

Daria Tomczyk<sup>1</sup>, Anna Jander<sup>1</sup>, Sławomir Chrul<sup>1</sup>, Tomasz Moszura<sup>2</sup>, Paweł Dryżek<sup>2</sup>,  
Wojciech Krajewski<sup>3</sup>, Ewa Głowacka<sup>4</sup>, Marcin Tkaczyk<sup>1,5</sup>

Received: 02.05.2016  
Accepted: 12.07.2016  
Published: 30.12.2016

## Ostre uszkodzenie nerek po środkach kontrastowych u dzieci z wadami układu krążenia – wyniki badania pilotażowego

### Contrast-induced acute kidney injury in children with cardiovascular defects – results of a pilot study

<sup>1</sup> Klinika Pediatrii, Immunologii i Nefrologii, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Łódź, Polska

<sup>2</sup> Klinika Kardiologii, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Łódź, Polska

<sup>3</sup> Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Medycznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Łódź, Polska

<sup>4</sup> Centrum Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Łódź, Polska

<sup>5</sup> Zakład Dydaktyki Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska

Adres do korespondencji: Daria Tomczyk, Klinika Pediatrii, Immunologii i Nefrologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź, e-mail: daria.tomczyk@hotmail.co.uk

<sup>1</sup> Department of Paediatrics, Immunology and Nephrology, Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute, Łódź, Poland

<sup>2</sup> Department of Cardiology, Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute, Łódź, Poland

<sup>3</sup> Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute, Łódź, Poland

<sup>4</sup> Laboratory Diagnostics Centre, Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute, Łódź, Poland

<sup>5</sup> Department of Paediatric Didactics, Medical University of Lodz, Łódź, Poland

Correspondence: Daria Tomczyk, Department of Paediatrics, Immunology and Nephrology, Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute, Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź, Poland, e-mail: daria.tomczyk@hotmail.co.uk

#### Streszczenie

**Wprowadzenie:** Ostre pokontrastowe uszkodzenie nerek jest nabytym uszkodzeniem nerek oraz istotnym czynnikiem krótko- i długoterminowych powikłań sercowo-naczyniowych. Ostre uszkodzenie nerek nadal rozpoznaje się na podstawie oznaczenia stężenia kreatyniny w surowicy. Stężenie kreatyniny wydaje się zbyt późnym markerem ostrego pokontrastowego uszkodzenia nerek, gdyż wzrasta z reguły w 1.–3. dobie po dożylnym podaniu środków kontrastowych. Obecnie poszukuje się czulszych biomarkerów uszkodzenia nerek. W piśmiennictwie wyróżnia się ludzką lipokalinę neutrofilową jako troponinopodobny marker wczesnego uszkodzenia nerek. **Cel badania:** Ocenie poddano zmiany stężenia ludzkiej lipokaliny neutrofilowej w moczu i surowicy u dzieci z wrodzonymi wadami serca po planowej procedurze cewnikowania serca. **Materiał i metody:** Grupa badana składała się z 16 pacjentów. Stężenie lipokaliny neutrofilowej i kreatyniny oraz wskaźnik lipokalina neutrofilowa/kreatynina w moczu i surowicy oceniono pięciokrotnie w różnych odstępach czasu. Grupa badana nie różniła się pod względem czynności nerek, procedury przygotowawczej i nawodnienia do zabiegu. **Wyniki:** W ocenionym materiale stwierdzono wzrost mediana stężenia ludzkiej lipokaliny neutrofilowej już w 2. godzinie od podania kontrastu w stosunku do wartości wyjściowych [mediana = 28,2 ng/ml (kwartył 1. = 22,8 – kwartył 3. = 33,77) vs mediana = 25,87 ng/ml (kwartył 1. = 19,4 – kwartył 3. = 29,6)]. Najwyższe stężenie lipokaliny neutrofilowej w surowicy występowało w 6. godzinie badania: mediana = 30,6 ng/ml (kwartył 1. = 22,32 – kwartył 3. = 42,17), po czym obniżało się do wartości wyjściowych. Wydalanie lipokaliny neutrofilowej z moczem wzrosło w 24. godzinie badania, by zmniejszyć się poniżej wartości wyjściowych w 48. godzinie. Nieznaczne upośledzenie filtracji kłębuszkowej obserwowano od 2. do 6. godziny badania, później stwierdzono poprawę w zakresie szacunkowej filtracji kłębuszkowej. **Wnioski:** Analiza wyników wskazuje na przydatność oznaczania stężenia ludzkiej lipokaliny neutrofilowej w diagnostyce wczesnego pokontrastowego uszkodzenia nerek u dzieci. Wskaźniki uszkodzenia nerek w tej sytuacji klinicznej wzrastają już w 2. godzinie od dożylnego zastosowania środków kontrastowych.

**Słowa kluczowe:** ostre pokontrastowe uszkodzenie nerek, wrodzone wady serca, angiografia, ludzka lipokalina neutrofilowa

#### Abstract

**Introduction:** Contrast-induced nephropathy – acute kidney injury is an acquired kidney injury that is an important factor in short- and long-term cardiovascular complications. Contrast-induced nephropathy – acute kidney injury continues to be diagnosed based on serum creatinine level. Serum creatinine, however, is a delayed indicator of contrast-induced nephropathy, as its levels typically peak between 1 and 3 days following contrast exposure. Currently, more sensitive biomarkers of kidney injury are sought, with human neutrophil lipocalin (also known as neutrophil gelatinase-associated lipocalin) highlighted

in literature as a troponin-like biomarker of early nephropathy. **Aim of the study:** Changes in serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels were assessed in children with congenital heart diseases, following a scheduled cardiac catheterization procedure. **Material and methods:** The group studied comprised 16 patients. The neutrophil gelatinase-associated lipocalin and creatinine levels, along with urine and serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin/creatinine ratio were evaluated five times at different time intervals from the procedure. The group did not vary in respect of kidney function, preprocedure management, and volume expansion (hydration therapy) prior to the procedure. **Results:** In the assessed material, median neutrophil gelatinase-associated lipocalin rose as early as 2 hours after exposure to contrast as compared with baseline [median = 28.2 ng/mL (Quartile 1 = 22.8 – Quartile 3 = 33.77) vs. median = 25.87 ng/mL (Quartile 1 = 19.4 – Quartile 3 = 29.6)]. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin level peaked in hour 6 of our study: median – 30.6 ng/mL (Quartile 1 = 22.32 – Quartile 3 = 42.17), then reverting to normal. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin peaked in hour 24 of the study, subsequently dropping below baseline in hour 48. Glomerular filtration was slightly impaired between hour 2 and 6, and later improvement of estimated glomerular filtration rate was noted. **Conclusions:** The analysis of the obtained results indicates the usefulness of measuring neutrophil gelatinase-associated lipocalin level for the diagnosis of early contrast-induced nephropathy – acute kidney injury in paediatric patients. Contrast-induced nephropathy – acute kidney injury biomarkers in such clinical circumstances elevate as early as 2 hours after intravenous administration of contrast agents.

**Key words:** contrast-induced nephropathy – acute kidney injury, congenital heart defects, angiography, neutrophil gelatinase-associated lipocalin

## WSTĘP

Ostre uszkodzenie nerek (*acute kidney injury*, AKI) definiowane jest jako stan nagłego upośledzenia funkcji nerek. Pokontrastowe uszkodzenie nerek (*contrast-induced nephropathy – acute kidney injury*, CIN-AKI) to jedna z trzech najczęstszych przyczyn uszkodzenia nerek w populacji osób dorosłych. W literaturze częstość występowania CIN-AKI szacuje się na 2–25%, a śmiertelność – na około 6%<sup>(1,2)</sup>. Jest to powikłanie jatrogenne związane z istotnie wyższym ryzykiem zgonu w trakcie hospitalizacji i w ciągu roku od rozpoznania<sup>(3)</sup>. W dobie coraz większej dostępności badań diagnostycznych przeprowadzanych z użyciem kontrastu będzie to powikłanie coraz częstsze. Ryzyko wystąpienia CIN-AKI zależy od obecności innych obciążeń u pacjenta, ilości i rodzaju stosowanego kontrastu oraz procedury wymagającej zastosowania środka kontrastowego. Wczesne rozpoznanie uszkodzenia nerek jest istotne w prewencji trwałego uszkodzenia nerek, powikłań sercowo-naczyniowych i zgonu.

Nefropatię pokontrastową definiuje się jako co najmniej 25-procentowy wzrost stężenia kreatyniny w surowicy lub obniżenie o co najmniej 25% szacunkowej filtracji kłębuszkowej (*estimated glomerular filtration rate*, eGFR) w ciągu 48–72 godzin po dożylnym podaniu kontrastu. Wzrost stężenia kreatyniny może wystąpić nawet do 7 dni od momentu zadziałania czynnika uszkadzającego. Niestety, u około 41% pacjentów we wczesnej fazie AKI stężenie kreatyniny w surowicy jest prawidłowe, co opóźnia rozpoczęcie prawidłowego leczenia<sup>(4)</sup>.

Do zabiegów diagnostycznych, którym towarzyszy najwyższe ryzyko wystąpienia nefropatii kontrastowej, należą zabiegi kardiologii inwazyjnej, w tym cewnikowanie serca. Dawka stosowanego kontrastu jest standardowo wysoka, a dzieci mogą być bardziej podatne na jej działania niepożądane z powodu zespołu sercowo-nerkowego.

## INTRODUCTION

Acute kidney injury (AKI) is defined as acute impairment of kidney function. Contrast-induced nephropathy – acute kidney injury (CIN-AKI) is among the three most common causes of kidney injury in adult population. The literature of the subjects estimates CIN-AKI incidence at 2–25%, and CIN-AKI-related mortality rate – at approx. 6%<sup>(1,2)</sup>. It is an iatrogenic complication associated with a significantly increased risk of in-hospital and 1-year mortality<sup>(3)</sup>. In the era of increasing availability of contrast-enhanced diagnostic examinations, it is a complication that is bound to become more and more common. The risk for CIN-AKI depends on a given patient's history, the amount and type of the contrast agent used, and the given procedure. Early identification of nephropathy is crucial to prevent permanent kidney injury, cardiovascular complications, and death.

Contrast-induced nephropathy (CIN) is defined as a minimum 25% serum creatinine (SCr) increase or a minimum 25% decrease of estimated glomerular filtration rate (eGFR) within 48–72 hours upon intravenous contrast administration. Elevated SCr level may occur up to 7 days from contrast exposure. Unfortunately, in about 41% of patients with an early AKI stage, SCr level is normal, delaying adequate management<sup>(4)</sup>.

The diagnostic procedures with the largest risk for CIN include invasive cardiac procedures, including cardiac catheterization. The default amount of the contrast used is high, while children may be more at risk for its adverse effects owing to the cardiorenal syndrome (CRS). No detailed data are available as regards the risk for nephropathy following angiography in paediatric population, yet 9% is an estimation found in some publications<sup>(5)</sup>.

Human neutrophil lipocalin (HNL), also known as neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), appears to be one of the most promising biomarkers in such clinical

Nie ma dokładnych danych na temat ryzyka nefropatii po angiografii w populacji dziecięcej; w niektórych publikacjach szacowane jest ono na około 9%<sup>(5)</sup>.

Jednym z najbardziej obiecujących markerów w takiej sytuacji klinicznej wydaje się ludzka lipokalina neutrofilowa (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL)<sup>(6)</sup>. Wzrost jej stężenia w surowicy krwi można stwierdzić już po 2 godzinach, a w moczu – po 4 godzinach od podania kontrastu<sup>(7)</sup>. Możliwość oznaczenia stężenia w moczu czyni NGAL markerem nieinwazyjnym i łatwym do oznaczenia. Wzrost stężenia NGAL w moczu i surowicy w początkowych 24 godzinach po dożylnym podaniu środków kontrastowych może poprzedzać wzrost stężenia kreatyniny w surowicy, jak również być markerem predykcijnym uszkodzenia nerek<sup>(6)</sup>.

## CEL BADANIA

Celem prowadzonego badania jest ocena występowania AKI po zabiegach cewnikowania serca u dzieci z wadami układu krążenia. Badanie ma ocenić dynamikę zmian stężenia NGAL w moczu i surowicy oraz wskaźnika NGAL/kreatynina w moczu, a także ich korelację ze wzrostem stężenia kreatyniny w surowicy lub obniżeniem eGFR.

## MATERIAŁ I METODY

Badanie pilotażowe było prospektywną próbą kliniczną u dzieci z wadami układu krążenia poddawanych cewnikowaniu serca w celach diagnostycznych lub diagnostyczno-terapeutycznych. Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki.

Badaniem objęto grupę 16 dzieci w wieku od 7. doby życia do 10. roku życia. Kryteriami włączenia do badania były: wrodzona wada serca wymagająca wykonania planowej angiografii, wiek od 0. do 18. roku życia, świadoma zgoda na badanie. Kryteria wyłączenia obejmowały: stosowanie leków nefrotoksycznych lub wpływających na oceniane parametry tuż przed badaniem, ostrą niewydolność krążenia, resuscytację krążeniowo-oddechową lub zgon w trakcie badania, zakażenia dróg moczowych w trakcie badania, choroby upośledzające czynność nerek lub pierwotne uszkodzenie czynności nerek ( $eGFR < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ), przetoczenie produktów krwiopochodnych w trakcie badania.

## Grupa badana

Grupę badaną stanowiło 12 dzieci płci męskiej i 4 dzieci płci żeńskiej. Mediana wieku wynosiła 35,5 miesiąca (13,25–77,0 miesięcy). U 9 pacjentów występowała wada sinicza, u pozostałych – wada niesinicza. Dwoje dzieci miało nadciśnienie płucne. Charakterystykę uczestników badania przedstawiono w tab. 1.

Wszyscy chorzy na 6 godzin przed zabiegiem i 6 godzin po zabiegu byli nawadniani 2–4 ml/kg/h. U każdego pacjenta użyto tego samego środka kontrastowego w dawce

circumstances<sup>(6)</sup>. Its increase in serum may be detected as early as in hour 2, and in urine – in hour 4 upon contrast exposure<sup>(7)</sup>. The possibility of determining NGAL level in urine makes NGAL a noninvasive biomarker that is easy to measure. The rise of urine and serum NGAL level within the initial 24 hours from intravenous contrast administration may precede the increase of SCr level, serving as a harbinger of kidney injury<sup>(6)</sup>.

## AIM OF THE STUDY

The study was aimed at evaluating AKI incidence following cardiac catheterization in children with cardiovascular defects. The study's objective was to evaluate the dynamics of urine and serum NGAL level changes and urine NGAL/creatinine ratio as well as their correlation with SCr level increase or eGFR decrease.

## MATERIAL AND METHODS

The pilot study was a prospective clinical trial conducted in children with congenital cardiovascular defects undergoing cardiac catheterization for diagnostic or diagnostic and therapeutic purposes. The study was approved by the Bioethics Committee of the Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute in Łódź.

The study covered a group of 16 children aged 7 days to 10 years old. The inclusion criteria applied included a congenital heart defect requiring a scheduled angiography, age of 0–18 years and informed consent, whereas the exclusion criteria included nephrotoxic medication and medication affecting the evaluated parameters directly before the study's onset, acute cardiovascular failure, cardiopulmonary resuscitation or death during the study, active urinary infection, diseases impairing kidney function or primary renal failure ( $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ), transfusion of blood products during the study.

## Studied group

The studied group comprised 12 male and 4 female children. The median age was 35.5 months (13.25–77.0 months). Nine patients suffered from a cyanotic heart defect (CHD), and 7 – from a non-cyanotic one. Two children had from pulmonary hypertension. For the characteristics of study participants see Tab. 1.

All the patients received hydration therapy of 2–4 mL/kg/h 6 hours prior to the procedure and 6 hours afterwards. The same contrast agent was used in all patients, in a dosage of 1 mL/kg. The median procedure time was 97.5 minutes (83.75–120 min). Five of the evaluated patients underwent diagnostic angiography, whereas the remaining ones underwent a diagnostic and therapeutic procedure. Prior to the procedure, all the patients had a normal SCr level [ $M = 0.3 \text{ mg/dL}$  (Quartile 1 = 0.3 – Quartile 3 = 0.4)] and normal kidney function [ $M = 151.16 \text{ mL/min/1.73 m}^2$  (Quartile 1 = 124.5 – Quartile 3 = 177.26)].

Nr pacjenta <i>Patient number</i>	Wiek <i>Age</i>	Płeć <i>Sex</i>	Rozpoznanie <i>Diagnosis</i>	PH	Procedura <i>Procedure</i>	eGFR [ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ]
1	7 d.	M	AS	Nie <i>No</i>	Walwuloplastyka <i>Valvuloplasty</i>	23,66*
2	95 mies. <i>95 months</i>	M	TGA, DILV	Nie <i>No</i>	Zamknięcie fenestracji <i>Fenestration closure</i>	174,62
3	37 mies. <i>37 months</i>	M	PDA	Nie <i>No</i>	Zamknięcie PDA <i>PDA closure</i>	170,5
4	11 mies. <i>11 months</i>	M	HLHS	Nie <i>No</i>	Angioplastyka LPA <i>LPA angioplasty</i>	80,4*
5	14 mies. <i>14 months</i>	K	BWGS, VSD	Nie <i>No</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	115,5
6	37 mies. <i>37 months</i>	M	DILV, VSD	Nie <i>No</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	185,17
7	71 mies. <i>71 months</i>	M	MS, MR, AR	Tak <i>Yes</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	199,83
8	124 mies. <i>124 months</i>	M	ToF	Nie <i>No</i>	Angioplastyka RPA + stent <i>RPA angioplasty + stent</i>	147,4
9	5 mies. <i>5 months</i>	K	AVSD, HRHS	Nie <i>No</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	111,6
10	8 mies. <i>8 months</i>	M	HLHS	Tak <i>Yes</i>	Stent do LPA <i>LPA stenting</i>	127,8
11	34 mies. <i>34 months</i>	M	PDA	Nie <i>No</i>	Zamknięcie PDA <i>PDA closure</i>	161,33
12	165 mies. <i>165 months</i>	K	ToF	Nie <i>No</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	218,62
13	19 mies. <i>19 months</i>	M	ToF	Nie <i>No</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	127,5
14	26 mies. <i>26 months</i>	M	HLHS	Nie <i>No</i>	Angioplastyka LPA <i>LPA angioplasty</i>	155,83
15	130 mies. <i>130 months</i>	K	TGA	Nie <i>No</i>	Diagnostyczna <i>Diagnostics</i>	204,87
16	40 mies. <i>40 months</i>	M	PDA	Nie <i>No</i>	Zamknięcie PDA <i>PDA closure</i>	137,5

\* Prawidłowe w zakresie wartości referencyjnych dla wieku.

\* Within the normal age-specific reference range.

**PH** – pulmonary hypertension, nadciśnienie płucne; **AS** – aortic stenosis, stenoza aortalna; **TGA** – transposition of great arteries, przełożenie wielkich naczyń; **DILV** – double inlet left ventricle, dwunapływowa lewa komora; **PDA** – patent ductus arteriosus, przetrwały przewod tętniczy; **HLHS** – hypoplastic left heart syndrome, zespół hipoplazji lewego serca; **BWGS** – Bland–White–Garland syndrome, zespół Blanda–White’a–Garlanda; **VSD** – ventricular septal defect, otwór w przegrodzie międzykomorowej; **MS** – mitral stenosis, stenoza mitralna; **MR** – mitral regurgitation, niedomykalność zastawki mitralnej; **AR** – aortic regurgitation, niedomykalność zastawki aortalnej; **ToF** – tetralogy of Fallot, tetralogia Fallota; **AVSD** – atrioventricular septal defect, ubytek w przegrodzie międzykomorowej i międzyprzedsionkowej; **HRHS** – hypoplastic right heart syndrome, zespół hipoplazji prawego serca; **LPA** – left pulmonary artery, lewa tętnica płucna; **RPA** – right pulmonary artery, prawa tętnica płucna.

**PH** – pulmonary hypertension; **AS** – aortic stenosis; **TGA** – transposition of great arteries; **DILV** – double inlet left ventricle; **PDA** – patent ductus arteriosus; **HLHS** – hypoplastic left heart syndrome; **BWGS** – Bland–White–Garland syndrome; **VSD** – ventricular septal defect; **MS** – mitral stenosis; **MR** – mitral regurgitation; **AR** – aortic regurgitation; **ToF** – tetralogy of Fallot; **AVSD** – atrioventricular septal defect; **HRHS** – hypoplastic right heart syndrome; **LPA** – left pulmonary artery; **RPA** – right pulmonary artery.

Tab. 1. Charakterystyka kliniczna grupy badanej i eGFR (filtracja kłębuszkowa) przed zabiegiem

Tab. 1. The clinical characteristics of the studied group and eGFR (glomerular filtration) prior to the procedure

1 ml/kg. Mediana czasu trwania zabiegu wynosiła 97,5 minuty (83,75–120 minut). Pięcioro badanych miało wykonaną angiografię diagnostyczną, pozostali przebyli zabieg diagnostyczno-terapeutyczny. Wszystkie dzieci przed zabiegiem miały prawidłowe stężenie kreatyniny w surowicy [ $Me = 0,3$  mg/dl (kwartył 1. = 0,3 – kwartył 3. = 0,4)] oraz prawidłową szacunkową czynność nerek [ $Me = 151,16$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (kwartył 1. = 124,5 – kwartył 3. = 177,26)].

## Metodyka

U pacjentów oceniano nawodnienie i diurezę przed badaniem, w jego trakcie i po nim. Przez cały okres badania

## Methodology

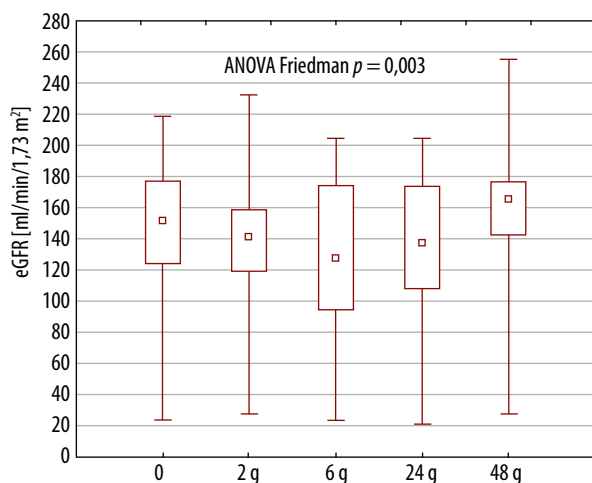
Hydration and diuresis were evaluated before, during, and after the procedure. Throughout the procedure, the patient's blood pressure was monitored. Before and after the procedure left ventricular (LV) systolic function was evaluated based on the ejection fraction (LVEF). Also, the dosage and type of contrast used as well as the length of the procedure were analysed. Urine and blood were first analysed prior to angiography, and then in hour 2, 6, 24, and 48 after the completion of contrast exposure. Bedside Schwartz formula was used to calculate eGFR<sup>(8)</sup>. A decrease in eGFR of 25% as compared with baseline was assumed as AKI criterion.

monitorowano ciśnienie tętnicze. Przed badaniem i po nim oceniono funkcję skurczową lewej komory serca na podstawie frakcji wyrzutowej. Oceniano również dawkę i rodzaj zastosowanego kontrastu oraz długość badania. Pierwsze badania moczu i krwi wykonywano przed procedurą angiografii, a kolejne – w 2., 6., 24. i 48. godzinie od zakończenia podawania kontrastu. Szacunkowe przesączanie kłębuszkowe obliczono na podstawie wzoru Schwartz<sup>(8)</sup>. Za kryterium AKI przyjęto 25-procentowe obniżenie eGFR w stosunku do wartości wyjściowych.

Dane oceniono pod względem zgodności rozkładu cechy z normalnym. Zmienne mierzalne opisano za pomocą mediany i przedziałów centylowych. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testów nieparametrycznych (Wilcoxon i ANOVA Friedmana), za istotne statystycznie przyjęto wartości  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

W 2. godzinie po zabiegu u 4 chorych stwierdzono obniżenie eGFR o 25% względem wartości wyjściowych, ale tylko u 2 pacjentów GFR spadło poniżej 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. W 6. godzinie odnotowano najbardziej istotne obniżenie GFR [ $Me = 127,68$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (93,9–174,69)] w stosunku do wyjściowych wartości GFR [ $Me = 151,62$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (124,5–177,26)], a w 48. godzinie szacunkowa czynność nerek powróciła do wartości wyjściowych ( $p = 0,032$ ) (ryc. 1). Mediana stężenia NGAL w surowicy również narastała do 6. godziny badania w stosunku do wartości wyjściowych [30,6 ng/ml (22,32–42,17) vs 25,87 ng/ml (19,4–29,6)], a następnie powoli wracała do wartości wyjściowych w 48. godzinie [21,5 ng/ml (16,15–32,35)] ( $p = 0,031$ ) (ryc. 2). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic stężenia NGAL w moczu oraz wskaźnika wydalania NGAL/kreatyniny w moczu



Ryc. 1. Zmiana eGFR (szacunkowej filtracji kłębuszkowej) w trakcie badania

Fig. 1. eGFR changes (estimated glomerular filtration) during the study

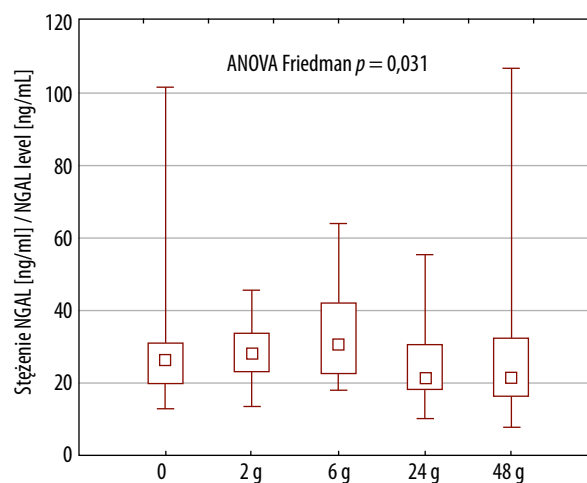
The data were evaluated in respect of their distribution within the normal range. The quantitative variables were described using median and percentile ranks. The statistical analysis was conducted using nonparametric tests, e.g. Wilcoxon signed-rank test, and Friedman test, with  $p < 0.05$  set as significance threshold.

## RESULTS

In hour 2 after the procedure, a decrease in eGFR of 25% compared to baseline was found in 4 patients, yet only in 2 patients GFR dropped below 90 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. In hour 6 the most significant GFR decrease was noted [ $M = 127.68$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (93.9–174.69)] compared with baseline [ $M = 151.62$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (124.5–177.26)], whereas in hour 48 the estimated kidney function reverted to baseline ( $p = 0.032$ ) (Fig. 1). Median serum NGAL level also increased until hour 6 as compared with baseline [30.6 ng/mL (22.32–42.17) vs. 25.87 ng/mL (19.4–29.6)], then slowly decreased, reverting to baseline in hour 48 [21.5 ng/mL (16.15–32.35)] ( $p = 0.031$ ) (Fig. 2). No statistically significant changes in urine NGAL level and NGAL/creatinine ratio were found in successive hours of the study (Tab. 2). Nonetheless, a tendency for urine NGAL level peak in hour 24 and its return to baseline in hour 48 were observed. In hour 48 all the patients had normal SCr level and normal eGFR. Diuresis, monitored for 48 hours following the procedure, was normal in all patients.

## DISCUSSION

The data we have acquired show serum and urine NGAL level to have increased in the initial 6 hours following contrast exposure, starting with hour 2. The estimated kidney function decreased significantly in hour 6 after the



Ryc. 2. Zmiana stężenia NGAL (lipokaliny neutrofilowej) w surowicy w trakcie badania

Fig. 2. Serum NGAL (neutrophil lipocalin) level changes during the study

	Wyjściowe, mediana (kwartyle 1.–3.) <i>Baseline, median (Quartile 1–3)</i>	2 godziny, mediana (kwartyle 1.–3.) <i>Hour 2, median (Quartile 1–3)</i>	6 godzin, mediana (kwartyle 1.–3.) <i>Hour 6, median (Quartile 1–3)</i>	24 godziny, mediana (kwartyle 1.–3.) <i>Hour 24, median (Quartile 1–3)</i>	48 godzin, mediana (kwartyle 1.–3.) <i>Hour 48, median (Quartile 1–3)</i>
<b>Stężenie NGAL – surowica [ng/ml]</b> <i>Serum NGAL level [ng/mL]</i>	25,87 (19,4–29,6)	28,2 (22,8–33,77)	30,6 (22,32–42,17)	21,3 (17,9–30,57)	21,5 (16,15–32,35)
<b>Stężenie NGAL – mocz [ng/ml]</b> <i>Urine NGAL level [ng/mL]</i>	2,66 (1,21–5,42)	1,45 (0,88–1,53)	1,15 (0,89–1,86)	3,23 (1,20–9,78)	2,12 (0,89–3,81)
<b>NGAL/kreatynina w moczu [ng/mg]</b> <i>Urine NGAL/creatinine ratio [ng/mg]</i>	0,124 (0,018–0,238)	0,120 (0,042–0,187)	0,119 (0,027–0,232)	0,076 (0,048–0,663)	0,086 (0,026–0,217)
<b>Stężenie kreatyniny – surowica [mg/dl]</b> <i>SCr level [mg/dL]</i>	0,3 (0,3–0,4)	0,3 (0,3–0,4)	0,4 (0,3–0,42)	0,4 (0,3–0,4)	0,3 (0,3–0,4)
<b>eGFR [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b> <i>eGFR [mL/min/1.73 m<sup>2</sup>]</i>	151,62 (124,5–177,26)	141,62 (119,32–159,5)	127,69 (93,9–174,69)	137,64 (107,61–174,69)	165,92 (142,42–177,01)

Tab. 2. Wyniki badań NGAL (lipokaliny neutrofilowej) i eGFR (szacunkowej filtracji kłębuszkowej) w grupie badanej

Tab. 2. NGAL (neutrophil lipocalin) and eGFR (estimated glomerular rate) findings in the studied group

w kolejnych godzinach badania (tab. 2). Niemniej jednak odnotowano tendencję do narastania stężenia NGAL w moczu badanym w 24. godzinie i normalizację do wartości wyjściowych w 48. godzinie. Wszyscy pacjenci w 48. godzinie badania mieli prawidłowe stężenie kreatyniny w surowicy i prawidłową szacunkową filtrację kłębuszkową. Diureza monitorowana do 48. godziny po zabiegu była u wszystkich chorych prawidłowa.

## OMÓWIENIE

Uzyskane dane wskazują, że stężenie NGAL w surowicy i moczu wzrastało w pierwszych 6 godzinach (od 2. godziny) po dożylnym podaniu kontrastu. Szacunkowa czynność nerek obniżyła się znacząco w 6. godzinie po zabiegu. W 48. godzinie zarówno stężenie NGAL, jak i szacunkowa czynność nerek powróciły do wartości sprzed angiografii. Stężenie kreatyniny w surowicy utrzymywało się w zakresie wartości prawidłowych przez cały okres badania.

Zapobieganie powikłaniom stosowania środków kontrastowych i wczesne wykrywanie tych powikłań mają znaczenie kliniczne. AKI wpływa na wzrost chorobowości i śmiertelności oraz wydłużenie czasu hospitalizacji. Szacuje się, że w populacji osób dorosłych badania angiograficzne odpowiedzialne są za niemal połowę przypadków pokontrastowego uszkodzenia nerek<sup>(9)</sup>. Pomimo utrzymywania się prawidłowego stężenia kreatyniny w surowicy po dożylnym podaniu kontrastu dochodzi do upośledzenia czynności nerek, szczególnie w pierwszych 24 godzinach po podaniu czynnika nefrotoksycznego<sup>(10)</sup>.

Prewencja AKI u dzieci poddawanych badaniu kontrastowemu obejmuje głównie: odpowiednie nawadnianie od 12 godzin przed przewidzianym zabiegiem, w miarę możliwości doustnie, a dożylnie – hipotonicznym lub izotonicznym roztworem chlorku sodu (nawadnianie dożylnie powinno się kontynuować do 6. godziny po zabiegu), użycie środka kontrastowego o niskiej osmolalności, ograniczenie do minimum ilości podawanego dożylnie kontrastu, alkalizację moczu przy użyciu wodorowęglanu sodu<sup>(9)</sup>. Rozważane jest także stosowanie *N*-acetylocysteiny w celu

procedury. In hour 48, both NGAL level and the estimated kidney function reverted to baseline. SCr level remained normal throughout the entire time of our study.

Prevention of contrast-induced complications and their early detection have major clinical significance. AKI results with increased morbidity and mortality rates as well as longer hospitalization time. In adult population angiography is estimated to account for nearly 50% of contrast-induced nephropathy cases<sup>(9)</sup>. Despite a normal SCr level upon intravenous contrast administration kidney function impairment occurs, typically within the initial 24 hours from the exposure to a nephrotoxic agent<sup>(10)</sup>.

The following elements are the cornerstones of AKI prevention in children undergoing contrast-enhanced procedures: adequate hydration for 12 hours prior to the scheduled procedure, preferably via oral route, wherever intravenous volume expansion is necessary – hypotonic or isotonic sodium chloride solution is administered (intravenous hydration should be continued for 6 hours after the procedure); use of low osmolality contrast agents; limiting contrast administration to the minimum; alkalinisation of urine with sodium bicarbonate<sup>(9)</sup>. Additionally, the use of *N*-acetylcysteine for CIN prevention has been postulated, yet no sufficient body of evidence seems to exist that would support such course of management<sup>(9)</sup>.

Measuring several biomarkers in urine and serum, including NGAL, may be useful for early detection of impaired kidney function<sup>(10)</sup>. NGAL is a small, 25-kilodalton protein expressed in a range of tissues, such as the bone marrow, uterus, prostate, salivary glands, oral cavity, large intestine, lungs, liver, kidneys, and urinary tracts. Its expression rapidly increases in response to ischaemia and toxic factors as well as in the course of neoplastic processes<sup>(10)</sup>.

The usefulness of NGAL for the diagnostics of AKI in children and adults after cardiac surgery procedures has been tested and proven. Studies by numerous authors have suggested a significantly earlier serum and urine NGAL level increase than creatinine level increase as well as its markedly higher sensitivity in AKI detection<sup>(11,12)</sup>. Serum and urine NGAL level elevated significantly as early as in hour 2 after

zapobiegania CIN, nie ma jednak znaczącej liczby dowodów na zasadność takiego postępowania<sup>(9)</sup>.

Oznaczenie kilku markerów w surowicy i w moczu, w tym oznaczenie NGAL, może być pomocne we wczesnym wykrywaniu upośledzenia funkcji nerek<sup>(10)</sup>. NGAL jest małym, 25-kilodaltonowym białkiem eksponowanym w takich tkankach, jak szpik kostny, macica, gruczoł krokowy, gruczoły ślinowe, jama ustna, jelito grube, płuca, wątroba, nerki i drogi moczowe. Ekspresja NGAL gwałtownie wzrasta w odpowiedzi na niedokrwienie i czynniki toksyczne oraz w przebiegu procesów neoplazmatycznych<sup>(10)</sup>.

Udowodniono przydatność NGAL w diagnostyce AKI u dzieci i dorosłych po zabiegach kardiologicznych. Prace wielu autorów wskazały na istotnie wcześniejsze narastanie stężenia NGAL w surowicy i moczu niż stężenia kreatyniny oraz wyraźnie większą czułość omawianego wskaźnika w wykrywaniu AKI<sup>(11,12)</sup>. Stężenie NGAL w surowicy i moczu istotnie wzrastało już w 2. godzinie po operacji kardiologicznej w grupie pacjentów, u których rozwinęła się ostra niewydolność nerek. Rozpoznanie AKI u tych chorych na podstawie stężenia kreatyniny w surowicy było opóźnione o 1–3 dni. Badania wskazują na większą przydatność oznaczenia stężenia NGAL w moczu niż w surowicy<sup>(11,12)</sup>. Metaanaliza przeprowadzona przez Zhou i wsp. potwierdziła przydatność diagnostyczną wykorzystania NGAL we wczesnym wykrywaniu uszkodzenia nerek po zabiegach kardiologicznych, szczególnie w grupie niemowląt i dzieci oraz dorosłych z prawidłową czynnością nerek przed zabiegiem<sup>(13)</sup>. Mimo takich danych pomiary NGAL nie stały się standardem klinicznym – ze względu na różne metody oceny i małe rozpowszechnienie w ośrodkach nieakademickich. W prezentowanym badaniu oceniano dynamikę zmian stężenia NGAL w surowicy i w moczu w podobnej grupie pacjentów. Wyniki podkreślają większą przydatność oznaczenia stężenia NGAL w surowicy. Wzrost stężenia NGAL obserwowano już od 2. godziny badania, ale w 6. godzinie był to wzrost istotny, później zaś następowała normalizacja stężenia do 48. godziny. Podobne wyniki przedstawili Benzer i wsp.<sup>(14)</sup>: stężenie NGAL w surowicy również rosło do 6. godziny badania, a następnie stopniowo obniżało się w 12. i 24. godzinie, lecz tendencja ta nie była istotna statystycznie. Mediana wskaźnika NGAL/kreatynina w moczu wzrastała do 6. godziny, po czym normalizowała się do 24. godziny badania, a różnica mediany tego parametru była istotna statystycznie. W niniejszym badaniu mediana wskaźnika NGAL/kreatynina w moczu również wykazywała tendencję do wzrastania do 6. godziny od zabiegu, a następnie obniżania się aż do całkowitej normalizacji, jednak nie były to różnice istotne statystycznie. Mogło to wynikać z niewielkiej liczebności grupy – tym bardziej że w literaturze pojawiają się doniesienia o wyjściowo wyższej medianie wskaźnika NGAL/kreatynina w moczu u pacjentów z wrodzoną siniczą wadą serca w stosunku do pacjentów zdrowych<sup>(15)</sup>.

Przydatność oznaczenia NGAL u chorych z wrodzoną wadą serca poddawanych angiografii oceniali też Hirsch i wsp.<sup>(16)</sup> W ich badaniu za granicę rozpoznania CIN-AKI uznano

a cardiac procedure in a group of patients who developed acute kidney failure. AKI diagnosis in such patients based on SCr level was delayed by 1–3 days. Studies have indicated the usefulness of urine NGAL level measurement to be superior to that of serum level<sup>(11,12)</sup>. A meta-analysis by Zhou *et al.* has confirmed the diagnostic usefulness of NGAL biomarker for the early detection of AKI following cardiac procedures, particularly in the group of infants and children and adults with normal preprocedure kidney function<sup>(13)</sup>. Despite the existence of such a body of knowledge, NGAL level measurements have not become a clinical standard due to varying evaluation methods and its limited popularity in non-academic medical centres and facilities.

In the above-discussed study, the dynamics of urine and serum NGAL level was evaluated for a similar group of patients. The results highlight the greater usefulness of measuring serum NGAL level. NGAL level increase was noted starting with hour 2 after the procedure, but it was in hour 6 that the elevation was significant, followed by NGAL level gradually normalizing until hour 48, when it reverted to baseline. Similar results have been presented in a study by Benzer *et al.*<sup>(14)</sup>, where serum NGAL level also increased until hour 6 from the procedure, then gradually showing a decrease in hour 12 and 24, yet the tendency was not statistically significant. The median NGAL/creatinine ratio increased for 6 hours following the procedure, then normalized within 24 hours, with the difference in the median ratio being statistically significant. In our study, urine NGAL/creatinine ratio also tended to rise for 6 hours after the procedure, followed by a decrease until it reverted to normal, yet the differences lacked statistical significance. This could be due to the small sample size in our study, especially as there have been reports in literature indicating an initially higher median urine NGAL/creatinine ratio in patients with a congenital cyanotic cardiac defect in comparison to healthy patients<sup>(15)</sup>.

The usefulness of NGAL measurements in patients with congenital heart defects undergoing angiography was also analysed by Hirsch *et al.*<sup>(16)</sup> In their study, CIN-AKI threshold value was assumed as a minimum 50% increase of SCr level, and the group studied was ultimately divided into two subgroups: patients who developed AKI identified based on their creatinine levels, and patients with a stable SCr level. The group with AKI was comprised by 19 patients. Their creatinine levels elevated from hour 6 to hour 24 after the procedure, maximally by 107% compared with baseline. In this group, serum NGAL level 4 times higher than normal in hour 2 of the study preceded a creatinine surge, with NGAL level being 5 times higher than basal values in hour 6. Compared with baseline, urine NGAL level was as much as 8 times higher in hour 2, and 10 times higher in hour 6. NGAL/creatinine ratio was as much as 15 times higher in hour 2 and 22 times higher in hour 6. No significant increase of serum and urine NGAL levels was however demonstrated in the group of patients with a stable SCr level. In the study presented here no such surge of NGAL

minimum 50-procentowy wzrost stężenia kreatyniny w surowicy, a grupę badaną podzielono ostatecznie na pacjentów, którzy rozwinęli AKI zdefiniowane na podstawie stężenia kreatyniny, i pacjentów ze stabilnym stężeniem kreatyniny w surowicy. Grupę z ostrym uszkodzeniem nerek stanowiło 19 chorych, a stężenie kreatyniny wzrastało od 6. do 24. godziny o maksymalnie 107% w stosunku do wartości wyjściowych. W tej grupie czterokrotny wzrost stężenia NGAL w surowicy w 2. godzinie badania wyprzedził wzrost stężenia kreatyniny, a w 6. godzinie stężenie NGAL wzrosło pięciokrotnie względem wartości wyjściowych. Stężenie NGAL wydalanego w moczu wzrosło w 2. godzinie badania aż 8-krotnie, a w 6. godzinie – 10-krotnie w stosunku do wartości wyjściowych. Wskaźnik wydalania NGAL/kreatynina zmienił się aż 15-krotnie w 2. godzinie i 22-krotnie w 6. godzinie. Nie obserwowano natomiast istotnego wzrostu osoczowego stężenia NGAL i wydalania NGAL z moczem w grupie ze stabilnym stężeniem kreatyniny w surowicy. W prezentowanym badaniu nie odnotowano aż tak dynamicznego wzrostu stężenia NGAL, ale grupa badana była zdecydowanie mniejsza, a uszkodzenie nerek zdefiniowano jako minimum 25-procentowy wzrost stężenia kreatyniny w surowicy lub minimum 25-procentowe obniżenie eGFR w stosunku do wartości wyjściowych. Nikt nie spełnił tak wysokich kryteriów jak te zastosowane w badaniu Hirscha i wsp. Nowe biomarkery uszkodzenia nerek nie są szeroko dostępne, lecz ich oznaczenie pozwala na wyselekcjonowanie grupy pacjentów, u których w warunkach ambulatoryjnych stężenie kreatyniny powinno być ściślej monitorowane w okresie do 7 dni od przeprowadzenia procedur z użyciem środków kontrastowych.

## WNIOSKI

1. U dzieci z wadami układu krążenia poddawanych cewnikowaniu serca AKI może być znaczącym problemem klinicznym, nawet jeśli nie ma towarzyszącej wady nerek. Obniżenie filtracji kłębuszkowej następuje już w 2. godzinie po zabiegu.
2. Stężenie lipokaliny neutrofilowej w surowicy krwi może być dobrym wskaźnikiem wczesnego uszkodzenia nerek, ale w badanej populacji narastanie tego wskaźnika jest równoczesne ze zmianami eGFR szacowanego standardową metodą.
3. Nowe biomarkery uszkodzenia nerek nie są szeroko dostępne, lecz ich oznaczenie pozwala na wyselekcjonowanie grupy pacjentów, u których w warunkach ambulatoryjnych stężenie kreatyniny powinno być ściślej monitorowane w okresie do 7 dni od przeprowadzenia procedur z użyciem środków kontrastowych.

### Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

### Źródło finansowania

Badanie finansowano z funduszy statutowych ICZMP. Grant nr: G 2014 IV 42-GW.

level was noted, yet the our group was considerably smaller, while CIN-AKI was defined as a minimum increase in SCR level of 25% or a minimum decrease in eGFR of 25% compared with baseline. No patient met the high criteria applied in the study by Hirsch *et al.*

The novel biomarkers of CIN-AKI are not widely available, yet measuring them allows to identify the group of patients whose creatinine levels require close monitoring on an out-patient basis for 7 days after a contrast-enhanced procedure.

## CONCLUSIONS

1. In paediatric patients with cardiovascular defects undergoing cardiac catheterization AKI may pose a substantial clinical problem even when there is no renal concomitant disease. Decreased glomerular filtration occurs as early as in hour 2 after the procedure.
2. Neutrophil lipocalin concentration in blood serum (serum NGAL level) may be a good indicator of early nephropathy, yet in the studied population the increase of this marker is simultaneous with eGFR estimated with standard measures.
3. The novel biomarkers of nephropathy are not widely available, even though measuring them facilitates identification of the group of patients whose creatinine levels need to be more thoroughly monitored on an out-patient basis for 7 days following a contrast-enhanced procedure.

### Conflict of interest

The authors of this study do not declare any financial or personal links to other persons or organizations that could adversely affect the content of this study or claim rights thereto.

### Funding/Support and role of the sponsor

The study was financed from the statutory funds of the Polish Mother's Memorial Hospital – Research Institute in Łódź. Grant No. G 2014 IV 42-GW.



## Piśmiennictwo / References

- Solomon R, Dauerman HL: Contrast-induced acute kidney injury. *Circulation* 2010; 122: 2451–2455.
- Pannu N, Wiebe N, Tonelli M; Alberta Kidney Disease Network: Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 2006; 295: 2765–2779.
- Finn WF: The clinical and renal consequences of contrast-induced nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: i2–i10.
- Haase M, Bellomo R, Devarajan P *et al.*: Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 1012–1024.
- Osman Ö, Ayece Deniz O, Abdülkadir E *et al.*: Cystatin C as biomarker of contrast-induced nephropathy in pediatric cardiac angiography. *Turk J Med Sci* 2014; 44: 178–185.
- Devarajan P: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for human acute kidney injury. *Biomark Med* 2010; 4: 265–280.
- Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E *et al.*: NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) and cystatin C: are they good predictors of contrast nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine. *Int J Cardiol* 2008; 127: 290–291.
- Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF *et al.*: New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 629–637.
- Cronin RE: Contrast-induced nephropathy: pathogenesis and prevention. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 191–204.
- Devarajan P: Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Curr Opin Pediatr* 2011; 23: 194–200.
- Mishra J, Dent C, Tarabishi R *et al.*: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005; 365: 1231–1238.
- Han WK, Wagener G, Zhu Y *et al.*: Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 873–882.
- Zhou F, Luo Q, Wang L *et al.*: Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for early diagnosis of cardiac surgery-associated acute kidney injury: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2016; 49: 746–755.
- Benzer M, Alpay H, Baykan Ö *et al.*: Serum NGAL, cystatin C and urinary NAG measurements for early diagnosis of contrast-induced nephropathy in children. *Ren Fail* 2016; 38: 27–34.
- Agras PI, Derbent M, Ozcay F *et al.*: Effect of congenital heart disease on renal function in childhood. *Nephron Physiol* 2005; 99: p10–p15.
- Hirsch R, Dent C, Pfriem H *et al.*: NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 2089–2095.

### Zasady prenumeraty kwartalnika „Pediatria i Medycyna Rodzinna” („Paediatrics and Family Medicine”)

- Prenumeratę można rozpocząć od dowolnego numeru pisma. Prenumerujący otrzyma zamówione numery kwartalnika pocztą na podany adres.
- Pojedynczy egzemplarz kwartalnika kosztuje 25 zł. Przy zamówieniu rocznej prenumeraty (4 kolejne numery) koszt całorocznej prenumeraty wynosi 80 zł. Koszt całorocznej prenumeraty zagranicznej wynosi 30 euro.
- Istnieje możliwość zamówienia numerów archiwalnych (do wyczerpania nakładu). Cena numeru archiwalnego – 25 zł.
- Zamówienie można złożyć:
  - Wypełniając załączony blankiet i dokonując wpłaty w banku lub na pocztę.
  - Dokonując przelewu z własnego konta bankowego (ROR) – wpłaty należy kierować na konto: Medical Communications Sp. z o.o., ul. Powsińska 34, 02-903 Warszawa Deutsche Bank PBC SA 42 1910 1048 2215 9954 5473 0001 Prosimy o podanie dokładnych danych imiennych i adresowych.
  - Drogą mailową: redakcja@pimr.pl.
  - Telefonicznie: 22 651 97 83.
  - Wypełniając formularz prenumeraty zamieszczony na stronie [www.pimr.pl/index.php/prenumerata-wersji-drukowanej](http://www.pimr.pl/index.php/prenumerata-wersji-drukowanej).
- Zamawiający, którzy chcą otrzymać fakturę VAT, proszeni są o kontakt z redakcją.

### Rules of subscription to the quarterly “Pediatria i Medycyna Rodzinna” (“Paediatrics and Family Medicine”)

- Subscription may begin at any time. Subscribers will receive ordered volumes of the journal to the address provided.
- A single volume of the quarterly for foreign subscribers costs 8 EUR. The cost of annual subscription (4 consecutive volumes) for foreign subscribers is 30 EUR.
- Archival volumes may be ordered at a price of 8 EUR per volume until the stock lasts.
- Orders may be placed by making a money transfer from own bank account – payments should be made payable to: Account Name: Medical Communications Sp. z o.o. Bank Name: Deutsche Bank PBC S.A. Bank Address: 02-903 Warszawa, ul. Powsińska 42/44 Account number: 15 1910 1048 2215 9954 5473 0002 SWIFT Code/IBAN: DEUTPLPK Please provide a precise address and nominative data.
- The order should be sent via e-mail at: redakcja@pimr.pl.