
DOLOČITEV KREATININA IN OCENA GLOMERULNE FILTRACIJE

Mag. Maksimiljan Gorenjak, mag.farm., spec.med.biokem.



SLOVENSKO ZDRUŽENJE
ZA KLINIČNO KEMIJO

9

Ta priporočila izdaja in priporoča Slovensko združenje za klinično kemijo (SZKK). Priporočila so v skladu s predpisi Republike Slovenije, priporočili Mednarodnega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (IFCC-”International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine”) in Inštituta za klinične in laboratorijske standarde CLSI (”Clinical and Laboratory Standards Institute”).

Uredniški odbor: Saša Bratož (predsednik)
Pika Meško Brguljan
Evgenija Homšak

DOLOČITEV KREATININA IN OCENA GLOMERULNE FILTRACIJE

Pripravi: Maksimiljan Gorenjak

Recenzent: Ivica Avberšek Lužnik

Lektorica: Mojca Čakš

Predstavitev priporočenih postopkov za delo v klinično kemijskih laboratorijih Republike Slovenije ima namen, da se z obvezno uporabo le-teh doseže visoka stopnja kakovosti dela, upoštevajoč sistematizacijo dela, pribora in prostorov.

”Določitev kreatinina in ocena glomerulne filtracije” so namenjeni vsem sodelavcem v klinično kemijskih laboratorijih, zdravstvenim delavcem ter študentom in učencem zdravstvenih šol.

Priporočila je pregledal in odobril Razširjeni strokovni kolegij za laboratorijsko diagnostiko pri Ministrstvu za zdravje Republike Slovenije in se uporabljajo za delo v vseh medicinskih laboratorijih.

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

547.495.9
616.611

GORENJAK, Maksimiljan

Določitev kreatinina in ocena glomerulne filtracije /
Maksimiljan Gorenjak. - Ljubljana : Slovensko združenje za klinično kemijo, 2009

ISBN 978-961-92634-1-9

247376896

KAZALO

Uvod	2
1. Kronična ledvična bolezen	3
2. Glomerulna filtracija	4
3. Načini določanja GF	5
3.1. Očistek	5
3.2. Očistek eksogenih snovi	5
3.2.1. Očistek inulina.....	6
3.3. Očistek endogenih snovi	6
3.3.1. Očistek kreatinina	6
4. Merjenje koncentracije kreatinina	8
4.1 Jaffejeva metoda	9
4.2. Encimske metode	10
4.3. Kompenzirana Jaffejeva metoda	10
4.4. GC in LC/IDMS	10
4.5. Nekateri pomembni proizvajalci laboratorijske opreme in reagentov za določitev kreatinina*	10
5. Formule in ocena glomerulne filtracije (oGF)	12
5.1. Formula MDRD s štirimi spremenljivkami (MDRD 4v)	12
5.2. Cockcroft-Gaultova formula.....	13
5.3. Schwartzeva formula	13
6. Standardizacija določitve kreatinina	16
7. Variabilnost oGF	17
8. Rezultati SNEQAS	18
9. Priporočilo »delovne skupine za implementacijo presejalnih metod za kronično ledvično bolezen, sklicane na pobudo Slovenskega združenja za klinično kemijo«	18
10. Sklep IO in NO SZKK	19
11. Zaključek	19
12. Literatura	20

Uvod

Problematika določitve kreatinina v serumu je stara in znana širokemu krogu strokovnjakov laboratorijske medicine. Čeprav je večina teh strokovnjakov mnenja, da bi bilo sedanje metode smiselno nadomestiti z boljšo metodo, do sprememb ne pride iz ekonomskih razlogov. Pobudi mednarodnih institucij, da naj laboratoriji poleg določitve kreatinina uporabljajo tudi formule za ocenitev glomerulne filtracije, se je odzvalo tudi naše Združenje. Izvršni odbor Slovenskega združenja za klinično kemijo (IO SZKK) je na 8. seji septembra 2006 ustanovil strokovno skupino za oceno glomerulne filtracije in standardizacijo določitve kreatinina. Da bi aktivnosti smiselno umestili v naše delovne organizacije, smo menili, da je nujno potrebno povezovanje s kliniki. Tako je na pobudo SZKK nastala interdisciplinarna »delovna skupina za implementacijo izračunavanja ocenjene glomerulne filtracije v medicinskih laboratorijih«. Prvi sestanek je imela delovna skupina 23. januarja 2008. Osnovni cilj je bil izdelava priporočila in njegova uporaba v praksi. Priporočilo je bilo pripravljeno konec leta 2008 in objavljeno v glasilu Zdravniške zbornice Slovenije ISIS (ISIS št.3/2009). Zaradi aktualnosti in sorodnosti problematike je delovna skupina nadaljevala delo s pripravo priporočila za oceno dnevne proteinurije.

1. Kronična ledvična bolezen

Kronična ledvična bolezen (KLB) predstavlja zaradi naraščajoče incidence in visokih stroškov zdravljenja enega največjih zdravstvenih problemov po vsem svetu. Samo v ZDA sta se v zadnjih dvajsetih letih incidenca in prevalenca končne stopnje kronične ledvične bolezni štirikrat povečali. V Evropi velja ocena, da letno 135 oseb na milijon prebivalcev doseže končno stopnjo kronične ledvične bolezni (1,2).

Splošno sprejeta definicija opredeljuje kronično ledvično odpoved kot strukturno ali funkcijsko okvaro ledvic ali glomerulno filtracijo (GF) pod 60 mL/min/1.73m² za obdobje 3 mesecev ali več, ne glede na vzrok njihovega nastanka (3). KLB razdelimo v skladu s smernicami K/DOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative) na pet stopenj, ki temeljijo predvsem na oceni GF, upoštevajo pa tudi laboratorijske kazalce ledvične okvare (proteinurijo, hematurijo) ter okvare ledvic, odkrite s slikovnimi metodami. Vključujejo tudi povezavo ledvične funkcije z zapleti KLB ter opredelitev tveganja izgube ledvične funkcije in razvoja srčno žilnih bolezni (tabela 1) (3).

Med dejavnike tveganja razvoja kronične ledvične bolezni sodijo starost (več kot 60 let), visok krvni pritisk, diabetes, bolezni srca in ožilja in družinska anamneza. Priporočila za spremljanje oseb s povečanim tveganjem, zajemajo določanje albuminov v urinu in oceno glomerulne filtracije (oGF) s pomočjo enačb, ki temeljijo na določitvi serumske koncentracije kreatinina (3).

Tabela 1. Opredelitev KLB po smernicah K/DOQI (3)

STOPNJA	GF (mL/ min/1,73m ²	OPREDELITEV	UKREPI
1	>90	okvara ledvic z normalno ali povečano GF	diagnoza in zdravljenje, zdravljenje sočasnih obolenj, upočasnitev napredovanja KLB, zmanjševanje drugih tveganj
2	60-89	okvara ledvic z blago zmanjšano GF	ocena napredovanja bolezni
3	30-59	srednje močnozmanjšana GF	ovrednotenje in zdravljenje zapletov
4	15-29	močno zmanjšana GF	priprava na nadomestno zdravljenje (dializa)
5	<15 ali dializa	končna ledvična odpoved	nadomestno zdravljenje (dializa)

2. Glomerulna filtracija

GF je trenutno najboljše merilo ledvične funkcije. Spremenjena – zmanjšana je še pred pojavom prvih kliničnih znakov. Predstavlja izločevalno sposobnost ledvic, ki je sorazmerna masi delujočih nefronov. Na GF vplivajo ultrafiltracijski pritisk v kapilarah glomerulov, permeabilnost kapilar in površina kapilar. Sprememba katerega koli izmed njih spremeni tudi GF. Pri izgubi delujočega ledvičnega tkiva se povečajo GF, tubulna resorpcija in/ali sekrecija v preostalih nefronih, zato zmanjšanje GF ni proporcionalno izgubi ledvičnega tkiva (4).

GF merimo v absolutni vrednosti (mL/min oz. mL/s) ali pa relativni vrednosti, preračunani na povprečno telesno površino $1,73\text{m}^2$. Referenčna vrednost za odrasle moške je $130\text{ mL/min}/1,73\text{ m}^2$, za odrasle ženske pa $120\text{ mL/min}/1,73\text{ m}^2$.

Med nosečnostjo se v prvem trimestru GF poveča (do 50 %), po porodu pa normalizira. S staranjem se GF zmanjšuje za $0,8 - 1,0\text{ mL/min}$ na leto. Zmanjšanje je večje pri starostnikih s srčnimi boleznimi in povečanim krvnim pritiskom. GF se le za malenkost spreminja med dnevom – poveča se lahko zaradi večjega vnosa beljakovin, zmanjša pa zaradi večjega telesnega napora (4,5).

3. Načini določanja GF

3.1. Očistek

Glomerulno filtracijo lahko določimo z merjenjem substance, ki se v glomerulih filtrira iz krvi in se v ledvičnih tubulih ne reabsorbira, ne presnavlja in ne secernira. Ledvični očistek pove, kakšen volumen plazme (krvi) se v enoti časa očisti takšne (določene) snovi. Splošna enačba, ki ponazori očistek, je naslednja:

$$\text{očistek snovi} = \frac{\text{koncentracija snovi v urinu (U)} \cdot \text{količina urina na časovno enoto (V)}}{\text{koncentracija snovi v plazmi (P)}}$$

$$\text{Očistek snovi} = \frac{U \cdot V}{P}$$

Ledvični očistek podajamo v enotah mL/min ali mL/s.

Idealna substanca za merjenje GF ima naslednje lastnosti:

- v glomerulih se prosto filtrira (ne veže se na proteinske molekule, njena molekulska struktura ji dovoljuje neoviran prehod preko glomerulnih membran); koncentracija substance v ultrafiltratu je enaka njeni koncentraciji v plazmi;
- v tubulih se ne reabsorbira in ne secernira;
- na poti skozi ledvične tubule se ne presnavlja oz. ne razgradi;
- je netoksična;
- njena koncentracija v krvi mora biti konstantna;
- njena koncentracija je enostavno in natančno določljiva.

Kadar substanca izpolnjuje vse omenjene pogoje, je količina substance, ki se izloči iz krvi, enaka celokupni količini filtrirane substance v ledvicah. V klinični praksi se za oceno GF najpogosteje uporabljata serumska koncentracija kreatinina in očistek kreatinina.

3.2. Očistek eksogenih snovi

Določanje GF s pomočjo eksogenih snovi, kot so inulin, ioheksol, ^{51}Cr -EDTA, ^{125}I -jotalamat ali ^{99}Tc -dietilentriaminocetna kislina, je sicer najnatančnejši način določitve GF, vendar je časovno zahteven, nepraktičen, cenovno neugoden in laboratorijsko intenziven način določanja, kar omejuje njegovo uporabo v rutinski diagnostiki (6).

3.2.1. Očistek inulina

Inulin je rastlinski polisaharid, polimer fruktoze, z molekulsko maso 5200, ki se v ledvicah popolnoma filtrira iz krvi in izloči iz telesa z urinom. Ni vezan na plazemske beljakovine in se zato v glomerulih prosto filtrira; v ledvičnih tubulih se ne reabsorbira ali secernira, ni toksičen in se v tubulih ne presnavlja. Kljub številnim dobrim lastnostim se očistek inulina zaradi zahtevnosti postopka v klinični praksi uporablja le v redkih primerih. Za rutinsko klinično uporabo ni primeren iz naslednjih razlogov:

- inulin je eksogena substanca v telesu; za vzdrževanje konstantne koncentracije inulina v plazmi je potrebna 2–3 urna neprekinjena infuzija inulina s konstantnim pretokom;
- za natančno zbiranje urina je potrebna kateterizacija sečnega mehurja, ker je zbiranje urina omejeno na kratek časovni interval (15– 20 min);
- večina laboratorijev ni opremljena za merjenje koncentracije inulina (zahtevna in draga oprema, visoka cena inulina).

Inulinski očistek je še vedno »zlati standard«, čeprav ostale izotopne metode ne zaostajajo. Za natančno določitev GF pogosteje kot inulinski očistek uporabljamo metode, kjer očistek merimo na osnovi izotopnega označevanja eksogene snovi. Prednost ima uporaba ^{51}Cr -EDTA. Na razpolago so računalniški programi, ki poenostavijo izračun očistka. Metodo za določanje GF s pomočjo ^{51}Cr -EDTA priporoča tudi Angleško združenje za nuklearno medicino (6,7).

3.3. Očistek endogenih snovi

3.3.1. Očistek kreatinina

Očistek kreatinina se je uveljavil kot merilo GF predvsem zaradi določanja kreatinina, ki je ena najstarejših in hkrati najpogostejših preiskav v kliničnih laboratorijih. Zbiranje 24-urnega urina in odvzem krvi za določitev serumske koncentracije kreatinina se zdita dokaj enostavni opravili, sam izračun pa enostavna računska operacija. Kljub temu so znana velika odstopanja, predvsem zaradi nenatančnega zbiranja urina, merjenja volumna urina in določitve koncentracije kreatinina.

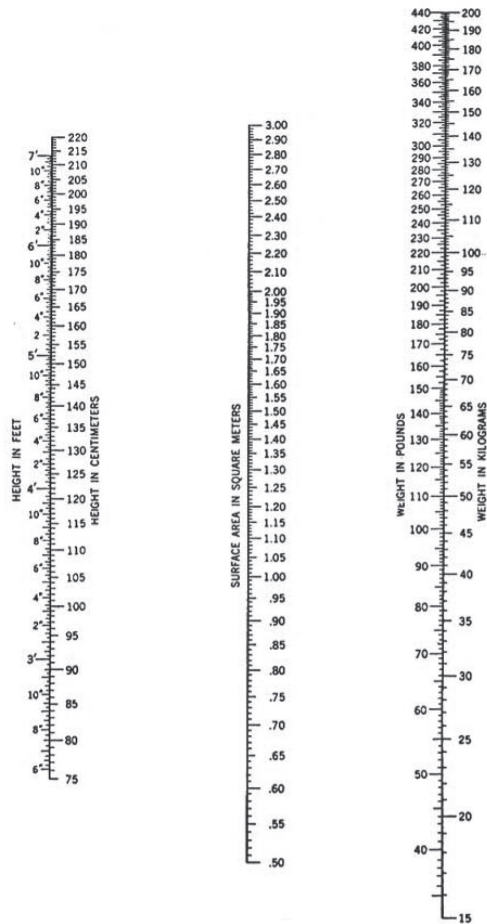
$$\text{Očistek kreatinina (mL/min)} = \frac{U \cdot V}{P}$$

U = koncentracija kreatinina v urinu

V = volumen 24-urnega urina, preračunan na minuto (mL/min)

P = koncentracija kreatinina v serumu ali plazmi

Pri izračunu upoštevamo povprečno površino telesa, ki znaša $1,73\text{m}^2$. S pomočjo podatkov o višini in telesni teži preiskovanca odčitamo iz ustreznega nomograma telesno površino (slika 1). Razmerje med povprečno in izmerjeno telesno površino daje količnik, ki ga uporabimo za preračun očistka na povprečno telesno površino.



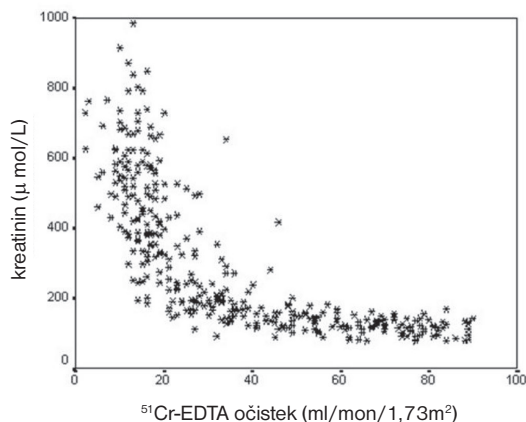
Slika 1. Nomogram za določanje telesne površine

Očistek kreatinina presega inulinski očistek za 10–40 %. Secerniranje v tubulih lahko zavremo z zdravili (s cimetidinom) in tako zmanjšamo razlike v določitvah. Vsa priporočila, ne glede na izvedbo, temeljijo na preračunu na telesno površino, ki tako izniči vpliv velikosti ledvic (8, 9).

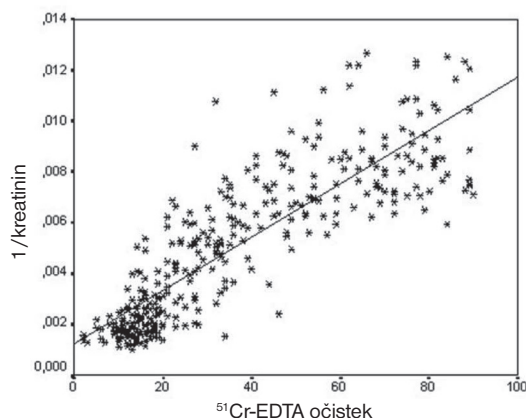
Ne glede na omenjeno je največja pomanjkljivost očistka kreatinina povezana s problematiko določitve serumske koncentracije kreatinina.

4. Merjenje koncentracije kreatinina

Serumski kreatinin uporabljamo najpogosteje kot merilo GF (6, 8, 9). V krvi se nahaja kot produkt presnove kreatina in fosfokreatina mišic ter tako odseva mišično maso. Njegova koncentracija v krvi je dokaj konstantna. Kreatinin se filtrira v glomerulih in secernira v proksimalnih tubulih. Obstaja nelinearna in obratnosorazmerna povezava med kreatininom in GFR (slika 2.), ki pa ne odraža majhnih sprememb GF, še posebej v začetnih oblikah kronične ledvične bolezni (3, 6).



Slika 2. Povezava med serumsko koncentracijo kreatinina in očistkom $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (10)



Slika 3. Povezava med $1/\text{kreatinin}$ in očistkom $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (10)

4.1 Jaffejeva metoda

Jaffejeva metoda določanja kreatinina s pomočjo alkalnega pikrata je ena najstarejših metod v klinični kemiji. Prvi jo je leta 1886 opisal nemški biokemik Max Jaffe. Princip metode temelji na reakciji kreatinina in alkalnega pikrata, pri čemer nastaja rdečeoranžni kompleks. Reakcija z alkalnim pikratom ni specifična za kreatinin. Z alkalnim pikratom reagirajo tudi proteini, glukoza, askorbinska kislina, ketonska telesa, piruvat, gvanidin, krvni nadomestki in številna zdravila. Stopnja interference je odvisna od specifičnih pogojev reakcije (8, 9).

Vpliv motečih snovi lahko delno zmanjšamo s spreminjanjem naslednjih pogojev (modifikacije Jaffejeve metode):

- potek kemijske reakcije (temperatura in pH reakcije)
- valovna dolžina meritve
- časovni interval in čas meritve
- odstranjevanje ali zmanjševanje vpliva substanc, ki interferirajo v metodi (kromogeni in psevdoreaktanti)

Razvoj metode je potekal stopenjsko, v več obdobjih. Prve metode so temeljile na deproteinizaciji krvi. V kasnejših metodah so poskušali izboljšati specifičnost metode z adsorbcijo na aluminijeve silikate (Lloydov reagent, Fullerjeva zemlja) in eluiranjem v alkalni pikrat. V podobne namene so uporabljali tudi ionsko izmenjevalne smole. Obdobje avtomatizacije je nastopilo z uvedbo Techniconovega analizatorja SMAC®. Sistem določanja kreatinina je izkoriščal dializno membrano za odstranjevanja proteinov. Metode na sodobnih analizatorjih temeljijo na poznavanju kinetike reakcije kreatinina s pikrinsko kislino (pikratom) v močno alkalnem mediju. Potek reakcije lahko razdelimo v tri obdobja. V prvem (približno 20–30s) reagirajo predvsem hitri nekreatininski kromogeni (npr. acetoacetat), v drugem (30–80s) reagira kreatinin, v tretjem obdobju pa reagirajo počasni nekreatininski kromogeni (proteini). S primernim 'oknom' meritve, natančno izbiro časa meritve in nastavitvami lahko pomembno izboljšamo specifičnost meritve.

Kinetična metoda (brez deproteinizacije), ki trenutno prevladuje v laboratorijih, je zaradi nizke cene, dostopnosti in uporabnosti zelo privlačna in primerna za aplikacijo na modernih biokemičnih analizatorjih. Kljub številnim modifikacijam se pri njeni uporabi ne moremo povsem izogniti nekaterim omenjenim slabostim. V zadnjem času je ta metoda pod drobnogledom strokovnjakov. Aktivnosti mednarodnih strokovnih združenj so usmerjene v standardizacijo metode in v sledljivost do referenčne izotopno-dilucijske masno-spektroskopske (IDMS) metode (8, 9, 11).

4.2. Encimske metode

V skupini večstopenjskih encimskih metod določitve kreatinina so največ uspeha dosegle metode z uporabo encima kreatininaze (kreatinin amidohidrolaza), kreatinaze (kreatin amidinohidrolaza) in sarkozin oksidaze. Produkt encimske reakcije je tudi vodikov peroksid, ki ga v indikatorski reakciji določimo kot kinoniminsko barvilo. Absorbanca nastalega barvila je sorazmerna koncentraciji kreatinina v vzorcu.

Obstajajo tudi metode s kreatinin deaminazo (kreatinin aminohidrolazo), v katerih se določata nastali amoniak ali metilhidantoin. Encimske reakcije se uporabljajo za določitev kreatinina tudi na večplastnih trdnih nosilcih (suha kemija).

Čeprav imajo encimske metode bistveno manj interferenc kot Jaffejeva metoda, obstajajo snovi, ki interferirajo v reakcijskem mehanizmu. Največja slabost encimskih metod je njihova visoka cena.

4.3. Kompenzirana Jaffejeva metoda

Znano je, da Jaffejeva metoda v primerjavi z encimsko metodo ali HPLC daje višje vrednosti za koncentracijo kreatinina. Zaradi odličnega ujemanja rezultatov njihove encimske metode z referenčno metodo, sledljivo do IDMS, so pri firmi Roche Diagnostics primerjali tudi rezultate z Jaffejevo kinetično metodo. Pri tem so ugotovili konstantno odstopanje kreatinina (26 $\mu\text{mol/L}$) po skoraj vsem analitičnem območju. V nastavitvene parametre analizatorjev so zato vključili avtomatični popravek za izračun, oziroma kompenzacijo metode, kar predstavlja razliko med njihovo Jaffejevo in encimsko metodo. S takim popravkom postane metoda tudi sledljiva do IDMS (12).

4.4. GC in LC/IDMS

Metoda izbora za določitev kreatinina je plinska kromatografija (GC) z izotopno-dilucijsko masno spektrometrijo (IDMS). Referenčne metode GC/IDMS uporabljajo v treh referenčnih laboratorijih: The National Institute of Standards and Technology (NIST), Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. (DGKL) in Univerze v Gentu. Vse zahtevajo odstranitev kreatina iz vzorca, kar je delovno zahteven postopek. Alternativa GC je tekočinska kromatografija (LC) z enakim postopkom detekcije. Takšno metodo uporabljajo kot referenčno metodo v laboratorijih NIST (11, 13, 14).

4.5. Nekateri pomembni proizvajalci laboratorijske opreme in reagentov za določitev kreatinina*

Abbott Laboratories

Abbott Creatinine: Jaffejeva, kinetična metoda za sisteme Architect® in Aeroset®; ni sledljivosti do metode IDMS.

Multigent® Creatinine Enzymatic: encimska metoda s kreatininazo, kreatinazo in sarkozin oksidazo ter končnim merjenjem kinoniminskega barvila; metoda je kalibrirana na NIST standard SRM967 in sledljiva do IDMS.

Bayer (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.)

Advia® Chemistry Creatinine: Jaffejeva, kinetična metoda; ni sledljivosti do metode IDMS.

Advia® Chemistry Creatinine Enzymatic: encimska metoda s kreatinin deiminazo in glutamat dehidrogenazo (GLDH); ni sledljivosti do metode IDMS.

Advia® Chemistry Enzymatic Creatinine_2: encimska metoda s kreatininazo, kreatinazo in sarkozin oksidazo; metoda je kalibrirana na NIST standard SRM967 in sledljiva do metode IDMS.

Dade Behring (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.)

Dimension® Flex® Reagent Cartridge EZCR: encimska metoda s kreatininazo, kreatinazo in ksantin oksidazo ter končnim merjenjem kinoniminskega barvila; sledljiva do metode IDMS.

Dimension® Flex® Reagent Cartridge CREA: Jaffejeva kinetična metoda; ni sledljivosti do metode IDMS.

Olympus

Creatinine (Enzymatic) OSR6X204: encimska metoda s kreatininazo, kreatinazo in ksantin oksidazo ter končnim merjenjem kinoniminskega barvila; sledljiva do metode IDMS.

Creatinine OSR6X78 Method A: Jaffejeva, kinetična metoda; kalibracija NIST SRM967; sledljiva do metode IDMS.

Randox Laboratories Ltd.

Creatinine CR 510, CR524: Jaffejeva kinetična metoda; sledljiva do metode IDMS.

Creatinine Enzymatic UV Method CR 2336, CR2337: encimska metoda s kreatinin deiminazo in merjenjem spremembe koncentracije NADP(H); sledljiva do metode IDMS.

Ortho Clinical Diagnostics

Vitros Chemistry Products CREA Slides: encimska metoda na večplastnih trdnih nosilcih (suha kemija) za sisteme Vitros; ni sledljivosti do metode IDMS.

Roche Diagnostics

Creatinine Jaffe Method CREA: kompenzirana Jaffejeva metoda za sisteme Hitachi 917 in MODULAR; sledljiva do metode IDMS.

Creatinine Jaffe gen.2., (CREJ2): kompenzirana Jaffejeva metoda za sisteme Cobas®; sledljiva do metode IDMS.

Creatinine Jaffe Method CREA: kompenzirana Jaffejeva metoda za sisteme Hitachi 904, 911, 912 in 917; sledljiva do metode IDMS.

Creatinine Plus Ver.2 CREP2: encimska metoda s kreatininazo, kreatinazo in ksantin oksidazo ter končnim merjenjem kinoniminskega barvila; sledljiva do metode IDMS.

(*Podatke je avtor teksta pridobil od distributerjev reagentov za R Slovenijo marca 2009)

5. Formule in ocena glomerulne filtracije (oGF)

Z regresijsko analizo podatkov lahko vzpostavimo matematično povezavo med koncentracijo serumskega kreatinina in GF (ali očistkom). Informacija, ki jo tako pridobimo, je izračun oziroma ocena GF na osnovi podatkov, značilnih za populacijo, ki je bila zajeta. Formule so lahko enostavne ali kompleksne, odvisno od števila spremenljivk, ki jih pri izračunih uporabimo. Dodatne spremenljivke poleg kreatinina se nanašajo predvsem na starost, spol, raso in telesno težo preiskovanca. Obstaja več kot 25 formul za izračun oGF. Pri odraslih najpogosteje uporabljamo formulo iz študije The Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) in Cockcroft-Gaultovo formulo (C&G) ter pri otrocih Schwartzovo ali Counahan-Barratovo formulo (15, 16, 17).

5.1. Formula MDRD s štirimi spremenljivkami (MDRD 4v)

$$\text{oGF}(\text{mL}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2) = 186^* \cdot (\text{kreatinin} \left(\frac{\mu \text{ mol}}{\text{L}} \right) / 88,4)^{-1,154} \cdot (\text{starost})^{-0,203} \cdot (0,742 \text{ za spol} \\ - \text{ ženske}) \cdot (1,210 \text{ za raso} - \text{ črnce})$$

*186 : metoda za merjenje kreatinina v serumu ni sledljiva do metode IDMS

*175: metoda za merjenje kreatinina v serumu je sledljiva do metode IDMS

Formula MDRD je nastala kot stranski produkt velike študije o vplivu načina prehranjevanja na KLB. (16) Kreatinin je bil določen z Jaffejevo kinetično metodo na analizatorju Beckman Astra CX3, v osnovni izvedbi pa v izračunu upošteva poleg koncentracije kreatinina še starost, spol in etnično pripadnost preiskovanca. Formula podaja oGF, izraženo na povprečno telesno površino 1,73m². V študiji MDRD so ugotovili, da tako ocenjena glomerulna filtracija v 91 odstotkih vseh preiskovancev pade v območje, ki od dejanske glomerulne filtracije (¹²⁵J-jotalamat) ne odstopa več kot 30 odstotkov. Faktor 186 uporabljamo v osnovni MDRD formuli, če kreatinin določamo s kinetično metodo po Jaffeju in kalibracija ni sledljiva do metode IDMS. Pri metodah, ki so sledljive do IDMS in/ali kompenzirane, uporabljamo v formuli faktor 175. Leta 2005 so formulo MDRD preračunali na določitev kreatinina z metodo, sledljivo do standarda IDMS ter pri tem ugotovili v povprečju približno 5 % nižje koncentracije kreatinina, zato so ustrezno zmanjšali faktor (18, 19, 20).

Formula MDRD je zelo praktična, ker poleg serumske koncentracije kreatinina za izračun oGF potrebujemo le podatke, ki jih lahko povzamemo iz osebnih podatkov preiskovanca. S sodobnimi laboratorijskimi informacijskimi sistemi lahko enostavno izvedemo računsko operacijo ocene GF.

5.2. Cockcroft-Gaultova formula

$$\text{oGF (mL/min)} = (140 - \text{starost}) \cdot \text{telesna teža (kg)} \cdot 0,85 \text{ (za spol-ženski)} / 0,815 \\ \cdot \text{kreatinin} \left(\frac{\mu \text{ mol}}{\text{L}} \right)$$

Je ena prvih in najpogostejše uporabljenih formul do izpeljave formule MDRD. Njen izračun temelji na povezavi koncentracije kreatinina in določitve očistka kreatinina v 24-urnem urinu. V regresijski analizi sta upoštevana tudi starost in teža preiskovanca. Rezultati niso korigirani na povprečno telesno površino.

5.3. Schwartzeva formula

$$\text{oGF (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = f \cdot \text{telesna višina (cm)} / [\text{kreatinin} \left(\frac{\mu \text{ mol}}{\text{L}} \right) / 88,4]$$

Za spremenljivko f uporabljamo različne vrednosti (odvisno od starosti otroka), ki so v razponu od 0,33 do 0,70.

Do prvega leta starosti, uporabljamo faktor 0,33 za prezgodaj rojene, za normalno rojene, pa faktor 0,44. Do starosti 13 let uporabljamo za fante in dekleta faktor 0,55. Za adolescente moškega spola faktor 0,70, za ženski spol pa 0,55.

Za vse formule veljajo določene omejitve.

Formule lahko najdemo na internetnih povezavah:

http://www.nkdep.nih.gov/professionals/gfr_calculators/orig_si.htm

http://nephron.org/cgi-bin/MDRD_GFR/cgi

http://www.kidney.org/professionals/KDOQI/gfr_calculator.cfm

Tabela 2. Primerjava značilnosti populacij preiskovancev in metodologij pri izpeljavi formul C&G in MDRD (17)

	Cockcroft & Gault	MDRD
izvor populacije	Kanada 1976	ZDA1999
povprečna GF	73 mL/min.	40mL/min/1,73m ²
referenčna metoda	očistek kreatinina (2x)	¹²⁵ J-jotalamat
metoda za kreatinin	Jaffe (Technicon)	Jaffe, Beckman Astra CX3
demografski in drugi podatki	teža, spol, starost	rasa, spol, starost
standardizirana tel. površina	ne	da
odstotek žensk	4 %	40 %
% črncev	ni podatkov	12 %
povprečna starost	ni podatkov (18-92)	51
povprečna teža	72	79,6
R ² na referenčno metodo	0,69	0,89
pravilnost ocene	67 % ocen znotraj 20 % odstopanja	90 % ocen znotraj 30 % odstopanja

Pri izpeljavi C&G formule je bilo vključenih 236 hospitaliziranih bolnikov, pri katerih so izračun za očistek kreatinina opravili dvakrat. V izpeljavo formule MDRD je bilo vključenih 1628 bolnikov s KLB, GF pa je bila izmerjena s pomočjo očistka ¹²⁵J-jotalamata. Obe formuli dajeta boljše ocene GF v območju pod 60mL/min/1,73m². Froissart navaja specifičnost in občutljivost, ki znašata za formulo MDRD 93 % in 88 %, za C&G formulo pa 92 % in 89 % (20).

Ocena GF s pomočjo formule MDRD daje boljše rezultate pri bolnikih s KLB 3-5. V območju normalne GF so odstopanja precejšnja. V izračunu se ne upošteva bolnikova teža, kar poenostavi izračun in ga je mogoče vgraditi v laboratorijski informacijski sistem. Za razliko od formule C&G izračun s formulo MDRD upošteva standardizacijo telesne površine na 1,73m² (tabela 2). Na osnovi teh dejstev prevladuje prepričanje, da je za odkrivanje bolnikov s KLB primernejša formula MDRD.

Pri uporabi obeh formul nikakor ne smemo pozabiti, da sta bili izpeljani v populaciji z okrnjeno ledvično funkcijo ter da sta izjemno občutljivi na določitev kreatinina.

Tabela 3. Dejavniki, ki vplivajo na koncentracijo kreatinina

dejavnik	učinek na serumski kreatinin
starost	znižanje
ženski spol	znižanje
etnična pripadnost	
ameriški črnci	zvišanje
Hispano Američani	znižanje
Azijci	znižanje
telesna konstitucija	
mišičasta	zvišanje
amputiranost	znižanje
debelost	ni vpliva
kronične bolezni	
podhranjenost, vnetje, trajno mirovanje	znižanje
nevromuskularne bolezni	znižanje
prehrana	
vegetarijanstvo	znižanje
uživanje kuhanega mesa	zvišanje

Omejitve pri uporabi formule MDRD, ki jih navaja The National Kidney Disease and Education Program (NKDEP):

- Lastnosti formule za izračun oGF pri zdravih osebah niso znane.
- Enako velja za nosečnice, bolnike z drugimi boleznimi, osebe z ekstremno telesno površino, mišično maso in prehranjevalnimi navadami (tabela 3).
- Formula do sedaj ni bila preizkušena na mlajših od 18 let in starejših od 75 let.
- Formula MDRD je manj zanesljiva v območju normalne GF.
- Večina rutinskih metod določitve kreatinina ima zadovoljive analitične lastnosti. Glavni problem ostaja pristranost metode, oziroma kalibracija.
- Analitična nespecifičnost metode (meritve) lahko bistveno vpliva na izračun GF.
- Analitična nespecifičnost ni problem kalibracije, oziroma standardizacije.
- Uvedba standardov, sledljivih do GC/IDMS bo omogočila spremembo kliničnih kriterijev, ki temeljijo na oceni GF.
- Uvedba standardizirane metode določitve kreatinina in oGF bo imela vpliv na uporabo ocene GF pri doziranju zdravil (15).

6. Standardizacija določitve kreatinina

Leta 2003 je bila v ZDA izvedena obsežna študija (The College of American Pathologists-CAP Survey 2003), v kateri so razdelili 5624 laboratorijem zamrznjene vzorce seruma za določitev kreatinina. Koncentracija kreatinina, ki je znašala 79,7 $\mu\text{mol/L}$, je bila določena v laboratorijih The National Institute of Standards and Technology (NIST) s plinsko kromatografijo in izotopno dilucijsko masno spektrometrijo (GC/IDMS). Rezultati CAP so pokazali odstopanja od prave vrednosti od -5,3 do +27,3 $\mu\text{mol/L}$. Pomembna informacija, ki je bila na ta način potrjena je, da v laboratorijih uporabljamo natančne metode s sorazmerno majhnim sipanjem rezultatov. Večina odstopanj od prave vrednosti je bila na račun pristranosti uporabljene metode. Odstopanje (bias) metod je bilo odvisno od proizvajalca, oziroma izbrane metode (21, 22). Podobne rezultate so poročali tudi v drugih študijah (11).

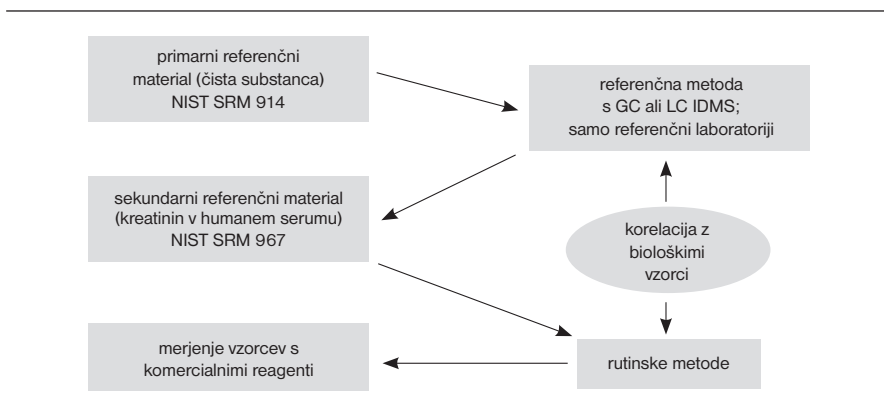
Kot odgovor na globalne težnje po standardizaciji je bila ustanovljena mednarodna skupina The Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM), ki definira referenčne materiale, laboratorije in metode (tabela 4, slika 2). Za določitev kreatinina so trenutno na razpolago tri referenčne metode GC-IDMS in ena metoda LC/IDMS (11, 13, 14).

Tabela 4. Referenčni materiali za kreatinin (JCTLM)

NIST (kreatinin v kristalih)		
914a primarni standard		99,7% čistost
NIST (kreatinin v zamrznjenem humanem serumu)		
SRM 967	Konc.	Odstopanje
Level 1	66,5 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 8 \mu\text{mol/L}$
Level 2	346,2 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 4 \mu\text{mol/L}$
IRMM (kreatinin v humanem serumu-liofiliziran)		
BCR573	68,7 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 1,4 \mu\text{mol/L}$
BCR574	105 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 1,3 \mu\text{mol/L}$
BCR575	404,1 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 7,1 \mu\text{mol/L}$
LGC (kreatinin v zamrznjenem humanem serumu)		
ERM-DA252a	27,5 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 1,6 \mu\text{mol/L}$
ERM-DA253a	449 $\mu\text{mol/L}$	$\pm 12 \mu\text{mol/L}$

Za referenčne materiale iz tabele 3 velja, da je le SRM967 komutabilen, to je, da le za ta standard veljajo enake matematične povezave med rezultatom in meritvijo, ne glede na to, ali merimo standard ali običajni biološki vzorec – serum.

V praksi je skoraj nemogoče pričakovati, da bi vsi laboratoriji sami vstopili v proces standardizacije določitve kreatinina. Da bi postopek poenostavili, je delovna skupina The National Kidney Disease and Education Program (NKDEP) Laboratory Working Group v sodelovanju z Mednarodnim združenjem za klinično kemijo (IFCC) in The European Communities Confederation of Clinical Chemistry (EC4) ustanovila skupino The Creatinine Standardization Program z osnovnim namenom zmanjšati medlaboratorijske razlike v določitvi kreatinina in s tem omogočiti pravilnejšo oceno GF. K sodelovanju pri svojih aktivnostih so povabili proizvajalce reagentov in opreme, ki bi naj do konca leta 2008 pripravili vse potrebno za proizvodnjo reagentov, rekalibriranih tako, da so sledljivi do metode IDMS (11, 14). Podobno nalogo, s poudarkom na širjenju informacij med člani in pripravi podobnih priporočil, so si zadali v IFCC z ustanovitvijo delovne skupine za standardizacijo ocene glomerulne filtracije (IFCC-WG-GFRA). (13)



Slika 4. Referenčni sistem za kreatinin (13)

7. Variabilnost oGF

Dejavniki, ki vplivajo na oceno GF, so biološka variabilnost glomerulne filtracije (CV 6,3% do 7,5%), intraindividualna biološka variabilnost kreatinina (CVb 4,3%), napaka v meritvi kreatinina (CVa analitična napaka) in napaka v formuli.

GF se lahko spreminja. Odvisna je od vrste prehrane, aktivnosti, položaja telesa in spremembe v krvnem tlaku. Nanjo vplivajo nosečnost, diabetes, volumen izvencelične tekočine, zdravila ter akutne in kronične bolezni ledvic. Upošteva vse dejavnike in napake, ocena GF ne sme presegati 30 % odstopanja od izmerjene GF pri 60 mL/min/1,73m² (3). Iz tega sledi, da mora biti celokupna napaka meritve – določitve kreatinina tako majhna, da skupen vpliv na nepravilnost ocene ne presega meje 30 %.

Za analitično napako velja splošno pravilo, da je njena želena vrednost manj ali enaka polovici biološke variabilnosti. Za kreatinin je želena analitična napaka, torej manj kot 2,2 %, kar prispeva k celotni variabilnosti ocene GF manj kot 12 % (11).

8. Rezultati SNEQAS

V Slovensko nacionalno shemo za zunanjo oceno kakovosti (SNEQAS) je bilo v kontroli 3/08 in 4/08 za kreatinin vključenih več kot 100 laboratorijev. Od teh jih je 16 navedlo metodo suha kemija (Reflotron, Kodak), 2 laboratorija Jaffejevo reakcijo z deproteinizacijo, 23 laboratorijev Jaffejevo reakcijo brez deproteinizacije in 60 laboratorijev Jaffejevo kinetično reakcijo. En laboratorij je navedel drugo metodo. Za kreatinin je dovoljeno odstopanje 15 % od povprečne vrednosti vseh laboratorijev, ne glede na metodo. V kontroli 3/08 je bilo uspešnih 85 laboratorijev (83 %) in v kontroli 4/08 87 laboratorijev (85 %). Za kreatinin je značilno, da nenatančnost (izražena kot koeficient variacije) znaša v povprečju okrog 10 %, ne glede na koncentracijo kreatinina.

Iz rezultatov SNEQAS ugotavljamo velik vpliv udeležencev, ki uporabljajo metode suhe kemije.

Če preslikamo rezultate SNEQAS v oceno glomerulne filtracije za moškega, starega 66 let (z originalno formulo MDRD), ter pri tem upoštevamo dovoljeno 15 % odstopanje pri določitvi kreatinina, dobimo v kontroli 3/08 meje oGF med 55 in 77 mL/min/1,73m² (srednja vrednost 64 mL/min/1,73m²), v kontroli 4/08, kjer je bil standardni odmik kar 35,7 µmol/L pa meje oGF med 13 in 18 mL/min/1,73m² (srednja vrednost 15 mL/min/1,73m²).

9. Priporočilo »delovne skupine za implementacijo presejalnih metod za kronično ledvično bolezen, sklicane na pobudo Slovenskega združenja za klinično kemijo«

Če kot metodo določanja kreatinina uporabimo modificirano Jaffejevo kinetično reakcijo kot v originalni enačbi MDRD (s faktorjem 186), so vrednosti oGF nad 60 ml/min/1,73 m² nezanesljive, zato jih podajamo kot >60 ml/min/1,73 m², v nižjem območju pa kot izračunano vrednost.

Če kot metodo določanja kreatinina uporabljamo metodo, sledljivo do standarda (izotopska dilucijska masna spektrometrija - IDMS) in revidirano enačbo MDRD (s faktorjem 175), so vrednosti oGF zanesljivejše tudi v območju do 90 ml/min/1,73 m², zato jih lahko podajamo kot >90 ml/min/1,73 m², v nižjem območju pa kot izračunano vrednost.

Opozorilo:

Na izračun oGF z MDRD formulo vplivajo: spol, starost (velja v območju od 18 do 75 let), mišična masa, prehrana in zdravila (23).

Splošni zaključki »delovne skupine«:

- Za ocenjeno glomerulno filtracijo se uporablja kratica oGF.
- Rezultate oGF se izraža v mL/min/1,73m².
- Rezultate se izraža v celih številkah (brez decimalk).
- Rezultatov za mlajše od 18 let in starejše od 75 let se ne podaja.

10. Sklep IO in NO SZKK (6. seja, 19. februar 2009)

- Laboratoriji uvedejo izračun oGF najkasneje do 1. oktobra 2009.
- Laboratoriji uporabljajo priporočila delovne skupine.

11. Zaključek

Glomerulna filtracija predstavlja najboljše merilo ledvične funkcije. Lahko jo določimo s pomočjo očistka eksogene snovi, kar je zahteven in drag postopek. Enostavneje pa jo določimo s pomočjo očistka, če pri tem uporabimo endogene snovi, predvsem kreatinin. Postopek zahteva 24-urno zbiranje urina, kar je vzrok številnih napak. Ocena glomerulne filtracije na osnovi serumske koncentracije kreatinina in formul predstavlja enostavno opravilo, ki daje dokaj zanesljivo informacijo o ledvični funkciji, ko je ta okrnjena. Slabši so rezultati pri zdravih, kjer njeno uporabo odsvetujemo. Prav tako je pri uporabi ocenjene glomerulne filtracije potrebno upoštevati vse omejitve, ki vplivajo na njeno določitev. Ob upoštevanju priporočil bo zdravnik v prihodnje ob naročilu koncentracije kreatinina v serumu dobil tudi oceno glomerulne filtracije in s tem informacijo, ki jo je z naročilom kreatinina dejansko želel.

12. Literatura

1. El Nahas AM, Bello AK. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet* 2005;365:331-340.
2. Eknoyan G, Lameire N, Barssoum R, et al. The burden of kidney disease: Improving global outcomes. *Kidney Int* 2004;66:1310-4.
3. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. *Am J Kidney Dis* 2002;39:S1-246.
4. Guyton AC, Hall JE. Glomerular filtration. In: Guyton AC Hall JE. *Textbook of medical physiology*. 9th edition. Philadelphia. Saunders, 1996:321-22.
5. Jelka Lindič, Radoslav Kveder. Bolezni ledvic. V: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera picta 2005:936-1110.
6. Stevens LA, Coresh J, Green T, Levey AS. Assessing kidney function- measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006;354:2473-83.
7. Blaufox MD, Aurell M, Bubeck B, Fommei E et al. Report of the radionuclides in Nephrourology Committee on renal clearance. *J Nucl Med* 1996;37:1883-1890.
8. Lamb EJ, Newman DJ and Price CP. Kidney function tests. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Fourth edition. St.Louis: Elsevier Saunders, 2006:797-836.
9. Lothar Thomas and Anders R. Huber. Renal function – estimation of glomerular filtration rate. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1295-1302.
10. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L. Ocena glomerulne filtracije- primerjava serumskega kreatinina, serumskega cistatina C in enačb za izračun čistka kreatinina. *Zdrav vestn* 2006;75:255-262.
11. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Green T, et al. Recommendation 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.
12. Hans-Joachim Kytzia. How to implement traceability of creatinine results: A manufacturer's experience. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;S241:64-66.
13. Panteghini M, Myers GL, Miller WG and Greenberg N. The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1287-1292.
14. Delanghe JR, Cobbaert C, Galteau M-M, Harmoinen A, Jansen R. et al. Trueness verification of actual creatinine assays in the European market demonstrates a disappointing variability that needs substantial improvement. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1319-1325.
15. National Kidney Disease Education Program. Laboratory professionals: Creatinine Standardization Program. (Citirano 28.3.2009.) Dostopno na naslovu: <http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/index.htm>.
16. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of diet in renal disease study group. *Ann Intern Med* 1999;130:461-470.
17. Lamb EJ, Tomson CRV and Roderick PJ. Estimating kidney function in adults using formulae. *Ann Clin Biochem* 2005;42:321-345.
18. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Int Med* 2006;145:247-254.
19. Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, et al. Expressing the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53:766-772.
20. Froissart M, Rossert J, Jacquot 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;16:763-773.
21. Miller WG, Myers GL, Aswood ER, Killeen AA, Wang E, Thienpont LM, et al. Creatinine measurement: state of the art in accuracy and inter-laboratory harmonization. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:297-304.
22. Peake M, Whiting M. Measurement of creatinine-current status and future goals. *Clin Biochem Revs* 2006;27:173-184.
23. Hojs R, Gorenjak M, Krsnik M, Lainščak M, Lindič J, Meško Brguljan P, Možina B, Zaletelet Vrtovec J. Presejalne metode za kronično ledvično bolezen: ocena glomerulne filtracije. *ISIS* 2009;18(3):44-46.

ISBN 978-961-92634-1-9



9 789619 263419