

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Marija Brzak i Franciska Soldo

KOMPENZIRANA METODA ZA KREATININ I PROCJENA
GLOMERULARNE FILTRACIJE U HETEROGENOJ POPULACIJI
BOLESNIKA

Zagreb, 2012.

Ovaj rad izrađen je u Kliničkom zavodu za kemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Nade Vrkić, i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2011./2012.

Rad je izrađen u okviru znanstvenog projekta *Hemoreološki poremećaji u kroničnim bolestima* financiranog od Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta br. 134-0061245-0205.

Sadržaj

1	Uvod.....	1
1.1	Kreatinin.....	1
1.2	Metode za određivanje koncentracije kreatinina.....	1
1.2.1	Jafféova metoda.....	2
1.2.1.1	Standardizacija metode	3
1.2.1.2	Jaffé kinetička metoda.....	3
1.2.1.3	Jaffé kompenzirana metoda.....	4
1.3	Glomerularna filtracija	4
1.3.1	Mjerenje i procjena brzine glomerularne filtracije.....	5
1.3.1.1	Klirens kreatinina	7
1.3.1.2	Procjena brzine glomerularne filtracije	8
1.3.1.3	Preporuke stručnih biomedicinskih društava za mjerenje kreatinina i procjenu brzine glomerularne filtracije	8
2	Opći i specifični ciljevi rada.....	9
3	Ispitanici i metode	10
3.1	Ispitanici	10
3.2	Metode.....	11
3.2.1	Određivanje kreatinina u serumu	11
3.2.2	Određivanje kreatinina u mokraći	11
3.2.3	Određivanje klirensa kreatinina	11
3.2.4	Procjena brzine glomerularne filtracije (eGFR) empirijskom jednačbom	12
3.3	Statističke metode	12
4	Rezultati	13
5	Rasprava.....	22

6	Zaključak.....	27
7	Zahvale.....	28
8	Literatura.....	29
9	Sažetak.....	33
10	Summary.....	34

Popis kratica

GFR – brzina glomerularne filtracije

eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

KBB – kronična bubrežna bolest

MDRD – Modification of diet in renal disease

Se - osjetljivost

Sp - specifičnost

NKDEP - Nacionalni edukacijski program za bubrežne bolesti IFCC

HKMB - Međunarodna federacija za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu

KZZK – Klinički zavod za kemiju

IDMS – izotopna dilucijska masena spektrometrija

NIST - Nacionalni institut za standarde i tehnologiju

SRM – standardni referentni materijal

HPLC - visokotlačna tekućinska kromatografija

GC-IDMS - plinska kromatografija s izotopnom dilucijskom masenom spektrometrijom

LC-IDMS – tekućinska kromatografija s izotopnom dilucijskom masenom spektrometrijom

CLSI - Klinički i laboratorijski institut za standarde

S – serum

U – mokraća (urin)

1 Uvod

1.1 Kreatinin

Kreatinin je metabolit koji se u organizmu stvara iz kreatina ili kreatin fosfata. Dnevno se u mišićima 1-2% kreatina spontanom dehidracijom prevede u kreatinin čija vrijednost u populaciji, zbog proporcionalnosti s mišićnom masom, varira ovisno o spolu i dobi. Ipak, zbog relativno konstantne mišićne mase u tijelu, intraindividualna razina kreatinina u krvi na dnevnoj bazi obično ostaje nepromijenjena. Nakon sinteze u mišićima, krvlju se prenosi do bubrega iz kojih se uglavnom izlučuje glomerularnom filtracijom te je zbog toga vrlo koristan endogeni pokazatelj funkcije glomerula i brzine glomerularne filtracije (engl. glomerular filtration rate, GFR). Dnevno izlučivanje kod muškaraca iznosi 1,5 g/dan, a kod žena 1,2 g/dan. Dio kreatinina se u bubrežnim tubulima i secernira, a sekrecija se povećava s povećanjem koncentracije kreatinina u krvi (npr. pehrana bogata mesom). Klinička primjena kreatinina temelji se na praćenju bubrežne funkcije. Naime, ovisno o jačini bubrežnog oštećenja koncentracija kreatinina u serumu i mokraći se mijenja. Zbog činjenice da se serumska koncentracija mijenja tek kada je oko 50% nefrona nefunkcionalno, to ga ipak ne čini najboljim i najranijim pokazateljem bubrežne insuficijencije. Dakako, postoje i prednosti njegove primjene koje ga i dalje održavaju u rutinskom radu, a to su jednostavnost postupka određivanja te prihvatljiva cijena (1).

1.2 Metode za određivanje koncentracije kreatinina

Metode za određivanje koncentracije kreatinina dijele se u dvije osnovne skupine: fotometrijske i enzimске. Fotometrijske se metode koriste još od kraja 19. st., točnije od 1886. godine kada je uvedena poznata Jafféova metoda koja se temelji na reakciji kreatinina s pikrinskom kiselinom u alkalnom mediju pri čemu nastaje narančasto obojenje. No, zbog niske specifičnosti Jafféove metode uvedene su neke njene modifikacije i nove enzimске metode. Glavnu ulogu u enzimskim reakcijama igraju enzimi kreatininaza i kreatinin hidrolaza koji stvaraju razgradne produkte kreatinina poput amonijaka i kreatina. Na taj se način kreatinin uklanja iz reakcijske smjese pa dodatkom pikrinske kiseline reagiraju samo nekreatininski interferirajući analiti. Dobiveni se rezultat može oduzeti rezultatu izmjerenom Jafféovom metodom prije dodatka enzima te se na taj način dobije prava koncentracija

kreatinina u uzorku (1). Enzimske su metode specifične, ali skuplje od fotometrijskih pa se iz tog razloga ne koriste često u hrvatskim, ali ni evropskim laboratorijima. Poboljšanje određivanja koncentracije kreatinina pridonose novije metode kao što su HPLC (visokotlačna tekućinska kromatografija) i referentna metoda GC-IDMS (plinska kromatografija s izotopnom dilucijskom masenom spektrometrijom). HPLC je kromatografska metoda visoke osjetljivosti i specifičnosti kojom se na efikasan način razdvajaju komponente neke smjese, ali koja, zbog skupe opreme i načina održavanja, nije često zastupljena u hrvatskim laboratorijima. GC-IDMS je metoda koja se koristi u centrima za priređivanje referentnih materijala poput primarnih standarda i kalibratora, tj. za razvoj definitivnih metoda za određivanje klinički važnih analita pa tako i kreatinina.(2)

1.2.1 Jafféova metoda

Jafféova metoda u upotrebi je još od 1886.godine, ali je u svojih 126 godina postojanja doživjela i neke modifikacije. Jaffé ju je predstavio kao reakciju između pikrinske kiseline i kreatinina u alkalnom mediju kojom nastaje narančasto obojenje reakcijske smjese. No, zbog utjecaja hemolize, ikterije i lipemije te mogućnosti stvaranja narančastog obojenja i s nekreatininskim analitima, metoda je proglašena nespecifičnom. Naime, u serumu su prisutni i drugi kromogeni poput proteina, glukoze, askorbinske kiseline, gvanidina, acetona, acetoacetata, piruvata i cefalosporina koji također reagiraju s pikrinskom kiselinom te na taj način onemogućuju precizno određivanje koncentracije kreatinina u serumu. U mokraći se, za razliku od seruma, ne nalaze ovi kromogeni tako da ni interferencije ne igraju bitnu ulogu. Upravo je zbog otežanog određivanja serumske koncentracije kreatinina i nastala potreba za modifikacijama koje su za cilj imale povećanje specifičnosti ove metode. Tako se utjecaj proteina uspio ukloniti dijalizom, precipitacijom ili kompleksiranjem s natrij dodecil sulfatom. Automatizacija u laboratorijima diktira rad s nativnim serumima bez postupka dijalize ili precipitacije pa je tzv. "proteinska pogreška" zahtijevala novu modifikaciju stare metode. Stvaranjem nereaktivnih kompleksa uspješno je uklonjen i utjecaj glukoze te askorbinske kiseline. Jedan od načina uklanjanja interferencija bilo je i zakiseljavanje reakcijske smjese jer u neutralnim uvjetima reagiraju samo nekreatininske komponente. Koncentracija kreatinina bi se dobila iz razlike rezultata dvaju mjerenja (u alkalnim i neutralnim uvjetima). Ipak, najčešće interferencije i dalje ostaju hemoliza i ikterija pa se s takvim uzorcima mora postupati vrlo oprezno kako bi se rezultat mogao što točnije interpretirati.(1)

1.2.1.1 Standardizacija metode

Cilj standardizacije metode za određivanje kreatinina bio je poboljšati metodu i ujednačiti metodu diljem svijeta. Kako bi se osigurala sljedivost, i rutinske i referentne metode trebale bi se provjeravati usporedbom s ovjerenim referentnim materijalom. Primarni referentni materijal je SRM 914 (engl. Standard Reference Material) koji se može kupiti u Nacionalnom institutu za standarde i tehnologiju (The National Institute of Standards and Technology, NIST), a ovjeren je kao kemikalija poznate čistoće. SRM 914 je kristalizirani kreatinin čistoće $99,7 \pm 0,3\%$ i namjenjen je za kalibraciju referentnih mjernih postupaka, kao što su GC-IDMS i LC-IDMS koje se provode u referentnim laboratorijima.(3,4) SRM 909b u dvije koncentracijske razine također je referentni materijal iz NIST-a. SRM 909b liofilizirani je sekundarni referentni materijal i smatralo se da bi se on mogao koristiti za kalibraciju rutinskih metoda. Međutim, pošto se zbog liofilizacije promjenila i matrica samog standarda ta se mogućnost odbacila. Danas se SRM 909b koristi samo za kalibraciju kreatinina mjerenog u mokraći, ali ne i kreatinina za mjerenje u serumu. Zbog novonastale potrebe za sekundarnim referentnim materijalom koji bi se mogao koristiti za kalibraciju serumskog kreatinina, NIST je pripremio novi standardni referentni materijal koji je dobio ime SRM 967. Pripravljen je iz mješavine zamrznutih ljudskih seruma prema uputama Kliničkog i laboratorijskog instituta za standarde (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) u dvije koncentracijske razine u kojima su vrijednosti kreatinina $0,0749 \pm 0,0016$ mmol/L, odnosno $0,3427 \pm 0,0072$ mmol/L (5). Koncentracije je izmjerio NIST pomoću GC-IDMS i LC-IDMS primarnih referentnih metoda. Zbog toga što je matrica SRM 967 upravo ljudski serum, ovaj standardni referentni materijal može se koristiti kao sekundarni referentni materijal rutinskih metoda za kalibraciju kreatinina u serumu.

1.2.1.2 Jaffé kinetička metoda

Načelo Jaffé kinetičke metode jest da kreatinin reagira s pikrinskom kiselinom u alkalnom mediju te nastaje kreatinin-pikrat kompleks koji je žuto-narančaste boje. Kod reakcije je bitna koncentracija alkalirajućeg sredstva jer množina hidroksilnih iona određuje u kojoj će se mjeri sama reakcija dogoditi. Koncentracija natrijeva hidroksida manja je od 1 mol/L, često i manja od 0,5 mol/L. Međutim, ova reakcija nije u potpunosti specifična za kreatinin jer supstance kao što su glukoza, piruvat, askorbinska kiselina i acetoacetat također mogu reagirati s pikrinskom kiselinom i stvarati slično obojene spojeve. Jedna vrsta nekreatiniskih kromogena iz serumu reagira vrlo brzo nakon dodatka reagensa, već tijekom prvih 20 sekundi. Druga

vrsta kromogena reagira s reagensom tek nakon 80-100 sekundi, te zbog toga vrijeme između 20 i 80 sekundi odgovara reakciji kreatinina s reagensom. Zbog toga se kod kinetičke metode mjeri apsorbancija u vremenu od 20-60 sekundi nakon početka reakcije.(1) Međutim, ovime nisu u potpunosti izbjegnute interferencije, još uvijek mogu interferirati α -keto kiseline (pozitivne interferencije) ili bilirubin (negativna interferencija). Stopa promjene apsorbancije pri 520/800 nm proporcionalna je koncentraciji kreatinina u uzorku.

1.2.1.3 Jaffé kompenzirana metoda

Kompenzirana Jaffé metoda matematička je modifikacija Jaffé kinetičke (kontinuirane) metode kao rezultat znanstvenih istraživanja u kojima je uspoređivana s HPLC metodom. Kod kompenzirane Jaffé metode vrijednosti kalibratora podešene su tako da smanje utjecaj proteina na reakciju, pa su rezultat toga niže vrijednosti izmjenenog kreatinina.(6) Interference protein matematički se korigiraju oduzimanjem 18 $\mu\text{mol/L}$ od svakog rezultata testa (faktor korelacije $B=-18$, kod nekompenzirane metode bez kompenzacije proteina $B=0$) . Prednosti primjene kompenzirane metode su to što je ona brza, jednostavna i što je izbjegnut veći dio interferencija. (7)

1.3 Glomerularna filtracija

Jedna od glavnih funkcija bubrega je eliminacija štetnih i organizmu stranih tvari putem mokraće. Stvaranje mokraće započinje u glomerulima, klupku kapilara smještenom na početnom dijelu nefrona, osnovne anatomske i funkcionalne jedinice u bubregu. U glomerulu se filtrira krvna plazma, odnosno stvara se primarna mokraća (glomerularni filtrat). Glomerularna filtracija se u fiziološkim uvjetima odvija zbog visokog tlaka u glomerularnim kapilarama, semipermeabilne glomerularne membrane te naboja membrane. Iz toga slijedi da filtracija ovisi o efektivnom filtracijskom tlaku, filtracijskoj površini te minutnom volumenu krvi kroz bubrege. Glomerularni hidrostatski tlak potiče filtraciju, dok ju kapsularni hidrostatski i glomerularni osmotski tlak koč. To rezultira efektivnim filtracijskim tlakom. Važnu ulogu u filtraciji ima i glomerularno-bazalna membrana koja pri fiziološkom pH pokazuje selektivnost s obzirom na naboj i molekularnu masu. (8)

1.3.1 Mjerenje i procjena brzine glomerularne filtracije

Mjerenje brzine glomerularne filtracije (engl. glomerular filtration rate, GFR) najčešća je pretraga za ispitivanje funkcije glomerula te jedna od glavnih pretraga za procjenu cjelokupnog funkcionalnog stanja bubrega. U kliničkom je smislu to najvažnija pretraga te najosjetljiviji i najspecifičniji biljeg promjena ukupne bubrežne funkcije. Dobar je pokazatelj broja funkcionalnih nefrona pa se koristi u postavljanju dijagnoze, praćenju liječenja i progresije bolesti te kod određivanja doze lijeka koji se izlučuje putem bubrega ili koji je nefrotoksičan. U tu se svrhu provode klirens testovi endogenih i egzogenih tvari. Provedba testa s egzogenim tvarima vrlo je složena, skupa i agresivna za bolesnika. Ne koriste u kliničkoj praksi osim u iznimnim prilikama, iako su „zlatni standard“ za ocjenu GFR. Klirens se definira kao volumen krvi iz koje bi teorijski u jednoj minuti mogla biti potpuno odstranjena neka tvar endogenog ili egzogenog porijekla. Pri mjerenju GFR treba uzeti u obzir da klirens neke tvari ovisi o veličini bubrega, odnosno o površini tijela s kojom je bubreg grubo proporcionalan pa se iz tog razloga koriste nomogrami za očitavanje površine tijela. Najveća prednost određivanja klirensa tvari u odnosu na njenu koncentraciju u serumu je ta što klirens ranije ukazuje na poremećaj funkcije bubrega. Za procjenu GFR koriste se i empirijske formule. Takav se test uobičajeno naziva eGFR (engl. estimated glomerular filtration rate), a prvenstveno se temelje na izmjerenoj koncentraciji kreatinina u serumu te antropometrijskim podacima kao što su spol, dob, visina, tjelesna masa i rasa. Do sada je poznato oko 46 različitih inačica jednadžbi od kojih većina zahtjeva dodatne podatke poput površine tijela pa iz tog razloga postoji potreba za korištenjem nomograma. Poznato je da postoji dobra korelacija eGFR s razvojem komplikacija KBB te s povećanim rizikom za nastanak nuspojava poput pojave kardiovaskularnih bolesti koje su uzrokom povećane smrtnosti.(8)

MDRD (engl. *Modified Diet in Renal Disease*) jednadžba ustanovljena je kao rezultat znanstvenog ispitivanja na 1628 odraslih ispitanika s KBB. Primjena je preporučena za sve odrasle ispitanike osim za one s izrazito nenormalnim kreatininom (ekstremno promijenjena tjelesna ili mišićna masa) te onih s neuobičajenim prehrambenim navikama (vegetarijanci). Rezultat se izražava numerički, a priređen je za razinu odluke za KBB od 60 ml/min/1,73 m². Vrijednosti iznad 60 ne iskazuju se preciznim brojem nego kao izraz >60, dok se niže vrijednosti iznose egzaktno kao cijeli brojevi. Jednadžba ne sadrži tjelesnu masu kao varijablu jer je standardizirana na prosječnu tjelesnu površinu od 1,73 m². Da bi bila u potpunosti primjenjiva, obvezatno je koristiti istu metodu za kreatinin kao u studiji (kinetička metoda s

alkalnim pikratom). MDRD istraživanje nije uključivalo djecu i starije od 75 godina te je neprimjenjiva za te skupine.(2)

$$eGFR = 32788 \times S^{-1,154} \times dob^{-0,201} \times F \quad (1)$$

pri čemu je: S – koncentracija kreatinina ($\mu\text{mol/L}$) u serumu; dob – starost bolesnika izražena u godinama; F – faktor, žene $F=0,742$, muškarci $F=1$.

Cockcroft-Gault jednadžba objavljena je 1976. godine, a za procjenu GFR u obzir uzima vrijednost serumskog kreatinina te dob i težinu ispitanika. Zanimljivo svojstvo ove jednadžbe je ovisnost klirensa kreatinina o dobi. Tako će npr. osoba od 20 godina imati dvostruko veću vrijednost kreatininskog klirensa od osobe s 80 godina za istu vrijednost serumskog kreatinina. Konstanta za muškarce iznosi 1,23, a za žene 1,04 što upućuje na to da će za istu vrijednost serumskog kreatinina žene imati 15% manji klirens kreatinina.(9)

$$eGFR = \left[\frac{(140 - dob) \times TT}{72 \times S} \right] \times F \quad (2)$$

pri čemu je: dob – starost bolesnika izražena u godinama; TT – tjelesna težina bolesnika izražena u kilogramima; S – koncentracija kreatinina ($\mu\text{mol/L}$) u serumu; F – faktor, žene $F=0,85$, muškarci $F=1$.

Schwartzova jednadžba za djecu izvedena je usporedbom s inulinskim klirensom, a kreatinin je određen modificiranom Jaffeovom metodom. Za procjenu GFR je osim serumskog kreatinina bitna i visina djeteta pomnožena s konstantnom koja ovisi o dobi djeteta.(2)

$$eGFR = \frac{TV \times F}{S} \quad (3)$$

pri čemu je: TV – tjelesna visina bolesnika; S – koncentracija kreatinina ($\mu\text{mol/L}$) u serumu; F – faktor, novorođenčad i dojenčad $F=0,45$, djeca 1-12 god. $F=0,55$. (10)

1.3.1.1 Klirens kreatinina

Klirens kreatinina je relativno dobar biljeg GFR koji ovisi o dobi, spolu i rasi, a čija je dijagnostička osjetljivost 63%. Referentni interval iznosi 100-140 ml/min/1,73 m², no postoje neki biološki čimbenici koji utječu na njegovu vrijednost. Najčešći su starosna dob, diurnalne varijacije (noć ↓, jutro ↑), promjena položaja tijela ispitanika (u stojećem položaju ↓), prvi trimestar trudnoće (↑) i šećerna bolest (rana faza ↑, kasnija faza ↓). Osim toga je određivanje podložno i brojnim interferencijama kao što su hemoliza, lipemija, hiperbilirubinemija, cefalosporini, acetoacetat i askorbinska kiselina. Nadalje, 10-14% kreatinina se u tubulima secernira, a sekrecija se povećava s povećanjem koncentracije kreatinina u krvi. Kod određivanja kreatinina u 24-satnom uzorku mokraće, 15-30% dnevno izlučenog kreatinina je iz hrane pa se prethodnom prehranom bogatom mesom mogu dobiti lažno pozitivni rezultati. Određivanje se ne preporučuje ni nakon dulje pohrane mokraće na sobnoj temperaturi (zbog bakterijske razgradnje) te kod osoba s mišićnim bolestima. Klirens kreatinina može se izračunati iz slijedeće opće jednadžbe:

$$C = \frac{U \times V}{S} \quad (4)$$

pri čemu su: C – klirens kreatinina; U – koncentracija kreatinina (mmol/L) u mokraći; V - minutni volumen mokraće; s – koncentracija kreatinina (mmol/L) u serumu.

Referentni intervali za klirens kreatinina uvijek se odnose na prosječnu površinu odraslih osoba koja iznosi 1,73 m², ali pošto se ta površina tijela može znatno razlikovati za malu djecu ili za pretile i izrazito mršave odrasle osobe, onda je potrebno korigirati jednadžbu s stvarnom površinom tijela pacijenta pa stoga vrijedi:

$$C = \frac{U \times V}{S} \times \frac{1,73}{A} \quad (5)$$

pri čemu je sada A – površina tijela pacijenta izražena u m².

Površina tijela može se izračunati prema jednadžbi:

$$\log A = (0,425 \times \log W) + (0,725 \times \log H) - 2,144 \quad (6)$$

pri čemu vrijedi: A - površina tijela pacijenta izražena u m²; W – tjelesna masa pacijenta u kg; H – visina pacijenta u cm. (8)

1.3.1.2 Procjena brzine glomerularne filtracije

Za olakšano otkrivanje KBB preporučeno je procijeniti GFR pomoću empirijskih formula. Najčešće korištena je MDRD jednadžba temeljena na studiji *Modified Diet in Renal Disease*. MDRD studija uključivala je 1628 odraslih ispitanika s KBB, ali nije bila primjenjiva za djecu i starije od 75 godina.

Izvorna se MDRD jednadžba sastoji od 6 nezavisnih varijabli, a to su: dob, spol, rasa te serumske koncentracije kreatinina, ureje i albumina. Naknadno je predložena jednostavnija jednadžba koju čine 4 glavne varijable (dob, spol, rasa, serumski kreatinin) s ciljem olakšanja kliničke primjene.

Znanstvenim je ispitivanjima pokazano kako su preciznost i točnost MDRD jednadžbe s 4 varijable gotovo jednake onima za MDRD jednadžbu sa 6 varijabli. To je naravno opravdalo primjenu jednostavnije jednadžbe u kliničke svrhe. Nadalje, osjetljivost (Se) i specifičnost (Sp) za detekciju $GFR < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ bile su približno jednake (Se 96% i 97%; Sp 67% i 70%).(11)

1.3.1.3 Preporuke stručnih biomedicinskih društava za mjerenje kreatinina i procjenu brzine glomerularne filtracije

Uzimajući u obzir kolika je značajnost određivanja koncentracije kreatinina i procjene GFR za bolesnike s KBB, postoji stalna potreba i dužnost stručnih biomedicinskih društava za kontinuiranim istraživanjem u svrhu poboljšanja dijagnostike i skrbi za bolesnike s KBB. Tu dužnost na svjetskoj razini prvenstveno obavljaju NKDEP (Nacionalni edukacijski program za bubrežne bolesti) i IFCC (Međunarodna federacija za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu) na način da informiraju medicinske biokemičare, liječnike, ali i širu javnost o najnovijim dostignućima pomoću smjernica i preporuka. U Republici Hrvatskoj za to je zadužena HKMB (Hrvatska komora medicinskih biokemičara) kojoj je u cilju harmonizirati pretrage u svim laboratorijima kako bi se ujednačila kvaliteta rada, a time i u velikoj mjeri olakšala, ali i ubrzala skrb za bolesnike s KBB. (2, 12, 35)

Prema tome, preporuka je ovih društava da se za određivanje kreatinina primjenjuje kompenzirana kinetička metoda za kreatinin sljediva prema ISDM i referentnom materijalu SRM 967, a za procjenu GFR empirijska jednadžba temeljena na studiji MDRD koja je primjerena za bolesnike starije od 20 godina (opisana u *Uvodu* na str.6 i 9).

2 Opći i specifični ciljevi rada

Procjena brzine glomerularne filtracije (GFR) u kliničkoj se praksi više od 100 godina temelji na mjerenju koncentracije kreatinina u serumu i u mokraći, odnosno na njihovu omjeru. Za taj omjer prihvaćen je naziv klirens endogenog kreatinina. Zbog više analitičkih i fizioloških nedostataka ima svojstva samo procjene a ne izmjerene GFR. Pouzdanost procjene uvelike ovisi o točnosti i preciznosti metode za kreatinin. Od 1886. godine koristi se rutinska, nedovoljno specifična kolorimetrijska metoda po Jafféu, a do danas je prolazila nekoliko modifikacija u nastojanju da se eliminiraju interferencije nekreatininskih komponenti. Ujedno je i procesom standardizacije utvrđen konačni referentni materijal i referentna metoda koji sljedivošću osiguravaju pouzdanost rutinskoj metodi. Posljednja modifikacija, nakon široko primjenjivane kinetičke Jafféove metode, jest kompenzirana metoda koja još nije prihvaćena i predmetom je mnogih rasprava. Istovremeno su se razvili novi pristupi procjeni GFR (eGFR) na temelju rezultata opsežnih kliničkih studija koje su procjenu ustanovile empirijskim jednadžbama samo na mjerenju serumske koncentracije kreatinina.

Hrvatska komora medicinskih biokemičara (HKMB) preporučila je 2010. godine laboratorijima u Hrvatskoj primjenu kompenzirane kinetičke metode za kreatinin sljedivu prema izotopnoj dilucijskoj masenoj spektrometriji i referentnom materijalu SRM 967, te procjenu glomerularne filtracije prema jednadžbi iz MDRD (Modification of diet in renal diseases) studije.

Cilj je ovoga rada ocijeniti kako će se uvođenje kompenzirane metode odraziti na kliničku primjenu, s posebnim naglaskom kako će se odraziti na procjenu brzine glomerularne filtracije - u intarpretaciji nalaza i praćenju liječenja.

Specifični ciljevi:

- Odrediti u istim uzorcima seruma bolesnika koncentraciju kreatinina kinetičkom nekompensiranom i kompenziranom metodom sljedivom po preporukama HKMB.
- Izmjeriti koncentraciju kreatinina u 24-satnoj mokraći te izračunati klirens kreatinina s obje metode za kreatinin.
- Primijeniti rezultate za serumski kreatinin prema obadvije metode za procjenu GFR prema MDRD jednadžbi.
- Usporediti vrijednosti serumskog kreatinina, klirensa kreatinina i eGFR u odnosu na primijenjenu metodu.

- Klasificirati bolesnike prema fiziološkim i patološkim vrijednostima serumskih kreatinina te prema stadijima kronične bubrežne bolesti u odnosu primijenjenu metodu.
- Odrediti postoji li nesukladnost rezultata u odnosu na primijenjenu metodu zbog čega bi u kliničkoj praksi nastale različite interpretacije nalaza i posljedično, medicinski postupci.

3 Ispitanici i metode

3.1 Ispitanici

U istraživanju su uključeni svi odrasli bolesnici u razdoblju od 7. ožujka 2012. do 30. ožujka 2012. čiji su uzorci mokraće i seruma dostavljani u Klinički zavodiu za kemiju (KZZK) u KBC Sestre milosrdnice zbog pretrage klirensa kreatinina. Pacijenti su imali različite uputne dijagnoze te su se i zahtjevi liječnika za pretragom temeljili na različitim povijestima bolesti i različitoj medicinskoj problematici.. No, svi su imali zajednički cilj da klirensom kreatina saznaju funkcionalnu očuvanost bubrega. Jedini kriterij isključivanja bila je životna dob manja od 20 godina. Broj pacijenata koji su došli ambulantno (kojima je liječnik obiteljske medicine zadao pretragu klirens kreatinina) bio je 133. Ukupan broj pacijenata s odjela bolnice bio je 139 od čega su 62 pacijenta pripadala Nefrološkom odjelu Klinike za unutarnje bolesti, a ostala 72 pacijenta pripadala su drugim odjelima Klinike za unutarnje bolesti i drugim klinikama. Pacijentima je uzeta epruveta krvi bez antikoagulansa u epruvetu s podtlakom (Greiner bio-one, Austrija) i preuzeta ukupna količina sakupljene 24-satne mokraće. Za potrebe ovog istraživanja pacijentima nije uzeta dodatna količina krvi. Također, pacijenti su u istraživanju identificirani jedinstvenim identifikacijskim brojem te nisu korišteni nikakvi osobni podaci. Koristili su se samo podaci potrebni za pretragu koju je njihov liječnik zatražio, a to su bili podaci o tjelesnoj težini, visini i životnoj dobi.

Uzorci krvi uzimani su u ambulanti KZZK za polikliničke pacijente ili su dostavljani s odjela za ležeće pacijente. Nakon toga uzorci su centrifugirani u srednjoj laboratorijskoj centrifugi brzinom od 3500 okretaja/min, nakon čega je odvojen serum i čuvan zamrzavanjem na -20°C. Ukupna količina izmokrene 24-satne mokraće dostavljena je u laboratorij nakon čega je homogenizirana u menzuri od 3L i ujedno je izmjeren volumen.

3.2 Metode

3.2.1 Određivanje kreatinina u serumu

U uzorcima seruma određen je najprije kreatinin nekompenziranom Jaffé metodom (S-kreatinin N), a nakon toga kompenziranom Jaffé metodom (S-kreatinin K). Rezultati su izraženi u $\mu\text{mol/L}$. Analize su napravljene na automatskom analizatoru AU 680 (Beckman Coulter, Fullerton, SAD) i s pripadajućim originalnim reagensima istog proizvođača. Kalibracije su izvedene s kalibratorima iste tvrtke sljedivima po metodi IDMS i referentnom materijalu smrznute humane plazme SRM 967 Nacionalnog instituta za standarde i tehnologiju (NIST, SAD) (13). Metode su opisane u Uvodu na str. 1. - 4.

3.2.2 Određivanje kreatinina u mokraći

Kreatinin u mokraći određen je na istom analitičkom sustavu, kontinuiranom Jaffé metodom, s originalnim reagensima proizvođača uz automatsku diluciju mokraće 1:10 fiziološkom otopinom. Kalibracije su izvedene originalnim kalibratorima istog proizvođača sljedivih po NIST referentnom materijalu SRM 914a (supstanca kreatinina čistoće $99,7 \pm 0,3\%$). (4)

3.2.3 Određivanje klirensa kreatinina

Klirens kreatinina izračunat je po jednadžbi:

$$C = \frac{U \times V}{S} \times \frac{1,73}{A} \quad (5)$$

(precizno objašnjenje računa objašnjeno je prethodno u Uvodu na str. 6. i 7.).

Rezultati klirensa kreatinina pokazani su kroz dvije inačice u odnosu na uvršteni rezultat serumskog kreatinina – nekompenziranom Jaffé metodom (Klirens kreatinina N), ili kompenziranom Jaffé metodom (Klirens kreatinina K). Za izračunavanje klirensa u jednadžbu (7) uvrstili smo varijable: koncentracije kreatinina u serumu, mokraći, volumen 24-satne mokraće, izračunatu površinu tijela (A).

$$C = \frac{U - \text{kreatinin} \times 1000}{S - \text{kreatinin} \times 0,001 \times 1440} \times \frac{1,73}{A} \quad (7)$$

Objašnjenje članova u jednadžbi: : C – klirens kreatinina izražen u $\text{mL}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$; U – kreatinin – koncentracija kreatinina u mokraći izražena u $\text{mmol}/24\text{h}$; S – kreatinin – koncentracija kreatinina u serumu izražena u $\mu\text{mol/L}$; A – površina tijela pacijenata izražena u m^2 .

3.2.4 Procjena brzine glomerularne filtracije (eGFR) empirijskom jednadžbom

Rezultati za metodu procjene brzine glomerularne filtracije, eGFR, (opisana u Uvodu na stranama 5. i 6.), također ima dvije inačice u odnosu na primijenjenu metodu za serumski kreatinin - prema nekompenziranoj (eGFR N) i prema kompenziranoj Jaffé metodi (eGFR K). Za izračunavanje smo koristili sljedeće varijable: godine, spol i koncentraciju serumskog kreatinina, a uvrštenjem u jednadžbu (1) (opisane u Uvodu na str. 5.), izračunali eGFR .

$$eGFR = 32788 \times S^{-1,154} \times dob^{-0,201} \times F \quad (1)$$

Objašnjenje članova u jednadžbi: S – koncentracija kreatinina ($\mu\text{mol/L}$) u serumu; dob – starost pacijenta izražena u godinama; F – faktor ovisan o spolu (žene $F=0,742$, muškarci $F=1$)

3.3 Statističke metode

Za prikaz rezultata i statističku obradu podataka koristili smo računalni programi Excel 2010, Microsoft office (Microsoft, SAD) i MedCalc v. 12.2.1.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija). Podaci i rezultati prikazani su opisnom deskriptivnom statistikom, a distribucija podataka testirana je Kolmogorov-Smirnovljevim statističkim testom na normalnost raspodjele. Za ocjenu ujednačenosti skupine po dobi i spolu korišteni su χ^2 test i test usporedbe medijana Mann-Whitney U testom. Usporedivost metoda za procjenu glomerularne filtracije testirana je Passing-Bablok regresijskim modelom i Bland-Altmanovom analizom. Usporedivost razvrstavanja bolesnika u kliničke kategorije u odnosu na primijenjenu metodu za GFR, testirana je χ^2 testom.

4 Rezultati

Skupina od 272 bolesnika starosne dobi od 20 do 87 godina (medijan=65) imala je ujednačen udio žena i muškaraca (130 M: 142 Ž; P=0,542). Budući da raspodjela dobi nije slijedila normalnu raspodjelu (Tablica 1.). testirali smo razlike muških i ženskih skupina po dobi Mann-Whitnijevim U testom za neparametrijske uzorka. Rezultati su pokazali da među skupinama žena i muškaraca ne postoje statistički značajne razlike u odnosu na starosnu dob (P=0,377).

Tablica 1. Obilježja bolesničke skupine

	Dob (godine)	TT (kg)	TV (cm)
N	272	272	272
\bar{x}	62	80,8	169,9
95% CI	60,6 - 64,1	78,9 - 82,7	168,8 - 170,9
SD	14,4	15,92	9,16
medijan	65	80,00	170,00
95% CI	63,3 - 67,0	79,0 - 81,0	168,0 - 170,0
minimum	20	39,00	146,00
maksimum	87	134,00	193,00
25 - 75 P	54,0 - 73,0	70,0 - 90,0	164,0 - 177,0
P	0,005	0,080	0,241

TT – tjelesna težina; TV – tjelesna visina; N – broj ispitanika; \bar{x} - srednja vrijednost; 95% CI – interval pouzdanosti od 95%; SD – standardna devijacija; minimum – najniža izmjerena vrijednost; maksimum – najviša izmjerena vrijednost; 25. – 75. percentila – interkvartilni raspon; P – testiranje normalnosti raspodjele (na razini značajnosti P < 0,05)

Koncentracije serumskih kreatinina izmjerene nekompenziranom i kompenziranom metodom prikazane su u Tablici 2.

Koncentracije kreatinina u serumu prema obje metode analizirane su Passing-Bablok i Bland-Altman statističkim metodama. Odnos metoda utvrđen je jednadžbom pravca regresije $y = 0,967x + 14,725$ koji od idealnog modela $y=x$ ne odstupa po linearnosti (P=0,76). Odsječak na pravcu y ima 95% CI od 13,950 do 15,419, a za nagib pravca regresije 95% CI iznosio je 0,961 to 0,975. Budući da intervali pouzdanosti 95% CI odsječka i nagiba ne sadrže 0, odnosno 1, zaključujemo da metode nisu usporedive.

Tablica 2. Koncentracije serumskog kreatinina izmjerene kinetičkom nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom

spol	S-kreatinin N ($\mu\text{mol/L}$)		S-kreatinin K ($\mu\text{mol/L}$)	
	M	Ž	M	Ž
N	130	142	130	142
$\bar{x} \pm \text{SD}$	172,4 \pm 131,11	121,1 \pm 89,59	163,1 \pm 134,32	109,6 \pm 92,14
25-75 P	102,0 - 194,0	75,0 - 120,0	93,0 - 183,0	62,0 - 106,0
medijan	131,50	90,00	122,50	76,00
95% CI	121,3 - 148,3	83,0 - 94,0	110,7 - 136,9	72,8 - 82,
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

S-kreatinin N – koncentracija kreatinina u serumu određenog nekompensiranom Jaffé metodom za kreatinin; S-kreatinin K – koncentracija kreatinina u serumu određenog kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; M – muškarci; Ž – žene; N – broj ispitanika; \bar{x} - srednja vrijednost; 95% CI – interval pouzdanosti od 95%; SD – standardna devijacija; 25. – 75. percentila – interkvartilni raspon; P – testiranje normalnosti raspodjele (na razini značajnosti $P < 0,05$)

Rezultat usporedivosti kompenzirane i nekompensirane metode očekivan jer je S-kreatinin K izvedenica nekompensirane metode koja je uz slučajnu pogrešku mjerenja dala nešto drugačija odstupanja od zadane izvedenice koja definira odsječak na osi y s brojem 18.. (36)

Tablica 3. Referentni intervali za kreatinin u serumu određen nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin

Metoda	Spol	Referentni interval ($\mu\text{mol/L}$)
Nekompensirana fotometrijska Jaffé metoda (14)	M	79 – 125
	Ž	63 - 107
Kompenzirana fotometrijska Jaffé metoda (15)	M	64 - 104
	Ž	49 - 90

M – muškarci; Ž – žene

Referentni intervali s literaturnim uporištem prikazani su u Tablici 3. Udio bolesnika u područjima izvan i unutar referentnih intervala u odnosu na metodu mjerenja kreatinina, prikazana je na Tablici 4. Rezultati testiranja χ^2 testom pokazuju da su udjeli bolesnika unutar i izvan referentnih intervala ujednačeno svrstani u fiziološke i patološke razrede i s nekompensiranom i s kompenziranom metodom za kreatinin (M: P=0,2960, Ž: P=0,9504).

Tablica 4. Frekvencije koncentracija serumskog kreatinina prema referentnim vrijednostima za nekompensiranu i kompenziranu Jaffé metodu za kreatinin

Spol	Kategorija ($\mu\text{mol/L}$)	S-kreatinin N ($\mu\text{mol/L}$)	Kategorija ($\mu\text{mol/L}$)	S-kreatinin K ($\mu\text{mol/L}$)	P
M	<79	5	<64	5	0,296
	79 - 125	54	64 – 104	42	
	>125	71	>104	83	
Ž	<63	6	<49	5	0,950
	63 – 107	90	49 – 90	90	
	>107	46	>90	47	

S-kreatinin N – koncentracija kreatinina u serumu određenog nekompensiranom Jaffé metodom za kreatinin; S-kreatinin K – koncentracija kreatinina u serumu određenog kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; P – testiranje razlike proporcija χ^2 testom (na razini značajnosti $P < 0,05$); M – muškarci; Ž – žene

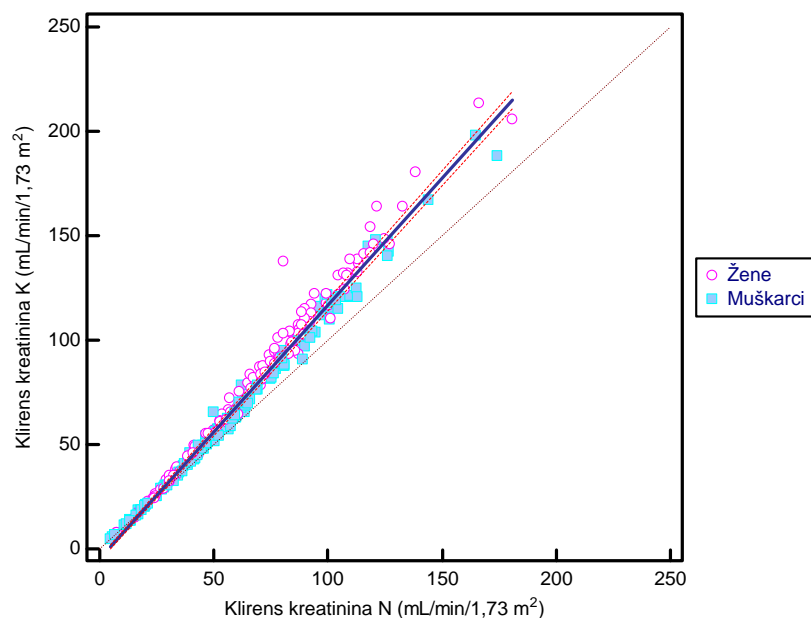
Rezultate klirensa kreatinina izvedenog iz mjerenih koncentracija kreatinina u serumu i u mokraći prikazuje Tablica 5. Uz koncentraciju kreatinina u serumu i mokraći u jednadžbu je uvršten volumen dnevne mokraće (V u mL, izmjeren u laboratoriju) i površina tijela (A u m^2) koja proizlazi iz prethodnog računa na temelju tjelesne visine i težine (TV i TT).

Statističkom regresijskom analizom Passing-Bablok, prikazanom na Slici 1., utvrđena je neusporedivost metoda. Zaključak proizlazi iz sljedećih podataka o jednadžbi pravca regresije $y=1,212x-4,414$: odstupanje od linearnosti ($P<0,01$); 95% CI odsječka na osi y ne sadrži 0 (-5,266 do -3,578), a 95% CI nagiba pravca ne sadrži 1 (1,195 do 1,232).

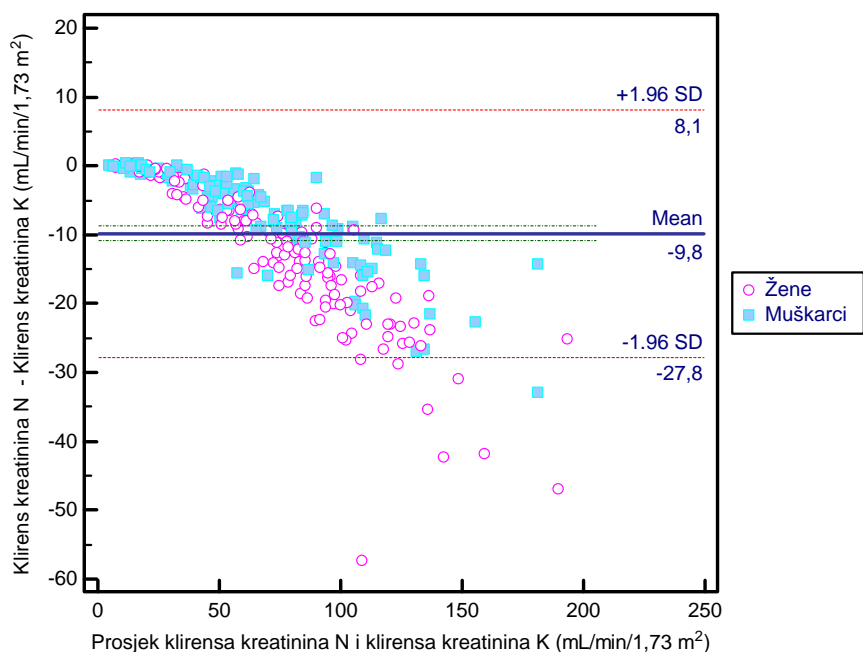
Tablica 5. Vrijednosti klirensa kreatinina određenog nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin

	Klirens kreatinina N (mL/min/1,73m ²)		Klirens kreatinina K (mL/min/1,73m ²)		V (mL)		A (m ²)	U – kreatinin (mmol/24h)
	M	Ž	M	Ž	M	Ž	M + Ž	M + Ž
spol								
N	130	142	130	142	130	142	272	272
$\bar{x} \pm SD$	61,6 ± 33,71	68,3 ± 33,02	68,4 ± 39,45	80,9 ± 42,03	2007,7 ± 861,44	1995,6 ± 802,17	1,9 ± 0,21	11,5 ± 4,44
25-75 P	38,6 – 81,0	42,1 – 88,4	41,3 – 90,9	45,8 – 107,2	1300,0 – 2620,0	1400,0 – 2370,0	1,7 – 2,1	8,3 – 13,4
medijan	56,90	70,35	62,40	81,70	1845,00	1890,00	1,91	10,70
95% CI	50,1 – 63,3	60,5 – 76,7	54,1 – 70,1	69,2 – 89,9	1620,8 – 2000,0	1700,0 – 2020,0	1,8 – 1,9	9,9 – 11,6
P	0,397	0,808	0,227	0,827	0,115	0,004	-	0,015

Klirens kreatinina N – klirens kreatinina određen nekompensiranom Jaffé metodom za kreatinin; klirens kreatinina K - klirens kreatinina određen kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; V – volumen 24-satne mokraće; A – površina tijela; U – kreatinin – koncentracija kreatinina u 24-satnoj mokraći; N – broj ispitanika; \bar{x} - srednja vrijednost; SD – standardna devijacija; 25. – 75. percentila – interkvartilni raspon; 95% CI – interval pouzdanosti od 95%; P – testiranje normalnosti raspodjele (na razini značajnosti $P < 0,05$); M – muškarci; Ž – žene



Slika 1. Passing-Bablok regresijski model za usporedbu klirensa kreatinina određenog nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom; N=272; puna linija - regresijski pravac $y=1,212x-4,414$; crtkane linije – interval pouzdanosti; točkasta linija – idealni pravac $y=x$



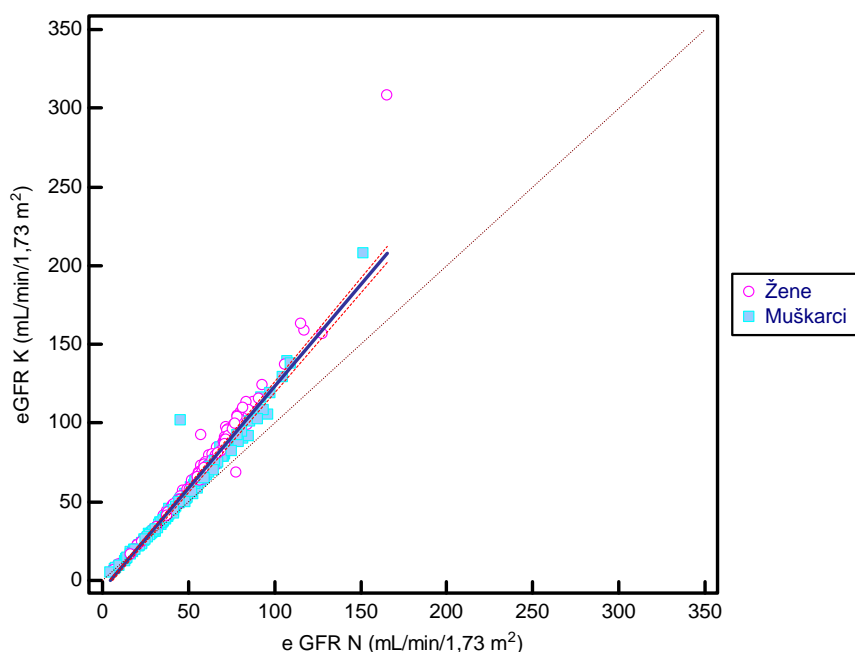
Slika 2. Bland-Altman model za razlikovanje klirensa kreatinina određenih nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom; N=272; Puna linija – srednja vrijednost razlike u mjerenjima ($-9,8 \text{ mL/min/1,73 m}^2$) s granicama pouzdanosti; isprekidana crvena linija – raspon $\pm 1,96 \text{ SD}$

Rezultate klirensa kreatinina izvedenog iz mjerenih koncentracija kreatinina u serumu i u mokraći prikazuje Tablica 5. Uz koncentraciju kreatinina u serumu i mokraći u jednadžbu su uključene i varijable površine tijela (A u m^2) i volumena dnevne mokraće (V u mL) koje proizlaze iz prethodnog računa na temelju tjelesne visine i težine (TV i TT) i mjerenja volumena 24-satne količine mokraće. Statističkom regresijskom analizom Passing-Bablok, prikazanom na Slici 1., utvrđena je neusporedivost metoda. Zaključak proizlazi iz sljedećih podataka o jednadžbi pravca regresije $y=1,212x-4,414$: odstupanje od linearnosti ($P<0,01$); 95% CI odsječka na osi y ne sadrži 0 ($-5,266$ do $-3,578$), a 95% CI nagiba pravca ne sadrži 1 ($1,195$ do $1,232$). Rezultati upućuju na postojanje konstantne i proporcionalne razlike između metoda. Bland-Altman model (Slika 2.) pokazuje usporedivost i homogenost rezultata za vrijednosti klirensa do 30 mL/min . Porastom vrijednosti raste rasipanje rezultata i razdvajanje muške od ženske populacije kao rezultat sve veće razlike između dvije metode. Premda je 95% rezultata unutar $\pm 1,96 \text{ SD}$, taj raspon razlika, od $-27,8$ do $+ 8,1 \text{ mL/min/1,73m}^2$ nije klinički beznačajan.

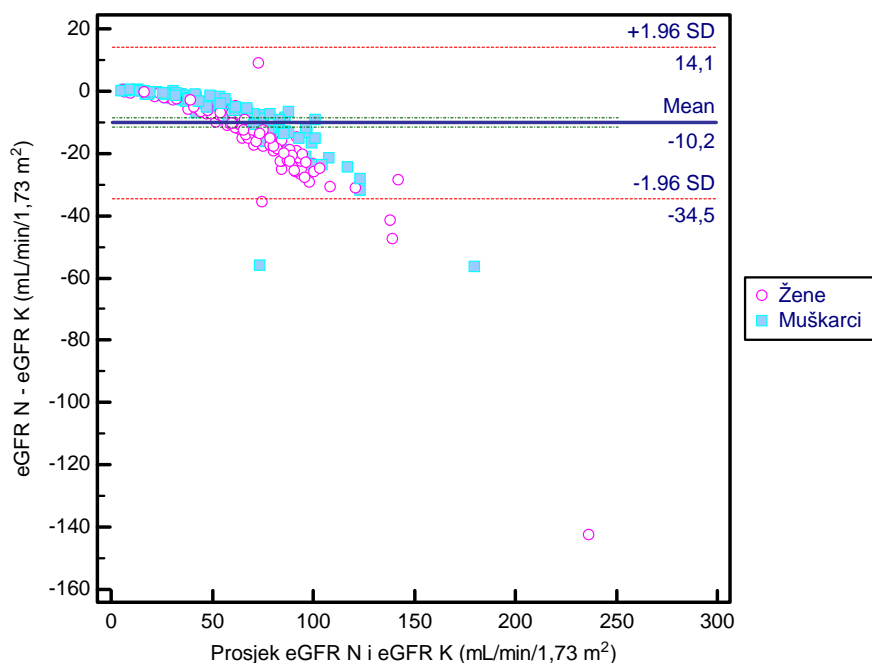
Tablica 6. Vrijednosti eGFR određene nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin

	eGFR N (mL/min/1,73m ²)		eGFR K (mL/min/1,73m ²)	
	M	Ž	M	Ž
spol				
N	130	142	130	142
$\bar{x} \pm SD$	51,8 ± 25,44	56,9 ± 25,57	59,1 ± 32,65	69,8 ± 38,15
25-75 P	33,7 – 68,3	40,9 – 73,0	35,5 – 79,0	47,4 – 91,5
medijan	50,20	59,25	55,50	70,35
95% CI	43,3 – 56,6	50,1 – 62,3	47,8 – 63,9	65,2 – 75,5
P	0,749	0,359	0,619	0,286

eGFR N – procjenjena brzina glomerularne filtracije određene nekompensiranom Jaffé metodom za kreatinin; eGFR K – procjenjena brzina glomerularne filtracije određene kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; N – broj ispitanika; \bar{x} - srednja vrijednost; SD – standardna devijacija; 25. – 75. percentila – interkvartilni raspon ; 95% CI – interval pouzdanosti od 95%; P – testiranje normalnosti raspodjele (na razini značajnosti $P < 0,05$); M – muškarci; Ž – žene



Slika 3. Passing-Bablok regresijski model za usporedbu eGFR određene nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom; N=272; puna linija - regresijski pravac $y=1,294x-6,456$; crtkane linije – interval pouzdanosti; točkasta linija – idealni pravac $y=x$



Slika 4. Bland-Altman model za razlikovanje eGFR određene nekompensiranom i kompenziranom Jaffé metodom; N=272; Puna linija – srednja vrijednost razlike u mjerenjima (-10,2 mL/min/1,73 m²) s granicama pouzdanosti; isprekidana crvena linija – raspon ±1,96 SD

Statističkom regresijskom analizom Passing-Bablok, prikazanom na Slici 3., utvrđena je neusporedivost metoda. Zaključak proizlazi iz sljedećih podataka o jednadžbi pravca regresije: $y=1,294x-6,456$: odstupanje od linearnosti ($P<0,01$), 95% CI odsječka na osi y ne sadrži broj 0 (-7,703 do -5,432), a 95% CI nagiba pravca ne sadrži broj 1 (1,271 do 1,318). Rezultati upućuju na postojanje konstantne i proporcionalne razlike između metoda. Bland-Altman model (Slika 4.) pokazuje usporedivost i homogenost rezultata za vrijednosti klirensa do 30 mL/min. Porastom vrijednosti raste rasipanje rezultata i razdvajanje muške od ženske populacije kao rezultat sve veće razlike između dvije metode. Premda je 95% rezultata unutar ±1,96 SD, taj raspon razlika od -34,5 do +14,1 mL/min/1,73 m² nije klinički beznačajan.

Tablica 7. Klasifikacija KBB prema GFR (16)

Stadij	Opis	GFR (mL/min/1.73 m ²)
1	Normalna ili povećana GFR	≥ 90
2	Blago snižena GFR	60 – 89
3	Umjereno snižena GFR	30 – 59
4	Izrazito snižena GFR	15 – 29
5	Zatajenje bubrega	< 15

KBB – kronična bubrežna bolest; GFR – brzina glomerularne filtracije

Tablica 8. Frekvencije bolesnika prema klirensu kreatinina u kategorijama KBB

Spol	Kategorije GFR raspona (mL/min/1.73m ²)	Klirens kreatinina N (mL/min/1.73m ²)	Klirens kreatinina K (mL/min/1,73m ²)	P
M	≥ 90	28	33	0,922
	60 – 89	32	34	
	30 – 59	47	41	
	15 – 29	15	14	
	< 15	8	8	
Ž	≥ 90	32	59	0,016
	60 – 89	53	37	
	30 – 59	36	27	
	15 – 29	19	17	
	< 15	2	2	

KBB – kronična bubrežna bolest; klirens kreatinina N – klirens kreatinina određen nekompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; klirens kreatinina K - klirens kreatinina određen kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; P – testiranje razlike proporcija χ^2 testom (na razini značajnosti $P < 0,05$); M – muškarci; Ž – žene

Tablica 9. Frekvencije bolesnika prema eGFR u kategorijama za klasifikaciju KBB

Spol	Kategorije GFR raspona (mL/min/1.73m ²)	eGFR N (mL/min/1.73m ²)	eGFR K (mL/min/1.73m ²)	P
M	≥ 90	11	22	0,230
	60 – 89	34	38	
	30 – 59	59	46	
	15 – 29	19	17	
	< 15	7	7	
Ž	≥ 90	7	39	<0,0001
	60 – 89	63	51	
	30 – 59	47	28	
	15 – 29	20	19	
	< 15	5	5	

eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije; KBB – kronična bubrežna bolest; eGFR N – procjenjena brzina glomerularne filtracije određene nekompensiranom Jaffé metodom za kreatinin; eGFR K– procjenjena brzina glomerularne filtracije određene kompenziranom Jaffé metodom za kreatinin; P – testiranje razlike proporcija χ^2 testom (na razini značajnosti $P < 0,05$); M – muškarci; Ž – žene

Kliničke kategorije KBB definirane su prema procjeni brzine glomerularne filtracije bez obzira na spol (Tablica 7.). Isto tako i referentni interval za GFR (60 do 143 ml/min/1,73) obuhvaća oba spola. Međutim, u statističkim analizama Passing-Bablok i Bland-Altman (Slike od 1. – 4.) primijetili smo izdvajanje ženske populacije te smo razvrstali bolesnike prema spolu. Tablično su prikazani udjeli bolesnika u pojedinoj kategoriji KBB temeljem GFR raspona. U Tablici 8. razvrstani su prema vrijednostima klirensa s kompenziranom i nekompensiranom metodom serumskog kreatinina, a u Tablici 9. prema vrijednostima eGFR također u odnosu na obje metode za serumski kreatinin. Rezultati χ^2 testa pokazali su da nema razlike u proporcijama između skupina muških bolesnika ($P=0,923$ i $P=0,230$), ali da se ona statistički zapaža kod skupina ženskih bolesnika ($P=0,015$ i $P<0,0001$)

5 Rasprava

Populacija bolesnika koja se slučajno našla u KZZK u toku ožujka 2012. reprezentativni je slučajni uzorak kakav se realno susreće svakodnevno u kliničkoj praksi. Uzorak je dovoljno velik (N=272) uključuje heterogene uputne i definitivne dijagnoze, pa tako i kronične bubrežne bolesnike i sve one koji to nisu. Svim bolesnicima u kliničkoj praksi određuje se na isti način klirens kreatinina, a prosudbu nalaza ne može kontrolirati laboratorij jer ne zna sve ulazne parametre. Ograničenja u interpretaciji nalaza serumskog kreatinina dobro su poznata (životna dob, mišićna masa ženski spol, manja mišićna masa, vegetarijanska prehrana, ingestija kuhanog mesa, malnutricija, mišićna degeneracija, amputacija, pretilost, lijekovi, smanjena tubularna sekrecija kreatinina itd.), kao i predanalitičke interferencije zbog ikterije, lipemije i hemolize (7,17,18). Najčešće korištena metoda u hrvatskim laboratorijima je kinetička tj. kontinuirana metoda . (7) O tome svjedoče izvještaji povjerenstva za vanjsku kontrolu kvalitete Hrvatskog društva medicinskih biokemičara.

Kompenzirana Jafféova kontinuirana metoda (19,20) novija je inačica koju će najvjerojatnije početi primjenjivati laboratoriji potaknuti preporukom Hrvatske komore medicinskih biokemičara. Njezina primjena nailazi na suprostavljena mišljenja u znanstvenoj biomedicinskoj zajednici, osobito zbog njezina utjecaja na procjenu glomerularne filtracije (21,22).

Ni ova metoda, kao ni druge modifikacije originalne Jafféove metode (23), ili enzimatske metode ne mogu biti oslobođene slabe specifičnosti i ponovljivosti (21). Najveći doprinos unapređenju metode i harmonizaciji nalaza dala je standardizacija (suradnjom IFCC-a i NKDEP-a) ustanovivši referentnu metodu i referentni materijal. (24)

Naši rezultati za serumski kreatinin pokazali su statistički značajne razlike između kompenzirane i nekompenziran metode (proporcionalna i linearna razlika analizom Passing-bablok), ali sukladno referentnim intervalima bolesnici su ujednačeno svrstani unutar ili izvan referentnog intervala (χ^2 testiranje: M: P=0,2960; Ž: P=0,594). Slične su rezultati dobili i autori u zemlji (25), kao i u inozemstvu(26).

Sam klirens kreatinina ima mnoge manjkavosti, a često je najveći problem točno i pravilno prikupljena 24-satna mokraća. Pošto se 24-satna mokraća najčešće prikuplja bez nadzora događa se da prikupljanje mokraće nije potpuno, te se zbog toga može pogrešno zaključiti o bubrežnoj funkciji. Također se može precijeniti GFR zbog tubularnog lučenja kreatinina u bubregu. Precijenjen GFR je to izraženiji što se koncentracija kreatinina u plazmi poveća

iznad normalne vrijednosti. (27,28) Osim toga, za određivanje klirensa kreatinina koriste se uzorci i seruma i mokraće koji imaju različite matrice pa se samim time i javlja problem različitih interferencija kod mjerenja koncentracije kreatinina. Najbolji primjer toga je pojava interferencije proteina koja se javlja kod određivanja koncentracije kreatinina u serumu, ali se ne javlja kod određivanja koncentracije kreatinina u mokraći. Općenito, mokraća sadrži znatno manje ostalih kromogena koji mogu interferirati. Također, bitno je primjetiti da odnos klirensa kreatinina i serumskog kreatinina nije obrnuto proporcionalan nego je eksponencijalan, te zbog toga koncentracija serumskog kreatinina značajno raste tek kada brzina glomerularne filtracije padne na 50% normalne vrijednosti. Zbog svega navedenoga klirens je bio i ostao samo procjena GFR. (27)

Međutim, i MDRD ima svoje mane, a najveća mana je to što je MDRD jednadžba rađena na populaciji s KBB te se ne bi smjela primjenjivati na opću populaciju, tj. na bolesnike koji nemaju KBB. Razlog tome je što je odnos kreatinina i GFR različit u te dvije populacije, jer tubularna sekrecija kreatinina raste kako GFR pada. (29,30) Konačno, kako je odnos GFR i serumskog kreatinina eksponencijalan, samo male promjene u koncentraciji serumskog kreatinina dovode do velikih modifikacija rezultata MDRD jednadžbe. Zbog male preciznosti svih Jaffé metoda, odstupanje u određivanju serumskog kreatinina može uzrokovati dovoljne promjene vrijednosti kreatinina da se smanji točnost MDRD jednadžbe kod bolesnika koji nemaju KBB. (31) MDRD studija provedena je s mjerenjima prema kontinuiranoj metodi prije standardizacije s IDMS i SRM 967 (32), a poslije nje bilo je puno korekcija faktora u odnosu na standardizaciju, na zdrave skupine te objedinjene zdrave i bolesničke skupine izražene kao usrednjačena formula za sve populacije (33). Do danas ima preko 45 inačica jednadžbe koje procjenjuju GFR na temelju mjerenja S-kreatinina. Ukratko, kako i klirens kreatinina tako je i eGFR također samo procjena. (34) U našem radu nismo uspoređivali podudarnost klirensa i eGFR jer ni jedna metoda ne procjenjuje bubrežnu funkciju s istih pozicija i istom metodologijom.

U uvjetima kliničke pakse i nepouzdanosti svih metoda za GFR, u konačnici liječnik vrednuje vjerodostojnost nalaza klirensa, odnosno eGFR. Najvažnija i gotovo jedina misija klirensa ili eGFR jest procijeniti stadij i rano otkriti KBB te primijeniti medicinsku strategiju radi smanjenja rizika za progresiju zatajenja bubrega i kardiovaskularne smrti (28).

Naši rezultati pokazuju statistički značajnu nepodudarnost (Passing-Bablok i Bland-Altman modelom) u mjerenju klirensa i eGFR kod primjene kompenzirane metode za kreatinin u serumu, ali je njihov odnos sačuvao linearnost.

Klinička primjena transformira laboratorijski nalaz u neki od stupnjeva KBB. Stupnjevi obuhvaćaju vrijednosti GFR koji dovode u pitanje postojanje KBB do sigurne KBB. To je stupnjevanje bolesnika u klinici najvažniji i najodgovorniji trenutak jer se na temelju toga poduzimaju medicinski postupci (Tablica 11.). Stoga samo prosuđivali rezultate primjene kompenzirane metode i na temelju kliničkih posljedica.

Tablica 10. Klasifikacija KBB prema GFR uz plan kliničkog djelovanja (28)

Stadij	Opis	GFR (mL/min/1.73m ²)	Plan kliničkog djelovanja
1	Normalna ili povećana GFR	≥90	Dijagnoza zahtjeva dokaz bubrežnog oštećenja (ultrazvuk, proteinurija...)
2	Blago snižena GFR	60 – 89	Dijagnoza zahtjeva dokaz bubrežnog oštećenja (ultrazvuk, proteinurija...)
3	Umjereno snižena GFR	30 – 59	Razmatrati bubrežne i srčane faktora rizika (krvni tlak, kolesterol, pušenje, pretilost...) Lijekovi po potrebi(ACE inhibitori) Izbjegavati nefrotoksične lijekove Korigirati anemiju, acidozu i hiperparatireoidizam Odgovarajuće doziranje lijekova Uputnica nefrologu po potrebi
4	Izrazito snižena GFR	15 – 29	Kao gore navedeno uz uputnicu nefrologu Priprema za dijalizu ili transplantaciju ako su predviđene
5	Zatajenje bubrega	<15	Kao gore navedeno uz uputnicu nefrologu Dijaliza ili transplantacija ako su predviđene

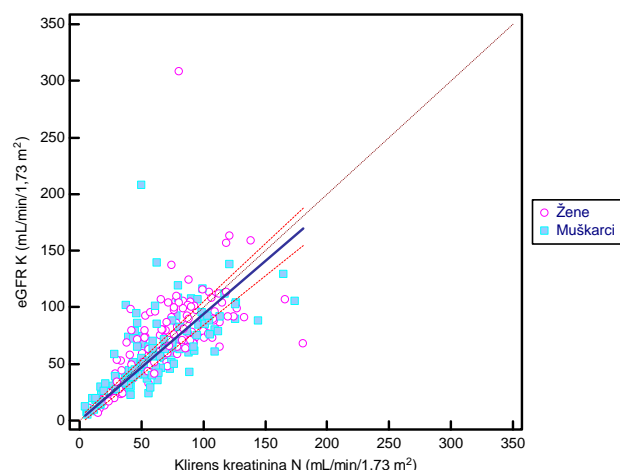
Pripadnost muških ispitanika stupnjevima KBB nije se razlikovala zbog primjene nove metode zbog čega statističku nepodudarnost možemo smatrati klinički nevažnom. Međutim, žene su se u tim modelima izdvojile kao posebna populacija koja se nije jednako ponašala u razvrstavanju prema stupnjevima KBB. Promjena metode utjecala je na razvrstavanje ženskih bolesnika prema klirensu (P=0,0156) i još više prema eGFR (P=0,0001). Za vrijednosti klirensa ili eGFR do ~30 ml/min/1,73m² muškarci i žene homogena su skupina. Kod viših

vrijednosti trend se proporcionalno mijenja – za oba spola povećava se vrijednost GFR s kompenziranom metodom proporcionalno s padom koncentracije serumskog kreatinina. I istovremeno se istim trendom razdvajaju spolovi. Objašnjenje za ovu pojavu nije jednostavno, tim više što formula za eGFR ima korekciju za ženski spol. Korekcija koja je uvedena u originalnoj MDRD jednadžbi dokazuje da postoji razlika između spolova, ali ona se mora vrednovati za svaku i najmanju promjenu. Klinički jezikom to znači da će procjena bubrežne funkcije biti podcijenjena - veći će broj žena prijeći iz 3. i 2. kategorije u 2. i 1. kategoriju KBB. To može imati kliničke posljedice. Slične rezultate neproporcionalnih nalaza klirensa i eGFR na granici serumске koncentracije kreatinina od 150 $\mu\text{mol/L}$ (sukladno vrijednostima eGFR oko 30 mL/min) dobili su i drugi autori (6, 26).

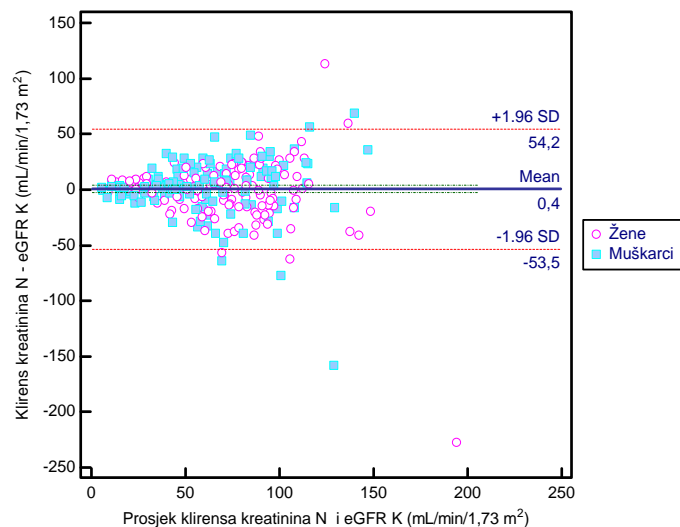
Ukupni rezultati još jednom dokazuju da su matematičke izvedenice s izmjerenim vrijednostima podložni velikim oscilacijama za vrlo malu promjenu izmjerenih veličina.

U Kliničkom zavodu za kemiju, gdje je i provedeno istraživanje, rutinski se primjenjuje metoda za klirens kreatinina s nekompenziranom kinetičkom metodom za kreatinin sljedivom prema IDMS i SRM 967. Što bi se, primjerice, dogodilo da se prema preporukama svjetskih i domaćih stručnih društava opredjeli za dvostruku promjenu - primjenu kompenzirane metode i procjenu bubrežne funkcije s eGFR?

Premda smo već ranije utvrdili da nije opravdano uspoređivati metode koje nemaju istu metodologiju za procjenu GFR, iskušat ćemo realnu mogućnost u praksi. Rezultat bi bio sljedeći:



Slika 5. Passing-Bablok regresijski model za usporedbu klirensa kreatinina određenog nekompenziranom Jaffé metodom i eGFR određene kompenziranom Jaffé metodom ; N=272; puna linija - regresijski pravac $y = -0,230383 + 0,941003x$; crtkane linije – interval pouzdanosti; točkasta linija – idealni pravac $y=x$



Slika 6. Bland-Altman model za razlikovanje eGFR određene kompenziranom Jaffé metodom i klirensa kreatinina određenog nekompenziranom Jaffé metodom; N=272; Puna linija – srednja vrijednost razlike u mjerenjima ($0,4 \text{ mL/min/1,73 m}^2$) s granicama pouzdanosti; isprekidana crvena linija – raspon $\pm 1,96 \text{ SD}$

Tablica 11. Usporedba frekvencija (272 ispitanika, neovisno o spolu) u stadijima KBB prema KLKN N i prema eGFR K

Spol	Kategorija (mL/min)	Klirens kreatinina N (mL/min/1,73m ²)	eGFR K (mL/min/1,73m ²)	P
M + Ž	≥90	59	59	0,921
	60 – 89	85	91	
	30 – 59	82	73	
	15 – 29	36	37	
	<15	10	12	

Iz prikazanih rezultata zaključujemo da kliničari ne bi primijetili promjenu i da za to postoji statističko uporište. Istovremena promjena metode za kreatinin u serumu i procjenu GFR prihvatljivija je od postupne promjene - prelaska na kompenziranu metodu uz zadržanu metodu klasičnog klirensa. Dobitak za kliničku praksu – bolesnici ne bi prikupljali 24-satnu mokraću.

6 Zaključak

1. Kompenzirana metoda za kreatinin statistički nije usporediva s nekompenziranom metodom, a klinički je potpuno primjenjiva za opću populaciju stariju od 20 godina uz preduvjet promjene referentnih intervala.
2. Klirensi kreatinina izmjereni primjenom kompenzirane i nekompenzirane metode za kreatinin nisu statistički usporedivi i pokazuju podudarnost samo za vrijednosti do oko 30 mL/min/1,73m². U višim vrijednostima klirensa rezultati dvaju pristupa sve se više razlikuju i sve više razdvajaju muška od ženske populacije.
3. Usporedba eGFR prema MDRD studiji, u odnosu na primjenu kompenzirane i nekompenzirane metode za kreatinin pokazala je iste rezultate kao i kod usporedbe klirensa.
4. Klinička prosudba za mušku populaciju pokazuje da je udio bolesnika podjednako razvrstan u stadije kronične bubrežne bolesti (definirane prema GFR) bez obzira na metodu za kreatinin.
5. Klinička prosudba za žensku populaciju pokazuje da je klasifikacija u stadijima od 1 do 3 značajno različita u odnosu na metodu za kreatinin.
6. Ograničenja empirijskih formula ne bi trebala obeshrabriti ni laboratorije ni kliniku jer su ograničenja klirensa još i veća.

Prelazak na kompenziranu metodu za kreatinin i istovremeno na primjenu eGFR formule, opravdan je i pouzdan za primjenu na širokoj populaciji raznovrsnih dijagnoza kakva se zapaža u svim laboratorijima i kojoj se, tako nehomogenoj, rutinski svakodnevno mjeri klirens kreatinina.

7 Zahvale

Posebno zahvaljujemo našoj mentorici doc. dr. sc. Nadi Vrkić na brojnim korisnim sugestijama i savjetima pri pisanju ovog rada.

Zahvaljujemo i djelatnicima Kliničkog zavoda za kemiju KBC Sestre milosrdnice na iznimnoj pomoći u izradi praktičnog dijela rada.

Zahvaljujemo i Ani Lončar Vrančić, mag.med.biochem. na pomoći u postavljanju metoda i u radu na automatskom analizatoru.

8 Literatura

1. Burtis, Carl A., i Edward R. Ashwood. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994.
2. Vrkić, Nada. »Procjena brzine glomerularne filtracije i mjerenje proteinurije i albuminurije.« *Medix*, br. 74 (2008): 9-15.
3. Mauro Panteghini, Gary L. Myers, W. Greg Miller, Neil Greenberg. »The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function.« *Clin Chem Lab Med*, 2006: 1187-1192.
4. »Certificate of Analysis, Standard Reference Material 914a.« 1994.
5. May, W.; Parris, R.; Beck, C.; Fassett, J.; Greenberg, R.; Guenther, F.; Kramer, G.; Wise, S.; Gills, T.; Colbert, J.; Gettings, R.; MacDonald, B.; Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value-Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements; NIST Special Publication 260-136, U.S. Government Printing Office, Gaithersburg, MD; 2000.
6. Wuyts, Birgitte, i dr. »Reevaluation of Formulas for Predicting Creatinine in Adults and Children, Using Compensated.« *Clinical Chemistry*, 2003: 1011-1014.
7. Fabiny, Diane L., i Gerhard Ertingshausen. »Automated Reaction-Rate Method for Determination of Serum Creatinine with the CentrifChem.« *Clinical Chemistry*, 1971: 696-700.
8. Čvorišćec, Dubravka, i Ivana Čepelak. *Štrausova Medicinska Biokemija*. Zagreb: Medicinska naklada, 2009.
9. Cockcroft, D, i M Gault. »Prediction of creatinine clearance from serum creatinine.« *Nephron* 16 (1976): 31-41.
10. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A: *The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. Pediatr Clin North Am* 1987, 34: 571– 590

11. Levey, AS, J Coresh, i T Greene. »Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate.« *Annals of Internal Medicine* 145 (2006): 247-254.
12. Delanghe, JR. »GFR - Where are we now?« *eJIFCC* 20 (2009): 66-71.
13. *Development of Definitive Methods for the National Reference System for the Clinical Laboratory, Approved Guideline*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991.
14. Albret Šubić, N., i D. Tadej. *Referentne vrijednosti klinički relevantnih sastojaka krvi i seruma. Model: Populacija Zagreba i bliže okolice*. Zagreb: Školska knjiga, 1990.
15. Cerotti, F., J.C. Boyd, i G. Klein. »Cerotti F, Boyd JC, Klein G. et al. Reference intervals for serum creatinine concentrations: Assessment of available data for global application. *Clin Clin Chem*, 2008: 559-566.
16. »K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification.« *American Journal of Kidney Diseases (KDOQI)*, 2002: 1-266.
17. Fawaz, A, i KF Badr. »Measuring filtration function in clinical practice.« *Cur Opin Nephrol Hypertens* 15 (2006): 643-647.
18. Daly, TM, KC Kempe, i MG Scott. »"Bouncing" creatinine levels.« *N Engl J Med*, br. 334 (1996): 1749-1750.
19. Hanser, A-M, B Hym, O Michotey, D Gascht, A Marchal, i M Minery. »Comparison of methods for the determination of blood creatinine.« *Ann Biol Clin*, br. 59 (2001): 737-742.
20. Zawta, B, J Delanghe, Y Taes, Van den Noortgate, N Lameire, i W Engel. »Arithmetic compensation for pseudo creatinine interferences of the creatinine Jaffe method and its effect on creatinine clearance results.« *Clin Chem Part 2 Suppl S* 46 (2001): 487.
21. Peake, M, i M Whiting. »Measurement of Serum Creatinine - Current Status and Future Goals.« *Clin Biochem Rev*, br. 27 (2006): 173-184.

22. Lamb, EJ, CRV Tomson, i PJ Roderick. »Estimating kidney function in adults using formulae.« *Ann Clin Biochem*, br. 42 (2005): 321-345.
23. Jaffe, M. »Über den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins.« *Z Physiol Chem*, br. 10 (1886): 391-400.
24. Levey, AS, i dr. »Expressing the MDRD study equation for estimating GFR with IDMS traceable (Gold Standard) serum creatinine values.« *J Am Soc Nephrol*, 2005: F-FC142.
25. Flegar-Meštrić, Z, S Perkov, B Šimonović, i D Juretić. »Applicability of common reference intervals for serum creatinine intervals for serum creatinine concentrations to the Croatian population.« *Clin Chem Lab Med*, br. 48(2) (2010): 231-235.
26. Chan, MH, i KF Ng. »Effect of a compensated Jaffe creatinine method on the estimation of glomerular filtration rate.« *Ann Clin Biochem* 41 (2004): 482-484.
27. Thomas, L. *Clinical laboratory diagnosis of kidney and urinary tract disorders: Use and assessment of clinical laboratory results*. Frankfurt: Th-Books Verlagsgesellschaft, 1998.
28. Noble, E, i DW Johnson. »Automatizirani laboratorijski nalazi određivanja brzine glomerularne filtracije: jesu li dobri za zdravlje bolesnika i njihove liječnike?« *Biochemia Medica* 17 (2007): 16-28.
29. Froissart, M, J Rossert, C Jaquot, M Paillard, i P Houillier. »Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function.« *J Am Soc Nephrol* 16 (2005): 763-773.
30. Hallen, M, A Asberg, M Lindberg, i H Johnsen. »Validation of the Modification of Diet in Renal Disease formula for estimating GFR with special emphasis on calibration of the serum creatinine assay.« *Am J Kidney Dis* 44 (2004): 84-93.
31. Myers, GL, WG Miller, i J Coresh. »Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the laboratory working group of the national kidney disease education program.« *Clin Chem* 52 (2006): 5-18.
32. Levey, AS, JP Bosch, JB Lewis, T Greene, N Rogers, i D Roth. »A more accurate method for estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation.Modification of Diet in Renal Disease.« *Ann Intern Med* 130 (1999): 461-470.

33. Rule, AD, i TS Larson. »Using Serum Creatinine To Estimate Glomerular Filtration Rate:Accuracy in Good Health and in Chronic Kidney Disease.« *Ann Intern Med* 141 (2004): 929-937.
34. Earley A, Miskulin D, Lamb EJ, Levey AS, Uhlig K. Estimating Equations for Glomerular Filtration Rate in the Era of Creatinine Standardization, *Ann Intern Med* E-391 published ahead of print February 6, 2012
35. www.hkmb.hr/obavijesti/arhiva2010/2010-revizija-kreatinina.doc , pristupljeno: travanj 2012.
36. Data on file at Beckman Coulter , OSR General Chemistry, BAOSR6x78.02; 2010.

9 Sažetak

Marija Brzak i Franciska Soldo

KOMPENZIRANA METODA ZA KREATININ I PROCJENA GLOMERULARNE FILTRACIJE U HETEROGENOJ POPULACIJI BOLESNIKA

Kreatinin je metabolit koji nastaje u mišićima kao produkt spontane dehidracije kreatina u mišićnom tkivu. Izlučuje se uglavnom glomerularnom filtracijom što ga čini važnim endogenim pokazateljem funkcije bubrega. Klirens kreatinina definira se kao omjer koncentracije kreatinina u serumu i mokraći, a služi procjeni brzine glomerularne filtracije. Kreatinin i klirens kreatinina imaju vodeću ulogu u ranoj dijagnostici, praćenju i stupnjevanju težine kronične bubrežne bolesti. Rutinska metoda za određivanje kreatinina je fotometrijska metoda po Jafféu. Nedostatak ove metode je njezina nespecifičnost. Novija je inačica kompenzirana metoda. Nadalje, za procjenu glomerularne filtracije preporučeno je primjenjivati jednadžbu temeljenu na MDRD studiji, tzv. eGFR za starije od 18 godina. Cilj je ovoga rada ocijeniti kako će se uvođenje kompenzirane metode odraziti na kliničku primjenu te kako će utjecati na procjenu GFR u interpretaciji nalaza i praćenju liječenja bolesnika starijih od 20 godina.

Ispitivana je skupina brojala 130 muškaraca i 142 žene kojima je u periodu od 20 dana u KBC Sestre milosrdnice ordinirana pretraga klirensa kreatinina. Serumski kreatinin i eGFR napravljeni su s kompenziranom i nekompenziranom metodom za serumski kreatinin.

Zaključno, kompenzirana metoda za kreatinin statistički nije usporediva s nekompenziranom metodom, a klinički je potpuno primjenjiva za opću populaciju stariju od 20 godina uz preduvjet promjene referentnih intervala. Usporedba rezultata eGFR u odnosu na primjenu kompenzirane i nekompenzirane metode za kreatinin pokazala je nepodudarnost i isto takav rezultat kod usporedbe klirensa. Primjena kompenzirane metode dala je statistički neusporedive rezultate u procjeni GFR. Međutim, klinička primjena u razvrstavanju bolesnika prema stadiju KBB bila je dobro usporediva u muškoj skupini dok je ženska skupina razvrstana značajno drugačije u stadijima 1-3.

Prelazak na kompenziranu metodu za kreatinin i istovremenu primjenu eGFR formule, opravdan je i pouzdan za primjenu na širokoj populaciji raznovrsnih dijagnoza kakva se zapaža u svim laboratorijima i kojoj se, tako nehomogenoj, rutinski svakodnevno mjeri klirens kreatinina.

Ključne riječi: kreatinin, klirens kreatinina, glomerularna filtracija, eGFR, kompenzirana Jaffé metoda

10 Summary

Marija Brzak i Franciska Soldo

COMPESATED CREATININE METHOD AND GLOMERULAR FILTRATION RATE ESTIMATION IN A HETEROGENOUS POPULATION OF PATIENTS

Creatinine is a metabolite generated as a product of spontaneous dehydration of creatine in muscle tissue. It is excreted mainly by glomerular filtration, which makes it an important endogenous indicator of kidney function. Creatinine clearance is defined as the ratio of the concentration of creatinine in serum and urine. It assesses glomerular filtration. Creatinine and creatinine clearance have a leading role in the early diagnosis, monitoring and classification of chronic kidney disease. The routine method for determining the concentration of creatinine is the Jaffé photometric method. A newer version is the compensated method. Furthermore, the recommended equation for the estimation of GFR is the one based on the MDRD study (eGFR) intended for people over 18 years. The aim of this paper is to evaluate how the introduction of a compensated method will affect the clinical use and influence the assessment of GFR in the interpretation of findings and treatment monitoring for people over 20 years. The study group numbered 130 men and 142 women whose requested laboratory test was creatinine clearance. Data were collected during 20 days in KBC Sestre milosrdnice. Concentration of creatinine in serum and eGFR were performed by compensated and uncompensated Jaffé method.

In conclusion, the compensated creatinine method is not statistically comparable with the uncompensated method, but is clinically fully applicable to the general population above the age of 20, given that the reference intervals are changed. The comparison of eGFR in relation to the application of compensated and uncompensated methods for determining the creatinine concentration, showed the same results as the comparison of clearance. Usage of compensated method gave statistically incomparable results in GFR estimation. However, in clinical practice the classification of patients according to stages of CKD was comparable in the male group, while the female group was classified significantly different.

Switching to the compensated creatinine method and simultaneously applying the eGFR formula is valid and reliable for use in the general population of various diagnoses, which can be noted in all laboratories and which is, although inhomogeneous, routinely used to measure daily creatinine clearance.

Key words: creatinine, creatinine clearance, glomerular filtration, eGFR, compensated Jaffé method