdrowych i chorych. „Gwiazdka”- oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

Średnie stężenie cystatyny C w surowicy kotów zdrowych wynosiło  $0,70 \pm 0,22$  mg/l.

U kotów chorych średnie stężenie cystatyny C w surowicy osiągało wartość  $1,25 \pm 0,60$  mg/l. Analizując dane zauważono istotny statystycznie ( $p < 0,05$ ) wzrost średniego stężenia cystatyny C w grupie zwierząt z chorobą nerek.

## ANALIZA W GRUPACH IRIS :



Ryc.4. Średnie stężenie cystatyny C [mg/l] w surowicy kotów chorych, w grupach utworzonych według klasyfikacji IRIS. „Gwiazdka”- oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .”

W przeprowadzonych badaniach średnia koncentracja cystatyny C w surowicy [mg/l] w poszczególnych grupach kotów wynosiła: w grupie I:  $1,1 \pm 0,3$ ; w grupie II:  $1,0 \pm 0,5$ ; w grupie III:  $1,4 \pm 0,3$ ; w grupie IV:  $2,0 \pm 0,7$ .

Analizując dane zauważono wzrost średniego stężenia cystatyny C w surowicy w poszczególnych grupach zwierząt, w miarę zaawansowania etapu niewydolności nerek. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w średniej koncentracji cystatyny C w surowicy pomiędzy osobnikami grupy I i II oraz III i IV. Zauważono natomiast istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,05$ ) w średnim stężeniu cystatyny w surowicy pomiędzy

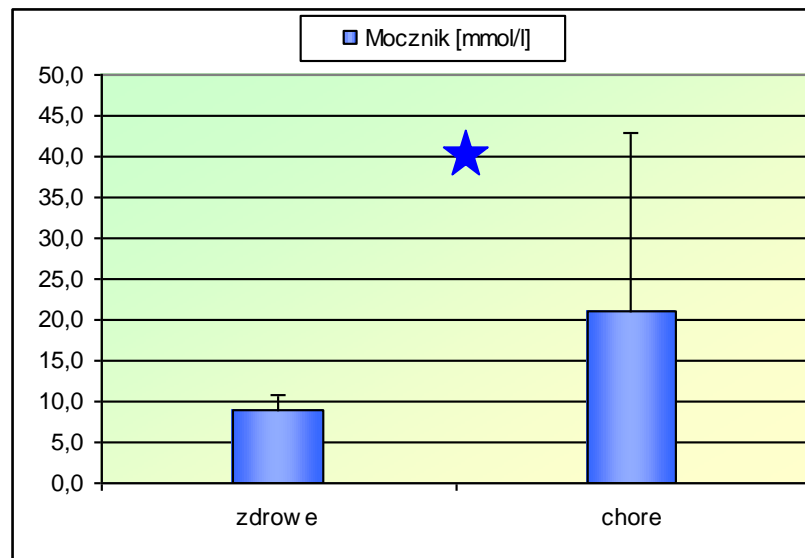
grupą I lub II, a III i IV.

Znajomość wartości średniej stężenia cystatyny C w surowicy i odchylenia standardowego umożliwia wyliczenie wartości referencyjnych cystatyny C, dla kotów zdrowych i chorych, korzystając ze wzoru: **Wartość referencyjna = ŚR +/- 2x SD** gdzie ŚR oznacza wartość średnią stężenia a SD oznacza odchylenie standardowe.

**Tabela 10.** Zestawienie wartości referencyjnych dla stężenia cystatyny C w surowicy kotów zdrowych

Grupa badana	cystatyna C [mg/l]		ŚR +/- 2 x SD [mg/l]
	ŚR	SD	
<i>Koty zdrowe</i>	0,7	0,2	0,3 - 1,1

#### 4.1.3. Analiza stężenia mocznika w surowicy



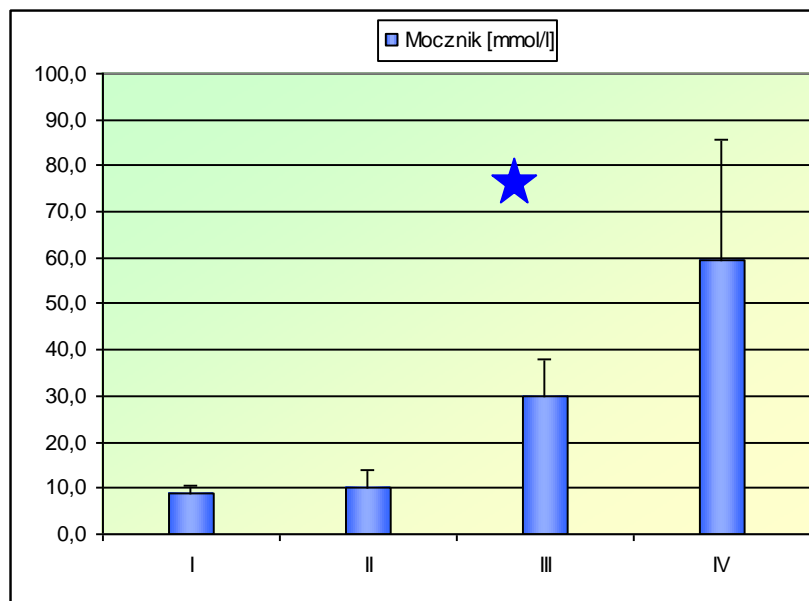
**Ryc.5.** Średnie stężenie mocznika [mmol/l] w surowicy kotów zdrowych i chorych. „Gwiazdka”- oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

Uzyskane średnie wartości mocznika [mmol/l] w surowicy kotów w poszczególnych grupach: koty zdrowe:  $8,9 \pm 1,8$ ; koty chore:  $20,4 \pm 22,1$ .

Analizując dane zauważono statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost średniego stężenia mocznika w surowicy kotów chorych w porównaniu z kotami zdrowymi.



## ANALIZA W GRUPACH IRIS:

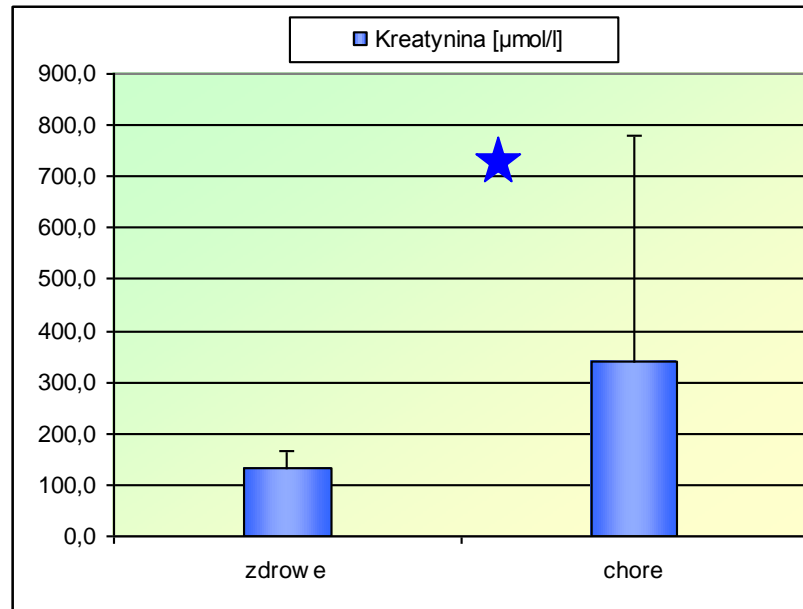


**Ryc.6.** Średnie stężenie mocznika [mmol/l] w surowicy kotów chorych, w grupach utworzonych według klasyfikacji IRIS. „Gwiazdka”- oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

W przeprowadzonych badaniach średnia koncentracja mocznika w surowicy [mmol/l] w poszczególnych grupach kotów wynosiła: w grupie I:  $9,1 \pm 1,5$ ; w grupie II:  $10,1 \pm 3,8$ ; w grupie III:  $30,1 \pm 7,8$ ; w grupie IV:  $59,4 \pm 26,3$ .

Istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) różnice między wartościami oczekiwanymi zauważono u osobników grupy I i III oraz I i IV oraz pomiędzy osobnikami grupy II i III oraz II i IV a także III i IV. Nie zauważono statystycznie istotnej różnicy między wartościami oczekiwanymi grupy I i II.

#### 4.1.4. Analiza stężenia kreatyniny w surowicy



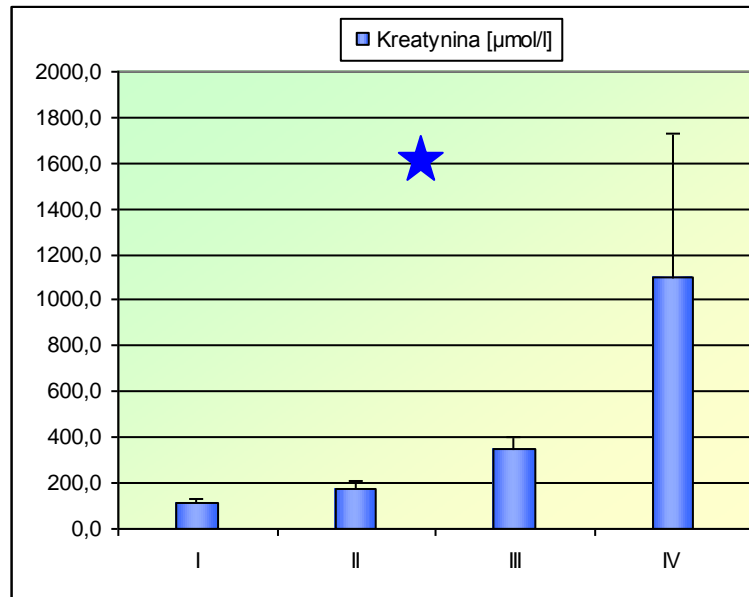
**Ryc.7.** Średnie stężenie kreatyniny [ µmol/l] w surowicy kotów zdrowych i chorych. „Gwiazdka”- oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

Średnie stężenie kreatyniny w surowicy kotów zdrowych wynosiło  $131,0 \pm 34,3$  µmol/l.

Średnie stężenie kreatyniny w surowicy kotów chorych wynosiło  $340,4 \pm 437,7$  µmol/l

Analizując dane zauważono wzrost średniego stężenia kreatyniny w surowicy zwierząt z chorobą nerek. Różnica pomiędzy średnimi stężeniami kreatyniny w surowicy u kotów zdrowych i chorych była statystycznie istotna ( $p < 0,05$ ).

## ANALIZA W GRUPACH IRIS:



**Ryc.8.** Średnie stężenie kreatyniny [µmol/l] w surowicy kotów chorych, w grupach utworzonych według klasyfikacji IRIS. „Gwiazdka” - oznacza, że nie wszystkie wartości oczekiwane w badanych grupach są równe na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

W przeprowadzonych badaniach średnia koncentracja kreatyniny w surowicy [ µmol/l] w poszczególnych grupach kotów wynosiła: w grupie I:  $117,8 \pm 13,1$ , w grupie II:  $178,9 \pm 29,0$ ; w grupie III:  $351,3 \pm 53,4$ ; w grupie IV:  $1099,3 \pm 629,3$ . Analizując dane zauważono wzrost średniej koncentracji kreatyniny w surowicy w miarę wzrastania numeru grupy. Zaobserwowano istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,05$ ) w wartościach średniego stężenia kreatyniny w surowicy pomiędzy grupą I i II, I i III oraz I i IV. Pomiedzy grupami II i III, II i IV różnica w oczekiwanych wartościach była również istotna statystycznie ( $p < 0,05$ ). Podobnie istotna statystycznie była różnica miedzy oczekiwanymi wartościami uzyskanymi w grupach: III i IV.

**Zestawienie wyników w tabelach:**

Cecha GRUPA GWROCLAW	Mocznik		Kreatynina		Pcio		Cystatyna C		Ogółem sztuk
	Średnie	SD	Średnie	SD	Średnie	SD	Średnie	SD	
zdrowe	8,9	1,8	131,0	34,3	2,4	0,8	0,7	0,2	24
chore	20,9	22,1	340,2	437,7	1,2	0,7	1,3	0,6	46

**Tabela 11.** Zestawienie średnich wartości i odchyłeń standardowych (SD) wybranych parametrów w grupie kotów zdrowych i chorych. Pcio- Osoczowy klirens johexolu w przeliczeniu na kg mc ( odpowiada to GFR). SD - Odchylenie standardowe. GWROCLAW- podział zwierząt w oparciu o stężenie kreatyniny w surowicy kotów według norm przyjętych przez laboratorium Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

GRUPA IRIS	Mocznik		Kreatynina		Pcio		Cys C		Ogółem sztuk
	Średnie	SD	Średnie	SD	Średnie	SD	Średnie	SD	
1	9,1	1,5	117,8	13,1	1,5	0,7	1,1	0,3	16
2	10,1	3,8	178,9	29,0	1,4	0,5	1,0	0,5	16
3	30,1	7,8	351,3	53,4	0,7	0,3	1,4	0,3	6
4	59,4	26,3	1099,3	629,3	0,5	0,4	2,0	0,7	8
<b>Ogól grup</b>	20,9	22,1	340,2	437,7	1,20	0,65	1,25	0,60	46

**Tabela 12.** Zestawienie średnich wartości i odchyłeń standardowych (SD) wybranych parametrów w grupach kotów chorych, utworzonych według klasyfikacji IRIS. Pcio- Osoczowy klirens johexolu w przeliczeniu na kg mc ( odpowiada to GFR). SD - Odchylenie standardowe, CYS C – stężenie cystatyny C w surowicy ( mg/l)

CECHA	MOCZNIK	KREATYNINA	Pcio	CYS C
MOCZNIK	1	0,95	-0,5	0,54
KREATYNINA	0,95	1	-0,46	0,56
Pcio	-0,5	-0,46	1	-0,51
CYS C	0,54	0,56	-0,51	1

**Tabela 13.** Zestawienie korelacji między wybranymi parametrami krwi w całej grupie badawczej kotów (osobniki chore i zdrowe),  $p < 0.001$ . Pcio-Osoczowy klirens johexolu w przeliczeniu na kg mc (odpowiada to GFR). CYS C - stężenie cystatyny C w surowicy (mg/l)

Na podstawie analizy danych zaobserwowano silną korelację pomiędzy parametrami takimi jak mocznik i kreatynina ( $r = 0,95$ ), kreatynina i cystatyna C ( $r = 0,56$ ) czy mocznik i cystatyna C ( $r = 0,54$ ). Porównując zależność pomiędzy cystatyną C a klirensem johexolu ( $r = 0,56$ ) i zależność pomiędzy kreatyniną a klirensem johexolu ( $r = 0,46$ ), zauważono bardzo nieznaczne różnice pomiędzy korelacjami. Zarówno cystatyna C jak i kreatynina były równie mocno skorelowane z Pcio, choć nieznacznie lepszą korelację wykazywała cystatyna C.

### Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonej analizy danych zaobserwowano istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą kotów zdrowych i chorych w stężeniach mocznika, kreatyniny, cystatyny C i wielkości filtracji kłębuszkowej (wielkość osoczonego klirensu johexolu). Wśród kotów chorych, pogrupowanych według klasyfikacji IRIS, tylko w przypadku mocznika i cystatyny C nie zauważono istotnych statystycznie różnic na poziomie  $p < 0.05$  w wynikach pomiędzy grupą I i grupą II natomiast zauważono istotną statystycznie różnicę w koncentracji wszystkich czterech wybranych parametrów w surowicy pomiędzy grupą I a III, czy IV jak również

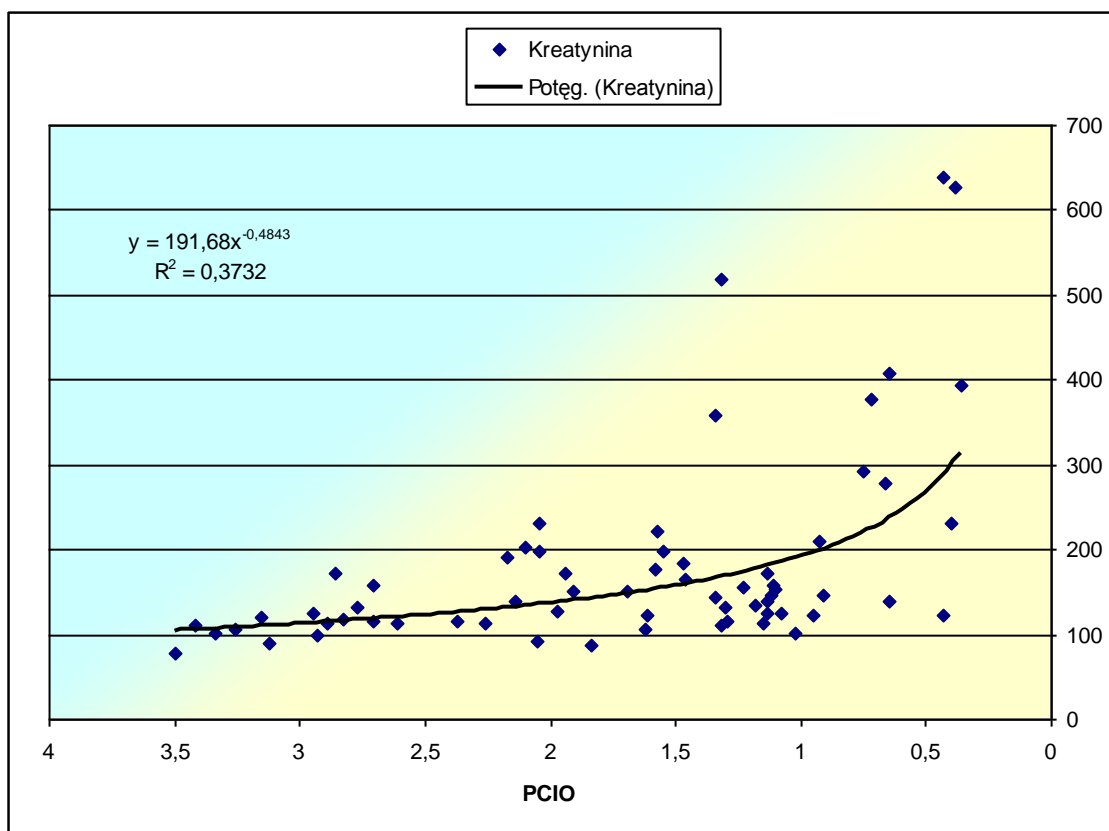
pomiędzy grupą II a III i IV. Jedynie w przypadku Pcio i cystatyny C nie było istotnej statystycznie różnicy między osobnikami grupy III i IV.

Nie zauważono by wiek zwierzęcia predysponował do przynależności do którejkolwiek z grup ( współczynnik korelacji  $r$  statystycznie równy zero), mimo, że średnia wieku zwierząt chorych była zazwyczaj wyższa niż średnia wieku zwierząt zdrowych. Podobnie, masa ciała zwierzęcia, jak i związana z nią masa mięśniowa nie mają wpływu na stężenie cystatyny C w surowicy. Analizując tą zależność również otrzymano współczynnik korelacji statystycznie równy zero. To zasadnicza różnica między cystatyną C a kreatyniną. W przypadku kreatyniny liczne publikacje podkreślają istotny wpływ wieku i masy mięśniowej na koncentrację w surowicy

**( Wieczorowska - Tobis K. i wsp. 2002, Lesley A. i wsp. 2006, Sulicka J. i wsp., 2005, Obrenović R. i wsp., 2006, Herget- Rosental S. i wsp. 2007).**

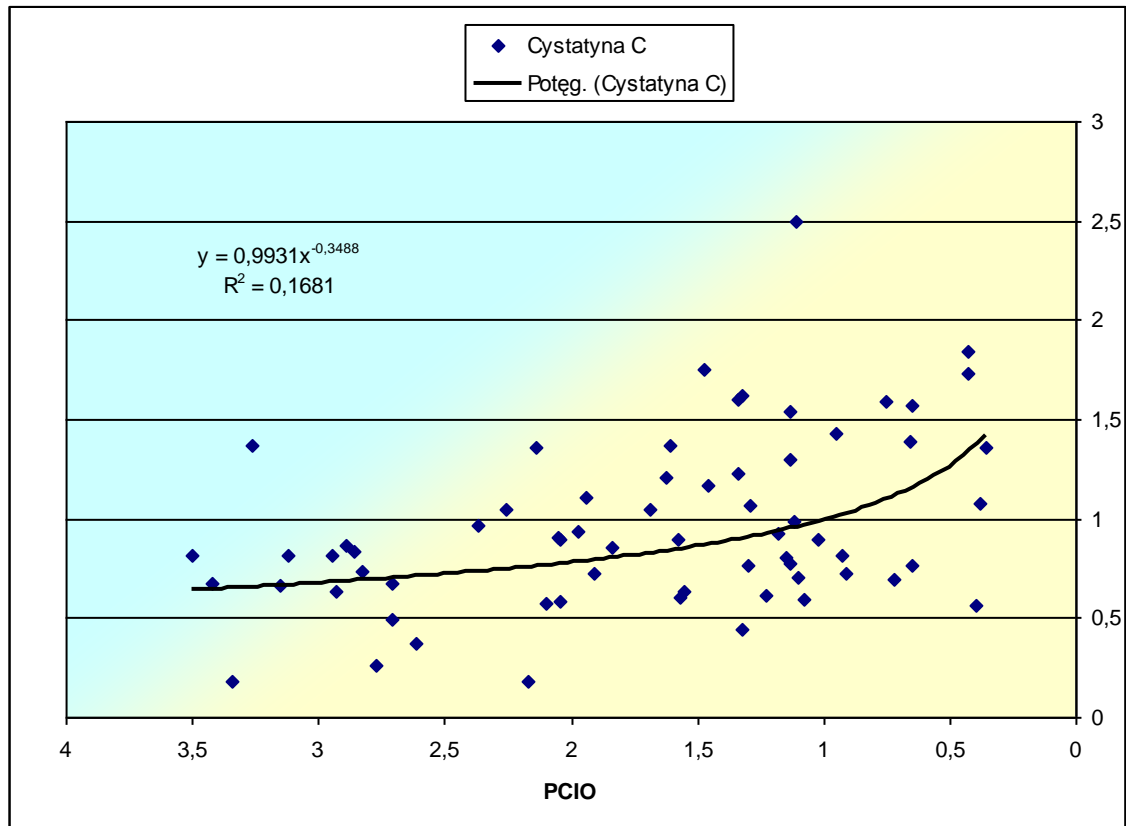
W badaniach własnych zaobserwowano silną korelację (  $r = 0,51$   $p < 0,001$ ) pomiędzy stężeniem cystatyny C w surowicy, a klirensem johexolu w całej badanej populacji kotów ( zdrowe i chore). Nieco słabsza (  $r = 0,46$   $p < 0,001$ ) była korelacja stężenia kreatyniny z klirensem johexolu, jako wyznacznika GFR nerek. Obie cechy ( cystatyna C i kreatynina) wykazywały równie silne powiązanie (  $r = 0,56$ ) nieznacznie tylko niższe od związku między kreatyniną a mocznikiem (  $r = 0,95$ ).

## PRZEDSTAWIENIE GRAFICZNE ZALEŻNOŚCI MIĘDZY OSOCZOWYM KLIRENSEM JOHEXOLU A STĘŻENIEM CYSTATYNY C ORAZ STĘŻENIEM KREATYNY



**Ryc.9.** Graficzne przedstawienie zależności między zmianami w średnim stężeniu kreatyniny w surowicy a zmianą średniej wartości osoczowego klirensu johexolu w całej grupie badawczej kotów.

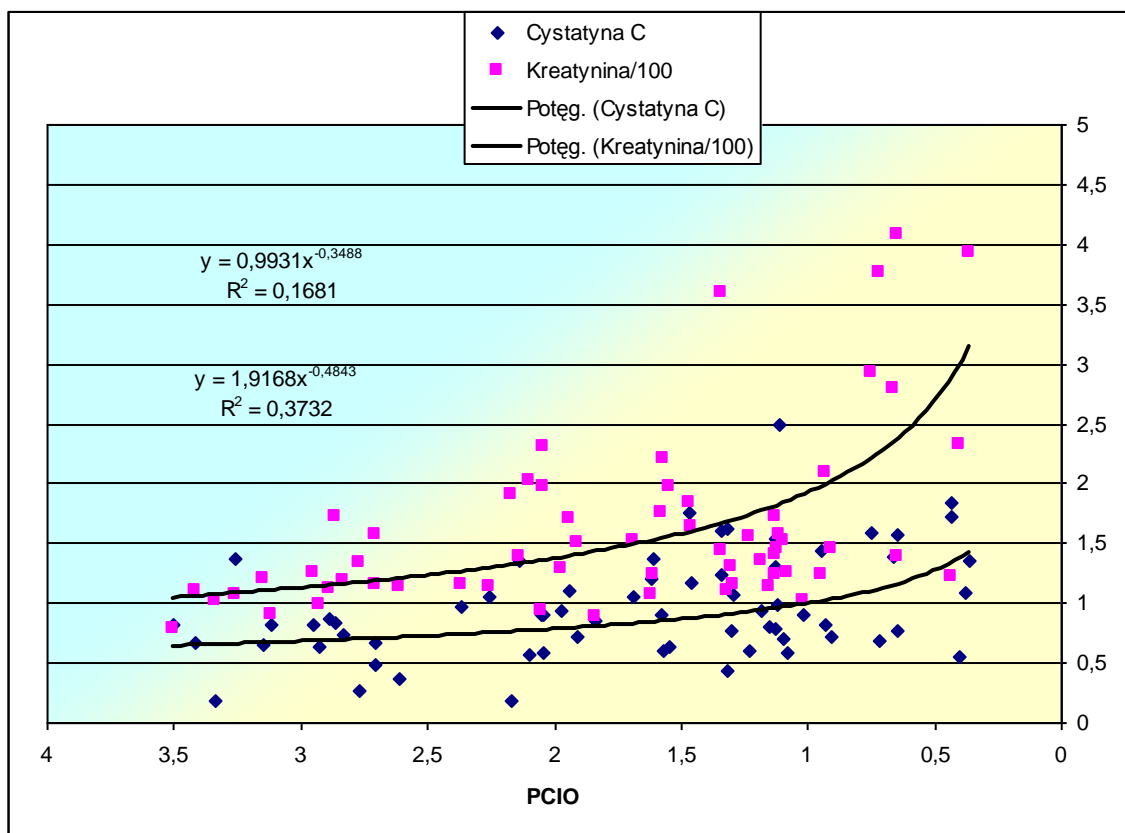
Jak można zauważyć, na wykresie, spadkowi osoczowego klirensu johexolu towarzyszy wzrost stężenia kreatyniny w surowicy w całej grupie badanej kotów.



**Ryc.10.** Graficzne przedstawienie zależności między zmianami w średnim stężeniu cystatyny C [mg/l] w surowicy, a zmianą średniej wartości osoczowego klirensu johexolu- Pcio [ml/min/kg] w całej grupie badanej kotów.

Analizując wykres można zauważyć, że spadek osoczowego klirensu johexolu wiąże się ze wzrostem stężenia cystatyny C w surowicy w całej grupie badanej kotów.





Ryc.11.Graficzne przedstawienie zależności między zmianami w średnim stężeniu cystatyny C [mg/l] i kreatyniny [ $\mu\text{mol/l}$ ] w surowicy, a zmianą średniej wartości osoczowego klirensu johexolu [ml/min/kg] w całej grupie badanej kotów.

Na podstawie przebiegu krzywych obrazujących średnie stężenie kreatyniny i cystatyny C w surowicy można zauważyć, że wartości obu zmiennych ( kreatyniny i cystatyny C) rosną w podobny sposób w miarę spadku wartości osoczowego klirensu johexolu.

#### **4.1.5. Analiza wybranych parametrów na podstawie krzywej ROC.**

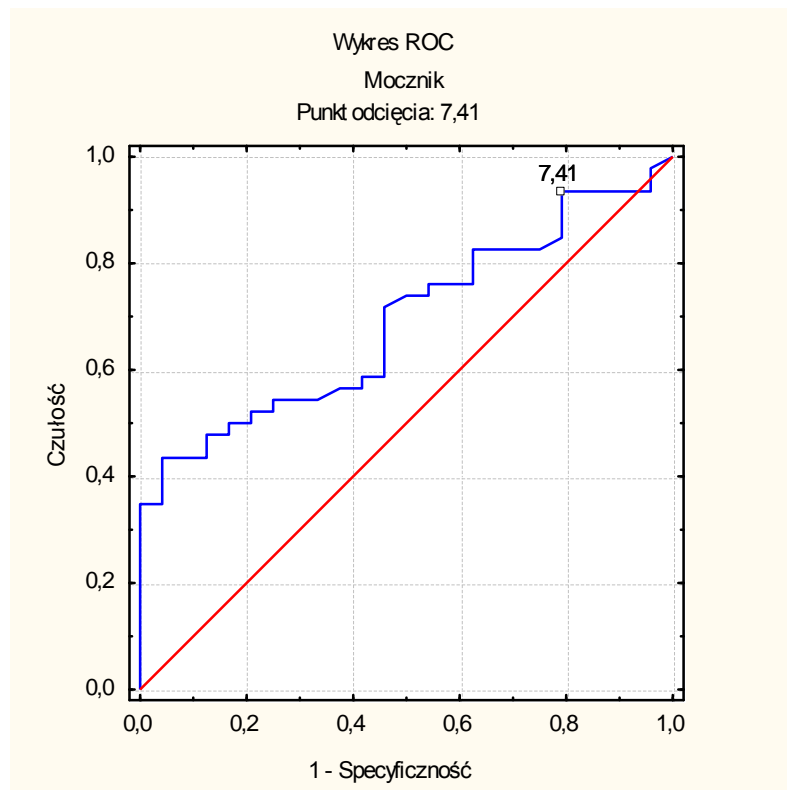
**Przyjęte założenie: podział na koty zdrowe i chore w oparciu o klirens osoczowy johexolu, jako metody referencyjnej określania GFR u ludzi, psów i kotów ( Goy - Thollot i wsp., 2006).**

Podstawą usprawiedliwiającą przyjęcie powyższego założenia jest fakt, że średnia wartość  $P_{cio}$  u kotów zdrowych, uzyskana w badaniach własnych, pokrywa się ze średnimi wartościami  $P_{cio}$  uzyskanymi u kotów zdrowych przez innych autorów ( **van Hoek i wsp., 2007, Le Garreres i wsp., 2007, Goy- Thollot i wsp., 2006**).

Wyznaczoną wartością graniczną dla osoczowego klirensu johexolu jest 2,04 ml/min/kg.

Wobec przyjętego założenia za koty chore uważa się osobniki, u których wartość  $P_{cio}$  jest niższa od 2,04 ml/min/kg mc. Wyznaczony graficznie tzw. punkt odcięcia charakteryzuje wartość danej cechy zakładając optymalną czułość i specyficzność metody.

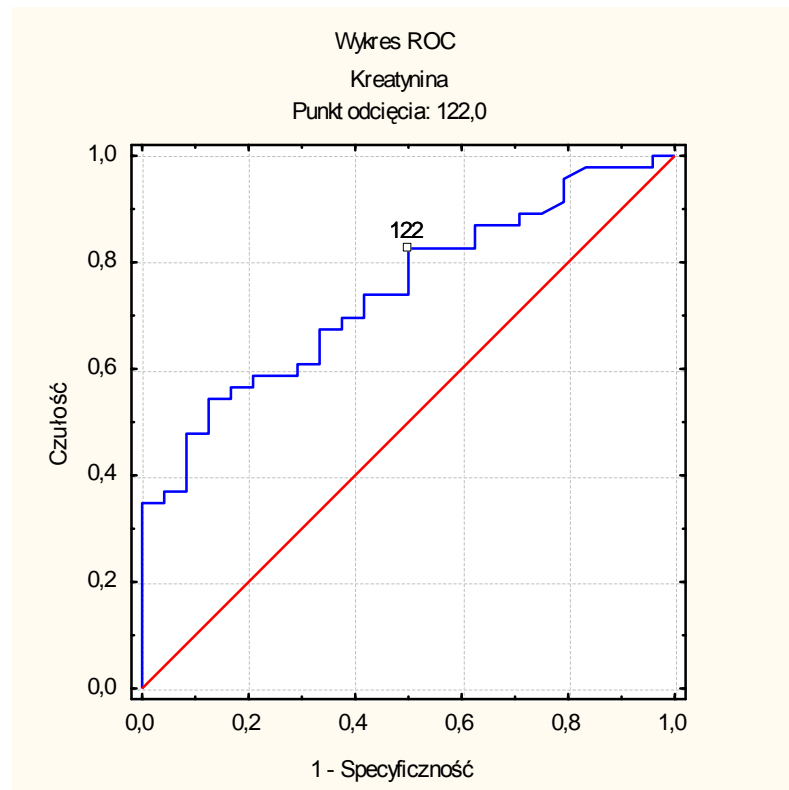
#### 4.1.5.1. Analiza stężenia mocznika w surowicy w oparciu o krzywą ROC



**Ryc.12.** Graficzne przedstawienie czułości i specyficzności metody badawczej. Wykres dotyczy pomiaru stężenia mocznika w surowicy.

Na podstawie analizy krzywej ROC punkt odcięcia dla stężenia mocznika w surowicy to 7,41. Pole powierzchni pod krzywą ( AUC) dla tej zmiennej wynosi 0,689. Średni błąd pomiaru w przedziale ufności  $\pm 95\%$  ( 0,567-0,811) wynosi 0,062. Czułość metody wynosi 94% a specyficzność 21%.

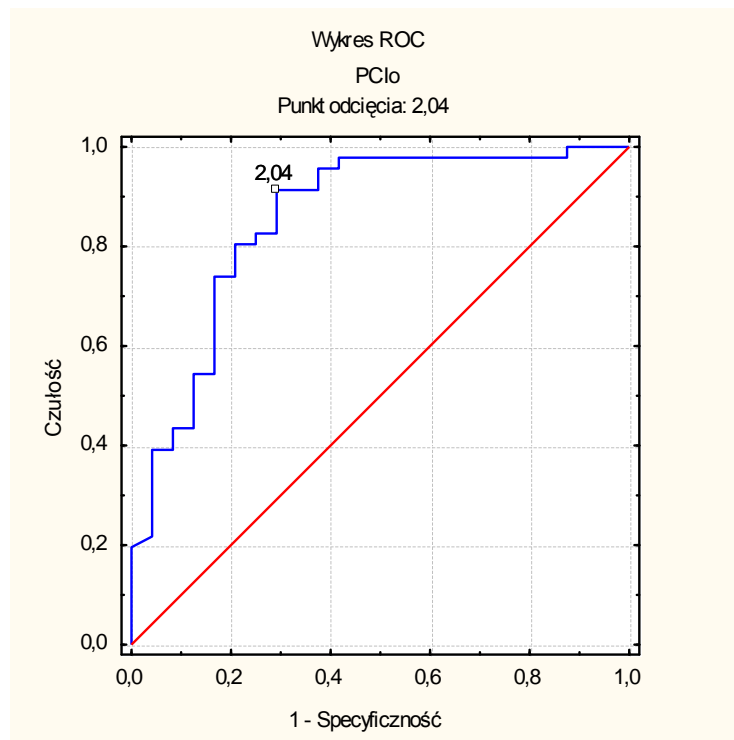
#### 4.1.5.2. Analiza stężenia kreatyniny w surowicy w oparciu o krzywą ROC



**Ryc.13.** Graficzne przedstawienie czułości i specyficzności metody badawczej. Wykres dotyczy pomiaru stężenia kreatyniny w surowicy.

Na podstawie analizy krzywej ROC punkt odcięcia dla stężenia kreatyniny w surowicy to 122. Pole powierzchni pod krzywą ( AUC) dla tej zmiennej wynosi 0,744. Średni błąd pomiaru w przedziale ufności  $\pm 95\%$  ( 0,63-0,858) wynosi 0,058. Czułość metody wynosi 83% a specyficzność 50%.

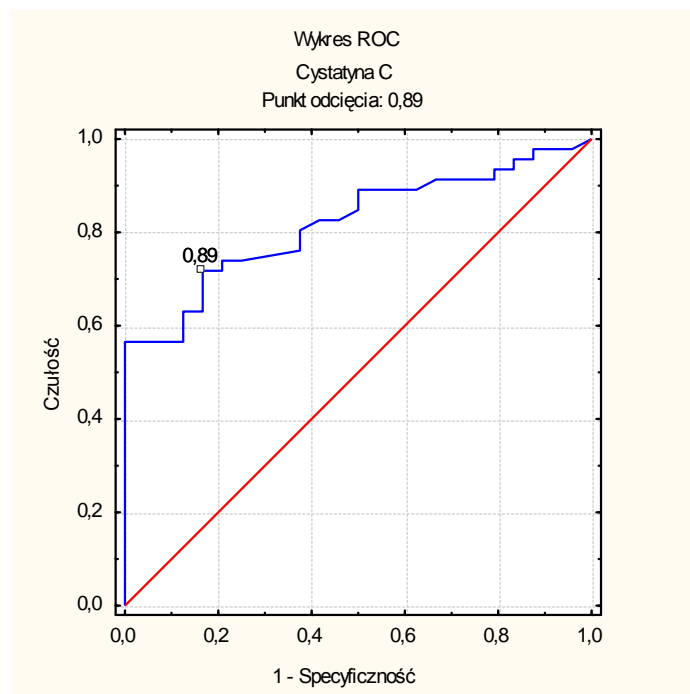
#### 4.1.5.3. Analiza osoczonego klirensu johexolu w oparciu o krzywą ROC



Ryc.14. Graficzne przedstawienie czułości i specyficzności metody badawczej. Wykres dotyczy pomiaru osoczonego klirensu johexolu.

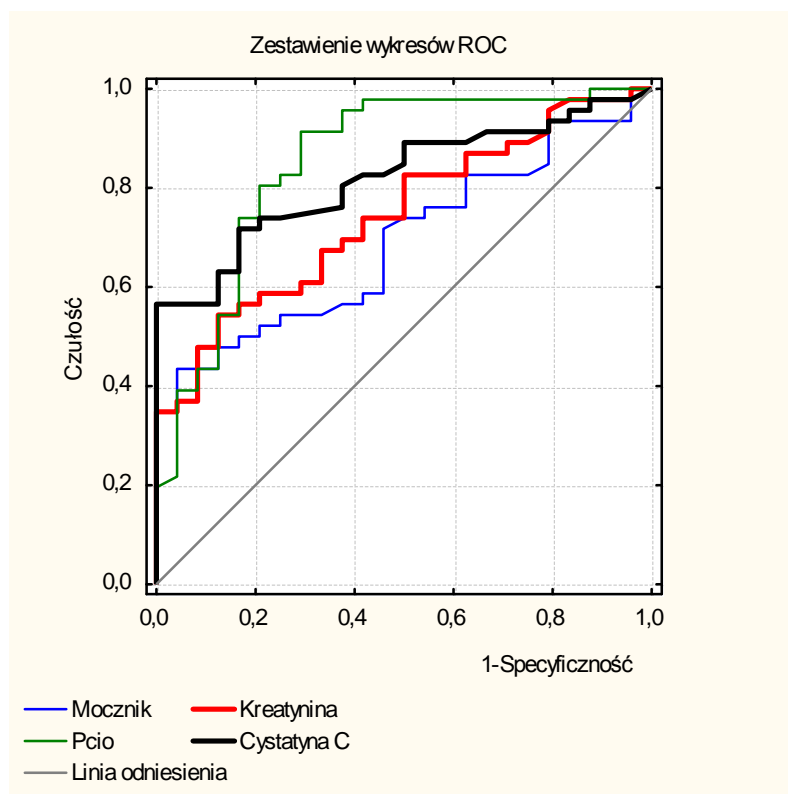
Na podstawie analizy krzywej ROC punkt odcięcia dla osoczonego klirensu johexolu to 2,04. Pole powierzchni pod krzywą ( AUC) dla tej zmiennej wynosi 0,854. Średni błąd pomiaru w przedziale ufności  $\pm 95\%$  ( 0,753-0,954) wynosi 0,051. Czułość metody wynosi 93% a specyficzność 72%.

#### 4.1.5.4. Analiza stężenia cystatyny C w surowicy w oparciu o krzywą ROC



Ryc.15. Graficzne przedstawienie czułości i specyficzności metody badawczej. Wykres dotyczy pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy.

Na podstawie analizy krzywej ROC punkt odcięcia dla stężenia cystatyny C w surowicy to 0,89. Pole powierzchni pod krzywą ( AUC) dla tej zmiennej wynosi 0,819. Średni błąd pomiaru w przedziale ufności  $\pm 95\%$  ( 0,723-0,915) wynosi 0,049. Czulość metody wynosi 73% a specyficzność 82%.



**Ryc.16.** Graficzne przedstawienie czułości i specyficzności 4 badawczych metod. Wykres dotyczy pomiaru osoczowego klirensu johexolu (Pcio), stężenia mocznika, kreatyniny oraz cystatyny C w surowicy.

Porównując powierzchnię pól pod krzywą ROC można zauważyć, że parametrem o powierzchni pola najbardziej zbliżonej do powierzchni osoczowego klirensu johexolu ( $AUC = 0,854$ ) jest cystatyna C ( $AUC = 0,819$ ). W dalszej kolejności jest kreatynina ( $AUC = 0,744$ ) i mocznik ( $AUC = 0,689$ ). Ponieważ wielkość powierzchni pola pod krzywą ROC ilustruje czułość i specyficzność danej cechy, przedstawione w sposób graficzny wyniki uzyskane w pracy potwierdzają większą dokładność pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy stosunku do pomiaru stężenia kreatyniny w surowicy, jako cechy oceniającej pracę nerek.

Badane czynniki		AUC			
		Mocznik	Kreatynina	Pcio	CYS C
Czynnik	$\bar{x} \pm SE$	0,69 ± 0,06	0,74 ± 0,06	0,85 ± 0,05	0,82 ± 0,05
<b>Mocznik</b>	0,69 ± 0,06		p < 0,397	p < 0,037	p < 0,109
<b>Kreatynina</b>	0,74 ± 0,06	p < 0,397		p < 0,079	p < 0,332
<b>Pcio</b>	0,85 ± 0,05	p < 0,037	p < 0,079		p < 0,615
<b>Cys C</b>	0,82 ± 0,05	p < 0,109	p < 0,332	p < 0,615	

**Tab. 23.** Wyniki weryfikacji zerowych hipotez statystycznych o równości wartości oczekiwanych powierzchni pól AUC pod krzywą ROC dla par badanych zmiennych.

Na podstawie analizy statystycznej powierzchni pól ( AUC) pod krzywą ROC dla stężenia kreatyniny, cystatyny C, mocznika i osoczonego klirensu johexolu ( Pcio) można zauważyć, że hipoteza zerowa o równości powierzchni pól ( AUC) pod krzywą ROC na poziomie  $p < 0,05$  jest prawdziwa dla wszystkich par zmiennych oprócz jednej pary: stężenia mocznika i klirensu osoczonego johexolu ( Pcio).

Należy jednak zwrócić uwagę, że przy zmianie poziomu istotności różnic z wartości  $p < 0,05$  na  $p < 0,1$  nie byłoby podstaw by utrzymać hipotezę zerową o równości pól

( AUC) pod krzywą ROC dla pary zmiennych Pcio i stężenia kreatyniny, choć powyższa hipoteza nadal pozostawałaby prawdziwą dla pary zmiennych Pcio i stężenia cystatyny C w surowicy.



## 4.2. Zestawienie wyników badania ultrasonograficznego nerek u wszystkich kotów badanej populacji ( 70 osobników)

**Tabela nr 9.** Zestawienie wyników badanie ultrasonograficznego nerek u osobników badanej grupy ( 70 kotów).

Np.	Zmiana struktury nerek	Uwagi ogólne
1	tak -torbiele	FLUTD
2	nie	w świetle pęcherza strąty
3	tak , atrofia	mocznica
4	tak , dystrofia	leczone mocznica, koprostaza
5	nie	FLUTD
6	nie	FLUTD
7	tak , warstwa korowa zmieniona	
8	nie, ale poszerzenie miedniczek	FLUTD, leczona encortonem
9	tak	w świetle pęcherza. stronty ,FLUTD
10	nie	FLUTD
11	nerki w torbieli	płyn w torbieli uciska na tętnice nerek
12	tak , warstwa korowa, nerki duże	okresowe zaparcia, FLUTD
13	tak , objaw rąbka	leczone grzybica
14	nie	
15	nie	
16	tak , warstwa korowa	leczone mocznica
17	wodonerce	
18	objaw rąbka, nieznacznie poszerzone miedniczki	FLUTD
19	tak , małe	leczone grzybica
20	nie	
21	nie	
22	nie	
23	tak, nerki duże, poszerzone miedniczki	leczone cukrzyca, FLUTD
24	tak, małe nerki, obecność torbieli	FLUTD
25	tak, zatarta struktura, poszerzenie miedniczek	zatrzymanie moczu w miedniczkach
26	nie	FIP - potwierdzony pośmiertne
27	tak- podwyższone RI	FLUTD
28	tak- podwyższone RI	FLUTD
29	nie	
30	tak- podwyższone RI	FLUTD
31	tak – podejrzenie torbieli	
32	nie	
33	nie	
34	tak- zatarta struktura, torbiel	
35	nie	
36	tak - objaw rąbka, nerki pomniejszone	w żołądku guz wlk 3,5 cm
37	nie	
38	tak - zmieniona warstwa korowa i RI	

**cd Tabeli nr 9.**Zestawienie wyników badanie ultrasonograficznego nerek u osobników badanej grupy ( 70 kotów).

Np.	Zmiana struktury nerek	Uwagi ogólne
39	Struktura stos do wieku	FLUTD
40	Duże nerki, struktura zachowana	
41	nie	
42	nie	
43	tak - zatarta struktura	FLUTD
44	nie	
45	nie	
46	nie	
47	nie	
48	nie	
49	nie	
50	nie	
51	nie	
52	nie	
53	nie	
54	tak - podwyższone RI	
55	nie	
56	nie	
57	tak – poszerzenie miedniczki nerkowej	zaparcia ,FLUTD
58	nie	
59	nie	
60	tak - zmieniona struktura	mocznica
61	tak - zmiana w-wy korowej, podwyższone RI	mocznica
62	tak - powiększone, z mieniona struktura, RI zmienne	mocznica
63	tak - zatarta struktura, RI podwyższone	mocznica
64	tak - zatarta struktura, podwyższone RI	mocznica
65	tak - zatarta struktura	mocznica
66	tak - zatarta struktura nerek	mocznica
67	tak - nerki dystroficzne	mocznica
68	tak - zmieniona struktura	mocznica
69	tak - zatarta struktura	mocznica
70	tak - zatarta struktura	mocznica

Tło koloru żółtego wyróżnia osobniki chore. RI opór naczyniowy, FLUTD – zapalenie dolnych dróg moczowych u kotów

**Tabela nr 10.** Dane uzupełniające dotyczące badanej populacji kotów ( 70 osobników)

Nr pacjenta	Wiek kota	Rasa	Płeć	Nr pacjenta	Wiek kota	Rasa	Płeć
1	14 l	Europejska	Z	38	9 l	Europejska	M
2	4 l	Europejska	M	39	13 l	Europejska	M
3	5 l	Europejska	Z	40	1 r	Europejska	M
4	10 l	Europejska	Z	41	9 mies	Europejska	Z
5	5 l	Europejska	M	42	6,5 r	Europejska	M
6	2,5 r	Europejska	Z	43	4 l	Europejska	Z
7	6 l	Europejska	M	44	2 l	Europejska	Z
8	13 l	Europejska	Z	45	6 l	Europejska	Z
9	13 l	Europejska	M	46	2,5 l	Europejska	Z
10	17,5 r	Europejska	Z	47	11 mies	Europejska	Z
11	10 l	Europejska	M	48	2,5 r	Europejska	M
12	12 l	Europejska	M	49	2 l	Europejska	M
13	3 l	Europejska	Z	50	2 l	Devon Rex	Z
14	9 mies	Europejska	Z	51	3 l	Devon Rex	Z
15	1 r	Europejska	M	52	3 l	Europejska	Z
16	17,5 r	Europejska	M	53	1 r	Europejska	M
17	7 l	Europejska	M	54	5 l	Europejska	M
18	7 l	Europejska	M	55	5 l	Europejska	Z
18	12,5 r	Europejska	M	56	2 l	Europejska	Z
19	4 l	Europejska	Z	57	4 l	Europejska	M
20	7 mies	Europejska	Z	58	1,5 r	Europejska	Z
21	2 l	Europejska	M	59	3 l	Europejska	M
22	18 mies	Europejska	M	60	1,5 r	Europejska	Z
23	2 l	Europejska	M	61	5 l	Europejska	M
24	1r 8mies	Europejska	M	62	4,5 r	Europejska	M
25	8 mies	Europejska	Z	63	4,5 r	Europejska	M
26	1,5 r	Europejska	Z	63	11 l	Europejska	M
26	2 l	Europejska	M	64	8 l	Europejska	Z
27	2 l	Europejska	Z	65	6 l	Europejska	M
28	2 l	Europejska	Z	66	6 l	Europejska	M
28	1 r	Europejska	M	67	6 l	Europejska	Z
29	1 r	Europejska	Z	66	10 l	Europejska	Z
30	6 l	Europejska	M	67	6 l	Europejska	Z
31	1,3 r	Pers	Z	68	8 l	Europejska	M
32	6 l	Europejska	Z	69	7 l	Europejska	Z
33	3 l	Europejska	M	70	6 l	Europejska	M
34	4 l	Europejska	M				
35	6 l	Europejska	M				
36	12 l	Europejska	Z				
37	1 r	Europejska	Z				

**M** - oznacza płeć męską, **Z** - oznacza płeć żeńską, **r** - rok, **l** - lata, **mies** - miesiąc

## 5. DYSKUSJA

W badaniach własnych, uzyskana u kotów zdrowych, średnia wartość osoczonego klirensu johexolu ( $2,39 \pm 0,82$  ml/min/kg) jest zbliżona do wartości referencyjnych publikowanych przez innych autorów:  $1,83 \pm 0,64$  ml/min/kg, (**van Hoek i wsp., 2007**),  $1,8 \pm 0,32$  ml/min/kg (**LeGarreres i wsp., 2007**) czy  $2,75 \pm 0,74$  ml/min/kg (**Goy-Thollot i wsp., 2006**)  $2,75 \pm 0,74$  ml/min/kg. Uzyskane w pracy wyniki różnią się nieznacznie jedynie od wyników publikowanych przez Miyamoto (**Miyamoto, 1998**), który u kotów zdrowych podaje wartości  $3,60 \pm 0,67$  ml/min/kg. Być może ma to związek z samą procedurą wykonania badania. Niektóre badania Miyamoto przeprowadzał w specyficznych warunkach - np. koty przetrzymywane w osobnych klatkach 12 dni przed badaniem, venflon w żyłę jarzmowej umieszczany był już 5 dni przed podaniem johexolu. Przed każdym badaniem podawano kotom wodę przez sondę nosowo- przełykową, a same koty na czas badania znieczulano ketaminą (**Miyamoto, 2001r.**). Te okoliczności mogły mieć wpływ na wydłużenie czasu eliminacji Iohexolu z surowicy, a tym samym na uzyskanie wyższych średnich wartości osoczonego klirensu Iohexolu. Na podstawie badań własnych można zauważyć istotną statystycznie różnicę w wartości średniego osoczonego klirensu Iohexolu u osobników zdrowych i chorych. Wartość osoczonego klirensu u kotów z chorobą nerek jest wyraźnie niższa ( $1,2 \pm 0,65$  ml/min/kg), niż u osobników zdrowych ( $2,39 \pm 0,82$  ml/min/kg). Uzyskana w badaniach własnych wartość osoczonego klirensu u kotów chorych zbliżona jest do wyników uzyskanych przez Miyamoto u kotów z doświadczalnie usuniętą 75 % do 83% tkanki nerek

( $1,08 \pm 0,09$  ml/min/kg) (**Miyamoto, 2001**). Trudno porównywać wyniki osoczonego klirensu johexolu uzyskane u grupie kotów chorych podzielonych według klasyfikacji IRIS, gdyż nie znaleziono w światowej literaturze informacji by ktoś wcześniej prowadził podobne badania. Można jedynie zauważyć, że wraz ze stopniem zaawansowania niewydolności nerek maleje równolegle średnia wartość osoczonego klirensu johexolu.

Według autorki pracy, bardzo ciekawe wyniki uzyskuje się przyjmując założenie, że podział na osobniki zdrowe i chore opierać się będzie nie na wartości stężenia kreatyniny w surowicy, ale przebiegać będzie w oparciu o wartość osocznego klirensu johexolu, jako jednej z metod referencyjnych dla określenia GFR u ludzi, psów i kotów ( **van Hoek i wsp., 2007, Le Garreres i wsp., 2007, Goy-Thollot i wsp., 2006, Miyamoto,1998, Miyamoto, 2001**). Zakładając, że dla kotów zdrowych wartość graniczna  $P_{cio}$  wynosi 2,04 ml/min/kg, za koty chore uważa się wszystkie koty o wartości klirensu osocznego (  $P_{cio}$ ) poniżej 2,04 ml/min/kg. Okazuje się, że przy takim założeniu, przesunięciu ulegają wartości graniczne zakresu referencyjnego dla stężenia mocznika i kreatyniny w surowicy. Wartość graniczna dla stężenia mocznika w surowicy kotów zdrowych musiałaby wtedy zostać obniżona do 7,41 mmol/l, a osobniki ze stężeniem kreatyniny powyżej 122  $\mu$ mol/l należałoby już uważać za chore lub przynajmniej podejrzane o chorobę. Wartością graniczną dla osobników zdrowych, w przypadku cystatyny C, stanowiłoby jej stężenie w surowicy równe 0,89 mg/l. Jest to bardzo ciekawy wynik zwłaszcza, że analiza pól powierzchni ( **AUC**) pod krzywą **ROC** wyraźnie preferuje  $P_{cio}$  jako metodę oceny wielkości filtracji kłębuszkowej ( **GFR**). **ROC** wyraźnie pokazuje, że pomiar osocznego klirensu johexolu jest najlepszą metodą spośród czterech oznaczeń dla rzetelnej oceny wielkości filtracji kłębuszkowej. Metoda ta jest z nich najczulsza i najbardziej wiarygodna, a przy tym bardzo bezpieczna i dlatego preferowana u osobników o nieznanym stopniu odwodnienia. Dodatkowym, bowiem, atutem johexolu jest krótszy o 1/3 czas jego wydalania z organizmu w stosunku do kreatyniny ( **Redun, 2008**). Jedynym ograniczeniem jej powszechnego stosowania w praktyce jest czasochłonność i koszt badania oraz przeciwwskazanie do wykonywania go u kotów z padaczką.

Pewnym zaskoczeniem może wydawać się fakt, że dla kreatyniny statystyczna hipoteza zerowa o równości pól ( **AUC**) pod krzywą **ROC** dla pary zmiennych  $P_{cio}$  i kreatyniny jest prawdziwa tylko na poziomie istotności  $p < 0,05$ , a przestaje być prawdziwą przy  $p < 0,1$ . Przy zmianie poziomu istotności na  $p < 0,1$ , hipoteza ta pozostaje nadal prawdziwą dla pary zmiennych  $P_{cio}$  i cystatyna C, co jest dowodem na to, że cystatyna C jest lepszym markerem wielkości filtracji kłębuszkowej nerek niż kreatynina.

Swoistym przełomem w nefrologii ludzkiej, okazało się odkrycie białka-cystatyny C. W wielu pracach wspomina się, że jego stężenie w surowicy rośnie wcześniej niż stężenie kreatyniny a sama cystatyna C jest lepszym markerem funkcji nerek zwłaszcza na wczesnym etapie rozwoju niewydolności nerek, gdy stężenie kreatyniny pozostaje w zakresie referencyjnym (**Wieczorowska –Tobis, 2002**).

Podobne spostrzeżenia nasuwają się autorce pracy doktorskiej na podstawie zestawienia wyników badań uzyskanych w grupie badanych kotów. W kilku przypadkach nawet u kotów klinicznie zdrowych z wynikami kreatyniny w zakresie przyjętym za normę (stężenie do 229  $\mu\text{mol/l}$  według Winnickiej), stężenie cystatyny C w surowicy przekraczało wartość 1 mg/l. U jednego z kotów w okresowym badaniu krwi stężenie cystatyny C wynosiło 2,65 mg/l wyniki pozostałych badań (krwi i moczu) były w zakresach normy, jedynie w badaniu usg nerek zaobserwowano podwyższenie wskaźnika oporu (RI). Na podstawie informacji uzyskanej od właściciela kota, trzy miesiące od badania klirensu osoczkowego Iohexolu, w moczu zaobserwowano utrzymujący się, mimo rozpoczęcia leczenia, znacznego stopnia białkomocz, a lekarz prowadzący zdiagnozował kłębuszkowe zapalenie nerek.

Pomiar stężenia cystatyny C w surowicy coraz częściej bywa doceniany jako szybki i czuły test pracy nerek, wskaźnik lepszy od pomiaru stężenia kreatyniny w surowicy zwłaszcza przy umiarkowanym spadku wielkości filtracji kłębuszkowej nerek (**Jensen i wsp 2001, Tamba i wsp., 2001**). Zakładając istnienie podobieństwa w powstawaniu i metabolizmie cystatyny C u ludzi i psów Jensen (2001) sugeruje, na podstawie wyników dotychczas przeprowadzonych badań, że pomiar stężenia cystatyny C w surowicy może być także u psów dobrym markerem GFR.

Wydaje się, że na podstawie wyników, uzyskanych w badaniach własnych, to samo założenie możemy przyjąć u kotów jako odpowiedź na artykuł Martina C.

(**Martin i wsp., 2002**). W swojej pracy sugeruje on, że pomiar cystatyny C nie sprawdza się jako metoda dla oceny pracy nerek u kotów. Sugeruje on, że nie można w diagnostyce chorób nerek u kotów posługiwać się komercyjnymi testami używanymi do określania stężenia cystatyny C u ludzi. Polemizując z tym artykułem, muszę podkreślić, że w badaniach własnych nawet stężenia cystatyny C w surowicy kotów chorych nie

były tak wysokie, jakie Martin ( 2002) zanotował u osobników zdrowych ( zakres od 0,34 do 4,11 mg/l). Według tego autora „zakres referencyjny stężenia cystatyny C w surowicy kotów jest znacznie wyższy niż u ludzi i psów”, a ma to wynikać „ z niespecyficznego wiązania przeciwciał przeciwko ludzkiej cystatynie C”.

Trudno się z tym zgodzić, gdyż:

a) uzyskane w badaniach własnych średnie wartości stężenia cystatyny C w surowicy kotów zdrowych (  $0,90 \pm 0,41$  mg/l), są bardzo zbliżone lub niemal identyczne zarówno ze średnimi stężeniami cystatyny C uzyskanymi w surowicy zdrowych ludzi (  $0,7 \pm 0,11$  lub  $0,60 \pm 0,31$  mg/l) ( **Tarif. i wsp., 2008, Braun i wsp., 2002**) czy zdrowych psów (  $1,08 \pm 0,16$  mg/l) ( **Almy i wsp., 2002**)

b) istnieje publikacja ( **Almy i wsp. 2002**), która dowodzi , że reakcja immunologiczna jaka zachodzi między, stosowanymi komercyjnie, przeciwciałami przeciwko ludzkiej cystatynie C, a cystatyną C ludzi , psów i kotów przebiega identycznie !.

Być może na różnice w wynikach uzyskanych przez Martina i wsp. ( 2002) miał wpływ wybór samej metody pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy kotów. W badaniach własnych pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy kotów dokonywano metodą nefelometryczną ( **Penia**), natomiast Martin ( 2002) w swoich badaniach korzystał z metody turbidymetrycznej ( **Petia**), która jest metoda starszą i według niektórych autorów mniej dokładną ( **Lesley A. i wsp. 2006, Jonkisz P. i wsp. 2010**).

Jonkisz ( 2010) w swojej pracy porównywał wyniki pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy psów uzyskane metodą Petia i Penia i wykazał istotne różnice w uzyskanych wynikach, w zależności od metody pomiaru. W metodzie Petia samo stężenie cystatyny C gorzej korelowało ze stężeniem mocznika i kreatyniny w surowicy, w porównaniu z wynikami uzyskanymi metodą Penia. Jonkisz ( 2010), na podstawie wyników swojej pracy sugeruje, że metoda nefelometryczna jest metodą czulszą i bardziej powiązaną z innymi wskaźnikami funkcji nerek, a przez to bardziej wiarygodną niż metoda turbidymetryczna, z której korzystał Martin i wsp. ( 2002). Jak można zauważyć stężenie cystatyny C w surowicy, u osobników zdrowych ( ludzi, psów i

kotów) rzadko przekracza 1mg/l, uwzględniając podział osobników na zdrowe i chore według norm opracowanych przez Winnicką ( 1997).

Zastanawiającym wydaje się fakt, że u osobników z przewlekłą niewydolnością nerek zaliczonych do klasy I i II IRIS średnie stężenie cystatyny C w surowicy nie przekracza lub nieznacznie przekracza 1mg/l. Być może wynika to z faktu, że podział na grupy według klasyfikacji IRIS opiera się wyłącznie w oparciu o koncentrację kreatyniny w surowicy. Uwzględniając jedynie takie kryterium, osobniki z grupy I i II, według norm opracowanych przez Winnicką ( 1997) to osobniki zdrowe (górną granicą normy dla kreatyniny dla osobników zdrowych to 229  $\mu\text{mol/l}$ ).

Sugeruje to pewną nieprecyzyjność podziału na koty zdrowe i chore jedynie w oparciu o koncentrację kreatyniny w surowicy. Może podział taki powinien przebiegać w oparciu o inny, według niektórych ( **Braun. i wsp., 2002**) lepszy wskaźnik GFR jak klirens egzogennej kreatyniny czy klirens osoczkowy johexolu. Od dawna wiadomo, że kreatynina to wskaźnik mało wiarygodny ze względu chociażby na duży wpływ czynników pozanerkowych na jej stężenie w surowicy, i dużą niedokładność samej metody pomiaru- nawet 17 % w stosunku do górnego zakresu normy a nawet 30% przy wyższych stężeniach kreatyniny ( **Braun i wsp., 2002, Laterza i wsp., 2002**), a w związku z tym mało przydatny dla określania funkcji nerek. Według niektórych autorów, precyzji wyliczenia GFR nie poprawiło nawet opracowanie wzorów gdyż i tak 95% przedział ufności wynosił  $\pm 0,5$  ml/min/kg ( **Braun et i wsp., 2002**). Brown sugeruje, że ta niedokładność wyliczeń w istotny sposób ogranicza możliwość korzystania z publikowanych referencyjnych zakresów i podejmowania na ich podstawie decyzji terapeutycznych. Zakładając prawdziwość powyższych rozważań klasyfikacja IRIS, w obecnej postaci pozostaje podziałem bardzo niedokładnym.

O diagnostycznej wartości metody pomiaru stężenia cystatyny C świadczy sam fakt uzyskania identycznego współczynnika korelacji (  $r = -0,51$ ;  $p < 0,001$ ) pomiędzy GFR a cystatyną C, w badaniach własnych u kotów oraz w badaniach prowadzonych przez Hartmanna u psów ( **Hartmann et al., 2008**). Porównując współczynnik korelacji pomiędzy cystatyną C, a GFR wyliczonym na podstawie klirensu osoczkowego innego związku np. egzogennej kreatyniny, bardzo podobną korelację u psów w swoich



badaniach uzyskał Wehner (2008) (współczynnik korelacji  $[r] = -0.630$ ;  $P < 0.001$ ). Jak można zauważyć wartości tych współczynników są prawie identyczne, co tylko potwierdza prawdziwość danych i zwiększa wiarygodność pomiaru stężenia cystatyny C jako wykładnika funkcji nerek zarówno u psów jak i kotów niezależnie od wyboru metody pomiaru GFR. Według niektórych autorów istnienie pewnych niewielkich różnic w zakresach referencyjnych cystatyny C może wynikać z wieku osobnika. U ludzi stężenie cystatyny C jest wyższe u noworodków (1,64-59 mg/l), spada w czasie 1-go roku (Bokenkamp i wsp., 1998, Marchewka, 2006) do wartości 0,7-1,38 mg/l u dzieci i utrzymuje się na poziomie 0,7-1,21 mg/l u dorosłych w przedziale wieku 20-50 lat poczym osiąga zakres 0,84-1,55 mg/l u osobników powyżej 50-tego roku życia (Norlund i wsp., 1997, Marchewka, 2006). Są to mało istotne różnice wynikające z procesu zmniejszania przesączania kłębuszkowego w starzejącej się nerce (Marchewka, 2006). Podobne obserwacje u psów poczynił Braun i wsp. (2002), rejestrując niższe wartości u młodych i dorosłych osobników w stosunku do osesków i zwierząt starych. Jednak niezależnie od wieku zwierzęcia przyjęto stężenie 1,3 mg/l jako wartość graniczną cystatyny C dla psów zdrowych i osobników z chorobą nerek.

U kotów, na podstawie przeprowadzonego badania, nie zauważono związku pomiędzy stężeniem cystatyny C w surowicy a wiekiem zwierzęcia. Zaobserwowano jednak, że u zwierząt chorych, pogrupowanych według klasyfikacji IRIS, koncentracja cystatyny C w surowicy ulegała wahaniom. Średnie stężenie cystatyny C w surowicy rosło w poszczególnych grupach, w miarę rozwoju choroby nerek. Te obserwacje pokrywają się z obserwacjami poczynionymi u psów i ludzi (Almy i wsp., 2002, Tarif, i wsp. 2008, Villa i wsp., 2005, Herget-Rosental i wsp., 2007, Thomassen i wsp., 2002, Ross i wsp., 1981, Antognoni i wsp., 2007, Antognoni i wsp., 2005). U psów z niewydolnością nerek, średnie stężenie cystatyny C w surowicy, jakie zanotował w swoich badaniach Almy i wsp. (2002), wynosiło  $4,37 \pm 1,79$  mg/l (zakres od 1,12 do 9,13 mg/l). U ludzi, z ostrą niewydolnością nerek, średnie stężenie cystatyny C w surowicy wynosiła  $2,89 \pm 1,4$  (Tarif i wsp., 2008).

Na podstawie porównywania wyników, uzyskanych w badaniach własnych, można przypuszczać, że u większości kotów ze stężeniem cystatyny C powyżej wartości 1 mg/l

rozwinie się niewydolność nerek. Według obserwacji własnych, wzrost stężenia cystatyny C w surowicy kotów z chorobą nerek, wyprzedza wzrost stężenia kreatyniny. Podobne obserwacje u ludzi poczynił **Herget–Rosental (2004)**. Zarejestrował on wzrost stężenia cystatyny C w surowicy nawet o 50% w stosunku do wartości wyjściowej 24 godziny przed wzrostem stężenia kreatyniny w przypadku rozwoju ostrej niewydolności nerek (z ang. Acute Renal Failure) ( **Herget –Rosental i wsp., 2004**). Wzrost stężenia cystatyny C w surowicy pacjentów z ARF - na 24 do 48 godzin przed wzrostem stężenia kreatyniny odnotowali również inni autorzy ( **Coll i wsp., 2000, Newman i wsp., 1995, Laterza i wsp., 2002**). Według niektórych autorów, posługiwanie się stężeniem kreatyniny w tak dynamicznie zmieniającym się stanie, jakim jest ostre uszkodzenie nerek jest mało przydatne. W okresie choroby, stężenie kreatyniny wzrasta wolniej niż spada GFR a to powoduje fałszywe zawyżenie GFR. Kondycja nerek pacjenta jest gorsza niż wskazywałoby na to stężenia kreatyniny w surowicy ( **Matuszkiewicz – Rowińska, 2008**). Według tej autorki, ze spadkiem GFR wzrasta wyrównawczo wydzielanie cewkowe kreatyniny, a na stężenie kreatyniny w surowicy może wpływać też inna choroba. Np. w zaawansowanej marskości wątroby niskie wartości kreatyniny w surowicy wynikają z:

1. niedożywienia chorych,
2. zmniejszonej masy mięśniowej i związanej z tym
3. zmniejszonej biosyntezy kreatyniny oraz
4. wysokiego stężenia bilirubiny, które zmniejsza dokładność pomiaru stężenia kreatyniny w surowicy metodą Jaffa .

Zestawiając powyższe fakty i wyniki uzyskane w badaniach własnych, można próbować wytłumaczyć pojawienie się wartości cystatyny C przekraczających 1mg/l u kotów teoretycznie zdrowych, u których kreatynina nie przekracza ustalonych zakresów referencyjnych. Ten wzrost stężenia cystatyny C może być po prostu zapowiedzią wzrostu kreatyniny i przejścia pacjenta ( kota) do grupy kotów chorych lub do wyższej grupy w przypadku kotów pogrupowanych według klasyfikacji IRIS Tym samym może być markerem rozwoju choroby nerek.

W medycynie człowieka, Almy (2002), fakt opóźnionego wzrostu stężenia kreatyniny wiąże z umiejętnością kompensacyjną nerek w odpowiedzi na czynnik uszkodzający. Według niego dopiero 75% ubytek czynnej tkanki nerek powoduje zmiany stężenia kreatyniny w surowicy. **Patricia Villa (2005)** uważa natomiast, że w przypadku dysfunkcji nerek u ludzi tylko w 20% odnotowuje się podwyższenie kreatyniny w surowicy w przeciwieństwie do cystatyny, której poziom wzrasta średnio u 72% pacjentów. To czyni pomiar stężenia cystatyny C w surowicy lepszym testem przesiewowym dla rozpoznania spadku filtracji kłębuszkowej i upośledzenia pracy nerek niż pomiar stężenia kreatyniny w surowicy. Niektórych może dziwić, że stężenie cystatyny C w surowicy kotów może, mimo postępu choroby nerek, maleć. Wspomina o tym **Bokenkamp (2001)**, sugerując poza nerkowe szlaki eliminacji cystatyny C z surowicy. Ten spadek koncentracji cystatyny C można jednak wytłumaczyć stanem zaawansowania niewydolności nerek i procesem uszkodzenia kanalików proksymalnych - stąd przechodzenie cystatyny C do moczu. Pomiar stężenia cystatyny C w moczu może odzwierciedlać skalę uszkodzenia nerek. A zatem spadek cystatyny C w surowicy, przy zdiagnozowanej niewydolności nerek to dodatkowe informacje potwierdzające postępowanie choroby.

Dla porównania: klirens kreatyniny, jest wskaźnikiem, choć bardzo zbliżonym, to jednak tylko zbliżonym do GFR. Dzieje się tak dlatego, że kreatynina jest nie tylko przesączana przez kłębuszki nerkowe, ale i wydzielana jest przez komórki kanalików bliższych. Z tego powodu klirens kreatyniny jest większy, niż sama wielkość filtracji kłębuszkowej ( **Lesley i wsp., 2006**). Warto także przypomnieć, że u ludzi z niewydolnością nerek do 66% kreatyniny jest metabolizowane drogą poza nerkową ( **Jones i wsp., 1998.**) między innymi w jelitach, przez bakterie jelitowe. Wraz z rozwojem niewydolności nerek zwiększa się wydalanie kreatyniny przez kanaliki nerkowe z powodu rozkładu kreatyniny przez bakterie jelitowe ( **Jones i wsp., 1998**). Jak widać, powyższe fakty poważnie ograniczają wiarygodność kreatyniny jako wskaźnika wielkości filtracji kłębuszkowej. Niektórzy autorzy sugerują ( **Redun.i wsp., 2008**), że kreatynina owszem, wchodzi w różne dodatkowe procesy, ale tylko u ludzi, nie u psów i kotów. Czy aby na pewno i czy aby zawsze ta teza jest prawdziwa ?

Autorka pracy nie znalazła ani w literaturze polskiej ani zagranicznej informacji na temat odmiennej, niż u człowieka, przemiany kreatyniny w organizmie zwierzęcym.

## **Wpływ czynników pozanerkowych, w tym innych chorób, na koncentrację cystatyny C w surowicy kotów**

W weterynarii bardzo skąpe są informacje dotyczące pomiaru samej cystatyny C u zwierząt nie mówiąc już o czynnikach mogących wpływać na jej wahania w surowicy.

Część autorów, podobnie jak w medycynie ludzkiej, wśród czynników potencjalnie mogących decydować o stężeniu cystatyny C w surowicy wymienia się: spożycie posiłku i terapię wysokimi dawkami sterydów ( **Braun i wsp., 2002, Tarif i wsp., 2008, Marchewka, 2006**) oraz nieleczoną chorobę tarczycy, czerniak, nowotwór prostaty czy zakażenia wirusem HIV ( **Randers ,Erlandsen , 1999, Mares i wsp., 2003, Marchewka, 2006, Almy i wsp., 2002**). Większość autorów podkreśla jednak potrzebę dalszych badań.

W badaniach własnych nie zaobserwowano wpływu wymienionych czynników na podwyższenie koncentracji cystatyny C w surowicy badanych kotów.

Dotyczy to ustabilizowanej cukrzycy, infekcji bakteryjnej, grzybiczej, guza żołądka czy rozsianego nowotworu wątroby, a także większości kotów z syndromem urologicznym. Stężenie cystatyny C w surowicy u tych osobników nie przekraczało wartości 1mg/l. Te obserwacje pokrywają się z doniesieniami, jakie poczynił Antognoni i wsp. ( **2007**) czy Wehner i wsp. ( **2008**) w badaniach u psów. Antognoni nie zauważył, by u psów chorych na leiszmaniozę, sama choroba powodowała istotny wzrost stężenia cystatyny C w surowicy o ile nie skutkowała hiperazotemią i nie doprowadziła do dysfunkcji nerek ( **Antognoni i wsp., 2007**).

Podobnie w badaniach własnych nie zauważono by choroba zakaźna (tu: Zakaźne Zapalenie Otrzewnej Kotów - FIP) bezpośrednio wpłynęła na stężenie cystatyny C w surowicy, choć obserwacja dotyczy tylko jednego osobnika. U kota z

klinicznymi objawami zakaźnego zapalenia otrzewnej u, którego pośmiertne badania potwierdziły rozpoznanie choroby, stężenie cystatyny C w surowicy wynosiło 0,86 mg/l, czyli również nie przekraczało wartości 1mg/l. To tylko jeden przypadek, ale „wynik „wydaje się interesujący.

Ciekawe obserwacje dotyczą wpływu sterydoterapii na funkcjonowanie nerek. W badaniach własnych znajdował się kot, któremu przez długi okres (około 12 miesięcy) podawano glikokortykosterydy, w ramach terapii paliatywnej rzekomego raka nerek. W badaniu usg nerek, nie potwierdzono tego rozpoznania- nerki nie wykazywały zmian w strukturze, a jedynie zarejestrowano podwyższone opory naczyniowe (RI) w badaniu dopplerowskim. W surowicy koncentracja cystatyny C wynosiła 1,36 mg/l, jednak po odstawieniu leków sterydowych poziom cystatyny C spadł do wartości 0,74mg/l. Należy podkreślić, że w przypadku tego osobnika zarówno w okresie sterydoterapii, jak i po jej zakończeniu stężenia mocznika i kreatyniny w surowicy pozostawały w zakresie norm referencyjnych!. W badaniach własnych uczestniczyła też kotka leczona okresowo glikokortykosterydami z powodu nawracającego ziarniniaka liniowego. Co ciekawe , stężenie cystatyny C w surowicy tej kotki nie przekraczało 1mg/l. Być może miało to związek z okresem remisji choroby. By odpowiedzieć na pytanie na ile silny jest wpływ sterydów na stężenie cystatyny C w surowicy potrzeba dodatkowych badań i obserwacji większej liczby przypadków klinicznych.

Tego zagadnienia mimochodem „dotknął” w swojej pracy Jansen ( **Jansen i wsp., 2001**). Autor ten zanotował u psa z chorobą Cushinga stężenie cystatyny C w surowicy wyższe niż wartości uzyskiwane u psów zdrowych i u psów z chorobami niezwiązanymi bezpośrednio z niewydolnością nerek. cystatyna C, u tego osobnika mierzona metodą PETIA ( wynik 6,25 mg/l) przekroczyła wartość 4mg/l uzyskiwaną u osobników z chorobą nerek. Sam Jansen ( **2001**) przypuszczał, że u tego osobnika mogło już dojść do redukcji GFR, której nie wykryły metody badawcze użyte w jego badaniach i dlatego tego osobnika nie zakwalifikowano do grupy psów z rozpoznaną chorobą nerek.

Jak wiadomo choroba Cushinga wiąże się z nadmierną produkcją hormonów sterydowych w organizmie i prowadzi do obciążenie pracy nerek, związanego ze

wzrostem ciśnienia i wymuszoną filtracją kłębuszkową. W efekcie tego permanentnego nadciśnienia mogło dojść do uszkodzenia kłębuszków nerkowych i w konsekwencji spadku GFR, związanego z rozwojem niewydolności nerek. To, że nie wykryto zaburzonej pracy nerek świadczy tylko o niedoskonałości metod badawczych. Jednakże, ciekawym jest, że wśród innych osobników z chorobą o podłożu immunologicznym czy hormonalnym np. poliarthritis, systemic lupus erythematosus, akromegalia czy chroniczne atopowe zapalenie skóry, stężenia cystatyny C w surowicy nie przekraczały wartości 2,3 mg/l czyli poniżej wartości notowanych u psów z niewydolnością nerek.

Interesujące obserwacje uzyskano na podstawie powtórnie przeprowadzonego badania u wybranych osobników. Zauważono, że u kotów z FLUTD, u których wzrosło stężenie cystatyny C w surowicy w kolejnym badaniu, również stężenie kreatyniny przekroczyło wartości referencyjne dla osobników zdrowych i charakteryzowało osobników z mocznicą. U kotów chorych, podzielonych na grupy wg IRIS często wzrost stężenia cystatyny C w surowicy wiązał się bezpośrednio lub „zapowiadał” przejście osobnika do wyższej grupy wg klasyfikacji IRIS.

W przypadku osobników przewlekle chorych, zwłaszcza poddawanych płynoterapii pomiędzy dwoma badaniami, zdarzało się, że stężenie cystatyny C w surowicy spadało niezależnie od tego czy stężenie kreatyniny w surowicy malało czy rosło. Można to próbować wytłumaczyć z jednej strony poprawą stanu zdrowia pacjenta i kondycji nerek, w przypadku spadku koncentracji obu markerów lub paradoksalnie pogorszeniem funkcjonowania nerek związanym z uszkodzeniem kanalików proksymalnych i przechodzeniem cystatyny C do moczu, w przypadku spadku stężenia cystatyny C i wzrostu stężenia kreatyniny w surowicy. Oczywiście by udowodnić tą ostatnią tezę należałoby, u osobników chorych, przeprowadzić dodatkowo równoczesne pomiary stężenia cystatyny C w surowicy jak i moczu, co wykracza poza zakres dysertacji.

## **Porównanie wiarygodności cystatyny C i kreatyniny jako wykładników pracy nerek w zestawieniu z osoczym klirensem johexolu ( GRF). Analiza na podstawie krzywej ROC.**

Na podstawie analizy statystycznej powierzchni pól ( AUC) pod krzywą ROC dla kreatyniny, cystatyny C i osoczonego klirensu johexolu ( Pcio) można stwierdzić, że jakkolwiek istnieje zauważalna różnica między polami powierzchni ( AUC) cystatyny C (  $0,8193 \pm 0,0492$ ) i kreatyniny (  $0,4737 \pm 0,0586$ ) pod krzywą ROC, to nie jest to różnica istotna statystycznie na poziomie  $p < 0,05$ . Podobne spostrzeżenia poczynił w swojej pracy Sevinc ( **Sevinc i wsp, 2002**).

Jednakże, warto podkreślić, że pole powierzchni ( AUC) cystatyny C i osoczonego klirensu johexolu ( Pcio) pod krzywą ROC są niemal identyczne ( odpowiednio  $0,8193 \pm 0,0492$  dla cystatyny C i  $0,8537 \pm 0,0517$  dla Pcio przy  $p < 0,6145$ ). Paradoksalnie, dla osoczonego klirensu johexolu ( Pcio) i kreatyniny ( powierzchnia pól odpowiednio  $0,4737 \pm 0,0586$  dla kreatyniny i  $0,88537 \pm 0,0517$  dla Pcio przy  $p < 0,0788$ ) hipoteza zerowa o równości powierzchni pól ( AUC) pod krzywą ROC jest spełniona na poziomie istotności  $p < 0,05$ . Zmieniając poziom istotności na  $p < 0,1$  powyższa hipoteza jest prawdziwa tylko dla cystatyny C i Pcio. Kreatynina nie spełni tego warunku, co jednocześnie oznacza, że jej wiarygodność jako markera GFR budzi zastrzeżenia, a sama metoda badawcza jest gorszą, mniej czułą od pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy. Wyższą wartość diagnostyczną pomiaru cystatyny C w stosunku do kreatyniny jako wyznacznika GFR potwierdza również Tamba i współpracownicy. ( **2001**). Porównując cystatynę C z innymi markerami GFR jak: kreatynina, alfa2-mikroglobulina lub beta2-mikroglobulina wykazali oni, że cystatyna C najsilniej koreluje z klirensem egzogennej kreatyniny (  $r = -0,959$ ) z badanych białek, a sama cystatyna C ma z nich największe pole powierzchni ( AUC) pod krzywą ROC zarówno przy wysokim (  $90\text{ml/min}$ ) jak i niskim (  $70\text{ml/min}$ ) GFR. Uzyskane przez Tambę ( **2001**) wyniki potwierdzają, że cystatyna C jest przydatna do wychwytywania nawet niewielkich spadków GFR.

Z kolei **Herget Rosental (2004)**, na podstawie analizy krzywej ROC, ustalił, że wzrost cystatyny C w surowicy, u pacjentów z ostrą niewydolnością nerek wyprzedza, średnio o 2 dni, wzrost stężenia kreatyniny powyżej 50%, 100% i 200%, w stosunku do wartości wyjściowej. To także może potwierdzać lepszą czułość badania i przydatność pomiaru cystatyny C w surowicy w diagnozowaniu nawet niewielkiego spadku GFR związanego z pogarszającą się funkcją nerek. Podobnego zdania jest **Tarif N. i Hojs R. (Tarif i wsp., 2008, Hojs i wsp., 2008)** uważając, że pomiar stężenia cystatyny C w surowicy metodą Penia jest wiarygodnym wskaźnikiem w ostrej niewydolności nerek, a **Fliser (2001)** w przypadku umiarkowanej niewydolności nerek, czyli GFR na poziomie 30-59ml/min. Pomiar koncentracji cystatyny C w surowicy mógłby stać się testem skryningowym także dla wykrywania umiarkowanie obniżonego GFR, gdyż, w medycynie ludzkiej, potwierdzono już wyższą czułość tego testu w stosunku do kreatyniny (**Fliser i wsp., 2001, Almy i wsp., 2002, Hojs i wsp., 2008**). Porównując czułość i specyficzność cystatyny C i kreatyniny w oparciu o krzywą ROC, zdecydowanie wygrywa cystatyna C.

Wyniki uzyskane przez autorkę w badaniach własnych ( czułość 73% i specyficzność 82 % dla cystatyny C oraz czułość 83% i specyficzność 50% dla kreatyniny) potwierdzają wyższą wartość diagnostyczną pomiaru cystatyny C w surowicy w stosunku do kreatyniny. Prawie identyczne wyniki (czułość 76% i specyficzność 87 % dla cystatyny C) otrzymał **Wehner (2008)** choć u niego czułość dla kreatyniny była nawet niższa ( 65%), ale za to wyższa specyficzność ( 91% ). Nawet korelacja między Cystatyną C a osoczkowym klirensem egzogennej kreatyniny była silniejsza (  $r = 0,63$ ;  $p < 0,001$ ) niż między kreatyniną a osoczkowym klirensem egzogennej kreatyniny (  $r = -0,572$ ;  $p < 0,001$ ) (**Wehner et al. ,2008**).



## **6. WNIOSKI:**

1. Na podstawie danych uzyskanych w badanej populacji kotów, wartości referencyjne stężenia cystatyny C w surowicy kotów zdrowych mieszczą się w zakresie: od 0,3 do 1,1 mg/l.
2. Zarówno wiek, masa ciała, płeć jak i rasa nie ma wpływu na stężenie cystatyny C w surowicy.
3. Analiza uzyskanych w badaniu danych, w oparciu o krzywą ROC potwierdziła wyższą czułość i specyficzność pomiaru stężenia cystatyny C w surowicy stosunku do pomiaru koncentracji kreatyniny, jako metody badawczej stanu funkcjonowania nerek.
4. Z przeprowadzonych badań wynika, że pomiar stężenia cystatyny C w surowicy może mieć istotne znaczenie we wczesnej diagnostyce chorób nerek kotów.

**Piśmiennictwo:**

1. Almy F.S, Christopher MM, King DP, Brown SA; " Evaluation of cystatin C as a endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. "J Vet Intern. Med.2002 Jan- Feb; 16(1); 45-51
2. Antognoni M.T, Siepi D., Porciello F., Rueca F. and Fruganti G.; "Serum Cystatin - C Evaluation in Dogs Affected by Different Diseases Associated or Not with Renal Insufficiency." Veterinary Research Communications, 2007; 31(Suppl.1) 269-271
3. Antognoni M.T., Siepi D., Porciello F. and Fruganti G.; "Use of serum Cystatin C determination as a marker of renal function in the dog. "Veterinary Research Communications, 2005; 29(Suppl.2), 265-267
4. Bjorck L., Akesson P., Bohus N, Trojnar J, Abrahamson M., Olafsson I., Grubb A.; "Bacterial growth blocked by a synthetic peptide based on the structure of human proteinase inhibitor." Nature, 1989, 337:387-386.
5. Bokenkamp A., Domanetzki M., Zinck R., Shumann G., Brodehl J.;" References values for cystatin c serum concentration in childrens." *Pediatr Nefrol* 1998; 12:125-129
6. Bokenkamp A., Ciarimboli G., Dieterich C.; „Cystatin C in a rat model of end-stage renal failure.“*Ren.Fail.*2001 May-Jul; 23 (3-4): 431-8
7. Brochner-Mortensen J.;"A simple Method for the Determination of Glomerular Filtration Rate" *Scand. J. Clin .Lab. Invest.* 1982,30, 271-274
8. Braun J.P., Lefebvre H.P.;; "Early detection of Renal Disease in the canine patient." Reprint paper HILLs Symposium on Renal Diseases 2004,59-64
9. Braun J.-P., Perxachs A. , Pechereau D. and De La Farge; "Plasma Cystatin C in the Dog: Reference Values and Variations with Renal Failure." *Comparative Clinical Pathology* 2002; 11: 44-49
10. Brown Scott A., VDM, PhD; Finco Delmar R., DVM, PhD; Boudinot F. Douglas, PhD; Wright Jennifer, BS., Tarver Stacy L..BS; Cooper Tanya; "Evaluation of a single injection method, using iohexol, for estimating glomerular filtration rate in cats and dogs." *Am J Vet Res* 1996; 57,105-110
11. Coll E., Botey A., Alvarez L., et al.; "Serum Cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment." *Am. J. Kidney Dis.*, 2000, 36,29-34
12. Colle A, Tavera C., Laurent P., Leung-Tack J., Girolami JP.; " Direct radioimmunoassay of rat cystatin C: increased urinary excretion of this cysteine proteases inhibitor during chromate nephropathy." *J Immunoassay.*1990; 11 (2):199-214.

13. Delmar R. Finco, Braselton W. Emmet, Cooper Tanya A.; "Relationship between Plasma Iohexol Clearance and Urinary exogenous Creatinine Clearance in Dogs." *J Vet Intern Med* 2001; 15:368-373
14. Dharnidharka V.R., Kwon C., Stevens G.: "Serum cystatin C is a superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis". *Am.J.Kidney.Dis.*2002; 40:221- 226
15. Duncun L., Haethcote J., Lewin A., "Screening for renal disease using serum creatinine: who are we missing?" *Nephrol. Dial. Transplant.*2001; 16:1042-1046.
16. Ebina T., Tsukada K.; "Protease inhibitors prevent the development of human rotavirus- induced diarrhea in sucking mice." *Microb. and Immunol.*,1991,35:583-588.
17. Elliott J. and Grauer G.F.; "Canine and Feline Nephrology and Urology." *BSAVA* 2007; 9, 117-126.
18. Finney H., Bates C.J., Price C.P.; " Plasma cystatin C determinations in healthy elderly population." *Arch.Gerontol.Geriatr.*1999; 29:75-94
19. Fliser D., Ritz E.; „ Serum cystatin C concentrations as a marker of renal dysfunction in the elderly." *Am. J. Kidney Dis.*2001; 1; 79-83
20. Frennby B, Sterner G., Almen T., Chai CM., Jonsson BA., Mansson S.; " Clearance of iohexol, chromium- 51-ethylenediaminetetraacetic acid, and creatinine for determining the glomerular filtration rate in pigs with normal renal function: Comparison of different clearance techniques." *Acad Radiol* 1996; 3:651-659
21. Gleadhill A., Michell A.R.; "Evaluation of Iohexol as a marker for the clinical measurement of glomerular filtration rate in dogs." *Research in Veterinary Science* 1996,60,117-121
22. Goy-Thollot I., Besse S., Garnier F., Marignan M., Barthez PY.; "Simplified Methods for Estimation of Plasma Clearance of Iohexol in Dogs and Cats." *J. Vet Intern Med* 2006; 20 (1): 52-56
23. Goy-Thollot I., Chafotte C. Besse S., Garnier F., Barthez P.; "Iohexol plasma clearance in healthy dogs and cats". *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2006;47 (2), 168-173
24. Hartmann H., Bigler B., Mohr S., Bania S.,T hure S., Schmitz R., Hochel J." Serum cystatin C concentration as a marker for the diagnosis of renal disease in dogs." <http://www.scopus.com/>
25. Herget- Rosenthal S., Margraf G., Husing J., Goring F., Pietruck F., Janssen O., Philipp T., Kribben A.; "Early Detection of acute renal failure by serum Cystatin C." *Kidney Int.*2004 Sept; 66 (3): 1115-1122
26. Herget-Rosenthal S., Bokenkamp A., Hofmann W.; "How to estimate GFR- serum creatinine, serum cystatin C or equations?." *Clinical Biochemistry* 2007,40, 153-161

27. Hojs R., Beve S. "Serum cystatin C based equation for estimation of glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease." *Clin Nephrol.*2008 Jul; 70 (1): 10-7
28. Imiela J., Lewandowicz A.; "Cystatyna C w diagnostyce przewlekłej choroby nerek." *Nefrol.Dial.Pol.*2007;11,126-132
29. Jarocki Z;" Zarys diagnostyki i terapii chorób układu moczowego psów i kotów". Wydawnictwo „Si-Ma” Warszawa 2001, str 9
30. Jarocki Zbigniew; "Kompendium z urologii weterynaryjnej." Wydawnictwo „Si-Ma” Warszawa 2001; str7-10 i 30-43
31. Jensen A.L., Bomholt M., Moe L.; "Preliminary Evaluation of a Particle-enhanced Turbinometric Immunoassay (PETIA) for the Determination of Serum Cystatin C-Like Immunoreactivity in Dogs." *Veterinary Clinical Pathology*, 2001,30 (2): 86-90
32. Jones CA., McQuillan GM, Kusek JW, et al.; "Serum creatinine levels in the US populations: Third National Health and Nutrition Examination Survey." *Am J Kidney Dis.* 1998; 32:992-999
33. Jonkisz P., Kungl K., Sikorska A., Kurosad A., Nicpoń J.; "Cystatin C analysis in the dog-a comparison of turbidimetric and nephelometric assay results." *Acta Veterinaria hungarica* 2010,58 (1): 59-67
34. Kinsey E., Smith M., M.D.; "Choroby nerek. Niekonwencjonalne ujęcie tematu." Wydawnictwo W&W1992,3,23-26
35. Koiwa H., Shade R.F, Zhu-salzman K., Subramanian L., Murdock L.L., Nielsen S.S. Bressan R.A., Hasegawa P.M.; "Phage display selection can differentiate insecticide activity of soybean cystatins." *Plant J.*, 1998, 14:371-379.
36. Krutzen E., Back S., Nilsson-Ehle I. and P.; "Plasma clearance of a new contrast agent, iohexol: A method for the assessment of glomerular filtration rate" *J Lab Clin Med* 1984;104:955-961
37. Kyhse-Andersen J., Schmidt C., Nordin G., Andersson B., Nilsson-Ehle P., Lindstrom V., Grubb A.; "Serum Cystatin C, Determined by a Rapid, Automated Particle-Enhanced Turbinometric Method, Is a Better Marker than Serum Creatinine for Glomerular Filtration Rate." *Clin. Chem.* 1994; 40(10): 1921-1926
38. Laterza O.F., Price C.P., Scott M.G.; "Cystatin C: An Improved Estimator of Glomerular Filtration Rate?" *Clinical Chemistry* 2002,48 (5): 699-707
39. LeGarreres A, Laroute V, De La FF, et al.;" Disposition of plasma creatinine in non -azotaemic and moderately azotaemic cats." *J Feline Me Surg* 2007; 9: 89-96
40. Lesley A.S., Coresh J., Greene T., Levey A.S.; *Zasady oceny czynności nerek-pomiar i wyliczanie wskaźnika przesączania kłębuszkowego.*" *Medycyna po Dyplomie*, 2006;15(10) 38-48 przedruk z *The New England Journal of Medicine*

41. Lulich J.P, Osborn CA, Obrien TD, Pozin DJ ; “Feline renal failure: question, answer, question.” Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 1992; 14,127-152
42. Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Kolar LM, Klausner JS; “Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States.” Journal of American Medical Association. 1999; 214, 1336-1341.
43. Marchewka Z.; ”Niskocząsteczkowe wskaźniki biochemiczne w diagnostyce nefrotoksyczności.” Adv Clin Exp Med. 2006; 15,6,1129-1138
44. Mares J. Stejskal D. Vavrouskova J, Urbanek K., Herzig R., Klustik P.; „Use of cystatin C determination in clinical diagnostics.” Biomedical Papers, 2003; 147 (2),177-180.
45. Martin C., Pechereau D.,de la Farge F., Braun J.P.;” Cystatine C plasmatique ches le chat:les techniques actuelles ne permettent pas de l'utiliser comme marqueur d'insuffisance renale.” Revue Med. Vet.,2002;153,5,305-310
46. Matuszkiewicz – Rowińska J. „ Ostre uszkodzenia nerek i klasyfikacja RIFLE: zalety i wady.” Nefrol. Dial. Pol. 2008; 12, 248-250
47. Miyamoto K.; “ Evaluation of single-injection method of inulin and creatinine as a renal function test in normal cats.” J Vet Med Sci1998; 60, 317-332.
48. Miyamoto K.; “ Clinical application of plasma clearance of iohexol on feline patients.” Journal of Feline Medicine and Surgery.2001, 3,143-147
49. Miyamoto Kenji; “Use of plasma clearance of iohexol for estimating glomerular filtration rate in cats.” AJVR, 2001 April: 62,(4):572-575
50. Moe L., Heiene R.;” Estimation of glomerular filtration rate in dogs with 99M-Tc-DTPA and iohexol.” Research in Veterinary Science 1995, 58, 138-143
51. Muller D.” Bewertung von Cystatin C als Marker zum Erkennen einer herabgesetzten glomerularen Filtrationsrate bei Hunden.“ Kleintiermedizin 2001;8,362-364
52. Newman D.J., Thakkar H., Edwards RG., Wilkie M., White T., Grubb A.O., Price Ch. P;” Serum cystatin C measured by automated immunoassay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine.” Kidney International 1995; 47, pp. 312-318
53. Norlund L., Fex G, Lanke J, Schenk H Von, Nilsson J-E, Leksell H, Grubb A. „Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell formation markers: serum cystatin and serum 2- mikroglobulin/cystatin C ratio.” Scand J Clin Lab Invest 1997; 57: 463-70
54. Obrenović Radmila, Petrović Dejan, Majkić-Singh Nada, Trbojević Jasna, Stojimirović Biljana; „Influence of proteinuria on cystatin C serum concentration in patients with primary glomerulonephritis” Jugoslov Med. Biochem. 2006; 25: 21-25.

55. Randers E. and Erlandsen E.J.; "Serum Cystatin C as a endogenous marker of the renal function- a review." *Clinical Chemistry Laboratory Medicine* 1999, 37:389-395
56. Redun Heine; "Diagnostyka laboratoryjna chorób nerek u kotów." *Veterinary Focus* 2008; 18 (2)16-22
57. Reed C.H.; "Diagnostic applications of Cystatin C." *British Journal of Biomedical Science* 2000; 57:323-329
58. Ross L.A., Finco D.R.; "Relationship of Selected Clinical Renal Function Tests to Glomerular Filtration Rate and Renal Blood Flow in Cats." *Am J Vet Res* 1981, 42,1704-1710
59. Sevinç Çabukoğlu, Harika Alpay, Neşe Karaaslan Bıyıklı, Onid A. Noşari, Güler Topçu; "The comparison of creatinine and cystatin C for detection of renal failure in spina bifida patients." *Official Journal of the Turkish Society of Nefrology* 2002; 11(4): 242-246
60. Sulicka Joanna, Franczuk Paweł, Rewiuk Krzysztof „Przydatność cystatyny C w diagnozowaniu niewydolności nerek u osób w starszym wieku”, *Gerontologia Polska* 2005, tom 13, nr 2, 84-87
61. Tamba K., Kusano E, Ando Y, Asano Y.; "Prospective evaluation of renal function by serum cystatin-C: comparison with three other parameters of glomerular filtration rate." *Nippon Jinzo, Gakkai Shi.* 2001 Nov; 43 (8):646-50
62. Tarif N, Alwakeel JS, Mitwalli AH, Durdana Hammad , Memon NA, Askar A, Chaudhary AR, Isnani AC; "Serum Cystatin C as a Marker of Renal Function in Patients with Acute Renal Failure." *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2008; 19 (6): 918-923
63. Thomassen SA, Johannesen IL, Erlandsen EJ, Abrahamsen J and Randers E.; "Serum cystatin C as a marker of the renal function in patients with spinal cord injury." *Spinal Cord* (2002) 40,524-528 doi: 10. 1038/sj.sc 3101320
64. Trof RJ, Di Maggio F., Leemreis J., Groeneveld A.B.; „Biomarkers of acute renal injury and renal failure." *Shock*. 2006 Sep; 26(3): 245-53.
65. Trziszka T., Saleh Y., Kopeae W., Siewiński M., Wesierska E.; "Effect of Hens Age on the Level of Cystatin in the Chicken Egg White." *International Journal of Poultry Science* 2004; 3(7): 471-477
66. van Hoek I., Vandermeulen E., Duchateau L., et al.; "Comparison and reproducibility of plasma clearance of exogenous creatinine, exo-iohexol, endo-iohexol, and 5I Cr-EDTA in young adult and aged healthy cats." *J Vet Intern Med* 2007; 21: 950-958.
67. Villa Patricia, Jimenez Manuel, Soriano Maria- Cruz, Manzanares Jesus and Casanovas Pilar; "Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients." *Critical Care* 2005, 9: R139-R143

68. Wehner A., Hartmann K., Hirschberger J.; "Utility of serum Cystatin C as a Clinical Measure of Renal Function in Dogs." *Journal of the American Animal Hospital Association* 2008; 44: 131-138
69. Wieczorowska – Tobis K.; "Ocena czynności nerek u osób w podeszłym wieku." *Nowiny Lekarskie* 2002, 71, 2-3, 184-188
70. Winnicka A.; "Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii." *SGGW Warszawa* 1997
71. Ylinen E.A., Ala-Houhala M., Harmoinen A.P.T., Knip M.; "Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients." *Pediatr Nephrol* (1999) 13:506-509