

# Die verband tussen kreatinienopruiming en glomerulêre filtratiespoed in die kritiek siek pasiënt

J. C. SMIT, J. B. DE VAAL

## Summary

A study was undertaken to show that the determination of glomerular filtration rate with radio-labelled sodium chromate ethylenediaminetetra-acetic acid is a repeatable, easily performed and accurate examination in the critically ill patient.

Differences in glomerular filtration rate were relatively small, with a phase difference of between -10,59 and 5,34. Creatinine clearance showed a greater variation over a corresponding period, with a difference of between -27,50 and -4,10.

The study indicated that this method of determining glomerular filtration rate can be very useful in an intensive care unit, because it seems to be more accurate and easier to perform. Information is obtained more quickly than when the glomerular filtration rate is determined by means of creatinine clearance.

*S Afr Med J* 1990; 78: 254-257.

Die bepaling van die glomerulêre filtratiespoed vorm die grondslag van die diagnose van niersiekte en dui ook op die graad van funksionele inkorting. Seriële bepaling kan waardevolle inligting gee aangaande die verliese van renale massa en funksie, waarna die klinikus met groter akkuraatheid vir of dialise en/of nieroorplanting kan voorsien.

Die algemene aanvaarde tegniek vir die bepaling van nierfunksie is kreatinienopruiming. Weens die tekorte in die tegniek soos reeds in 1938 uiteengesit, bemoeilik dit die interpretasie van die nierfunksie van die kritiek siek pasiënte. Die doel van die ondersoek was om die gebruik van radio-isotope, en wel radio-gemerkte natriumchromaat etileendiamientetra-asynsuur ( $^{51}\text{Cr-EDTA}$ ) in kritiek siek pasiënte te evalueer.

## Metode

### Studieformaat

In die studie is gebruik gemaak van 10 pasiënte in die eenheid by Pelonomi-hospitaal, wat elkeen in 3 fases van die studie deelgeneem het. Tussen die verskillende fases het telkens 2 dae verloop — met ander woorde die ondersoek is elke derde dag herhaal. In elke fase van die ondersoek is die glomerulêre filtratiespoed sowel as kreatinienopruiming bepaal.

Pasiënte met bewese septisemie op ten minste 2 bloedkulture is in die studie opgeneem, asook pasiënte in wie daar 'n vermoede vir septisemie bestaan, sonder of voor kulture, en wat aan die volgende kriteria voldoen het: (i) ouderdom meer as 18 jaar; (ii) liggaamstemperatuur meer as  $38,5^{\circ}\text{C}$  of minder as  $35,5^{\circ}\text{C}$ ; (iii) tagikardie van meer as 120 per minuut; (iv) tagipnee van meer as 20 per minuut; en (v) verlaagde perfusie met  $\text{PaO}_2$  minder as 75, verhoogde laktaat in die bloed, uriene minder as 30 ml per uur of serebrale onderdrukking.

Pasiënte wat tydens die voorafgaande 4 weke aan enige ander kliniese proef deelgeneem het, of wat nie ingeligte toestemming kon gee nie, is uitgesluit.

## Prosedures

Die pasiënte in die eenheid is almal aan arteriële lyne gekoppel vir voortdurende monitering van die kardiovasculêre stelsel en die neem van bloedmonsters, asook sentraal veneuse druk-lyne vir vog- en/of medikasietoediening, sowel as die monitering van die vogstatus. Al die pasiënte het ook inblywende urinêre kateters gehad.

Op die dag van die studie is al die nodige ondersoeke gedoen en bloed geneem, waarna die urinesakke geledig is en met die studie op die uur begin is. Op die uur van begin is die dosis van  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  dan ook per inspuiting toegedien. Die pasiënte het tydens die 4 uur van die studie geen verandering in medikasie ondergaan nie en het deurentyd bly lê.

Die kreatinienwaardes in die bloed en in die urine is bepaal deur die standaardmetodes soos in gebruik in die Departement Biochemie van die universiteit. Die glomerulêre filtratiespoed is met behulp van die rekenaarprogram bepaal; wat 'n dubbele regressiepassing gedoen het, en die spoed bepaal het volgens die standaardmetode in gebruik by die Departement Biofisika vir die regressie van die chroom-isotoop in die bloed.

Die chroom-isotoopbepaling is op 10 ml bloed gedoen wat net voor die toediening geneem is en dan ook 10, 20, 30, 40 minute en ook elke uur vir 4 uur na die toediening. Die standaardtegniek in gebruik by die Departement Biofisika is gebruik om die glomerulêre filtratiespoed te bepaal. 'n Verdere monster bloed van 10 ml is 2 en 12 uur na die inspuiting geneem om serum kreatinien en kreatinienopruiming te bepaal.

Die urinesakke van die pasiënt is aan die begin van die studie geledig. Die volume urine wat tydens die 4 uur na toediening van die isotoop uitgeskei is, is aangeteken, asook die volume van 4 tot 24 uur na toediening.

As voorbereiding is  $100 \mu\text{Ci } ^{51}\text{Cr-EDTA}$  in 'n spuit opgetrek vir pasiënttoediening, asook  $100 \mu\text{Ci } ^{51}\text{Cr-EDTA}$  in 'n tweede spuit wat as standaard dien. Die massa van albei spuite is bepaal. Nadat 10 ml bloed vir agtergrond getrek is, is die radioaktiwiteit deur die sentrale lyn gespuut, gevolg deur 20 ml normale soutoplossing. Die massa van die oorblywende aktiwiteit in die spuite is weer eens bepaal. Hierna is die bloedmonsters op 10, 20, 30, 40, 60, 120, 180, en 240 minute geneem.

Die plasma en rooibloedselle van elke bloedmonster is geskei deur die proefbuis regop teen 2000 omwentelings per minuut vir 10 minute af te swaai. Hierna is 1 ml plasma van elke bloedmonster in 'n telbuisie geplaas en met 'n Cr-venster van 270 - 370 keV in die gammateller getel.

Die inhoud van die Cr-standaardspuit is in 'n 100-ml maatfles geplaas en met water gevul om 'n totale volume van 100 ml te gee; die spuite is nie gespoel nie. Die massa van die leë spuit is weer eens bepaal. Een milliliter van die verdunde standaardoplossing is op dieselfde wyse as die plasma getel. Die verdunningsfaktor wat gebruik word, is dan 'n faktor van 100 vir Cr.

Die tegniek kan dus as volg opgesom word: Die aktiwiteit van die isotoop word op die bepaalde tye in die bloed bepaal.

Departement Kritieke Sorg, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein, OVS

J. C. SMIT, M.B. CH.B., M.MED.SC. (KRITIEKE SORG)

J. B. DE VAAL, M.B. CH.B., M.MED. (INT.)



Dit word dan teen tyd geplot, wat 'n uitwaskromme gee vir die isotoop in die bloed. Die uitwaskromme volg 'n tweekompartement-patroon, wat weergegee word as

$$A = A_1 E^{-B_1 T} + A_2 E^{-B_2 T}$$

Die data word op die kromme weergegee en passing word gedoen. Die waardes van  $A_1$ ,  $B_1$ ,  $A_2$ , en  $B_2$ , word van die kromme verkry, waar A die waarde van die X-as afsnypunt is en B die helling van die kromme.

Die glomerulêre filtratiesnelheid word hierna met die volgende formule bepaal deur,

$$\frac{\text{massa ingespuet} \times \text{standaardtelling} \times \text{verduunningsfaktor}}{\text{massa van die isotoop gebruik as standaard}}$$

te vermenigvuldig met:

$$\frac{(B_1 \times B_2)}{(A_1 \times B_2) + (A_2 \times B_1)}$$

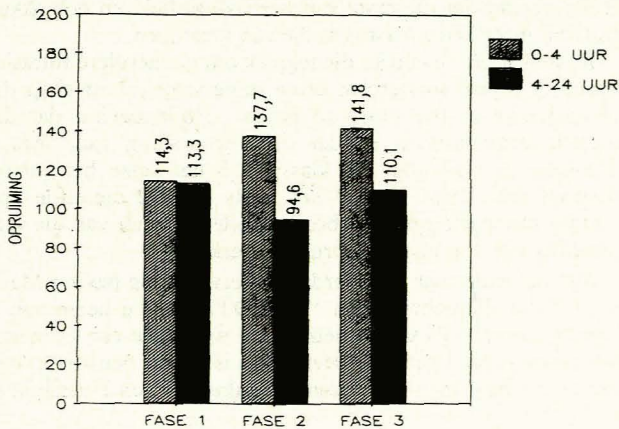
Al die formules word dan in die rekenaar ingevoer, wat die bepaling vinnig en akkuraat doen.

Wat betref pasiënt-toestemming is die studie in ooreenstemming met die aanbevelings van die Deklarasie van Helsinki uitgevoer. Toestemming is ook van die Etiese Komitee van die Universiteit van die Oranje-Vrystaat verkry.

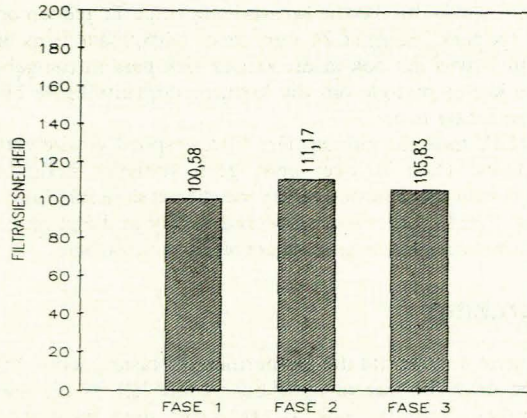
**Resultate**

Die diagnose van pasiënte by opname word in Tabel I gegee, terwyl die kreatinienopruiming en glomerulêre filtratiespoed in Afbs. 1 en 2 uiteengesit word.

Pasiënt	Diagnose
1	Ginekologiese sepsis: <i>Clostridium</i> -septisemie
2	Ruptuur van esofagus: <i>Klebsiella</i> -septisemie
3	Stomptrouma borskas: <i>Staphylococcus aureus</i> -septisemie
4	Brandwonde: <i>S. aureus</i> -septisemie
5	Aspergiloom linkerlong: <i>Klebsiella</i> -septisemie
6	Orgaanfosfaatvergiftiging: <i>Enterobacter</i> -septisemie
7	Brandwonde: <i>Pseudomonas</i> -septisemie
8	Tetanus: <i>Acinetobacter</i> -septisemie
9	Orgaanfosfaatvergiftiging: <i>Acinetobacter</i> -septisemie
10	Guillain-Barré-sindroom: <i>Pseudomonas</i> -septisemie



Afb. 1. Kreatinienopruiming.



Afb. 2. Glomerulêre filtratiespoed.

**Statistiese analise van die data**

Die statistiese analise is uitgevoer om die nul-hipotese van geen verskil tussen die gemiddeldes te toets; 'n eenrigting-analise van variansie is uitgevoer. Die resultate word in Tabelle II - IV gegee.

Fase	Opruiming (ml/min)	Koëffisient variansie (%)	Faseverskil
I	114,30	46	I-II -23,40
II	137,70	52	I-III -27,50
III	141,80	73	II-III - 4,10

Fase	Opruiming (ml/min)	Koëffisient variansie (%)	Faseverskil
I	113,30	44	I-II -18,70
II	94,60	33	I-III - 3,20
III	110,10	37	II-III -15,50

Fase	Filtrasie (ml/min)	Koëffisient variansie (%)	Faseverskil
I	100,58	42	I-II -10,59
II	111,17	36	I-III - 5,25
III	105,83	32	II-III - 5,34

Daar is geen betekenisvolle verskil in die verskillende fases van kreatinienopruiming in die eerste 4 uur nie, met 'n P-waarde > 0,05. Die variansie in die fases is egter baie groot, wat daarop mag dui dat die steekproef te klein is vir die tipe pasiënte.

In Tabel III kan gesien word dat daar van 4 tot 24 uur geen betekenisvolle verskil in die verskillende fases is nie, met 'n P-waarde > 0,05. Die variansie in die fases is egter nie so groot



nie, wat daarop dui dat die kreatinienopruiming gedoen oor 'n langer tydperk, naamlik 24 uur, meer betroubaar is as oor 4 uur. Dit bewys dat ook in die kritiek siek pasiënt die gebruik van die korter metode om die kreatinienopruiming te bepaal nie aanvaarbaar is nie.

Tabel IV toon die glomerulêre filtratiespoed vir die verskillende fases. Daar is weer eens geen statisties beduidende verskil tussen die waardes verkry vir die verskillende fases nie, met  $P = 0,8346$ . Die variansieverskil verkry in dié geval is ook kleiner, met die gepaardgaande groter betroubaarheid.

## Bespreking

Die enigste metode om die glomerulêre filtratiespoed te bepaal wat nog deur die jare onaantasbaar gebly het, is die tegniek met inulien, wat dan ook as standaard dien waarteen alle nuwere tegnieke gemeet word. Die tegniek is egter tydrowend, vir dokter sowel as pasiënt, en die chemiese bepaling van inulien op sigself is problematies van aard. Al die faktore dra daartoe by dat dit in die kliniese milieu 'n onpraktiese toets is. As gevolg daarvan is daar na 'n meer praktiese dog akkurate toets gestreef.

Miller en Winkler<sup>1</sup> het reeds in 1938 voorgestel dat endogene kreatinien vir die doel gebruik word. Hulle het egter reeds in die oorspronklike werk op tekortkomings van die bepaling getoon, wat weer eens in latere jare as besware teen die ondersoek geopper is, naamlik: (i) die renale uitskeiding van endogene kreatinien in normale persone is gewoonlik dieselfde as inulien, maar dit is nie altyd die geval nie; (ii) die renale uitskeiding van endogene kreatinien in pasiënte met nierinkorting is meestal meer as met inulien; en (iii) die hoeveelheid kreatinien wat deur die tubules uitgeskei word, soos bepaal deur die verskil tussen die kreatinienopruiming en die bepaling met inulien, varieer normaalweg.

Daar is reeds 49 jaar gelede besef dat die bepaling van kreatinienopruiming baie definitiewe tekortkomings het en dat die kreatinienopruiming meestal, maar nie altyd nie, ekwivalent is aan die inulienopruiming. Die toets is gevolglik ook nie gereedlik aanvaar nie, deels weens die tekortkomings en ook omdat daar in daardie stadium nie 'n kliniese toepassing en/of nodigheid bestaan het vir die akkurate bepaling van glomerulêre filtratiespoed nie. Dit was dan ook eers laat in 1960 en begin 1970, met die nuwe aggressiewe behandeling met dialise en die nieroorplantingsprogramme, dat die ondersoek algemeen aanvaar is as 'n kliniese toets by die gebrek aan 'n beter ondersoekmetode.

Met die ekstensiewe gebruik van die toets is die bekende tekortkomings herbevestig en het ook nuwe feite vorendag gekom. Die belangrikste vrae wat ontstaan het, is: (i) watter metode van kreatinienbepaling sal die inulienmetode die akkuraatste weergee; (ii) in watter omstandighede is die bepaling onakkuraat en kan dit nie gebruik word nie; en (iii) is die ondersoek nog van enige waarde in die bepaling van glomerulêre filtratiespoed?

Die aanvaarde siening is dat metodes wat die totaal van die kreatinien sowel as nie-kreatinienvariante in die plasma en die urine bepaal, die betroubaarste is, omdat die nie-kreatinienvariante nie in die urine verskyn nie en dus 'n balans teweegbring met die hoeveelheid kreatinien wat deur die niere afgeskei word.

Tweedens word aanvaar dat die metode van bepaling geen verskil maak aan die feit dat glomerulêre filtratiespoed soos weergegee deur kreatinienopruiming toeneem namate die renale massa afneem, totdat dit weer op baie lae vlak begin ooreenstem nie.

Huidige data<sup>2,3</sup> wys daarop dat daar 'n omgekeerde verhouding is tussen glomerulêre filtratiespoed deur middel van kreatinien bepaal en werklike kreatinien: namate glomerulêre filtratiespoed afneem, neem die kreatinienopruiming toe. Verder

varieer die kreatinienproduksie met die liggaamsmassa, en dus van persoon tot persoon. Kreatinien kan dus nie 'n akkurate weergawe gee van glomerulêre filtratiespoed nie.

Die bogenoemde probleme is ook deur Bauer *et al.*<sup>4</sup> beklemtoon, wat weer eens bevestig dat endogene kreatinienopruiming slegs met inulien ooreenstem as die glomerulêre filtratiespoed normaal is, en ook dat dit nie moontlik is om die hoeveelheid kreatinien wat afgeskei word te bepaal nie. Data<sup>5</sup> benadruk die feit dat die genesheer nie op endogene kreatinienopruiming kan reken vir 'n betroubare bepaling van glomerulêre filtratiespoed nie.

Die wande van die glomerulêre kappillêre vate gedra hulle soos hoë-kapasiteit filters<sup>6</sup> en alle tegnieke wat glomerulêre siektes ondersoek het daarop gewys dat daar inkorting van die filtreervermoë van die wand is.<sup>7-9</sup> In die teenwoordigheid van glomerulêre siekte is dit dus noodsaaklik dat glomerulêre filtratiespoed akkuraat bepaal word, veral wanneer die waarde gebruik word om as riglyn te dien vir 'n terapeutiese ingreep.

Soos reeds genoem, word inulien as die standaard vir die bepaling gebruik, omdat die substans vry gefiltreer word, dit biologies inert is en nie deur die tubules afgeskei en/of herabsorbeer word nie. Aangesien die toets egter tegnies moeilik is, het die kliniese gebruik daarvan nie algemeen byval gevind nie.

Daar is gevind dat 'n groep radio-isotope hulle soos ware filtrasiemerkers gedra, soos onder andere EDTA en diëtileen-triamienpenta-asynsuur (DTPA).<sup>10,11</sup> Die bepaling van die aktiwiteit van die stowwe in die plasma en/of urine lewer 'n maklike en ook gerieflike metode om in die kliniese milieu die glomerulêre filtratiespoed te bepaal.

Die <sup>51</sup>Cr-EDTA bind slegs in 'n baie klein mate aan die plasma-proteïene en word uitsluitlik deur die niere uitgeskei. Daar is ook bevind dat die retensie in die liggaam na 'n paar dae minder as 1% is.

Die tegnieke is deur verskeie outeurs geëvalueer, met uitstekende resultate:

Shemesh *et al.*<sup>12</sup> het bevind dat die opruiming van DTPA baie goed vergelyk met dié van inulien in die pasiënte wat geëvalueer is. Die opruiming van kreatinien verskil soveel van dié van inulien dat dit 'n vals hoë waarde gee. In baie gevalle sal die kreatinien aanvanklik nie 'n vermindering in die glomerulêre filtratiespoed aantoon nie, aangesien daar in die teenwoordigheid van nierskade toenemend kreatinien deur die tubules afgeskei word — in so 'n mate dat kreatinien eers sal styg wanneer daar meer as 50% inkorting in nierfunksie is.

Smart *et al.*<sup>13</sup> bepaal die glomerulêre filtratiespoed en ook die effektiewe renale plasmavloei met 'n kombinasie van chroom-EDTA en jodium-hippuraat, en bevind dat dit 'n maklike en akkurate tegniek is.

Chantler en Barratt<sup>14</sup> bepaal ook die glomerulêre filtratiesnelheid met <sup>51</sup>Cr-EDTA en die eksponensiële vervalkurwe. Hulle bevind dat die mate van herhaalbaarheid en ook akkuraatheid meer betroubaar is as dié van kreatinien.

Russell *et al.*<sup>15</sup> evalueer die tegniek om glomerulêre filtratiespoed te bepaal sonder om urine te versamel, deur slegs die uitwaskurwe in die bloed te bepaal. Hulle bevind dat die metode eenvoudig is en dat die versameling van slegs 2 monsters in plaas van die klassieke 8 net sulke betroubare waardes gee. Ditzel *et al.*<sup>16</sup> het reeds in 1972 dieselfde tipe tegniek met goeie gevolg gebruik. Hulle het egter van die versameling van 4 monsters gebruik gemaak.

Met die ondersoek in gevorderde nierversaking bevind Manz *et al.*<sup>17</sup> dat die gebruik van <sup>51</sup>Cr-EDTA en die neem van 1 bloedmonster in 24 uur 'n betroubare weergawe van glomerulêre filtratiespoed gee. Die bevindings is verder benadruk deur werk deur Bröchner-Mortensen, Silkalns *et al.* en Huttenun *et al.*<sup>18-20</sup>

Die tegniek waar gebruik gemaak word van die plasma-uitwaskurwe van <sup>51</sup>Cr-EDTA om sodoende die glomerulêre



filtrasiespoed te bepaal, is goed geëvalueer en betroubaar bevind. Daarbenewens het die eenvoud van die tegniek daartoe bygedra dat dit as die nuwe verwysingsmetode vir die bepaling van glomerulêre filtrasiespoed bestempel word.<sup>21</sup>

Met die aankoms van die rekenaar is die metode van bepaling baie meer verfyn deur programme te gebruik wat die dubbele eksponensiaalregressie en ook passings vinnig doen en dan die glomerulêre filtrasiespoed bepaal.<sup>22-23</sup> In die studie is gebruik gemaak van die metode soos reeds in 1972 deur Ditzel *et al.*<sup>16</sup> beskryf.

Die primêre doel van die studie was om aan te toon dat die bepaling van die glomerulêre filtrasiespoed met die <sup>51</sup>Cr-EDTA 'n herhaalbare ondersoek is in die kritiek siek pasiënt en dat dit 'n makliker uitvoerbare ondersoek is as die kreatinienopruiming, wat eweneens akkurate resultate lewer. Daar is bevind dat die bepaling van die glomerulêre filtrasiespoed met die isotoop 'n eenvoudige prosedure is wat 'n antwoord binne die bestek van 4 uur lewer. In die bepaling word gebruik gemaak van 'n eenvoudige teller van die aktiwiteit en 'n persoonlike rekenaar om die berekenings te doen.

Dit is bekend dat die glomerulêre filtrasiespoed 'n wisselende maatstaf is, en tog het die ondersoek getoon dat die verskille relatief klein was: (sien Tabel IV). Vir die ooreenstemmende tydperke (0 - 4 uur) toon die kreatinienopruiming 'n baie groter variansie, soos gesien kan word in Tabel II.

Met hierdie data wil dit voorkom asof die bepaling van die glomerulêre filtrasiespoed van groot nut kan wees in die intensiewesorgeenheid, aangesien dit meer akkuraat blyk te wees, makliker is om te versamel en ook gouer data lewer as die bepaling van die glomerulêre filtrasiespoed deur middel van kreatinienopruiming.

Dank aan die Departement Biofisika wie se fasiliteite gebruik is in die uitvoer van die projek en wat ook die rekenaarprogram verfyn het.

#### VERWYSINGS

1. Miller BF, Winkler AW. The renal excretion of endogenous creatinine in man. *J Clin Invest* 1938; 17: 13-40.
2. Bennet WM, Rapoport A. Estimation of creatinine clearance as a clinical measure of glomerular filtration rate. *Br Med J* 1971; 4: 84-86.
3. Bricker NS, Bourgoigne JJ, Weber H. The renal response to progressive nephron loss. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *The Kidney*. Philadelphia: WB Saunders, 1976.
4. Bauer JM, Brooks CS, Burch RN. Clinical appraisal of creatinine clearance as a measurement of glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 1982; 2: 337-346.
5. Blyte WM. The endogenous creatinine clearance. *Am J Kidney Dis* 1982; 2: 321-323.
6. Deen WM, Robertson CR, Breener BM. Transcapillary fluid exchange in the renal cortex. *Circ Res* 1973; 33: 1-8.
7. Maddox DA, Bennett CM, Deen WM *et al.* Determinants of glomerular filtration in the experimental glomerulonephritis in the rat. *J Clin Invest* 1975; 55: 305-318.
8. Allison MEM, Wilson CB, Gottschalk CW. Pathophysiology of the experimental glomerulonephritis in rats. *J Clin Invest* 1974; 53: 1402-1423.
9. Bohrer MP, Baylis C, Robertson CR. Mechanism of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. *J Clin Invest* 1977; 69: 152-161.
10. Sigman EM, Elwood C, Reagen ME, Morris AM, Catanzaro A. The renal clearance of I labelled sodium iothalamate in man. *Invest Urol* 1965; 2: 432-438.
11. Dubovsky EV, Russel CD. Quantitation of renal function with glomerular and tubular agents. *Semin Nucl Med* 1982; 12: 308-329.
12. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration maker in the glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985; 28: 830-838.
13. Smart R, Trew P, Burkej, Lyons N. Simplified estimation of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow. *Eur J Nucl Med* 1981; 6: 249-253.
14. Chantler C, Barratt TM. Estimation of glomerular filtration rate from the plasma clearance of 51-chromium edetic acid. *Arch Dis Child* 1972; 47: 613-617.
15. Russell CD, Bischoff PG, Kontzen FN *et al.* Measurement of glomerular filtration rate: Single injection plasma clearance method without urine collection. *J Nucl Med* 1985; 26: 1243-1247.
16. Ditzel J, Vestergaard P, Briklov M. Glomerular filtration rate determination by 51-Cr EDTA-complex. *Scand J Urol Nephrol* 1972; 6: 166-170.
17. Manz F, Alatas H, Kochen W, Lutz P, Reblen W, Schärer K. Determination of glomerular function in advanced renal failure. *Arch Dis Child* 1977; 52: 721-724.
18. Bröchner-Mortensen J. A simple method for the determination of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1974; 30: 271-274.
19. Silkalns GI, Jeck D, Earon J *et al.* Simultaneous measurement of glomerular filtration rate and renal plasma flow using plasma disappearance curves. *J Pediatr* 1973; 83: 749-757.
20. Huttenun K, Huttenun NP, Kiovola A, Ahonen A, Puukka R. <sup>99m</sup>Tc DTPA: a useful clinical tool for the measurement of glomerular filtration rate. *Scand J Urol Nephrol* 1982; 16: 237-241.
21. Granerus G, Aurell M. Reference values for 51-Cr EDTA clearance as a measure of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Invest* 1981; 41: 611-616.
22. Green JR. A computer program for the analysis of the double isotope renal clearance assays. *Int J Biomed Comp* 1983; 14: 23-30.
23. Nielsen-Kudsk F. Pharmacokinetic curve fitting and parameter determination by non-linear, iterative least squares regression analysis using a programmed minicalculator. *Int J Biomed Comp* 1981; 12: 503-517.