

KOMPENZIRANA METODA ZA ODREĐIVANJE KREATININA I PROCJENA GLOMERULARNE FILTRACIJE U HETEROGENOJ POPULACIJI BOLESNIKA

FRANCISKA SOLDI¹, MARIJA BRZAK¹ i NADA VRKIĆ^{1,2}

¹Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu i ²Klinički bolnički centar "Sestre milosrdnice", Klinički zavod za kemiju, Zagreb, Hrvatska

Novija modifikacija fotometrijske metode po Jafféu je kompenzirana kinetička metoda. Procjena glomerularne filtracije klirensom ili jednadžbom iz MDRD studije (eGFR) temelji se na izmjerenom serumskom kreatininu. Cilj je ovoga rada ocijeniti kako će se primjena kompenzirane metode odraziti na procjenu GFR i na klasificiranje bolesnika u stadije kronične bubrežne bolesti (KBB). Skupini bolesnika (N=272; 130 M, 142 Ž) starijoj od 20 godina kojoj je ordiniran klirens kreatinina, serumski kreatinin određen je kompenziranom i nekompenziranom metodom, obe sljedeće prema referentnoj metodi, a koncentracije su korištene za izračunavanje klirensa kreatinina i eGFR. Kompenzirana metoda statistički se razlikuje od nekompenzirane ($P < 0,01$), ali uz pripadajuće referentne intervale istovjetno kategorizira bolesnike u patološki/fiziološki razred ($P = 0,296$ -M; $0,950$ -Ž). Klirens i eGFR osjetljivi su na promjenu metode. Procjena GFR pokazuje značajne statističke razlike ovisno o primijenjenoj metodi za kreatinin. Vrijednosti GFR s kompenziranom metodom značajno su više, osobito u području $GFR > 30$ mL/min/1,73m². Razvrstavanje muškaraca u stadije KBB pokazalo se neovisno o metodi ($P = 0,922$ i $0,230$), dok su žene bile statistički značajno drugačije razvrstane u stadijima 1 do 3 prema rezultatima klirensa ($P < 0,016$) i prema eGFR ($P < 0,001$). Zamjena postojeće prakse određivanja klirensa nekompenziranom metodom s eGFR kompenziranom metodom pokazala je statistički usporedive rezultate, a bolesnici su bili jednako razvrstani u stadije KBB ($P = 0,921$).

Ključne riječi: kreatinin, Jafféova metoda, brzina glomerularne filtracije, jednadžba MDRD, kronična bubrežna bolest

Adresa za dopisivanje: Franciska Soldo
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Ante Kovačića 1
10000 Zagreb, Hrvatska
E-pošta: fsoldo88@gmail.com

Rad je namijenjen natječaju za Rektorovu nagradu za akademsku godinu 2011./2012. i izrađen u Kliničkom zavodu za kemiju KBC Sestre milosrdnice, Zagreb. Studentice Franciska Soldo i Marija Brzak dobile za ovaj rad Rektorovu nagradu (mentor: Nada Vrkić). Rad je izrađen u okviru znanstvenog projekta "Hemoreološki poremećaji u kroničnim bolestima" financiranog od Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta br. 134-0061245-0205.

A review of the literature on methods of creatinine determination in blood cannot but leave one with the impression that each investigator, using a new technique and one seemingly accurate, is able to get figures quite different from those obtained by any previous method.

Behre and Benedict, 1922.

UVOD

Fotometrijska metoda za mjerenje kreatinina koristi se od 1886. godine otkad je Max Jaffé prvi opisao metodu na temelju zapažanja da reakcija kreatinina s pikrinskom kiselinom u alkalnom mediju razvija narančasto obojenje (1). Zbog jednostavnosti i cijene metoda se primjenjuje još i danas u najvećem broju laboratorija diljem svijeta. Metoda je nespecifična te odstupa od stvarne koncentracije kreatinina u serumu tvoreći isto obojenje i s nekreatininskim supstancijama, poglavito proteinskim. Zbog slabe specifičnosti izazvane tzv. pseudokromogenom vrijednosti kreatinina mogu biti 20% više (2). Stoga se metoda stalno usavršava da bi se interferencije smanjile. Originalna Jafféova metoda poboljšana je kinetičkim pristupom kojim se izbjegava interferencija većine nekreatininskih sadržaja. Kod kinetičke metode mjeri se apsorbancija u vremenu od 20 do 60 sekundi nakon početka reakcije da bi se izbjeglo brzoreaktivne i spororeaktivne nekreatinske supstancije (3). Kompenzirana Jafféova metoda matematička je modifikacija kinetičke (kontinuirane) metode kao rezultat znanstvenih istraživanja usporedbe s referentnom metodom. Vrijednosti kalibratora podešene su tako da smanje utjecaj proteina na reakciju pa su vrijednosti izmjerenog kreatinina niže (4). Enzimska, teorijski specifičnija metoda, pokazuje bolja svojstva od Jafféove metode ali nije oslobođena interferencija, a zbog višestruko više cijene nije široko prihvaćena u rutinskim laboratorijima (5).

Kreatinin se mjeri isključivo zato da bi se procijenila brzina glomerularne filtracije (GFR, engl. *Glomerular Filtration Rate*) i to je njegova najvažnija klinička primjena (6). Stoga kreatinin možemo smatrati biljekom bubrežne funkcije, osim u rijetkim slučajevima tubularnog poremećaja. Primjena egzogenih supstancija za mjerenje GFR koje daju metodi svojstvo zlatnog standarda, klinički je teško primjenjivo. No, čak i takve izravne metode imaju pogreške u mjerenju GFR, a pogotovu metode koje uključuju sakupljanje urina. Poznata je problematika mjerenja GFR metodama klirensa – počevši od nepraktičnog, nepouzdanog i neprovjerljivog sakupljanja urina, zatim analitičkog mjerenja u različitim uzorcima s različitim interferentima (urin i serum) pa sve do dvojenog matematičkog omjera u koji uvrstavamo rezultate i još parametre procijenjene

površine tijela i vremena. Usto, opće znanje iz fiziologije uči nas da ne postoji proporcionalan odnos između GFR i serumskog kreatinina, već je odnos eksponencijalan pa koncentracija serumskog kreatinina značajno raste tek kada brzina glomerularne filtracije padne na 50% normalne vrijednosti (7).

Zbog svega navedenoga procjena GFR na temelju serumskog kreatinina ima najpouzdanije uporište, ali moramo biti unaprijed svjesni da nema savršene formule za procjenu GFR. Dosadašnja istraživanja ističu MDRD (engl. *Modified Diet in Renal Disease*) i CKD-EPI (engl. *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) empirijske formule boljima od ostalih jer su rezultat opsežnih studija, a validirane su na velikom broju ispitanika (8-10).

Valja imati na umu da su svi rutinski laboratorijski pristupi ocjeni bubrežne funkcije temeljeni na procjeni GFR, a ne na mjerenju GFR. Procjena GFR pak ima najvažniju kliničku primjenu u dijagnozi kronične bubrežne bolesti (KBB), ocjeni stupnja težine bolesti i ocjeni uspješnosti terapije. KBB je sistematski definirana 2002. i klasificirana u 5 stadija upravo na temelju procjene GFR (11). Otad smo svjedoci mnoštva radova s novijim ili modificiranim metodama za procjenjivanje GFR. U njima ključno mjesto ima serumski kreatinin pa se prirodno nameće imperativ da se trajno poboljšava točnost analitičkih metoda te uspostavlja međunarodna standardizacija radi međulaboratorijske usporedivosti. Klinički biokemičari moraju prihvatiti međunarodne preporuke NKDEP (engl. *National Kidney Disease Education Program*) i ustrojiti svoje rutinske metode. Kalibraciju valja provesti prema referentnom materijalu SRM 967 (engl. *Standard Reference Material*) koji u prirodnoj matrici (smrznuti humani serum) sadrži kreatinin izmjeren referentnom metodom IDMS (izotopna dilucijska masena spektrometrija) (12). Standardizacija metode za serumski kreatinin provedena je i u našoj zemlji prema preporukama HKMB (Hrvatska komora medicinskih biokemičara) (13). Ujedno je preporučena kompenzirana metoda i automatsko izražavanje GFR (preciznije eGFR, engl. *estimated Glomerular Filtration Rate*) na temelju izmjerenog serumskog kreatinina i demografskih varijabli - godine, spol i rasa.

CILJ

Cilj je ovog istraživanja ocijeniti kako će se uvođenje preporučene kompenzirane metode odraziti na kliničku primjenu, s posebnim naglaskom kako će se odraziti na procjenu brzine glomerularne filtracije metodom određivanja klirensa kreatinina i preporučenom primjenom MDRD empirijske jednadžbe.

ISPITANICI I METODE

Ispitanici

U istraživanje su uključeni svi bolesnici oba spola stariji od 20 godina (raspon 20-87 godina; medijan = 62) u razdoblju od 7. ožujka 2012. do 30. ožujka 2012. čiji su uzorci mokraće i seruma dostavljani u Klinički zavod za kemiju (KZZK) KBC-a Sestre milosrdnice (KBCSM) zbog pretrage klirensa kreatinina. Bolesnici su imali različite uputne dijagnoze te su se i zahtjevi liječnika za pretragom temeljili na različitoj medicinskoj problematici. No, svi su imali zajednički cilj da klirensom kreatina saznaju funkcionalnu očuvanost bubrega. Ukupno su zaprimljena 272 uzorka. Od liječnika obiteljske medicine bila su upućena 133 bolesnika, a ostali uzorci dostavljeni su s kliničkih odjela - 62 bolesnika s Nefrološkog odjela Klinike za unutarnje bolesti, a 72 s drugih odjela Klinike za unutarnje bolesti te drugih klinika bolnice. Bolesnicima je ujutro natašte u laboratoriju ili na odjelu uzeta jedna epruveta krvi bez anti-koagulansa u epruvetu s podtlakom (Greiner bio-one, Austrija) i preuzeta ukupna količina sakupljene 24-satne mokraće. Za potrebe ovog istraživanja bolesnicima nije uzeta dodatna količina krvi. Također, bolesnici su u istraživanju identificirani jedinstvenim identifikacijskim brojem te nisu korišteni nikakvi osobni podaci osim onih koji su obavezni dio identifikacije (dob i spol), te visine i težine koje su neophodni za pretragu klirensa kreatinina zbog koje su i upućeni u laboratorij.

Uzorci krvi centrifugirani su u laboratorijskoj centrifugi brzinom od 3500 okretaja/min, nakon čega je odvojen serum i čuvan zamrzavanjem na -20°C. Ukupna količina 24-satne mokraće homogenizirana je i izmjerena u menzuri od 3L.

Metode

U uzorcima seruma izmjeren je kreatinin kinetičkom Jafféovom metodom (14) (S-kreatinin N) i kompenziranom Jafféovom metodom (S-kreatinin K) na automatskom analizatoru AU 680 (Beckman Coulter, Fullerton, SAD) s pripadajućim originalnim reagensima istog proizvođača. Rezultati su izraženi u $\mu\text{mol/L}$.

Metode su sljedive prema referentnoj metodi IDMS i referentnom materijalu SRM 967 (smrznuta humana plazma) Nacionalnog instituta za standarde i tehnologiju (NIST, SAD) (15). Vrijednosti kalibratora za kompenziranu metodu podešene su tako da smanje utjecaj proteina na reakciju, a interferencije se automatski korigiraju oduzimanjem 18 $\mu\text{mol/L}$. Kreatinin u mokraći određen je na istom analitičkom sustavu kontinuiranom Jafféovom metodom (16,17) sljedivom prema referentnom materijalu SRM 914a (supstancija kreatinina čistoće 99,7 \pm 0,3%) s originalnim reagensima proizvođača uz automatsku diluciju mokraće 1:10 fiziološkom otopinom. Mjerni postupci provedeni su prema uputama proizvođača Beckman Coulter (18).

Klirens kreatinina izračunat je prema jednadžbi $U \times V/S \times t$, u kojoj je U koncentracija kreatinina u mokraći ($\mu\text{mol/L}$), V volumen 24-satne mokraće (mL), S serumska koncentracija kreatinina ($\mu\text{mol/L}$), a t broj minuta u danu (1440). Rezultat je korigiran faktorom 1,73/A prema "idealnoj" površini tijela (1,73 m²) gdje je A površina tijela ispitanika izračunata na temelju njegove visine i težine (19). Rezultati klirensa izraženi su kao mL/min/1,73 m².

Klirens kreatinina pokazan je dvjema inačicama u odnosu na izvršeni rezultat serumskog kreatinina - nekompenziranom Jafféovom metodom (klirens kreatinina N), i kompenziranom Jafféovom metodom (klirens kreatinina K).

Rezultati eGFR također imaju dvije inačice u odnosu na metodu za serumski kreatinin - eGFR N prema nekompenziranoj i eGFR K prema kompenziranoj Jafféovoj metodi. Budući da je metoda za kreatinin sljediva prema IDMS, koristili smo prikladnu MDRD formulu usklađenu sa standardizacijom (20) - $e\text{GFR} = 175 \times [S \times 0,011312]^{-1,154} \times \text{dob}^{-0,203} \times F \times 1,212$, gdje je S serumska koncentracija kreatinina izražena u $\mu\text{mol/L}$, dob godine starosti, F faktor ovisan o spolu (žene $F=0,742$, muškarci $F=1$), a 1,212 je primjeren za crnce. Rezultati eGFR izraženi su kao mL/min/1,73 m².

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 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 te testovi usporedbe medijana Mann-Whitneyev U test i Wilcoxonov testom za parne uzorke. Usporedivost metoda za procjenu glomerularne filtracije

Tablica 1.

Obilježja bolesničke skupine (N = 272)

	Dob (godine)	TT (kg)	TV (cm)
	62,0	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 - 67	79 - 81	168 - 170
min - max	20 - 87	39 - 134	146 - 193
25 - 75 P	54 - 73	70 - 90	164 - 177
P	0,005	0,080	0,241

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

je testirana je regresijskim modelom Passing-Bablok i Bland-Altmanovom analizom. Usporedivost razvrstavanja bolesnika u kliničke kategorije u odnosu na primijenjenu metodu za GFR testirana je χ^2 -testom.

REZULTATI

Skupina od 272 bolesnika u 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 uzorke. Rezultati su pokazali da među skupinama žena i muškaraca ne postoje statistički značajne razlike u odnosu na starosnu dob ($P=0,377$).

Tablica 2.

Koncentracije serumskog kreatinina izmjerene kinetičkom nekompensiranom i kompenziranom Jafféovom metodom

spol	S-kreatinin N		S-kreatinin K	
	M*	Ž*	M	Ž
N	130	142	130	142
\pm SD ($\mu\text{mol/L}$)	172,4 \pm 131,11	121,1 \pm 89,59	163,1 \pm 134,32	109,6 \pm 92,14
25-75 P ($\mu\text{mol/L}$)	102,0 -- 194,0	75,0 – 120,0	93,0 – 183,0	62,0 – 106,0
medijan ($\mu\text{mol/L}$)	131,50	90,00	122,50	76,00
min – maks ($\mu\text{mol/L}$)	50 – 1094	36 – 635	38 – 1084	21 – 650
95% CI ($\mu\text{mol/L}$)	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 Jafféovom metodom za kreatinin; S-kreatinin K – koncentracija kreatinina u serumu određenog kompenziranom Jafféovom metodom za kreatinin; M – muškarci; Ž – žene; N – broj ispitanika; - srednja vrijednost; 95% CI – interval pouzdanosti od 95%; SD – standardna devijacija; 25. – 75. percentila – interkvartilni raspon; min–maks – najviša i najniža koncentracija; P – testiranje normalnosti raspodjele (na razini značajnosti $P < 0,05$)

*parnim Wilcoxonovim testom nađena statistički značajna razlika vrijednosti kreatinina po metodi za M ($P < 0,0001$) i Ž ($P < 0,0001$)

Tablica 3.

Frekvencije koncentracija serumskog kreatinina prema referentnim intervalima za nekompensiranu i kompenziranu Jafféovu metodu

Spol	Područja unutar i izvan referentnih intervala ($\mu\text{mol/L}$)	S-kreatinin N ($\mu\text{mol/L}$)	Kategorija ($\mu\text{mol/L}$)	S-kreatinin K ($\mu\text{mol/L}$)	P (χ^2 test)
M (N=133)	<79	5	<64	5	0,296
	79 - 125	54	64 – 104	42	
	>125	71	>104	83	
Ž (N=142)	<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

Tablica 4.

Vrijednosti klirensa kreatinina određenog nekompenziranom i kompenziranom Jafféovom metodom za kreatinin

Spol	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
N	130	142	130	142	130	142	272	272
(±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	56,9	70,4	62,4	81,7	1845,0	1890,0	1,9	10,7
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	0,797	0,015

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

Tablica 5.

Vrijednosti eGFR određene nekompenziranom i kompenziranom Jafféovom metodom za kreatinin

Spol	eGFR N (mL/min/1,73m ²)		eGFR K (mL/min/1,73m ²)	
	M	Ž	M	Ž
N	130	142	130	142
(±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	50,2	59,2	55,5	70,3
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 – procijenjena brzina glomerularne filtracije određene nekompenziranom Jafféovom metodom za kreatinin; eGFR K – procijenjena brzina glomerularne filtracije određene kompenziranom Jafféovom metodom za kreatinin; N – broj ispitanika; - 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

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

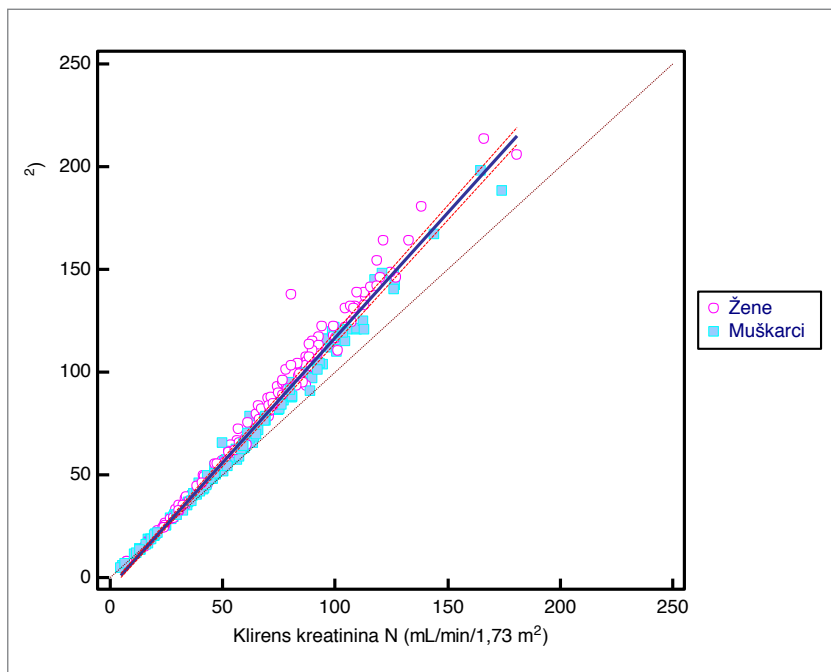
Koncentracije kreatinina u serumu prema obim metodama analizirane su statističkim metodama Passing-Bablok i Bland-Altman. Odnos metoda utvrđen je jednadžbom pravca regresije $y = 0,967x + 14,725$ koji od idealnog modela $y=x$ ne odstupa po linearnosti (P=0,76). Odsječak na pravcu y ima 95% CI od 13,950 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.

Nepodudarnost metoda očekivani je rezultat, a to potvrđuje i uspostava različitih referentnih intervala za nekompenziranu (M: 79-125; Ž: 63-107 $\mu\text{mol/L}$) (21) i kompenziranu metodu (M: 64-104; Ž: 49-90 $\mu\text{mol/L}$) (22) što je prihvatljivo i za našu populaciju (23).

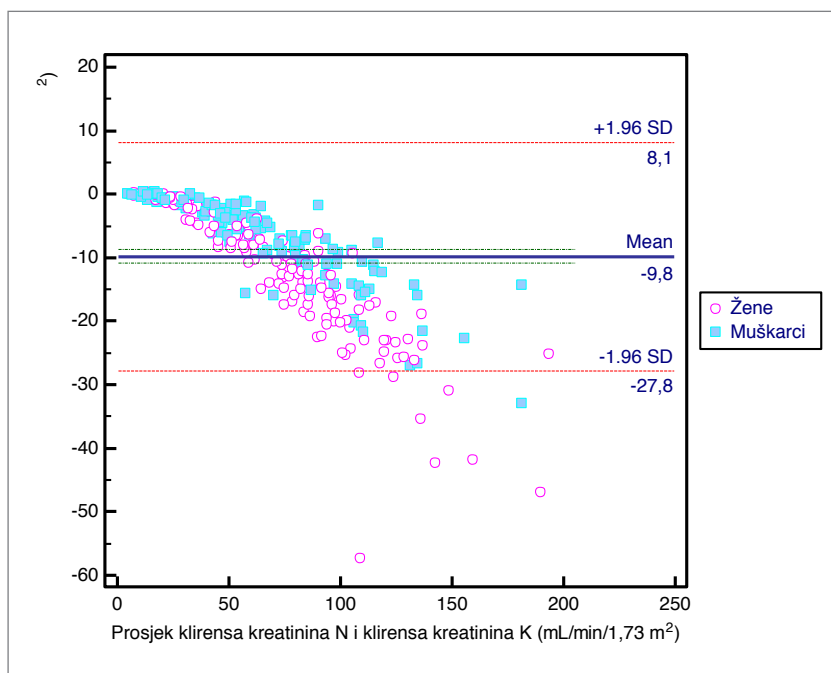
Udio bolesnika u područjima izvan i unutar referentnih intervala u odnosu na metodu mjerenja kreatinina, prikazana je u tablici 3. Rezultati testiranja χ^2 -testom pokazuju da su udjeli bolesnika unutar i izvan referentnih intervala ujednačeno svrstani u fiziološke i patološke razrede, podjednako s nekompenziranom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

Rezultate klirensa kreatinina izvedenog iz mjerenih koncentracija kreatinina u serumu i u mokraći te iz podataka o volumenu mokraće (V) i površine tijela (A) prikazani su na tablici 4, a rezultati za eGFR na tablici 5.

Statističkom regresijskom analizom Passing-Bablok (sl. 1) utvrđena je neusporedivost klirensa temeljenih na različitim metodama za serumski kreatinin. Zaključak proizlazi iz sljedećih podataka o jednadžbi pravca regresije $y=1,212x-4,414$: odstupanje od linearnosti



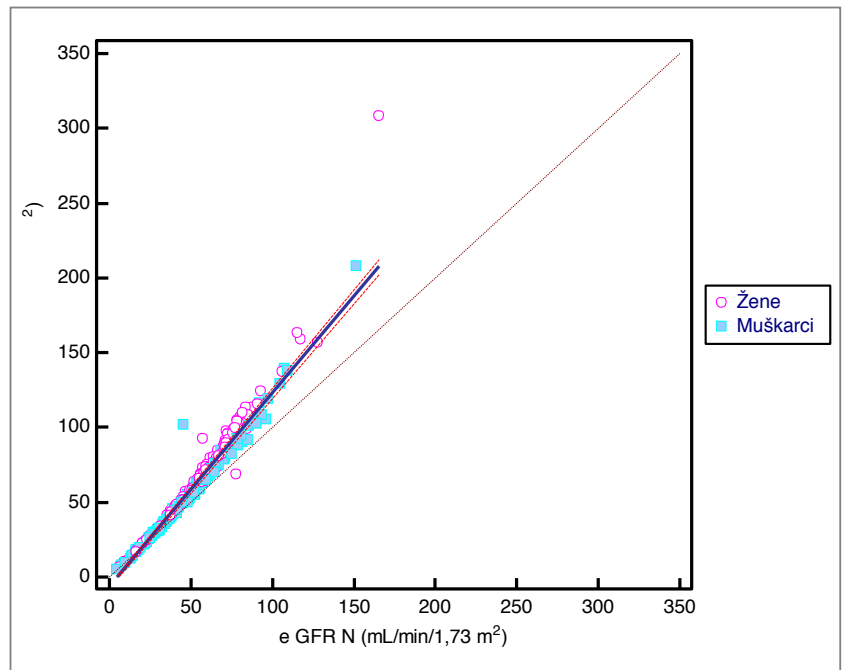
Sl. 1. Passing-Bablok regresijski model za usporedbu klirensa kreatinina određenog nekompenziranom i kompenziranom Jafféovom metodom; N=272; puna linija - regresijski pravac $y=1,212x-4,414$; crtkane linije - interval pouzdanosti; točkasta linija - idealni pravac $y=x$



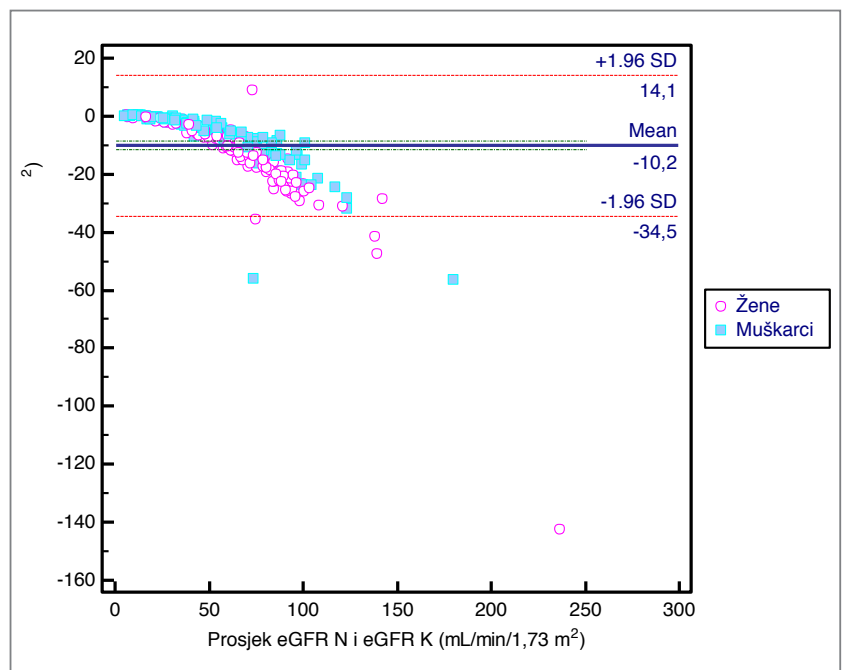
Sl. 2. Bland-Altman model za razlikovanje klirensa kreatinina određenih nekompenziranom i kompenziranom Jafféovom metodom; N=272; puna linija - srednja vrijednost razlike u mjerenjima (-9,8 mL/min/1,73 m²) s granicama pouzdanosti; isprekidana crvena linija - raspon $\pm 1,96$ SD

($P < 0,01$); 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). Model Bland-Altman (sl. 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 dviju metoda. Premda je 95% rezultata unutar $\pm 1,96$ SD, taj raspon razlika, od -27,8 do +8,1 mL/min/1,73m² nije klinički beznačajan.

Statističkom regresijskom analizom Passing-Bablok, prikazanom u sl. 3., utvrđena je neusporedivost eGFR ovisno o primijenjenoj metodi za serumski kreatinin. Zaključak proizlazi iz sljedećih podataka o jednadžbi pravca regresije: $y=1,294x-6,456$: odstupanje od linearosti ($P < 0,01$), 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. Model Bland-Altman (sl. 4) pokazuje usporedivost



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



Sl. 4. Model Bland-Altman za razlikovanje eGFR određene nekompenziranom i kompenziranom Jafféovom metodom; N=272; Puna linija - srednja vrijednost razlike u mjerenjima (-10,2 mL/min/1,73 m²) s granicama pouzdanosti; isprekidana crvena linija - raspon $\pm 1,96$ SD

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 dviju metoda. Premda je 95% rezultata unutar $\pm 1,96$ SD, taj raspon razlika od -34,5 do +14,1 mL/min/1,73 m² nije klinički beznačajan.

Nadalje, rezultate klirensa i eGFR razvrstali smo prema stadijima KBB utvrđenim 2002. god. (stadij 1, ≥ 90 ; stadij 2, 60-89; stadij 3, 30-59; stadij 4, 15-29; stadij

5, ≤ 15 mL/min/1,73m²) (11). Definirani su stupnjevi, sukladni napredovanju bolesti, kliničko su uporište za dijagnozu KBB (GFR ≤ 60 mL/min/1,73m² koji opstoji 3 i više mjeseci), pretraživanje i skrb o bolesnicima oboljelih od KBB (24). Kliničke kategorije KBB definirane su prema procjeni GFR bez obzira na spol. Isto tako i referentni interval za GFR (60 do 143 mL/min/1,73) obuhvaća oba spola. Međutim, u statističkim analizama ovog istraživanja (sl. 1-4) primijetili smo izdvajanje ženske populacije te smo razvrstali bo-

Tablica 6.

Frekvencije bolesnika u stadijima 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 (χ^2 test)	eGFR N (mL/min/1.73m ²)	eGFR K (mL/min/1.73m ²)	P (χ^2 test)
M (N=130)	≥ 90	28	33	0,922	11	22	0,230
	60 – 89	32	34		34	38	
	30 – 59	47	41		59	46	
	15 – 29	15	14		19	17	
	< 15	8	8		7	7	
Ž (N=142)	≥ 90	32	59	0,016	7	39	<0,0001
	60 – 89	53	37		63	51	
	30 – 59	36	27		47	28	
	15 – 29	19	17		20	19	
	< 15	2	2		5	5	

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

lesnike prema spolu. Prikazani su udjeli bolesnika u pojedinoj kategoriji KBB na temelju GFR raspona. U tablici 6. razvrstani su prema vrijednostima klirensa i eGFR u odnosu na primijenjenu metodu 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 $P<0,0001$) gdje su najveće razlike u proporcijama zapažene u stadijima 1, 2 i 3.

RASPRAVA

Populacija bolesnika koja se slučajno našla u KBCSM 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 (14,25,26). Najčešće korištena metoda u hrvatskim laboratorijima je kinetička, tj. kontinuirana metoda (14). O tome svjedoče izvještaji povjerenstva za vanjsku kontrolu kvalitete HKMB.

Kompenzirana Jafféova kontinuirana metoda (16,17). novija je inačica koju će najvjerojatnije početi primjenjivati laboratoriji potaknuti preporukom HKMB. No, valja reći da primjena kompenzirane metode nailazi na suprotstavljena mišljenja u svjetskoj znanstvenoj biomedicinskoj zajednici, osobito zbog njezina utjecaja na procjenu glomerularne filtracije (27,28). Za sada je nacionalna biokemičarska zajednica prihvatila globalnu standardizaciju te primjenjuje metode za kreatinin sljedive po IDMS i referentnom materijalu SRM 967. Najveći doprinos unapređenju metode i harmonizaciji nalaza dala je upravo standardizacija ustanovivši referentnu metodu i referentni materijal.

Ni ova metoda, kao ni druge modifikacije originalne Jafféove izvorne metode ili čak enzimске metode, ne mogu biti oslobođene slabe specifičnosti i ponovljivosti (27).

Naši rezultati mjerenja serumskog kreatinina pokazali su statistički značajne razlike između kompenzirane i nekompensirane metode (proporcionalna i linearna razlika), ali u skladu s referentnim intervalima bolesnici su ujednačeno svrstani unutar ili izvan referentnog intervala (χ^2 testiranje: M: $P=0,2960$; Ž: $P=0,594$). Slične su rezultate dobili i autori u zemlji (23), kao i u inozemstvu (29). Taj podatak može osokoliti laboratorije da bez rizika, uz promjenu referentnog intervala, primjenjuju točniju analitiku. No, kakav će biti utjecaj na procjenu GFR?

Klirens kreatinina, u svojstvu funkcionalnog testa, ima mnoge manjkavosti, a često je najveći problem točno i pravilno prikupljena 24-satna mokraća. Precije-

njen GFR je to izraženiji što je koncentracija kreatinina udaljenija od normalne vrijednosti (7,30) jer je odnos klirensa kreatinina i serumskog kreatinina eksponencijalan (7). Nadalje, nepouzdan je i postupak kojim stavljamo u omjer mjerenja u različitim uzorcima (serum i mokraća) s različitim analitičkim svojstvima i interferencijama. Općenito, mokraća sadrži znatno manje ostalih kromogena koji mogu interferirati. Međutim, i MDRD jednadžba ima svoje mane, a najveća je to što je MDRD jednadžba rađena na populaciji s KBB te se u pravilu ne bi smjela primjenjivati u pretraživanju opće populacije, tj. na bolesnike koji nemaju KBB. Odnos kreatinina i GFR različit je u te dvije populacije jer tubularna sekrecija kreatinina raste kako GFR pada (31,32). Konačno, kako je odnos GFR i serumskog kreatinina eksponencijalan, male promjene u koncentraciji serumskog kreatinina dovode do velikih modifikacija rezultata MDRD jednadžbe. Zbog slabe preciznosti svih Jafféova metoda, odstupanje u određivanju serumskog kreatinina može uzrokovati dovoljne promjene vrijednosti kreatinina da se smanji točnost MDRD jednadžbe kod bolesnika koji nemaju KBB. xii MDRD studija provedena je s mjerenjima prema kontinuiranoj metodi prije standardizacije (33), poslije koje je uslijedilo nekoliko korekcija u odnosu na standardizaciju (20), na zdrave ispitanike te objedinjene zdrave i bolesničke skupine izražene usrednjačenom formulom primjenjivom za sve populacije (34). Do danas je objavljeno preko 45 inačica jednadžbe koje procjenjuju GFR na temelju mjerenja serumskog kreatinina.

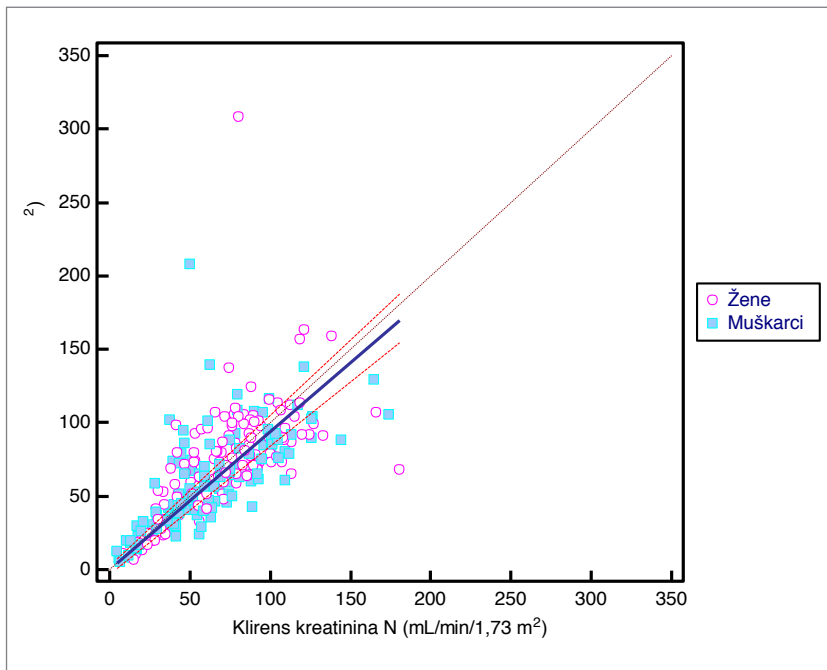
Ukratko, sve manjkavosti empirijske formule MDRD i metode za kreatinin možemo pripisati i klirensu kreatinina. Dapače, još i više nepouzdanosti vrebaju u nalazu klirensa. Začudno je nepovjerenje naše medicinske zajednice prema primjeni MDRD formule. Istodobno se s velikim povjerenjem koristi metoda klirensa kreatinina čijih smo manjkavosti svi svjesni i s tih se pozicija nepouzdanosti znalački interpretira nalaz. Ne treba zaboraviti da su i klirens kreatinina i eGFR samo procjene bubrežne funkcije (35).

U medicinskim krugovima najviše se koplja lome oko odluke treba li automatski uz nalaz kreatinina izvještavati i eGFR. Stavovi su opet suprotstavljani (36-38) ponajviše zbog udjela pogrešno svrstanih ispitanika. Premda procjena GFR ima za cilj procijeniti bubrežnu funkciju u KBB, a ne u akutnim bubrežnim bolestima, jedan dio znanstvene zajednice zastupa ciljano pretraživanje s eGFR, a ne univerzalno (13,39). Drugi dio pak aplaudira automatskom izvještavanju jer je to podatak više, štoviše vredniji podatak od samog serumskog kreatinina (2) za nefrologa i lječnika obiteljske medicine koji će uz anamnestičke podatke te uz rezultate mjerenja albumina/proteina u urinu znati prosuditi i vrednovati procijenjeni GFR. Štoviše, bit će to prilog ranoj dijagnostici bubrežnih bolesti u prekliničkoj fazi, dok još

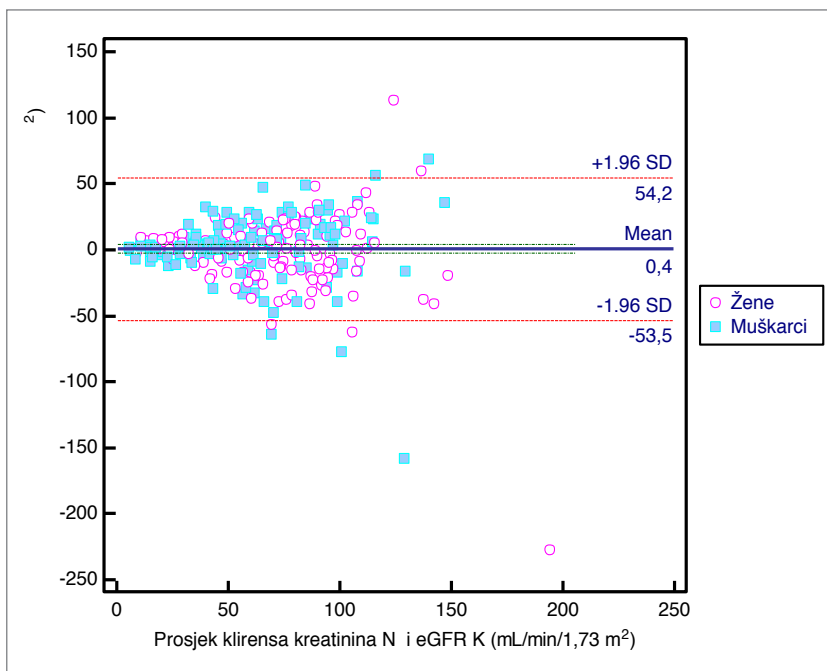
nisu izraženi simptomi. Najvažnija i gotovo jedina misija klirensa ili eGFR jest procijeniti stadij i rano otkriti KBB te primijeniti medicinsku strategiju radi smanjenja rizika za progresiju zatajenja bubrega i kardiovaskularne smrti (30). Kliničke preporuke gotovo svih svjetskih stručnih društava upućuju na procjenjivanje GFR empirijskom jednadžbom po MDRD (11,13,20,40-42), a automatsko izvještavanje eGFR s nalazom serumskog kreatinina preporučuju ponajviše američka društva. U nekim je državama (Velikoj Britaniji i nekim državama u SAD) automatsko izvještavanje čak obavezno i regulirano je legislativom (43). U SAD 84% laboratorija automatski izvještava eGFR, većina prema MDRD, a svega 4% prema CKD-EPI jednadžbi (44).

Razumljivo je da su i empirijska jednadžba, kao i klirens kreatinina, osjetljivi na svaku promjenu metode za serumski kreatinin. Stoga, logično je da nakon globalne standardizacije prema IDMS očekujemo promjene i korekcije u procjeni eGFR (45) ali i u klasičnom klirensu kreatinina. Istraživanje o primjenjivosti IDMS sljedivih metoda za kreatinin pokazalo je da je pouzdanije koristiti korigiranu IDMS sljedivu MDRD formulu (2). Isto tako i prelazak na kompenziranu metodu polučio je promjene u procjeni GFR (2,29,45). Naši rezultati pokazuju statistički značajnu nepodudarnost u određivanju klirensa te eGFR ovisno o primijenjenoj metodi za kreatinin u serumu, ali je njihov odnos sačuvao linearnost.

U fokusu našeg istraživanja utjecaja kompenzirane metode za kreatinin bilo je pitanje kako će primjena metode razvrstati bolesnike u stadije KBB. Klinička praksa transformira laboratorijski nalaz u neki od stupnjeva KBB – od mogućeg postojanja KBB, do sigurne KBB. To je stupnjevanje bolesnika i težine bolesti u klinici najvažniji i najodgovorniji trenutak jer se na temelju toga poduzimaju medicinski postupci. Razvrstavajući naše ispitanike zaključili smo da se kod muških ispitanika nije razlikovalo klasificiranje zbog primjene nove metode te 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 ($P=0,0001$), ali samo u ispitanica s vrijednostima GFR nižim od $30 \text{ mL/min/1,73 m}^2$. To je prouzročilo reklasifikaciju u stupnjevima KBB u odnosu na nekompenziranu metodu. Do navedene vrijednosti GFR od $\sim 30 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ 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 (sl. 2 i 4), a istovremeno se istim trendom razdvajaju spolovi. Objašnjenje za ovu pojavu nije jednostavno, tim više što



Sl. 5. Regresijski model Passing-Bablok za usporedbu klirensa kreatinina određenog nekompensiranom Jafféovom 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; 95%CI (od-sječak)=-3,4464 - 2,7716; 95%CI (nagib)=0,8719 - 1,0232; P (odstupanje od linearnosti)=0,92



Sl. 6. Model Bland-Altman za razlikovanje eGFR određene kompenziranom Jafféovom metodom i klirensa kreatinina određenog nekompensiranom Jafféovom metodom. $N=272$; Puna linija - srednja vrijednost razlike u mjerenjima (0,4 mL/min/1,73 m²) s granicama pouzdanosti; isprekidana crvena linija - raspon $\pm 1,96$ SD

MDRD formula za eGFR ima korekciju za ženski spol ($F=0,742$). Korekcijski faktor dokazuje da postoji razlika između spolova, ali ona se ne čini proporcionalnom. Kliničkim jezikom to znači da će kompenzirana metoda procijeniti bubrežnu funkciju drugačije - 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 serumske koncentracije kreatinina od 150 $\mu\text{mol/L}$ (su-

kladno vrijednostima eGFR oko 30 mL/min) dobili su i drugi autori (4,29).

Ukupni rezultati još jednom dokazuju da su matematičke izvedenice i manipulacije s izmjerenim vrijednostima podložne velikim oscilacijama za vrlo malu promjenu izmjerenih veličina. Takav je primjer i naš "stari, dobri" klirens kreatinina.

U našem radu nismo uspoređivali usporedivost klirensa i eGFR, jer ni jedna metoda ne procjenjuje bubrežnu funkciju s istih pozicija i istom metodologijom. Takav pristup nije statistički opravdan.

Tablica 7.

Usporedba frekvencija (272 ispitanika, neovisno o spolu) u stadijima KBB prema rezultatima klirensa kreatinina N i prema eGFR K

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

KBB – kronična bubrežna bolest; klirens kreatinina N – klirens kreatinina određen nekompenziranom Jafféovom metodom za kreatinin; eGFR K – procijenjena brzina glomerularne filtracije primjenom kompenzirane Jafféovom metode za kreatinin; P – testiranje razlike proporcija χ^2 -testom (na razini značajnosti $P < 0,05$); M – muškarci; Ž – žene

U KZZK, 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 opredijeli za dvostruku promjenu - primjenu kompenzirane metode i procjenu bubrežne funkcije s eGFR?

Premda smo naglasili da nije opravdano uspoređivati procjene GFR koje nemaju istu metodologiju, prikazat ćemo mogući događaj u praksi.

Rezultat bi bio sljedeći:

Iz prikazane analize zaključujemo da bi kliničari jedva primijetili promjenu, što nije slučajnost. Statistička analiza podupire usporedivost metoda prema svim statističkim parametrima (sl. 5 i 6). Štoviše, rezultati eGFR jednakovrijedno mogu razvrstati bolesnike u stadije KBB ($P=0,921$; tablica 7).

Istodobna primjena kompenzirane metode za serumski kreatinin i primjena formule MDRD za procjenu GFR (eGFR) prihvatljivija je od postupne promjene - prelaska na kompenziranu metodu uz zadržanu metodu klirensa kreatinina. Dobitak za kliničku praksu – bolesnici ne bi prikupljali 24-satnu mokraću.

Zaključujemo da kompenzirana Jaffeova metoda za kreatinin nije usporediva s nekompenziranom meto-

dom, a klinički je potpuno primjenjiva za opću populaciju stariju od 20 godina uz preduvjet promjene referentnih intervala. Procjena brzine glomerularne filtracije osjetljiva je na promjenu metode za serumski kreatinin. Primjena kompenzirane Jaffeove metode za kreatinin utječe na procjenu GFR. Klirens kreatinina određen s kompenziranom metodom nije usporediv s klirensom određenim nekompenziranom metodom. Vrijednosti klirensa s kompenziranom metodom značajno su više. Razlika je neuočljiva za vrijednosti klirensa do oko 30 mL/min/1,73 m², ali kod viših vrijednosti razlika proporcionalno raste s porastom klirensa. Kod viših vrijednosti zapaža se i razdvajanje po spolu te je kod žena značajno veća razlika u rezultatima klirensa ovisno o metodi. Utjecaj kompenzirane metode na procjenu GFR empirijskom formulom prema MDRD studiji pokazao se istovjetnim kao za klirens kreatinina. Rezultati procjene nisu usporedivi, a eGFR s kompenziranom metodom daje više vrijednosti.

Razvrstavanje muške populacije u stadije KBB pokazalo se neovisno o primijenjenoj metodi. Ženska populacija se u stadijima od 1 do 3 statistički značajno drugačije razvrstala u odnosu na metodu za kreatinin

Navedena ograničenja empirijskih formula ne bi trebala obeshrabriti ni laboratorije niti kliniku, jer su ograničenja klirensa u njoj još i veća. Prelazak na kompenziranu metodu za kreatinin i istodobno na primjenu eGFR formule dao je usporedive rezultate s postojećom praksom te je opravdan za primjenu na širokoj populaciji raznovrsnih dijagnoza kakva se zapaža u svim laboratorijima i kojoj se, tako nehomogenoj, rutinski svakodnevno procjenjuje bubrežna funkcija klirensom kreatinin.

LITERATURA

1. Jaffé M. Über den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. Z Physiol Chem 1886; 10: 391-400.
2. Vickery S, Stevens PE, Dalton RN, van Lente F, Lamb EJ. Does the ID-MS traceable MDRD equation work and is it suitable for use with compensated Jaffé and enzymatic creatinine assays? Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 2439-45.
3. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1994.
4. Wuyts B, Bernard D, Van Den Noortgate N i sur.. Reevaluation of Formulas for Predicting Creatinine in Adults and Children, Using Compensated. Clin Chem 2003; 49: 1011-4.
5. Crocker H, Shephard MD, White GH. Evaluation of an enzymatic method for determining creatinine in plasma. J Clin Pathol 1988; 41; 576-81.

6. Levey AS, Stevens LA, Hostetter T. Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate: just what the doctor ordered. *Clin Chem* 2006; 52: 2188-93.
7. Thomas L. Clinical laboratory diagnosis of kidney and urinary tract disorders: Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt: Th-Books Verlagsgesellschaft, 1998.
8. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI i sur. Evaluation of the modification of diet in renal disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2749-57.
9. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH i sur. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150: 604-12.
10. Levey AS, Coresh J, Greene T i sur. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006; 145: 247-54.
11. National Kidney Foundation Inc: K/DOQI. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease. Part 5. Evaluation of laboratory measurements for clinical assessment of kidney disease. Guideline 4. Estimation of GFR. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 76-110.
12. Myers GL, Miller WG, Coresh J. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the laboratory working group of the national kidney disease education program. *Clin Chem* 2006; 52: 5-18.
13. Revizija preporučenih metoda i referentnih intervala koncentracije kreatinina u serumu i urinu. 2010., <http://www.hkmb.hr/obavijesti/pristupljeno.3.kolovoza.2012>.
14. Fabiny DL, Ertingshausen G. Automated Reaction-Rate Method for Determination of Serum Creatinine with the CentrifChem. *Clin Chem* 1971; 17: 696-700.
15. NCCLS. Development of Definitive Methods for the National Reference System for the Clinical Laboratory. NCCLS Publication NRSL 1-A Wayne, PA, Approved Guideline, 1991.
16. Hanser AM, Hym B, Michotey O, Gascht D, Marchal A, Minery M. Comparison of methods for the determination of blood creatinine. *Ann Biol Clin* 2001; 59: 737-42.
17. Zawta B, Delanghe J, Van Den Noortgate N, Taes Y, Lameire N, Engel W. Arithmetic compensation for pseudo-creatinine Jaffe' method and its effect on creatinine clearance results. *Clin Chem* 2001; 47: A148-9.
18. Data on file at Beckman Coulter, OSR General Chemistry, BAOSR6x78.02-2010.
19. DuBois D, DuBois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Int Med* 1916; 17: 863-71.
20. Levey AS, Coresh J, Green T i sur. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007; 53: 766-72.
21. Šubić N, Tadej D. Referentne vrijednosti klinički relevantnih sastojaka krvi i seruma. Model: Populacija Zagreba i bliže okolice. Zagreb: Školska knjiga, 1990.
22. Ceriotti F, Boyd JC, Klein G i sur. Reference intervals for serum creatinine concentrations: Assessment of available data for global application. *Clin Chem* 2008; 54: 559-66.
23. Flegar-Meštrić Z, Perkov S, Šimonović B, Juretić D. Applicability of common reference intervals for serum creatinine intervals for serum creatinine concentrations to the Croatian population. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 231-5.
24. Jaar BC, Khatib R, Plantinga L, Boulware LE, Powe N. Principles of screening of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 601-9.
25. Fawaz A, Badr KF. Measuring filtration function in clinical practice. *Cur Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15: 643-7.
26. Daly TM, Kempe KC, Scott MG. "Bouncing" creatinine levels. *N Engl J Med* 1996; 334: 1749-50.
27. Peake M, Whiting M. Measurement of Serum Creatinine - Current Status and Future Goals. *Clin Biochem Rev* 2006; 27: 173-84.
28. Lamb EJ, Tomson CRV, Roderick PJ. Estimating kidney function in adults using formulae. *Ann Clin Biochem* 2005; 42: 321-45.
29. Chan MH, Ng KF. Effect of a compensated Jaffe creatinine method on the estimation of glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem* 2004; 41:482-4.
30. Noble E, Johnson DW. Automatizirani laboratorijski nalazi određivanja brzine glomerularne filtracije: Jesu li dobri za zdravlje bolesnika i njihove liječnike? *Biochem Medica* 2007; 17: 16-28.
31. Froissart M, Rossert J, Jaquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:763-73.
32. Hallen M, Asberg A, Lindberg M, Johnsen H. 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* 2004; 44: 84-93.
33. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. 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* 1999; 130: 461-70.
34. Rule AD, Larson TS. Using Serum Creatinine To Estimate Glomerular Filtration Rate: Accuracy in Good Health and in Chronic Kidney Disease. *Ann Intern Med* 2004; 141: 929-37.
35. 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.
36. den Hartog JR, Reese PP, Cizman B, Feldman HI. The costs and benefits of automatic estimated glomerular filtration rate reporting. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 419-27.
37. Hemmelgarn BR, Zhang J, Manns BJ i sur. Nephrology visits and health care resource use before and after reporting estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2010; 303: 1151-8.
38. Melamed ML, Bauer C, Hostetter TH. eGFR: Is It Ready for Early Identification of CKD? *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 1569-72.
39. Weir MR. Improving the Estimating Equation for GFR — A Clinical Perspective. *N Engl J Med* 2012; 367: 75-6.
40. Crowe E, Halpin D, Stevens P i sur. Early identification and management of chronic kidney disease. *BMJ* 2008; 337: a1530.

41. Miller WG. Estimating glomerular filtration rate. Clin Chem Lab Med 2009; 47: 1017-9.
42. Glassock RJ, Winearls C. Screening for CKD with eGFR: Doubts and Dangers Clin J Am Soc Nephrol 2008; 3: 1563-8.
43. The College of American Pathologists. Current status of reporting estimated glomerular filtration rate (eGFR) for adults. http://www.cap.org/apps/docs/committees/chemistry/current_status_of_reporting_eGFR_2011.pdf. pristupljeno 6. ožujka 2012.
44. Levey AS, Coresh J, Greene T i sur. Expressing the MDRD study equation for estimating GFR with IDMS traceable (gold standard) serum creatinine values. J Am Soc Nephrol 2005; 16: 69A.
45. McKillop DJ, Cairns B, Duly E, Van Drimmelen M, Ryan M. Effect of serum creatinine method on eGFR determined by the abbreviated MDRD formula Ann Clin Biochem 2006; 43: 220-2.

S U M M A R Y

COMPENSATED CREATININE METHOD AND GLOMERULAR FILTRATION RATE ESTIMATION IN A HETEROGENEOUS POPULATION OF PATIENTS

F. SOLDO¹, M. BRZAK¹ and N. VRKIĆ^{1,2}

¹Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb and ²Clinical Institute of Chemistry, Sestre milosrdnice University Hospital, Zagreb, Croatia

Creatinine is a metabolite 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 the 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 glomerular filtration rate (GFR) is the one based on the MDRD study (eGFR) intended for people over 18 years. The aim of the study was to evaluate how the introduction of the compensated method would 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 included 130 men and 142 women whose requested laboratory test was creatinine clearance. Data were collected over 20 days at Sestre milosrdnice University Hospital. Serum creatinine concentration and eGFR were determined by the 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. Comparison of eGFR as estimated by the compensated and uncompensated methods to determine creatinine concentration showed the same results as the comparison of clearance. Using the compensated method yielded statistically incomparable results in GFR estimation. However, in clinical practice, patient classification according to stages of chronic kidney disease (CKD) was comparable in the male group according to clearance and eGFR ($\Pi=0.922$ and $\Pi=0.230$, respectively), while the female group was classified significantly different according to clearance and eGFR ($\Pi<0.016$ and $\Pi<0.001$, respectively). Switching to the compensated creatinine method while simultaneously applying the eGFR formula was shown to be valid, as patient classification according to CKD stages was comparable ($\Pi=0.921$); thus, the methods are reliable for use instead of creatinine clearance in the general population with various diagnoses, which can be noted in all laboratories and which is, although inhomogeneous, routinely used to measure daily creatinine clearance.

Key words: creatinine, Jaffé assay, glomerular filtration rate, MDRD equation, chronic kidney disease