

# Pouzdanost različitih jednadžbi procjene glomerularne filtracije u klasifikaciji stadija endemske nefropatije

---

Fuček, Mirjana

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:541138>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MIRJANA FUČEK

**POUZDANOST RAZLIČITIH JEDNADŽBI  
PROCJENE GLOMERULARNE  
FILTRACIJE U KLASIFIKACIJI STADIJA  
ENDEMSKE NEFROPATIJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2018.



University of Zagreb

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MIRJANA FUČEK

**RELIABILITY OF DIFFERENT EQUATION  
FOR ESTIMATING GLOMERULAR  
FILTRATION RATE IN THE  
CLASSIFICATION STAGE OF ENDEMIC  
NEPHROPATHY**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2018.



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MIRJANA FUČEK

**POUZDANOST RAZLIČITIH JEDNADŽBI  
PROCJENE GLOMERULARNE  
FILTRACIJE U KLASIFIKACIJI STADIJA  
ENDEMSKE NEFROPATIJE**

DOKTORSKI RAD

Mentor(i):

prof. dr. sc. Bojan Jelaković  
prof. dr. sc. Dunja Rogić

Zagreb, 2018.



University of Zagreb

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MIRJANA FUČEK

**RELIABILITY OF DIFFERENT EQUATION  
FOR ESTIMATING GLOMERULAR  
FILTRATION RATE IN THE  
CLASSIFICATION STAGE OF ENDEMIC  
NEPHROPATHY**

DOCTORAL THESIS

Supervisor(s):

prof. dr. sc. Bojan Jelaković

prof. dr. sc. Dunja Rogić

Zagreb, 2018.

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana medicinska biokemija.

Rad je izrađen u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sklopu doktorskog studija „Farmaceutskobiokemijske znanosti“ Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te u sklopu projekta Ministarstva znanosti Republike Hrvatske „Endemska nefropatija u Hrvatskoj, epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza“ br. 108-0000000-0329 i Hrvatske zaklade za znanost br. 0438 „Molekularno profiliranje i proteomika karcinoma urotela“. Voditelj oba projekta je prof. dr. sc. Bojan Jelaković.

HVALA ...

... mentorima prof. dr. sc. Dunji Rogić i prof. dr. sc. Bojanu Jelakoviću na pomoći i poticanju tijekom izrade doktorskog rada ...

... mojim najdražima, suprugu i djeci na razumijevanju, podršci i vjeri u moj uspjeh ...

... mojim roditeljima, na svemu ...

## SAŽETAK

Kronična bubrežna bolest (KBB) predstavlja ozbiljan javnozdravstveni problem zbog nemogućnosti preciznog predviđanja tijeka bolesti do stadija terminalnog bubrežnog zatajenja. Otkrivanje bolesti u ranoj fazi može spriječiti ili usporiti napredovanje KBB i smanjiti rizik komplikacija. Stadiji KBB se prema klasifikaciji National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF K/DOQI) određuju na temelju procjene brzine glomerularne filtracije (engl. *Glomerular Filtration Rate*, GFR) koja se izračunava pomoću prediktivnih jednadžbi baziranim na vrijednosti kreatinina u serumu i drugih varijabli kao što su dob, spol, rasa i tjelesna masa.

U ovom radu će se ukazati na nužnost kritičkog tumačenja ovih smjernica i analizirati kako različite prediktivne jednadžbe (CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) utječu na procjenu KBB u različitim skupinama ruralne populacije kontinentalne Hrvatske. S obzirom da se radi o području s endemskom nefropatijom (EN), utvrdit će se pouzdanost prediktivnih jednadžbi za procjenu učestalosti pojedinih stadija KBB u endemskim područjima i usporediti s ne-endemskim, odnosno utvrditi je li prevalencija stadija KBB 3-5 veća kod ispitanika s EN. Također, analizirat će se koreliraju li vrijednosti transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta$  (engl. *Transforming Growth Factor- $\beta$* , TGF $\beta$ ) u uzorcima mokraće ispitanika s KBB, tj GFR određenoj različitim jednadžbama što predstavlja novi doprinos spoznavanju patofiziologije endemske nefropatije.

Dobiveni rezultati pokazuju vrlo visoku prevalenciju KBB u ruralnom hrvatskom području te razliku u svrstavanju ispitanika u stadije - bubrežnog oštećenja 3-5 ovisno o primjenjenoj jednadžbi, neovisno o skupinama ispitanika. Najlošiju usporedbu tj. podudarnost sa ostale tri jednadžbe imala je CG jednadžba, dok su najbolju usporedbu pokazale jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI. Zbog dokazane značajne povezanosti procijenjene GFR i dijagnoze EN, dobiveni rezultati upućuju na mogućnost jasnog razlikovanja pojedinih podskupina ispitanika u EN selima pa procjena GFR prediktivnim jednadžbama treba biti i dalje uključena u kriterije za EN. TGF $\beta$  kao biljeg uznapredovale fibroze, nije se pokazao kao pouzdan biljeg u razlikovanju podskupina bolesnih i ostalih ispitanika.

**Ključne riječi:** kronična bubrežna bolest (KBB)    endemska nefropatija (EN)  
brzina glomerularne filtracije (GFR)    prediktivne jednadžbe



## SUMMARY

**Background:** Chronic kidney disease (CKD) is a significant public health problem because of the inability to precisely predict progression to stage of terminal renal failure. Detection of the disease in an early stage can help prevent or slow the progression of CKD and reduce the risk of complications. CKD stages, according to the classification NKF/DOQI, are classified based on the estimated glomerular filtration rate (GFR), which is calculated using predictive equations based on serum creatinine and other variables such as age, sex, race and body mass. This study will point out the necessity for the critical interpretation of these guidelines and analyze how different predictive equations (CG – Cockcroft -Gault, MDRD2 - Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE - Mayo Clinic Quadratic equation and CKD-EPI - Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) have an influence on assessing CKD in different groups of the population. One of the important causes of CKD in Croatia is endemic nephropathy (EN) in endemic region of Posavina (i.e. the Sava River basin). In EN, GFR is, just as in other CKD, considered a marker of overall renal function.

**Methods:** A total of 1573 inhabitants of the Croatian Posavina rural area from 6 endemic and 3 non-endemic villages were enrolled. Participants were classified according to the modified WHO criteria for EN. The aim was to examine the effect of different GFR equations on GFR and to determine prevalence of CKD (more specifically CKD stages 3-5) in Croatian endemic and non-endemic region. Also, will be analyzed are the TGF $\beta$  values in patients urine samples correlated with CKD and estimated GFR calculated using different predictive equations, which represents a new contribution to the understanding of the pathophysiology of endemic nephropathy.

**Results:** The results show a very high CKD prevalence in the Croatian rural area and differences in the classification of patients in stages 3-5 depending on the applied equation but irrespective of patient groups. The CG equation demonstrated worst concordance with other studied equations, while MDRD2 and CKD-EPI showed the best compatibility. TGF $\beta$  as a marker of advanced liver fibrosis, has not proved to be a reliable marker in distinguishing between a subset of the sick and other of subjects.

**Conclusion:** eGFR correlated significantly with the diagnosis of EN. Kidney function assessment using predictive equations proved to be a good marker in differentiating the study subgroups remained as one of the diagnostic criteria for EN.

**Keywords:** chronic kidney disease (CKD) endemic nephropathy (EN)  
glomerular filtration rate (GFR) predictive equations

## Sadržaj

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD .....   | 1  |
| 1.1. Kronična bubrežna bolest .....   | 1  |
| 1.1.1.    Klasifikacija KBB .....   | 2  |
| 1.1.2.    Prevalencija KBB .....  | 7  |
| 1.2. Endemska nefropatija .....   | 9  |
| 1.2.1.    Klinička slika i tijek bolesti .....  | 11 |
| 1.2.2.    Epidemiološki podaci .....  | 11 |
| 1.2.3.    Dijagnostički kriteriji za endemsku nefropatiju .....                                   | 13 |
| 1.2.4.    Laboratorijske značajke endemske nefropatije .....                                      | 15 |
| 1.3. Prediktivne jednadžbe za procjenu bubrežne funkcije .....                                    | 17 |
| 1.3.1.    CG – Cockcroft – Gault .....  | 18 |
| 1.3.2.    MDRD2 – Modification of Diet in Renal disease Study.....                                | 19 |
| 1.3.3.    MCQ – Mayo Clinic Quadratic .....   | 20 |
| 1.3.4.    CKD-EPI – Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration.....                        | 21 |
| 1.4. TGFβ u endemskoj nefropatiji .....   | 23 |
| 1.5. Svrha rada .....   | 24 |
| 2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....  | 26 |
| 2.1. Hipoteze .....   | 26 |
| 2.2. Ciljevi istraživanja .....   | 26 |
| 3. ISPITANICI I METODE .....  | 27 |
| 3.1. Ispitanici .....   | 27 |
| 3.2. Metode rada .....  | 28 |
| 3.2.1.    Postupci .....  | 28 |
| 3.2.2.    Metode .....  | 28 |
| 3.3. Statistička obrada podataka .....  | 31 |
| 4. REZULTATI .....  | 33 |
| 4.1. Opće osobine ispitanika .....  | 33 |
| 4.2. Obilježja bubrežne funkcije ispitanika .....   | 35 |
| 4.2.1.    Procijenjena brzina glomerularne filtracije (eGFR) .....                                | 35 |
| 4.2.2.    Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR prema četirima prediktivnim<br>jedadžbama ..... | 40 |

|        |   |     |
|--------|---|-----|
| 4.2.3. | Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR prema mjestu uključenja ispitanika.....                                 | 41  |
| 4.2.4. | Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR prema dobi .....  | 45  |
| 4.2.5. | Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR u podskupinama ispitanika razvrstanih prema kriterijima SZO za EN ..... | 48  |
| 4.2.6. | Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR u skupini ispitanika sa šećernom bolesti .....                          | 51  |
| 4.2.7. | Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR u skupini ispitanika s arterijskom hipertenzijom .....                  | 52  |
| 4.3.   | ROC analize jednadžbi CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI .....   | 53  |
| 4.4.   | Prevalencija stadija 3 - 5 bubrežne funkcije ovisno o primijenjenoj jednadžbi ...                               | 61  |
| 4.5.   | Podudarnost jednadžbi u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja (stupanj slaganja).....                       | 70  |
| 4.6.   | Povezanost TGF $\beta$ i bubrežne funkcije procijenjenje prediktivnim jednadžbama.....                          | 70  |
| 5.     | RASPRAVA .....  | 72  |
| 6.     | ZAKLJUČCI .....   | 80  |
| 7.     | LITERATURA .....  | 82  |
| 8.     | PRILOZI .....   | 93  |
|        | Prilog A: Popis oznaka i kratica .....  | 93  |
|        | Prilog B: Znanstveni radovi autorice zastupljeni u Current Contents bazi .....                                  | 94  |
| 9.     | ŽIVOTOPIS .....   | 110 |

## 1. UVOD

### 1.1. Kronična bubrežna bolest

Bubrežna bolest (BB) nastaje kao posljedica oštećenja bubrega zbog čega bubrezi više nisu u stanju održavati svoje tri glavne funkcije: uklanjanje otpadnih tvari, održavanje acido-bazne ravnoteže i proizvodnju hormona. Gubitak bubrežne funkcije najčešće nastaje zbog šećerne bolesti, povišenog arterijskog tlaka, ateroskleroze ali i zbog bolesti u kojima su od početka zahvaćeni samo bubrezi (npr. glomerulonefritis, intersticijskinefritis, policistična bolest bubrega i dr.). Ukoliko simptomi bubrežne bolesti (povišen arterijski tlak, promijenjene vrijednosti laboratorijskih parametara, često mokrenje, promjena boje mokraće, pojačano znojenje, bol u donjem dijelu leđa i dr.) ostanu neprepoznati, razvit će se kronična bubrežna bolest (KBB). Jedno od bitnih obilježja KBB je to što vrlo često ostaje neprepoznatom u ranim stadijima bolesti te svojom progresijom dovodi do zatajenja bubrega. Tada su mogućnosti djelovanja već male zbog ograničenog vremena i ireverzibilnih oštećenja. Progresivni gubitak funkcije bubrega na kraju dovodi do završne faze bubrežne bolesti (ESRD - engl. *End Stage Renal Disease*) ili zatajenja bubrega, što dovodi do potrebe za dijalizom ili transplantacijom bubrega. Zbog potrebe dugogodišnjeg planiranja zbrinjavanja i liječenja bolesnika s terminalnim bubrežnim zatajenjem KBB postaje velik javno zdravstveni problem u cijelom svijetu pa tako i u Hrvatskoj. Velika multicentrična istraživanja provedena u razvijenim industrijskim zemljama ali i zemljama u razvoju, pokazala su da približno svaki deseti čovjek na svijetu ima KBB [1]. U Hrvatskoj se procjena broja kroničnih bubrežnih bolesnika temelji na osnovi podataka o incidenciji i prevalenciji bolesnika kojima se nadomješta bubrežna funkcija, iz Hrvatskog registra nadomještanja bubrežne funkcije (HRNBF). Procjenjuje se da oko 15% stanovništva Hrvatske ima KBB i nalaze se u riziku pogoršanja bolesti do faze kada će trebati dijalizu ili transplantaciju bubrega [2]. Visoka učestalost KBB u Hrvatskoj može se objasniti visokom prevalencijom i lošom kontrolom hipertenzije, visokom prevalencijom pretilosti i slabim socio-ekonomskim statusom. Liječenje nadomještanjem bubrežne funkcije težak je gubitak kvalitete i duljine života za oboljele i veliko financijsko opterećenje za zajednicu, a nažalost, veliki broj bolesnika i ne doživi tu fazu, najčešće zbog brojnih komplikacija koje prate bubrežnu bolest, kao što su srčanožilne bolesti (SŽB). Bolesnici s KBB imaju deseterostruko veći rizik umiranja od SŽB (npr. od infarkta miokarda, zatajivanja rada srca ili moždanog udara) nego od bubrežnog zatajenja i većina ih umre ne dočekavši razvoj završnog stadija bubrežnog zatajenja. Također, sve je više osoba u kojih postoji uznapredovala renalna insuficijencija bez prethodnih simptoma, bez poznate ranije bubrežne bolesti i bez liječenja koje je moglo utjecati na tijek bolesti, a uočava

se i tendencija porasta broja bolesnika u ranijim stadijima KBB, koji imaju značajno veći rizik od SŽB. KBB pretežno pogađa osobe starije životne dobi, osobe s obiteljskom povijesti bolesti i različite etničke skupine. Vodeći uzroci kroničnog bubrežnog zatajenja su šećerna bolest i visoki arterijski tlak (arterijska hipertenzija), s time da je šećerna bolest vodeći uzrok kod oko 40% novo dijagnosticiranih bubrežnih bolesnika u terminalnoj fazi, a arterijska hipertenzija kod oko 20% novih slučajeva. Uzrok porasta broja oboljelih od KBB je svakako i starenje populacije, pretilost, prekomjerno i nekontrolirano trošenje nesteroidnih protuupalnih lijekova, izloženost raznim toksinima okoliša i dr. [3].

Obzirom na javnozdravstveno značenje - liječenje nadomještanjem bubrežne funkcije težak je gubitak kvalitete i duljine života za oboljele i veliko financijsko opterećenje za zajednicu - neophodno je povećati svijest o KBB te potaknuti na ranu dijagnozu i liječenje. Iz tog razloga je američka Nacionalna bubrežna zaklada NKF/KDOQI objavila smjernice za dijagnosticiranje, klasifikaciju i stratifikaciju KBB [5] s namjerom da se KBB rano prepozna i primijene postupci za zaustavljanje napredovanja u konačno zatajenje bubrega.

### 1.1.1. Klasifikacija KBB

Kronična bubrežna bolest je definirana patološkim promjenama bubrežne strukture i funkcije koje traju najmanje tri mjeseca sa smanjenom vrijednosti glomerularne filtracije (engl. *Glomerular Filtration Rate*, GFR) ( $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ); ili  $\text{GFR} < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  tijekom najmanje tri mjeseca. Oštećenje bubrega znači patološki nalaz: kvalitativnog pregleda mokraće (na prvom mjestu proteinurija), biokemijskih pretraga krvi, nalaza rendgenske ili neke druge slikovne dijagnostike te biopsije bubrega (Tablica 1).

**Tablica 1.** Kriteriji za KBB (bilo koji od navedenih prisutan  $>3$  mjeseca)

|   |  |
|---|--|
|   | Albuminurija ( $\text{AER} \geq 30 \text{ mg/24h}$ ; $\text{ACR} \geq 3 \text{ mg/mmol}$ kreatinina) |
|   | Abnormalnosti sedimenta mokraće  |
| Biljezi oštećenja<br>bubrega<br>(jedan ili više)  | Patološki nalaz elektrolita zbog oštećenja tubula  |
|   | Nepravilnosti otkrivene biopsijom  |
|   | Nepravilnosti bubrežne strukture otkrivene slikovnim pretragama                                      |
|   | Transplantirani bubreg   |
| Smanjenjana GFR   | $\text{GFR} < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (GFR stadiji od 3a-5)                                       |
| <i>AER-izlučivanje albumina (engl. Albumin Excretion Rate); ACR-koncentracija albumina izražena na koncentraciju kreatinina u mokraći (engl. Albumin-Creatinine Ratio); GFR-brzina glomerularne filtracije (engl. Glomerul Filtration Rate)</i> |  |

KBB se često naziva „tihom bolešću“ jer izostaju simptomi bolesti u njezinom ranom stadiju. Napredovanjem bolesti mogu se javiti nespecifični simptomi koji mogu upućivati na razvoj bolesti; osjećaj umora i nedostatka energije, oslabljena koncentracija, oslabljeni apetit, poteškoće sa spavanjem, slabi grčevi posebice noću, znojenje, edemi oko očiju, izraženi ujutro, suhoća kože, učestalo mokrenje, izraženo noću. Uz šećernu bolest, arterijski tlak ili već postojeću bubrežnu bolest u obitelji, pojavnost bubrežne bolesti izrazitija je u određenim skupinama stanovništva (npr. afrički amerikanci, amerikanci hispanijskog podrijetla i indijanci, azijati i dr.), a na našim područjima su to stanovnici područja s endemskom nefropatijom (EN). Ranim i pravovremenim otkrivanjem čimbenika rizika za nastanak KBB može se usporiti napredovanje bolesti i smanjiti rizik od smrtnosti.

Čimbenici rizika se prema NKF/KDOQI dijele u tri kategorije:

1. čimbenici osjetljivosti (engl. *susceptibility factors*): starija životna dob, KBB u obitelji, smanjena bubrežna masa, manja porođajna težina i slabiji socioekonomski status. Oni povećavaju podložnost bubrežnom oštećenju.
2. čimbenici odgovorni za početak bolesti (engl. *initiation factors*): šećerna bolest, arterijska hipertenzija, infekcije mokraćnog sustava, mokraćni kamenci, pretilost, autoimune bolesti i sistemske infekcije. Ovi čimbenici su promjenjivi, mogu se kontrolirati i/ili liječiti i direktan su uzrok oštećenja bubrežne funkcije
3. čimbenici napredovanja bolesti (engl. *progression factors*) koji nakon početnog oštećenja uzrokuju pogoršanje bubrežnog oštećenja i brži pad bubrežne funkcije (npr. pušenje, neregulirana hipertenzija, nekontrolirana glikemija, dislipidemija)[6]. U Tablici 2. su navedeni čimbenici rizika KBB i njenog ishoda.

**Tablica 2. Klasifikacija čimbenika rizika kroničnog zatajenja bubrežne funkcije i njenog ishoda**

| Tip rizika       | Mogući mehanizam  | Primjeri rizika   |
|------------------|---|---|
| Nastanak KBB     | Povećavaju podložnost oštećenju funkcije bubrega          | Starija dob, KBB u obiteljskoj anamnezi, prirođena ili stečena manja bubrežna masa, stanja primarne hiperfiltracije, srčano-žilne bolesti, slabiji socioekonomski status  |
|                  | Direktno uzrokuju oštećenje bubrežne funkcije             | Šećerna bolest, hipertenzija, pretilost, metabolički sindrom, dislipidemija, hiperkalcemija, autoimune bolesti, sustavne infekcije, infekcije mokraćnog sustava, bubrežni kamenci, opstrukcija mokraćnog sustava, toksičnost lijekova |
| Pogoršanje KBB   | Pogoršava oštećenje i ubrzava smanjenje bubrežne funkcije | Tip bolesti bubrega, teži oblici proteinurije   |
| Komplikacije KBB | Povećani rizik komplikacija smanjene GF                   | Ne-KBB čimbenici povezani s hipertenzijom, anemijom, pothranjenošću, poremećajima kosti i minerala  |
|                  | Ubrzavaju početak ili pogoršanje srčano-žilnih bolesti    | Uobičajeni čimbenici rizika za srčano-žilne bolesti, ne-tradicionalni čimbenici rizika vezani uz KBB  |
|                  | Povećavaju pobol i smrtnost u zatajenju bubrega           | Niska doza dijalize (Kt/V), opterećenje tekućinom, privremeni žilni pristup, teška anemija, niska razina albumina u serumu, kasno otkrivanje bolesti  |

*KBB – kronična bubrežna bolest; GF – glomerularna filtracija; Kt/V – mjera učinkovitosti dijalize (K=klirens ureje u mililitrima na minutu; t=vrijeme u minutama; V= volumen tjelesne tekućine u litrama). Prilagođeno prema [6].*

Stadiji KBB se prema klasifikaciji NKF/KDOQI iz 2002. godine određuju na temelju veličine GFR, najtočnijeg i najosjetljivijeg pokazatelja ukupne bubrežne funkcije (Tablica 3).

**Tablica 3. Stadiji bubrežne bolesti prema klasifikaciji NKF/KDOQI iz 2002. g.**

| Stadij | GFR<br>(ml/min /1.73m <sup>2</sup> ) | Opis   |
|--------|--------------------------------------|--|
| 1      | ≥ 90                                 | Oštećenje bubrega uz normalnu GFR<br>(albuminurija, proteinurija, hematurija)        |
| 2      | 60-89                                | Oštećenje bubrega uz blago smanjenje GFR<br>(albuminurija, proteinurija, hematurija) |
| 3      | 30-59                                | Umjereno smanjenje GFR<br>(rana bubrežna insuficijencija)                            |
| 4      | 15-29                                | Teško smanjenje GFR<br>(kronična bubrežna insuficijencija, pre-ESRD)                 |
| 5      | < 15                                 | Zatajenje bubrega<br>(uremija, terminalni stadij bubrežne bolesti)                   |

GFR – brzina glomerularne filtracije (engl. Glomerular Filtration Rate; ESRD – krajnja faza bubrežne bolesti (engl. End Stage Renal Disease))

Prvi stadij karakterizira oštećenje bubrega, najčešće zbog prisutne albuminurije, uz normalnu funkciju bubrega s GFR > 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. U drugom stadiju je oštećenje bubrega praćeno početnim smanjenjem GFR na 60-89 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Bubrežna funkcija je po definiciji smanjena kada je GFR < 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> pa ukoliko ne postoje drugi dokazi oštećenja bubrega, stadiji 1 i 2 ne ispunjavaju kriterije za KBB. Dijagnoza ostalih stadija KBB temelji se samo na smanjenju GFR bez znakova oštećenja bubrega. Tako je u trećem stadiju glomerularna filtracija 30-59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, a u četvrtom 15-29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. U petom stadiju zbog GFR < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> dolazi do zatajenja bubrega. Primjena navedenih kriterija omogućuje jednostavniju definiciju i klasifikaciju KBB, međutim zbog toga što u klasifikaciju nije uključena etiologija bubrežnog oštećenja ili gubitka bubrežne funkcije, definicija KBB je izgubila prognostičku točnost.

Radna skupina koja se bavi poboljšanjem globalnih ishoda KBB, KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) je 2012. godine objavila nove, revidirane smjernice za klasifikaciju stadija KBB primjenjujući novi pristup. KBB se i dalje klasificira prema veličini GFR u 5 stadija (G stadiji), ali je stadij 3 podijeljen na 3a i 3b. Stadij 3a je definiran GFR od 45-59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, a 3b GFR od 30-44 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Osim kategorije GFR u novim smjernicama je uključena kategorija – albuminurija (A stadiji) - temeljena na koncentraciji albumina u mokraći (AER < 30mg/24h) i koncentraciji albumina izraženoj na koncentraciju kreatinina (ACR < 3mg/mmol kreatinina). Također, istaknuta je potreba praćenja bolesnikove bubrežne funkcije u periodu od minimalno 3 mjeseca prije potvrde dijagnoze KBB, te da za



taj period sve abnormalnosti mokraćnog suatava moraju biti medicinski dokumentirane. Na temelju ovih pokazatelja formirana je tzv. „heat map“, pomoću koje se bolesnici mogu svrstati u 4 kategorije rizika [7]: niski (zeleno), umjereni (žuto), visoki (narančasto) i vrlo visoki (crveno) (Tablica 4). Relativni rizik za navedene događaje se povećava sa smanjenjem GFR i povećanjem koncentracije albumina.

**Tablica 4.** Stadiji bubrežne bolesti i kategorije rizika za razvoj komplikacija KBB ovisno o stadiju KBB

|  |    |                              |       | Kategorije prema koncentraciji albumina u mokraći izraženoj na koncentraciju kreatinina (mg/mmol kreatinina) |                        |                       |
|--|----|------------------------------|-------|--|------------------------|-----------------------|
|  |    |                              |       | A1<br>normalna do<br>blaga <3  | A2<br>umjerena<br>3-30 | A3<br>izrazita<br>>30 |
| Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 1  | normalna ili visoka          | ≥90   |  |                        |                       |
|  | 2  | blago snižena                | 60-89 |  |                        |                       |
|  | 3a | blago do umjereno snižena    | 45-59 |  |                        |                       |
|  | 3b | umjereno do izrazito snižena | 30-44 |  |                        |                       |
|  | 4  | izrazito snižena             | 15-29 |  |                        |                       |
|  | 5  | zatajenje bubrega            | <15   |  |                        |                       |

*eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije; A1 - A3 – kategorije prema koncentraciji albumina izraženoj na koncentraciju kreatinina; 1- 5 – kategorije eGFR.*

Prilagođeno prema [114].

### 1.1.2. Prevalencija KBB

Hill N.R. i suradnici su 2016. godine pretraživanjem literature u 8 baza podataka (Medline/PubMed, EMBASE, CINAHL, the Cochrane Register for Controlled Trials (CENTRAL), LILACS, SciELO, clinicaltrials.gov, WHO ICTRP) proveli opsežni sustavni pregled i meta analizu svih opservacijskih istraživanja u kojima su navedeni podaci o prevalenciji KBB u različitim dijelovima svijeta (Tablica 5) [8]. Podaci koje su dobili pokazali su na globalnoj razini, da je prosječna prevalencija svih stadija KBB 13,4% (95% IP 11,7 – 15,1), a stadija 3 – 5 10,6% (95% IP 9,2 – 12,2), što bi značilo da otprilike jedna od 10 odraslih osoba na svijetu ima neki oblik oštećenja bubrega (Tablica 6). Također, dokazali su značajnu pozitivnu povezanost prevalencije KBB s dobi, šećernom bolesti i arterijskom hipertenzijom, negativnu povezanost s pušenjem. Međutim nije dokazana povezanost učestalosti KBB s prosječnim indeksom tjelesne mase (ITM, engl. *Body Mass Index*, BMI) i pretilosti.

**Tablica 5.** Prevalencija svih stadija KBB i stadija 3 -5 u različitim dijelovima svijeta

|                           | Prevalencija svih stadija KBB (%) | Prevalencija stadija KBB 3-5 (%) |
|---------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| J. Afrika, Senegal, Kongo | 8,7                               | 7,6                              |
| Indija, Bangladeš         | 13,1                              | 6,8                              |
| Iran                      | 18,0                              | 11,7                             |
| Čile                      | 0,0                               | 12,1                             |
| Kina, Taiwan, Mongolija   | 13,2                              | 10,1                             |
| Japan, J. Korea, Oceanija | 13,7                              | 11,7                             |
| Australija                | 14,7                              | 8,1                              |
| SAD, Kanada               | 15,5                              | 14,4                             |
| Europa                    | 18,4                              | 11,9                             |

*KBB – kronična bubrežna bolest; Prilagođeno prema [8].*

**Tablica 6.** Prevalencija pojedinih stadija KBB u svijetu

| Stadij | GFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )      | Procjena prevalencije KBB u svijetu |
|--------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 1      | >90                                   | 3,5%                                |
| 2      | 60-89                                 | 3,9%                                |
| 3      | 30-59                                 | 7,6%                                |
| 4      | 15-29                                 | 0,4%                                |
| 5      | <15 ili terminalno bubrežno zatajenje | 0,1%                                |

*eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB – kronična bubrežna bolest. Prilagođeno prema [8].*

Prevalencija KBB veća je u ekonomski razvijenijim područjima (Europa, SAD, Kanada i Australija) što je vjerojatno posljedica rizika loših prehrambenih navika i arterijskog tlaka ali i produženja prosječnog životnog vijeka stanovništva.

Točnih podataka o pojavnosti i učestalosti KBB u Republici Hrvatskoj nema. Postoji jedno preliminarno izvješće koje pokazuje da je KBB češća u hrvatskom ruralnom području u usporedbi s nekim drugim regijama [9]. Na osnovi incidencije i prevalencije bolesnika kojima se nadomješta bubrežna funkcija, procjenjuje se da od 15% stanovnika Hrvatske oboljelih od KBB, više od 200 000 ima  $GFR < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , oko 2 000 oboljelih je u petom stadiju KBB, a oko 4100 stanovnika se liječi nekom od metoda za nadomještanje bubrežne funkcije [2]. Velik broj tih osoba nije registriran u ranijim stadijima, a bubrežno oštećenje će se utvrditi tek kada se ti bolesnici jave zbog neke druge komplikacije, npr. infarkta miokarda, srčanog zatajenja, cerebrovaskularnog infarkta i sl. Kako se pogoršava, KBB može uzrokovati niz metaboličkih, endokrinih, neuroloških, kognitivnih i drugih poremećaja koji su bitni za pojedinca i njegovu obitelj ali i društvo u cjelini, te naposljetku dovesti do prestanka bubrežne funkcije kada život nije moguć bez nadomjesne terapije (dijalize i/ili transplantacije). U posljednjih nekoliko godina najbrže rastuća skupina bolesnika koja zbog gubitka bubrežne funkcije treba nadomjesno bubrežno liječenje je skupina starijih bolesnika dok se uzroci gubitka bubrežne funkcije nisu značajno mijenjali. Iako su šećerna bolest i povišeni arterijski tlak odgovorni za gubitak bubrežne funkcije u polovine bolesnika koji započinju s nadomjesnim bubrežnim liječenjem, 1 – 3% bolesnika godišnje kojima se nadomješta bubrežna funkcija su bolesnici kojima je osnovna bolest EN [10;11]. Bolesnici s KBB susreću se s brojnim drugim problemima kao što su npr. ograničenja u propisivanju lijekova koji djeluju na sprječavanje komplikacija podmakle bubrežne bolesti zbog čega veliki broj bubrežnih bolesnika umire ranije. Zbog toga je važno otkrivanje bolesti u ranoj fazi, pravodobnim odgovarajućim liječenjem kao što je, između ostaloga, sniženje arterijskog tlaka, regulacija šećera u krvi, liječenje anemije i poremećaja metabolizma minerala što rezultira povećanjem kvalitete života bolesnika i uštedom za zdravstveni sustav.

## 1.2. Endemska nefropatija

Endemska nefropatija je kronična tubulointersticijska bolest bubrega egzotoksične etiologije s višegodišnjim asimptomatskim tijekom koja zahvaća odraslo ruralno stanovništvo aluvijalnih pritoka Dunava u Bosni, Bugarskoj, Hrvatskoj, Rumunjskoj i Srbiji, a klinički se najčešće očituje terminalnim bubrežnim oštećenjem i često je udružena s karcinomima prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava (engl. *Upper Urothelial Cancer*, UUC) [12;13].

Bolest je u Hrvatskoj prvi put opisana sredinom prošloga stoljeća premda je prema crkvenim zapisima bila najvjerojatnije prisutna i ranije, poznata pod nazivom Kobaška bolest po selu Slavonski Kobaš u kojem je prvi puta opisana [14;15;16]. Prvi zabilježeni slučaj endemske nefropatije je zapis obdukcije muškarca iz tog sela koji je 1948. godine preminuo s kliničkom slikom uremije u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, čija je majka također preminula zbog nefropatije.

EN se istražuje posljednjih pedesetak godina. U traženju uzroka/uzročnika EN istraživao se čitav niz vanjskih etioloških čimbenika uključujući i okolišne toksine poput mikotoksina, fitotoksina, teških metala (kadmij i olovo), mikroorganizama (virusa, bakterija), elemenata u tragovima (selen) [17;18;19], okratoksina A [20;21], kao i uloga humoralne i stanične imunosti, te nasljedne, genske komponente. Dugi niz godina je upravo okratoksin A bio u fokusu istraživanja, no 2006. godine Europsko povjerenstvo za hranu zaključilo je da nema dovoljno dokaza koji bi potvrdili povezanost okratoksina A i EN [22;23]. Okratoksin A je ubikvitaran mikotoksin plijesni rodova *Penicillium* i *Aspergillus* koji u životinja može izazvati patohistološke primjene i karcinom bubrega ali ne i UCC koji bi ga mogao dovesti u vezu s EN. Povišene vrijednosti okratoksina A ustanovljene su kod osoba s KBB iz neendemskih područja što potvrđuje da je nakupljanje okratoksina A u bubrezima posljedica snižene GFR tj. KBB, a nije njezin uzrok [24;25;26].

Danas postoje neborivi dokazi da je aristolohična kiselina (AA), fitotoksin iz biljke vučje stope (*Aristolochia clematidis*) glavni rizični čimbenik i uzročnik EN i UUC [27;28;29]. Zajednička pojavnost te dvije inače rijetke bolesti na ograničenom geografskom području ukazuje na zajedničku etiologiju. Dugogodišnje izlaganje aristolohičnoj kiselini može uzrokovati oštećenje bubrežnih tubula, a mehanizam oštećenja identičan je onome kod nefropatije aristolohične kiseline (engl. *Aristolochic Acid Nephropathy*, AAN) uzrokovane uzimanjem velikih doza aristolohične kiseline iz kineske trave *Aristolochiae fanchgi* [30;31]. AAN kao i EN obilježava acelularna intersticijska fibroza i atrofija tubula s tubularnom

proteinurijom i anemijom [32], a bolest je u 46% slučajeva udružena s UUC [33]. Biomarker izloženosti AA je prisustvo kovalentno vezanih AL-DNA adukata u bubrežnom korteksu i u tkivu tumora, koji se mogu detektirati čak 20 godina nakon prestanka izloženosti AA, te predstavljaju doživotni tkivni biomarker i potvrdu izloženosti toksinu [34;35].

Istraživački tim s Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Instituta Ruđer Bošković u suradnji s američkim istraživačima sa Sveučilišta Stony Brook u New York-u (Stony Brook University School of Medicine, New York) je vođen hipotezom o kroničnoj ingestiji AA, epidemiološko-molekularnim metodama dokazao da je AA etiološki čimbenik EN. Time je potvrđena Ivićeva hipoteza i opažanje iz 1969. godine da su se sjemenke korova vučje stope mljele zajedno sa sjemenkama žita te tako dospijevale u brašno za kruh koji je bio glavna prehrambena namirnicu stanovnika sela s EN ali i općenito populacije na ovim prostorima [36;37;38;39]. (Slika 1.)



**Slika 1.** *Vučja stopa (Aristolochia clematitis)*

### 1.2.1. Klinička slika i tijek bolesti

Endemsku nefropatiju karakterizira podmukli, tihi razvoj bolesti, dugi period dok se bolest ne razvije u tubulointersticijsku nefropatiju, bez jasnih znakova i simptoma koji bi u početnoj fazi upućivali na kronično bubrežno oštećenje. Prvi znak oštećenja bubrežne funkcije je poremećaj koncentriranja mokraće zbog oštećenja tubula i pojavnost proteina male molekulske mase ( $\beta_2m$  –  $\beta_2$ -mikroglobulina i  $\alpha_1m$  –  $\alpha_1$ -mikroglobulina) te enzima (LAP - leucin amniopeptidaza i NAG - N-acetil- $\beta$ -D-glukozaminidaza) što je proksimalni tubul više zahvaćen. Prisutna je često i albuminurija kao posljedica smanjene reapsorpcije u proksimalnom tubulu. Azotemija, uremija, edemi i povišen arterijski tlak se javljaju mnogo godina nakon početka bolesti. Daljnjom progresijom bolesti prema terminalnom stadiju javlja se umor, bijedilo kože i sluznica, glavobolja, gubitak na tjelesnoj masi i poliurija s nikturijom. Bolest se ne može izliječiti, završava terminalnim bubrežnim zatajanjem te je za održavanje života potrebna kronična nadomjesna terapija (neki od oblika dijalize). Oboljeli od EN imaju rizik razvoja tumora urotrakta (pijelona i uretera) 50 puta veći nego drugi stanovnici Hrvatske. U većine bolesnika s nefropatijom UUC se obično javljaju desetak godina od pojave bolesti, dok u manjeg broja bolesnika pojava karcinoma prethodi nefropatiji [40;41].

### 1.2.2. Epidemiološki podaci

EN odlikuju jedinstvena epidemiološka obilježja:

- prisutnost isključivo kod seoskog stanovništva koje obitava duže od 15 godina u ograničenom, mozaički raspoređenom geografskom području, u nizinama rijeka ili njihovih pritoka koja su u prošlosti često bila poplavljena [42].
- pojava bolesti u istom domaćinstvu bez izravnog genskog modela nasljeđivanja
- neboljevanje djece mlađe od 15 godina života
- značajna povezanost s UUC.

Glavni razlog i objašnjenje svih epidemioloških i kliničkih osobitosti EN je kroničan unos niskih koncentracija AA u genski predisponiranih osoba. Budući da je pojava EN potaknula poboljšanje životnih uvjeta u endemskim selima, izgradnju nasipa, kanala, melioraciju zemljišta te time promjenu u načinu života stanovništva i veći opći i zdravstveni standard, očekivalo se da će bolest s vremenom nestati te da neće biti novooboljelih bolesnika. Prema ranijim epidemiološko-kliničkim istraživanjima uočena je tendencija smanjenja prevalencije EN, a po prvi puta u nekim etabliranim selima s EN kao npr. Dubočac nije evidentiran niti

jedan slučaj EN. Ovi podaci potvrđuju još uvijek postojanje EN u hrvatskom žarištu, ali govore u prilog smanjenju izloženosti etiološkom agensu.

Prevalencija EN u hrvatskom žarištu iznosila je oko 2-10% uz blagu predominaciju ženskog spola [43]. Uočava se pomak u dobi postavljanja dijagnoze tako da prosječna dob sada iznosi 55-60 godina, dok je ranije bila između 45 i 50 godina. To može biti rezultat poboljšanih dijagnostičkih i terapijskih postupaka, ali i manje izloženosti ili potpunog prestanka izloženosti AA.

U Hrvatskoj se endemsko žarište nalazi zapadno od Slavenskog Broda, s južne strane ograničeno rijekom Savom, a sa sjeverne obroncima gore Dilj i obuhvaća 14 sela s populacijom od 12 686 stanovnika [44] (Slika 2).



**Slika 2.** Endemsko žarište u Hrvatskoj s epidemiološkim podacima o prosječnoj prevalenciji EN u endemskim selima od 1980. do 1991. [43]. Crvenom linijom označena su endemska sela uključena u ovo istraživanje, plavom linijom ostala endemska sela, a zelenom linijom kontrolna sela.

Ranije je spomenuto da bolesnici kojima je uzrok terminalnog zatajenja bubrežne funkcije EN, za održavanje života nužno trebaju kroničnu nadomjesnu terapiju. Nadomještanje bubrežne funkcije se u takvih bolesnika najčešće provodi postupcima hemodijalize i transplantacijom bubrega. U izvješću HRNBF iz 2012. godine S. Čala navodi da se udio bolesnika s EN među incidentnim bolesnicima od 2004. do 2012. godine kretao između 1 – 2 %, a apsolutni brojevi dijaliziranih zbog EN, govore u prilog trenda smanjenja broja dijaliziranih bolesnika zbog EN [2].



### 1.2.3. Dijagnostički kriteriji za endemsku nefropatiju

Rano dijagnosticiranje EN otežava činjenica što ne postoji specifični dijagnostički biljeg, nego se u tom postupku koriste kriteriji kojima se kombiniraju različiti dijagnostički biljezi. Izvorne dijagnostičke kriterije za klasifikaciju i prepoznavanje EN postavila je na temelju laboratorijskih pokazatelja Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) 1965. godine (Tablica 7) [45].

**Tablica 7.** *Dijagnostički kriteriji SZO za EN*

| <b>Dijagnostički kriteriji SZO za dijagnosticiranje EN iz 1965. godine</b> |   |
|--|---|
| <b>A. Vjerojatno oboljeli od EN</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• tubularna proteinurija</li> <li>• nemogućnost koncentriranja mokraće</li> <li>• povećana koncentracija kreatinina u serumu</li> <li>• anemija</li> </ul> |
| <b>B. Vjerojatno oboljeli kod kojih bolest napreduje</b>                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• porast koncentracije kreatinina u serumu</li> <li>• progredirajuća anemija</li> </ul>  |
| <b>C. Sumnjivi da boluju od EN</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• boravak u EN selu</li> <li>• opetovana proteinurija</li> <li>• isključenje ostalih uzroka bubrežne bolesti</li> </ul>                                    |

*SZO-svjetska zdravstvena organizacija; EN-endemska nefropatija*

Nove spoznaje o bolesti kao i razvoj medicinske struke uvjetovali su nadopunu izvornih kriterija SZO uključivanjem novih dijagnostičkih biljega (**Tablica 8**).

**Tablica 8.** *Dopunjeni dijagnostički kriteriji SZO za EN*

| <b>Dopunjeni dijagnostički kriteriji SZO za dijagnosticiranje EN</b> |  |
|--|--|
| <b>1. Bolesni</b>  | <p><b>a)</b> pozitivna obiteljska anamneza i/ili &gt;20 godina u EN selu +<br/> <b>b)</b> tubularna proteinurija* +<br/> <b>c)</b> anemija** +<br/> <b>d)</b> kreatinin u serumu &gt; 132,6 μmol/l uz isključenje drugih bubrežnih bolesti</p> <p style="text-align: center;">ili <b>b) + c) + d)</b><br/>         ili <b>a) + b) + c)</b></p> |
| <b>2. Sumnjivi da boluju od EN</b>                                   | <b>a) + b)</b> ili <b>b) + c)</b>  |
| <b>3. Rizični za EN</b>  | <b>a)</b>  |
| <b>4. Ostali</b>   | ne ispunjavaju navedene kriterije  |

\* α1-mikroglobulin > 10 mg/l ili koncentracija α1-mikroglobulina izražena na koncentraciju kreatinina u mokraći > 14 mg/g; \*\* hemoglobin < 113 g/l za žene i <120 g/l za muškarce



Uočeno je da navedeni dijagnostički kriteriji postavljaju dijagnozu EN tek u uznapređovalom stadiju bolesti, te su provedena brojna istraživanja sa ciljem otkrivanja specifičnijih dijagnostičkih biljega i njihovih graničnih vrijednosti [46; 47; 48; 49]. U travnju 2008. godine na Braču je održan međunarodni simpozij pod pokroviteljstvom SZO sa ciljem da se postigne konsenzus eksperata o probiru, klasifikaciji, dijagnosticiranju i liječenju EN. Kao rezultat konsenzusa 2013. godine su definirani tzv. Brački kriteriji za dijagnosticiranje EN s novim dijagnostičkim biljezima (Tablica 9) [50]:

**Tablica 9. Brački kriteriji za dijagnosticiranje EN**

| <b>I. Bolesni</b>   | <b>II. Sumnjivi da boluju od EN</b>  |
|---|--|
| 1. Patohistološki nalaz karakterističan za EN<br>ili<br>2. Boravak u EN domaćinstvu > 20 godina<br>+ tubularna proteinurija*<br>+ snižena eGFR**<br>+ anemija***<br>ili<br>3. Boravak u EN selu > 20 godina<br>+ UUC<br>+ tubularna proteinurija* | 1. Boravak u EN domaćinstvu > 20 godina<br>+ snižena eGFR**<br>+ anemija***<br>ili<br>2. Boravak u EN domaćinstvu > 20 godina<br>+ tubularna proteinurija*<br>ili<br>3. Boravak u EN selu > 20 godina<br>+ UUC |
| <b>III. Rizični za EN</b>   | <b>IV. Sporadična EN****</b>   |
| 1. Boravak u EN domaćinstvu > 20 godina<br>2. Boravak u domaćinstvu sa sporadičnom/<br>sumnjivom EN > 20 godina   | Patohistološki nalaz biopsije karakterističan<br>za EN u bolesnika s UUC ili u istom<br>domaćinstvu izvan endemskih žarišta  |

\*  $\alpha$ -1MCR >31,5 mg/g i  $\alpha$ 1mg/alb  $\geq$  0,91, \*\* eGFR <60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, \*\*\* Hgb <120 g/l za muškarce i žene >50 godina; <110 g/l za žene  $\leq$ 50 godina

\*\*\*\* Isključiti ispitanike s kroničnim tubulointersticijskim nefritisom druge etiologije, refluksna nefropatija, kronični, rekurentni pijelonefritis, hipertenzivna nefroangioskleroza, izloženost olovu, kadmiju, biljkama koje sadrže AA, ciklosporinu A, ifosfamid, pamidronatu, litiju, nitroureji, nesteroidnim antireumaticima, te dijabetičku nefropatiju, policističnu bolest bubrega ili glomerulonefritise.

U Srbiji su se koristili tzv. Danilovićevi kriteriji koji su se sastojali od sljedećih biljega: boravak u EN selu, pozitivna obiteljska anamneza, umjerena proteinurija, niska specifična težina mokraće, anemija, azotemija i simetrično smanjeni bubrezi. Dijagnoza EN je postavljena kod pacijenata koji imaju prva tri kriterija i ispunjen najmanje jedan od preostalih kriterija [51].

#### 1.2.4. Laboratorijske značajke endemske nefropatije

Obilježje EN je proteinurija male molekulske mase, često udružena s tubularnom enzimurijom što potvrđuje da je proksimalni tubul ciljno mjesto djelovanja uzročnika EN – AA [52;53;54]. Od proteina niske molekulske mase koji se u EN zbog oštećenog mehanizma reapsorpcije izlučuju u mokraći, najviše su proučavani  $\alpha_1$  i  $\beta_2$  – mikroglobulini ( $\alpha_1m$  i  $\beta_2m$ ).

Povišena vrijednost  $\beta_2m$  u mokraći bolesnika s EN potvrđena je u mnogim istraživanjima te je  $\beta_2m$  kao pokazatelj tubularnog oštećenja uvršten u kriterije SZO za dijagnosticiranje EN [55;56]. Međutim,  $\beta_2m$  je vrlo nestabilan. Stajanjem na sobnoj temperaturi i pri nižim pH vrijednostima mokraće  $\beta_2m$  se brzo raspada (biološko vrijeme poluraspada je 2,5 sata) što je važno znati kod provođenja epidemioloških, terenskih istraživanja gdje ponekad ne postoje adekvatni predanalitički uvjeti za pohranu uzoraka do dostave u laboratorij. Također, u bolesnika s leukociturijom uočene su lažno povišene vrijednosti  $\beta_2m$  [57;58].

Za razliku od  $\beta_2m$ ,  $\alpha_1m$  je postojan pri širem rasponu različitih specifičnih težina i pH vrijednosti mokraće. Određivanje koncentracije  $\alpha_1m$  po gramu kreatinina u mokraći (engl.  *$\alpha_1$ microglobulin – creatinin ratio*,  $\alpha_1mCR$ ) ima mnogo prednosti u usporedbi s određivanjem  $\beta_2m$ . Koncentracija  $\alpha_1m$  izražena na koncentraciju kreatinina iz jednokratnog uzoraka mokraće dobro korelira s koncentracijom iz mokraće prikupljene tijekom 24 sata [59] što omogućuje jednostavniji način prikupljanja uzoraka u terenskim istraživanjima bolesti kao što je EN. Navedene spoznaje o ovim biljezima rezultirale su uvrštavanjem  $\alpha_1m$  u KGIDO smjernice iz 2012. godine, kao preporučenog biljega tubularne proteinurije [5], a koncentracija  $\alpha_1$ -mikroglobulina izražena na koncentraciju kreatinina u mokraći u kriterije za dijagnosticiranje EN prema novom Bračkom konsenzusu [50;52;61].

U bubrežnoj bolesti je albuminurija primarno odraz oštećenja glomerularne bazalne membrane, dok je u primarno tubulointersticijskoj bolesti, kakva je EN, albuminurija posljedica izostanka funkcije proksimalnog tubula (tzv. „tubularna“ albuminurija). Iz tog razloga sama albuminurija nije našla mjesto u smjericama za dijagnosticiranje EN nego se u razlikovanju glomerularne i tubularne proteinurije koristi koncentracija  $\alpha_1mg$  izražena na koncentraciju albumina ( $\alpha_1mg/alb$ ).

Enzimi kao biljezi oštećenja nefrona nalaze se u različitim dijelovima stanica, u lizosomima, na četkastoj prevlaci stanica proksimalnog tubula i u citoplazmi stanice. Zbog pretpostavke da u EN zbog oštećenja proksimalnog tubula u ranoj asimptomatskoj fazi bolesti dolazi i do pojačane enzimurije, proučavani su enzimi četkaste prevlake stanica proksimalnog tubula -

alanin aminopeptidaza (AAP), leucin amniopeptidaza (LAP), intestinalna alkalna fosfataza (iALP) i  $\gamma$ -glutamil-transferaza (GGT) te lizosomski enzim N-acetil- $\beta$ -D-glukozaminidaza (NAG) iz stanica proksimalnog tubula [62; 63]. Dobiveni rezultati su potvrdili da u početnim fazama oštećenja proksimalnog tubula postoji pojačana enzimurija [64], a napredovanjem oštećenja enzimurija se smanjuje [65]. Međutim, zbog izrazito slabe specifičnosti za EN uspokos dobroj osjetljivosti, enzimurija nije pronašla primjenu u dijagnostici EN.

Bubrežna fibroza je završno zajedničko očitovanje svih KBB bez obzira na uzrok. S obzirom na izraženu intersticijsku fibrozu u EN za očekivati je povećano izlučivanje TGF $\beta$  u mokraći bolesnika s već razvijenom bolešću. Navedena saznanja su u Hrvatskoj preliminarno ispitivana u skupini oboljelih od EN (Živka Dika, doktorska disertacija, 2012). Budući da je u tom radu korištena samo jedna jednadžba za procjenu GFR ostalo je otvoreno pitanje bi li opažen trend bio i značajan, te klinički koristan da je GFR procijenjena pomoću drugih jednadžbi što će biti ispitano u ovom opservacijskom istraživanju [65;66;67].

U još uvijek važećim dopunjenim kriterijima SZO za dijagnosticiranje EN, kriterij za procjenu bubrežne funkcije u EN je ista granična koncentracija kreatinina u serumu za muškarce i žene koja iznosi  $>132,6 \mu\text{mol/l}$ . Kako bi rezultati bili usporedivi kreatinin u serumu bi trebao biti određen metodom slijedivom internacionalnom standardu koji predstavlja izotopna dilucijska masena spektrometrija (IDMS). Današnji stav je da je preciznija metoda procjene bubrežne funkcije određivanje veličine GFR (eGFR) pomoću prediktivnih jednadžbi baziranim na koncentraciji kreatinina u serumu i drugih varijabli kao što su dob, spol, rasa i tjelesna masa. Postoji niz jednadžbi za procjenu GFR, a odluka o izboru ovisi o osobinama ispitivane skupine. U većini istraživanja na polju EN u procjeni GFR su korištene jednadžba CG i skraćeni oblik jednadžbe MDRD (MDRD2) [10;68;69]. Zbog saznanja da u populaciji ispitanika s normalnim koncentracijama kreatinina (npr. terenska istraživanja u endemskim žarištima obuhvaćaju cijelu odraslu populaciju sela), jednadžba MDRD2 ima tendenciju izračuna lažno nižih vrijednosti eGFR, te time precjenjuje prevalenciju KBB, preferira se upotreba jednadžbe CKD - EPI [85].

### 1.3. Prediktivne jednadžbe za procjenu bubrežne funkcije

Određivanje GFR je u kliničkoj praksi najčešća pretraga za ispitivanje funkcije glomerula te jedna od glavnih pretraga za procjenu cjelokupnog funkcionalnog stanja bubrega odnosno, praćenja tijeka bubrežne bolesti [70]. Brzina glomerularne filtracije je dobar pokazatelj broja funkcionirajućih nefrona, tj. odraz je zbroja filtracije svih funkcionirajućih nefrona i iznosi oko 130 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u muškaraca i 120 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u žena. Ovisi o dobi, spolu, i veličini tijela, a zahvaljujući autoregulacijskim mehanizmima je relativno konstantna pa se koristi u postavljanju dijagnoze, praćenju liječenja i progresije bolesti te kod određivanja doze lijeka koji se izlučuje putem bubrega.

Metode za određivanje GFR mogu se podijeliti u dvije skupine, a to su metode mjerenja GFR pomoću endogenih i egzogenih tvari, i metode procjene GFR pomoću endogenih, serumskih biljega. Iako ne postoji metoda kojom bi bilo moguće izravno izmjeriti točnu GFR najbliže izravnom mjerenju bilo bi mjerenje klirensa idealnog egzogenog biljega - inulina, koji je fiziološki i metabolički inertan, slobodno se filtrira u glomerulima, ne secernira se niti reapsorbira u tubulima pa je stoga količina filtriranog inulina jednaka količini inulina izlučenog mokraćom. Osim inulina mogu se koristiti biljezi kao što je <sup>125</sup>J-iothalamat, ioheksol, Tc-99m-DTPA, <sup>131</sup>J-jodoacetat, <sup>51</sup>Cr-EDTA i dr. Međutim, zbog brojnih izvora varijabilnosti koji kompromitiraju točnost metoda za mjerenje GFR tj. klirens testova endogenih i egzogenih tvari (fiziološki: tubularna sekrecija kreatinina, farmakološki: diuretici, analitički: interferirajuće tvari, praktični: greške u skupljanju 24-satne mokraće, skupoća, složenost samog postupka mjerenja koji nerijetko podrazumijeva kontinuiranu parenteralnu primjenu biljega i kateterizaciju mokraćnog mjehura), preporuča se procjena GFR uz korištenje empirijskih jednadžbi temeljenih na izmjerenoj koncentraciji kreatinina u serumu te antropometrijskim podacima kao što su spol, dob, visina, tjelesna masa i rasa.

GFR procijenjena prediktivnim jednadžbama uobičajeno se naziva eGFR i preduvjet je za implementaciju međunarodnih smjernica za ranu dijagnostiku i praćenje progresije KBB u rizičnim populacijama. Upotreba jednadžbi za eGFR podrazumijeva standardizaciju određivanja kreatinina u serumu. Standardizacijom metode za kreatinin kompenzirana je sustavna analitička pogreška dosadašnje nespecifične metode, čime je postignuto ujednačavanje rezultata i omogućena globalna usporedivost nalaza kreatinina u serumu i primjena jedinstvenih referentnih intervala. Preporučene metode za određivanje kreatinina u serumu u Republici Hrvatskoj su: kompenzirana fotometrijska Jaffé-ova metoda sljediva do metode izotopne dilucijske masene spektrometrije (engl. *Isotope Dilution Mass Spectrometry*,

IDMS) i enzimski metoda sljediva do IDMS-a s kalibracijom sljedivom do internacionalnog standardnog referentnog materijala (engl. *National Institute for Standards and Technology Standard Reference Material*, NIST SRM 967) [71].

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 [72]. Zbog značajnog utjecaja dobi i spola na GFR procijenjenu različitim jednadžbama, Wetzles i suradnici su preporučili različite granične vrijednosti eGFR za klasifikaciju u stadije - KBB međutim, KDIGO radna skupina je odbacila stratifikaciju prema dobi [89; 90]. Do sada je poznato oko 46 različitih inačica prediktivnih jednadžbi od kojih će u ovom istraživanju biti opisane četiri, u kliničkoj praksi najčešće primjenjivane.

### **1.3.1. CG – Cockcroft – Gault**

Jednadžba CG izvedena je 1976. godine iz rezultata znanstvenog, kontroliranog pokusa znanstvenika Cockcrofta i Gaulta provedenog 1973. godine u skupini ispitanika sa stabilnom bubrežnom funkcijom [73]. Prvobitna namjena jednadžbe bila je predvidjeti klirens kreatinina, a tek kasnije bila je predložena za izravnu procjenu GFR [74]. U obzir uzima dob, spol, tjelesnu masu i vrijednost kreatinina u serumu, međutim jednadžba nije prilagođena prema tjelesnoj površini, što bi pridonijelo njezinoj preciznosti. Karakteristika ove jednadžbe je ovisnost klirensa kreatinina o dobi. Tako će npr. osoba od 20 godina imati dvostruko veću vrijednost klirensa kreatinina od osobe s 80 godina za istu vrijednost kreatinina u serumu (npr.  $140 - 20 \text{ god} = 120$  prema  $140 - 80 \text{ god} = 60$ ). Jednadžba također uključuje i korekciju za spol pa će za istu vrijednost kreatinina u serumu zbog manje mišićne mase žene imati 15% manji klirens kreatinina. Ova jednadžba uzima u obzir pretpostavku da se proizvodnja kreatinina smanjuje s dobi, a povećava s povećanjem tjelesne mase, pri čemu nije uzeta u obzir činjenica da je povećanje tjelesne mase često na račun masnog, a ne mišićnog tkiva što predstavlja značajno ograničenje u primjeni. Zbog toga što među ispitanicima u istraživanju nije bila jednaka zastupljenost spolova, jednaka dobna zastupljenost (obuhvaćen je mali broj bolesnika u graničnim dobnim skupinama), nisu ispitivana djeca i provedena je na malom uzorku (< 500 ispitanika), jednadžba nije primjenjiva na bolesnike s mišićnim bolestima, pothranjene i pretili, bolesnike s uznapredovanim bubrežnim oštećenjem i bolestima jetre, bolesnicima s ugroženim vitalnim funkcijama i nestabilnom bubrežnom funkcijom. Također, jednadžba ovisi o značajkama metode za određivanje kreatinina primjenjene u istraživanju iz

kojeg je potekla (Jaffeova kinetička metoda za kreatinin i odgovarajući kalibrator), tj. ne postoji verzija CG jednadžbe u kojoj se koriste standardne vrijednosti kreatinina. Kod pretilih osoba, neovisno o spolu, CG jednadžba precjenjuje GFR, a ako se uvrsti njihova idealna tjelesna težina GFR se podcijeni [75]. Također, zbog toga što precjenjuje funkciju bubrega, postoji opasnost od predoziranja lijekovima s uskim terapijskim indeksom npr. kemoterapijskih lijekova. Kod starijih osoba CG jednadžba blago podcijenjuje stvarnu GFR, ali je ipak preciznija i daje vrijednosti koje su sličnije stvarnoj GFR [76]. Prednosti CG jednadžbe su da je u širokoj primjeni i opsežnije validirana.

### **1.3.2. MDRD2 – Modification of Diet in Renal disease Study**

Nasuprot CG, jednadžba MDRD je razvijena 1999. godine na 1628 bolesnika s KBB uključenih u multicentrično, kontrolirano istraživanje o utjecaju ograničenog unosa bjelančevina hranom i krvnog tlaka na progresiju bubrežne bolesti. Kriteriji uključivanja bolesnika bili su strogo definirani: dob između 18 i 70 godina, sistolički arterijski tlak  $\leq 125$  mmHg i klirens kreatinina  $< 70$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. U istraživanje nisu bile uključene osobe s ekstremno malom i velikom tjelesnom masom, sa šećernom bolesti ovisnom o inzulinu i proteinurijom  $>10$  g/dan. Kreatinin u serumu određivan je kontinuiranom fotometrijskom metodom s alkalnim pikratom, a kao zlatni standard koristilo se mjerenje GFR s <sup>125</sup>I-iothalamatom [77]. Analizom višestruke regresije prvobitno je razvijena jednadžba sa 6 varijabli koja je uključivala dob, spol, etničku pripadnost te kreatinin, ureu i albumin u serumu. Jednadžba je standardizirana na prosječnu tjelesnu površinu od 1,73 m<sup>2</sup> pa ne sadrži tjelesnu masu kao varijablu, a eGFR se izražava u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Radi pojednostavljenja kliničke uporabe jednadžba je 2000. godine modificirana u razmjerno točan skraćeni oblik tzv. MDRD2 s 4 varijable - kreatinin u serumu, dob, spol i etnička pripadnost [78]. Znanstvenim je ispitivanjima pokazano kako su preciznost i točnost jednadžbe MDRD2 s 4 varijable gotovo jednake onima za jednadžbu MDRD sa 6 varijabli, uz približno jednaku osjetljivost i specifičnost kod vrijednosti GFR  $< 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (osjetljivost: 96% i 97%; specifičnost: 67% i 70%). Nekoliko godina kasnije (2005. godine) MDRD2 je prilagođena za rad s koncentracijom kreatinina izmjerenom kompenziranom kinetičkom metodom sljedivom do IDMS metode i NIST SRM 967 [79]. Primjena MDRD2 jednadžbe je preporučena za sve odrasle ispitanike osim za one s izrazito nenormalnim koncentracijama kreatinina (ekstremno promijenjena tjelesna ili mišićna masa) te onih s neuobičajenim prehranbenim navikama (vegetarijanci). Budući da MDRD istraživanje nije uključivalo djecu i starije od 75 godina

jednadžba je neprimjenjiva i za te skupine. Rezultat eGFR procijenjene MDRD2 jednadžbom se izražava numerički, vrijednosti iznad 60 ml/min ne iskazuju se preciznim brojem nego kao izraz >60 ml/min, dok se niže vrijednosti iznose egzaktno kao cijeli brojevi. Da bi bila u potpunosti primjenjiva, obvezatno je koristiti istu metodu za kreatinin kao u istraživanju (kinetička metoda s alkalnim pikratom). Prednosti jednadžbe MDRD2 su u tome što ne traži poznavanje bolesnikove tjelesne mase i visine što je čini daleko pogodnijom za automatizirane laboratorijske pretrage. Nedostaci jednadžbe su što daje točnu procjenu GFR u svim populacijskim podskupinama samo u slučajevima kad je eGFR <60 ml / min/ 1,73 m<sup>2</sup>, sustavno podcjenjuje GFR i može pogrešno kategorizirati neke zdrave osobe u skupinu bolesnih, dakle dovesti u epidemiološkim istraživanjima do lažno veće prevalencije početnih stadija KBB.

### **1.3.3. MCQE – Mayo Clinic Quadratic**

Jednadžbu MCQE razvila je 2004. godine grupa znanstvenika s Mayo klinike ( Mayo Clinic group, Rochester, Minnesota, SAD) iz jednadžbe MDRD2 kako bi se bolje procijenila GFR kod osoba s očuvanom bubrežnom funkcijom [80]. U istraživanje je bilo uključeno 580 zdravih osoba i 320 bolesnika s KBB. Kao zlatni standard koristilo se mjerenje GFR s <sup>125</sup>I-iothalamatom. S obzirom na mješanu populaciju ispitanika, u bolesnika s očuvanom funkcijom bubrega jednadžba je pokazala relativno zadovoljavajuće karakteristike budući da ne podcjenjuje normalnu GFR, te je kao takva predložena kao alternativa jednadžbama CG i MDRD2 [81]. Pretpostavka da jednadžba MCQE može poboljšati procjenu GFR kod ispitanika sa šećernom bolesti dokazana je u istraživanju iz 2007. godine tj. dokazana je slična dijagnostička učinkovitost jednadžbi MCQE i MDRD2 i prednost MCQE u odnosu na jednadžbu MDRD2 jer ne podcjenjuje normalnu GFR [82]. U istraživanju provedenom 2008. godine na 118 ispitanika sa šećernom bolesti tipa 2, u kojoj su ispitanici s obzirom na bubrežnu funkciju bili podijeljeni na bolesnike s glomerularnom hiperfiltracijom, normalnom bubrežnom funkcijom i one s KBB, jednadžba MCQE se pokazala netočnom zbog pretjeranog podcjenjivanja GFR, odnosno, nisu dokazane prednosti njezine primjene u odnosu na jednadžbe MDRD2 i GC [83].

#### 1.3.4. CKD - EPI – Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Jednadžbu CKD-EPI razvila je 2009. godine istoimena istraživačka skupina osnovana od strane Američkog Nacionalnog instituta za dijabetes, probavne i bubrežne bolesti (engl. *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*) sa ciljem što točnije procjene GFR u osoba s normalnom ili tek blago smanjenom funkcijom glomerula ( $\geq 60$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>). Jednadžba je nastala na temelju podataka iz 10 različitih istraživanja s 8254 ispitanika u kojima je GFR mjerena izravno, pomoću nekog od egzogenih biljega (<sup>125</sup>I-iothalamat i dr.), pri čemu je populacija uključena u istraživanje imala širok raspon vrijednosti GFR. Jednadžba CKD-EPI je razvijena 10 godina nakon jednadžbe MDRD2 za korištenje u epidemiološkim istraživanjima, a primjenjuje različite koeficijente na iste 4 varijable koje se koriste u MDRD2 (koncentracija kreatinina u serumu, dob, spol i rasa) [84]. Validacija jednadžbe na 3896 ispitanika iz 16 dodatnih istraživanja pokazala je veću točnost od jednadžbe MDRD2 i manje odstupanje u slučajevima kad je eGFR  $\geq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> [85]. Zbog činjenice da je razvijena na uzorku populacije zdravih ispitanika jednadžba CKD-EPI je najtočnija u procjeni normalne ili blago smanjene bubrežne funkcije te je preporučena za procjenu GFR u odrasloj populaciji ( $\geq 18$  godina) [86]. Postoji sve više dokaza da je jednadžba CKD-EPI osim za opću populaciju najprikladnija i za pacijente sa šećernom bolesti [87; 88]. KDIGO smjernice iz 2012. godine savjetuju uporabu jednadžbe CKD-EPI za procjenu GFR kod odraslih osoba kod kojih ne postoji akutno bubrežno oštećenje i implementaciju jednadžbe u rutinski laboratorijski rad. Prema smjericama, rezultate eGFR treba iskazivati uz svaki rezultat kreatinina u serumu u odraslih, poštivajući ograničenja i slučajeve kad se ne može procijeniti eGFR (stanja praćena akutnim promjenama funkcije bubrega, stanja nakon amputacije ekstremiteta, stanja praćenim ekstremnim promjenama mišićne mase, te kod jako pretilih i pothranjenih osoba i trudnica)[5].

Osnovna razlika među opisanim jednadžbama proizlazi iz činjenice da jednadžba CG procjenjuje klirens kreatinina dok ostale tri (MDRD, MCQE i CKD-EPI) procjenjuju GFR, iako se u kliničkoj praksi vrijednosti GFR dobivene primjenom svih četiriju jednadžbi koriste kao mjera procjene klirensa kreatinina. U tablici 10. navedene su najvažnije karakteristike opisanih jednadžbi.



**Tablica 10. Najvažnije karakteristike jednadžbi CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI**

| Procjena bubrežne funkcije | Istraživanje/istraživači | Godina | Populacija uključena u istraživanje, broj ispitanika  | Analize   | "zlatni standard"                                    | Jednadžba                         | Prednosti   | Nedostaci   | Referenca                                       |
|----------------------------|--------------------------|--------|---|---|--|-----------------------------------|---|---|---|
| CrCl                       | Cockcroft and Gault      | 1976.  | 249 muškaraca sa stabilnom bubrežnom funkcijom (CrCl od 30 to 130 ml/m <sup>2</sup> )                                       | Nestandardizirana Jaffe kinetička metoda za kreatinin                   | klirens kreatinina                                   | CG                                | Preciznija u procjeni bubrežne funkcije kod starijih osoba, opsežno validirana                    | nije prilagođena prema površini tijela, nije primjenjiva kod osoba s mišićnim i uznapredovalim bubrežnim bolestima, precjenjuje GFR kod pretilih i dijabetičara, a podcjenjuje kod starijih i osoba s normalnom GFR, uzrokuje lažno veću prevalenciju 3-5 stadija KBB                           | Cockcroft DW, Gault MH. Nephron 1976;16:31-41.  |
| eGFRcr                     | MDRD Study group         | 1999.  | 1628 bolesnika s KBB  | Nestandardizirana Jaffe kinetička metoda za kreatinin                   | <sup>125</sup> I-iothalamat                          | MDRD sa 6 varijabli 1999.         | Prva i najčešće korištena eGFR jednadžba s poznatom kalibracijom                                  | komplikirana za korištenje zbog puno varijabli  | Levey et al. Ann Intern Med 1999; 130: 461-70;  |
|                            | MDRD Study group         | 2000.  |   | Nestandardizirana Jaffe kinetička metoda za kreatinin                   |  | MDRD s 4 varijable 2000. (MDRD2 ) | Preporučena prema NKF-KDOQI 2002.   | daje točnu procjenu GFR u svim populacijskim podskupinama samo u slučajevima kad je eGFR <60 ml/min/ 1,73 m <sup>2</sup> , nije primjenjiva kod ekstremnih vrijednosti kreatinina te kod djece i starijih od 75 godina, podcjenjuje GFR , uzrokuje lažno veću prevalenciju početnih stadija KBB | Levey et al. J Am Soc Nephrol 2000 Sep; 11:155A |
|                            | MDRD Study group         | 2006.  |   | Prilagođena za rad s kreatininom dobivenim metodom sljedivom prema IDMS |  | MDRD s 4 varijable 2006. (MDRD2 ) | Prilagođena za rad sa standardiziranom metodom za kreatinin                                       | Levey et al. Ann Intern Med 2006; 145: 247-54   |   |
| eGFRcr                     | Mayo Clinic group        | 2004.  | 580 zdravih osoba i 320 bolesnika s KBB   | Nestandardizirana Jaffe kinetička metoda za kreatinin                   | <sup>125</sup> I-iothalamat                          | MCQE                              | Bolje procjenjuje promjene u GFR; točnija u procjeni GFR kad se ne zna postoji li bubrežna bolest | nisu dokazane prednosti u odnosu na CG i MDRD2 jednadžbu  | Rule et al. Ann Intern Med 2004; 141:929–937,   |
| eGFRcr                     | CKD-EPI Study group      | 2009.  | 12150 ispitanika raznolike populacije (8254 ispitanika iz 10 studija, validirana na 3896 ispitanika iz 16 dodatnih studija) | Standardizirana metoda za kreatinin sljediva prema IDMS                 | <sup>125</sup> I-iothalamat i drugi egzogeni biljezi | CKD-EPI creatinine 2009           | Manja odstupanja kod GFR ≥ 60 ml/min; preporučena prema KDIGO 2013.                               | podcjenjuje GFR kod pretilih i dijabetičara   | Levey et al. Ann Int Med 2009; 150: 604-12      |

*CrCl-kreatinin klirens; eGFRcr- procijenjena glomerularne filtracije temeljena na koncentraciji kreatinina; KBB-kronična bubrežna bolest; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

#### 1.4. TGFβ u endemskoj nefropatiji

Transformirajući čimbenik rasta β je multifunkcionalni citokin iz porodice dimeričnih polipeptidnih čimbenika rasta koji sudjeluje u regulaciji proliferacije i diferencijacije stanica, embrionalnom razvoju, cijeljenju rana i angiogenezi vezivanjem na membranske receptore [91; 92]. Postoje tri, strukturno i funkcionalno vrlo slična tipa TGFβ: TGFβ1, TGFβ2 i TGFβ3. Svaki tip TGFβ kodira drugi gen, a aktivni oblik svih triju tipova TGFβ čine polipeptidni dimeri od 12-kD. TGFβ regulira stanične procese vezivanjem s visokim afinitetom na tri tipa membranskih receptora - tip I, II, III od kojih je tip III najzastupljeniji. TGFβ je uključen u više događaja tijekom popravka oštećenog tkiva. Budući da se u trombocitima nalaze visoke koncentracije TGFβ, nakon oštećenja tkiva dolazi do degranulacije trombocita i otpuštanja velike količine TGFβ na mjestu ozljede čime započinje kaskada događaja koji dovode do cijeljenja rane. Ti događaju uključuju: kemotaksiju monocita i leukocita, indukciju angiogeneze, kontrolu stvaranja citokina i drugih čimbenika upale te sintezu pojedinih komponenata izvanstaničnog matriksa (engl. *Extracellular Matrix*; ECM) – fibronektina, kolagena i proteoglikana [93; 94]. Iako TGFβ ima ključnu ulogu u procesu cijeljenja oštećenog tkiva, njegovo povećano stvaranje može rezultirati prekomjernim odlaganjem ožiljnog tkiva i razvojem fibroze [92].

Bubrežna fibroza predstavlja završnu fazu različitih, tj. svih kroničnih bubrežnih bolesti bez obzira na uzrok, a očituje se glomerulosklerozom, tubulointersticijskom fibrozom, infiltracijom upalnim stanicama, tubularnom atrofijom, gubitkom kapilara i deplecijom podocita. Ozlijeđeno bubrežno tkivo prolazi različite procese popravka oštećenja [95]. Aktivacija stanica bubrežnog parenhima omogućuje stvaranje i sekreciju proupalnih citokina koji signalnim putem usmjeravaju monocite/makrofage i T stanice na ozlijeđeno mjesto. Ovisno o etiologiji bubrežnog oštećenja (glomerul ili intersticij), aktivirane upalne stanice stvaraju molekule poput superoksida, fibrogenih i upalnih citokina koji dovode do aktivacije mezangijskih stanica, fibroblasta i tubularnih epitelnih stanica te stvaranja velike količine ECM. Stalno odlaganje ECM rezultira fibroznim ožiljkom i remeti arhitekturu bubrežnog tkiva što naposljetku dovodi do kolapsa bubrežnog parenhima i gubitka bubrežne funkcije. Ključni fibrogeni čimbenik u tim procesima je TGFβ [96].

Budući da je EN bubrežna bolest koju karakterizira izrazita tubulointersticijska fibroza s atrofijom i gubitkom tubula [97; 98], pretpostavka je da TGFβ u mokraći može biti važan prognostički faktor odnosno biljeg uznapredovale fibroze koja je obilježje uznapredovale

KBB u EN, te da se na temelju određivanja TGF $\beta$  u mokraći može odrediti stupanj bubrežnog oštećenja.

## 1.5. Svrha rada

Prema epidemiološkim i kliničkim podacima u selima s EN zadnjih 20-tak godina nema novo oboljelih, međutim još uvijek je velik broj osoba s uznapredovalom KBB izložen riziku progresije u terminalnu bubrežnu bolest. Radi se o stanovnicima starije životne dobi koji su prije 20-tak godina bili izloženi uzročniku tj. AA i kod kojih bubrežna bolest više nije u početnoj fazi kada su zahvaćeni samo proksimalni tubuli nego je bolest uznapredovala te je danas vjerojatno u tijeku proces fibroze. Uz navedeno, u tih je osoba veća i prevalencija hipertenzije i šećerne bolesti što dodatno smanjuje dijagnostičku osjetljivost i specifičnost tubularne proteinurije i enzimurije [99]. Učestalost pojedinih stadija KBB tj. pretpostavka da je u selima s EN veća učestalost stadija KBB 3 – 5 utvrdit će se procijenom GFR primjenom četiri različite prediktivne jednadžbe, a rezultati istraživanja omogućit će određivanje prevalencije KBB u hrvatskom žarištu EN. Također, ukoliko se dokaže značajna povezanost GFR procijenjene prediktivnim jednadžbama i dijagnoze EN to će biti potvrda za korištenje eGFR kao jednog od kriterija u dijagnostičkom algoritmu za EN.

Treba biti svjestan preporuke da odluka o izboru odgovarajuće prediktivne jednadžbe za procjenu GFR ovisi o osobinama ispitivane skupine te da se zbog poznatih ograničenja jednadžbi CG, MDRD i MCQE u procjeni GFR odrasle populacije ( $\geq 18$  godina) ne preferira njihova upotreba, nego samo upotreba jednadžbe CKD-EPI. Ovo istraživanje obuhvatilo je vrlo heterogenu skupinu ispitanika iz EN sela (bolesni, sumnjivi, rizični i ostali - prema kriterijima SZO), a kontrolna skupina, koju su sačinjavali ispitanici iz ne-endemskih sela, nije se sastojala isključivo od zdravih osoba nego predstavlja uzorak koji se razlikuje od uzorka u selima s EN po odsutnosti EN uz prisutnost drugih komorbiditeta. U takvoj heterogenoj skupini ispitanika odlučeno je, uz preporučenu jednadžbu CKD-EPI, ispitati pouzdanost jednadžbi CG i MDRD2 - dviju najčešće korištenih jednadžbi u većini istraživanja na polju EN i rijede korištene MCQE. Dobiveni rezultati pridonjet će otkrivanju razlika u prevalenciji stadija KBB i učestalosti pojedinih stadija KBB u endemskim i ne-endemskim selima primjenom različitih prediktivnih jednadžbi. Također, utvrdit će se je li CKD-EPI jednadžba također superiornija u ovoj promatranoj skupini.

Uz evaluaciju prediktivnih jednadžbi za procjenu GFR znanstveni cilj ovog rada je testirati dijagnostičku vrijednost TGF $\beta$ , biljega fibroze u EN, kako bi se utvrdilo postoji li značajna razlika u vrijednostima između populacije u endemskim selima s očekivano sniženom GFR i populacije u ne-endemskim selima. Na temelju dobivenih rezultata ocijeniti će se je li TGF $\beta$  u mokraći dovoljno osjetljiv biljeg da uz korištenje određene prediktivne jednadžbe bude uvršten u dijagnostički algoritam za EN. Ukoliko se TGF $\beta$  u mokraći pokaže nedovoljno osjetljiv i ti rezultati će biti vrlo korisni jer će moći usmjeriti druga istraživanja u traženju osjetljivih biljega za dijagnosticiranje oboljelih od EN.

## **2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

### **2. 1. Hipoteze**

Na temelju dosašnjih saznanja o etiologiji i kliničkom tijeku EN, te novim spoznajama o ulozi TGF $\beta$  kao mogućeg biljega uznapredovale fibroze u EN postavljene su sljedeće hipoteze:

1. U područjima s većom učestalošću KBB kao što su žarišta EN u Republici Hrvatskoj veća je prevalencija stadija KBB 3 - 5 nego u kontrolnim selima.
2. U podskupinama bolesnih i sumnjivih iz endemskih sela (prema klasifikaciji SZO za EN ) nalaze se ispitanici u uznapredovaloj fazi KBB sa izraženijom fibrozom te je kod njih izlučivanje TGF $\beta$  mokraćom veće nego kod ispitanika iz kontrolnih sela.

### **2.2. Ciljevi istraživanja**

1. Utvrditi pouzdanost različitih prediktivnih jednadžbi za procjenu učestalosti stadija KBB 3 -5 u endemskim selima i usporediti s kontrolnim selima.
2. U uzorcima mokraće ispitanika odrediti dijagnostičku vrijednost TGF $\beta$  uspoređujući vrijednosti dobivene u pojedinim podskupinama i utvrditi koreliraju li vrijednosti s KBB tj. eGFR procijenjenom različitim prediktivnim jednadžbama.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ispitanici

U ovom presječnome opservacijskom istraživanju sudjelovalo je 1573 punoljetnih ispitanika iz šest endemskih (Pričac, Slavonski Kobaš, Živike, Šumeće, Zbijeg i Dobočac) i tri kontrolna sela (Klakar, Donja Bebrina, Rastušje) iz perlustracija (epidemioloških terenskih istraživanja) provedenih 2008. i 2010. godine. Ispitanici su dali pismeni informirani pristanak i ispunili opsežan upitnik koji je sadržavao podatke iz osobne i obiteljske anamneze, podatke o duljini boravka u selu/selima, o prehranbenim navikama ispitanika i dr. Svi su ispitanici klinički pregledani i uzet im je uzorak krvi natašte te drugi jutarnji uzorak mokraće. Na temelju kliničkog pregleda, anamneze te nakon određivanja laboratorijskih parametara bitnih u postavljanju dijagnoze EN ispitanici su klasificirani prema dopunjenim dijagnostičkim kriterijima SZO u bolesne, sumnjive, rizične i ostale (opisano u poglavlju 1.2.3.)

Kontrolnu skupinu činili su ispitanici iz ne-endemskih sela.

Unutar skupina ispitanici su dodatno podijeljeni na podskupine - ispitanike s arterijskom hipertenzijom (prema klasifikaciji Europskog društva za hipertenziju ESH, od engl. *European Society of Hypertension* - sistolički arterijski tlak od 140 mmHg ili viši, dijastolički arterijski tlak od 90 mm Hg ili viši, i/ili uzimanje bilo kojeg antihipertenzivnog lijeka) i ispitanike sa šećernom bolešću (definirana vrijednošću glukoze od 7,0 mmol/l ili više natašte, i/ili primjena lijekova za snižavanje glukoze; prema smjernicama Američkoga dijabetološkog udruženja ADA, od engl. *American Diabetes Association*)[100]. Arterijski tlak (AT) mjereno je tri puta Omronovim tlakomjerom (Omron) u sjedećem položaju nakon 5 minuta odmora odgovarajućom manžetom prema preporukama ESH [101]. Prema dobi ispitanici su podijeljeni u tri dobne podskupine: 1) 18 - 42 godine, 2) 43 - 66 godine i 3)  $\geq 67$  godina.

## 3.2. Metode rada

### 3.2.1. Postupci

Istraživanje je provedeno u okviru znanstvenog projekta Ministarstva znanosti Republike Hrvatske „Endemska nefropatija u Hrvatskoj, epidemiologija, dijagnostika, etiopatogeneza“ (108-0000000329). Perlustracije su provedene u suradnji s Hrvatskim zavodom za javno zdravstvo, Zavodom za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije i Općom bolnicom Dr. Josip Benčević u Slavonskom Brodu prema Planu i programu mjera Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske uz odobrenje nadležnih etičkih povjerenstava.

Plan straživanja bio je sljedeći: 1. dan su ispitanicima podijeljene bočice za skupljanje mokraće s točnim uputama o načinu uzimanja uzorka druge jutarnje mokraće; 2. dan je medicinsko osoblje boravilo u endemskim selima, a ispitanicima je nakon što su potpisali suglasnost uzeta anamneza, učinjen klinički pregled, uzorkovana krv natašte te uzet uzorak druge jutarnje mokraće. Uzorci su obilježavani jedinstvenom identifikacijskom šifrom te randomizirani kako bi se uklonila laboratorijska i istraživačka pristranost.

Istog su dana uzorci dostavljeni u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkog centra Zagreb gdje je učinjen veći dio laboratorijske obrade.

### 3.2.2. Metode

U ovom istraživanju učinjene su:

- pretrage u u krvi: crvena krvna slika (načelo laserske tehnologije rasipanja svjetlosti)
- pretrage u serumu: kreatinin (Jaffeova kinetička metoda s kontinuiranim mjerenjem) , glukoza (UV metoda s heksokinazom)
- pretrage u drugoj jutarnjoj mokraći:  $\alpha 1m$  i albumin (lateks-imunonefelometrijska metoda), kreatinin (Jaffeova kinetička metoda s kontinuiranim mjerenjem), TGF $\beta$  (biološki test TGF $\beta$ -osjetljivih stanica na Burkittov limfom (BL41) s luciferaznom aktivnosti)

Vrijednosti crvene krvne slike, koncentracija kreatinina u serumu te koncentracija  $\alpha 1m$  i kreatinina u uzorcima druge jutarnje mokraće izmjerene su za potrebe klasifikacije ispitanika u podskupine EN prema dopunjenim kriterijima SZO. TGF $\beta$  je izmjeren kod 889 ispitanika iz supernatanta druge jutarnje mokraće u laboratoriju za eksperimentalnu hormonologiju Zavoda za eksperimentalnu nefrologiju Medicinskog fakulteta Slobodnog sveučilišta u Briselu u Belgiji (prof. dr. sc. Jöelle L. Nortier, dr. sc. Marie - Helene Antoine, Cecile Husson, Eric G. De Prez, Živka Dika), a metodu su prvi put opisali u svom radu autori iz Francuske [102].

Bubrežna funkcija procjenjivana je upotrebom četiri različite prediktivne jednadžbe: CG, MDRD2, MCQE i jednadžbom CKD-EPI.

### 1. CG [73]:

$$\text{GFR (klirens kreatinina u ml/min)} = [140 - \text{dob (godine)}] \times \text{tjelesna masa (kg)} / 0,81 \times \text{kreatinin u serumu } (\mu\text{mol/l}) \times 0,85 \text{ za žene (ili } 1,0 \text{ za muškarce)}$$

Svojstvo je ove jednadžbe ovisnost GFR o dobi.

### 2. MDRD2 (skraćeni oblik sa 4 varijable) [78]:

$$\text{GFR (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 186 \times [\text{kreatinin u serumu } (\mu\text{mol/l}) / 88,4]^{-1,154} \times [\text{dob (godine)}]^{-0,203} \\ \times 0,742 \text{ za žene} \times 1,21 \text{ za crnu rasu}$$

Jednadžba ne sadržava tjelesnu masu kao varijablu jer je standardizirana na prosječnu tjelesnu površinu od 1,73 m<sup>2</sup>. Rezultat se izražava brojačno, vrijednosti iznad 60 ne iskazuju se točnim brojem nego kao izraz > 60, dok se niže vrijednosti iznose egzaktno kao cijeli brojevi. U ovom istraživanju svi rezultati su iskazani točnim brojem. Jednadžba MDRD2 ima dvije inačice u odnosu na primijenjenu metodu za određivanje kreatinina u serumu (nekompenziranu i kompenziranu Jafféovu metodu). U ovom je radu korištena inačica u koju su uvrštene vrijednosti kreatinina dobivene nekompenziranom kinetičkom metodom s kontinuiranim mjerenjem.

### 3. MCQE [80; 81]:

$$\text{GFR (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = \exp [1,911 + (5,249 / \text{kreatinin u serumu (mg/dl)}) - (2,114 / \text{kreatinin u serumu (mg/dl)}^2) - 0,00686 \times \text{dob (godine)} - 0,205 \text{ (za žene)}];$$

ako je kreatinin u serumu < 0.8 mg/dl, upisuje se vrijednost 0.8 mg/dl

$$\text{mg/dl kreatinina u serumu} = \mu\text{mol/l kreatinina u serumu} / 88.4$$

Jednadžba je evaluirana iz jednadžbe MDRD2 u skupini ispitanika s KBB i zdravih dobrovoljaca kako bi se poboljšala procjena GFR u ispitanika sa šećernom bolešću i nadomjestile varijacije dobi i spola.

### 4. CKD-EPI [84]:

**žene:**

ako je kreatinin u serumu ( $\mu\text{mol/l}$ )  $\leq 62$

$$\text{GFR (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 144 \times (\text{kreatinin u serumu} / 62)^{-0,329} \times (0,993)^{\text{dob(godine)}}$$



ako je kreatinin u serumu ( $\mu\text{mol/l}$ )  $> 62$

$$\text{GFR (ml/min/1,73m}^2) = 144 \times (\text{kreatinin u serumu /62})^{-1,209} \times (0,993)^{\text{dob(godine)}}$$

**muškarci:**

ako je kreatinin u serumu ( $\mu\text{mol/l}$ )  $\leq 80$

$$\text{GFR(ml/min/1,73 m}^2) = 141 \times (\text{kreatinin u serumu /80})^{-0,411} \times (0,993)^{\text{dob(godine)}}$$

ako je kreatinin u serumu ( $\mu\text{mol/l}$ )  $> 80$

$$\text{GFR(ml/min/1,73 m}^2) = 141 \times (\text{kreatinin u serumu /80})^{-1,209} \times (0,993)^{\text{dob(godine)}}$$

Ova jednadžba obuhvaća iste četiri varijable kao i MDRD2, ali koristi dva nagiba krivulje (engl. *2-slope spline*) za modeliranje odnosa između eGFR i kreatinina u serumu, te drugačijim odnosom za dob, spol i rasu. Budući da je jednadžba evaluirana prema koncentraciji kreatinina u serumu izmjenjenog kompenziranom Jafféovom metodom, prije uvrštavanja u jednadžbu vrijednosti su kreatinina u serumu svih ispitanika korigirane koristeći jednadžbu linearne regresije:  $y = 0,95 x + 0,44$  ( $y$  = kompenzirana Jafféova metoda;  $x$  = nekompenzirana Jafféova metoda) [103].

U procjeni stadija bubrežne bolesti korištena je klasifikacija prema smjernicama KDOQI. S obzirom na veličinu GFR šest je stadija bubrežne bolesti (opisano u poglavlju 1.1.1. Klasifikacija KBB, str. 2).

### 3.3. Statistička obrada podataka

Statistička analiza učinjena je u programu SPSS (Statistical Package for Social Studies, IBM SPSS Statistics, Version 18; SPSS Inc, Chicago, IL). Manji dio statističke obrade učinjen je u statističkom programu MedCalc, inačica 16.8, Belgija. Kao granica statističke značajnosti određena je razina od  $P < 0,05$ .

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ( $\pm$  standardna devijacija) i/ili 95-postotni interval pouzdanosti (95 % CI) za normalno raspodijeljene varijable, te kao broj (%) za kategorijske varijable. Normalnost raspodjele za kontinuirane varijable ispitana je Shapiro-Wilkovim testom. Raspodjele podataka za dob, tjelesnu masu i koncentraciju kreatinina odstupale su od normalne distribucije pa je za usporedbu korišten Mann-Whitneyev test, dok je za usporedbu učestalost dijabetesa i hipertenzije u muškaraca i žena korišten hi-kvadrat test ( $\chi^2$  test).

Razlike između tri i više skupina analizirane su u slučaju normalno distribuiranih varijabli i s obzirom na veliki uzorak (npr. vrijednosti GFR ili stadija KBB u odnosu na dob ispitanika ili podjelu prema važećim kriterijima SZO za EN) analizom varijance (ANOVA), s Tukey-

Kramer *post hoc* testom (za usporedbu skupine u parovima) u slučaju dobivene statistički značajne razlike analizom ANOVA, dok je za utvrđivanje razlika između tri i više nezavisnih skupina (TGFB prema skupinama ispitanika) korišten Kruskal-Wallisov test.

Za usporedbe prema dijabetesu i hipertenziji korišten je t-test za usporedbu dviju skupina nezavisnih uzoraka (engl. *independent samples t-test*).

U modelima viševarijantne linearne regresije analizirana je povezanost GFR (izračunane prema različitim jednadžbama) i stadija KBB kao zavisnih varijabli s prediktorima kao što su dob, prisutnost povišenoga arterijskog tlaka i šećerne bolesti u osobnoj anamnezi. Istim modelom analizirana je prediktivna vrijednost različitih jednadžbi za procjenu GFR za skupine ispitanika podijeljene prema važećim kriterijima SZO za EN.

Za svaku prediktivnu jednadžbu (CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI) određene su dijagnostička osjetljivost (vjerojatnost da će jednadžba pokazati da ima bolesti kad je doista i ima, tj. da neće biti lažno pozitivnih) i dijagnostička specifičnost (vjerojatnost da će jednadžba pokazati da nema bolesti u slučaju kad je doista i nema, tj. da neće biti lažno negativnih).

Zbog izvođenja statističke analize s pomoću postupnika unutar statističkog programa MedCalc ([https://www.medcalc.org/calc/diagnostic\\_test.php](https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php)) EN klasifikacija ispitanika i KBB klasifikacija bubrežnog oštećenja su dihotomizirane. Ispitanici su podijeljeni u dvije kategorije – prvu su sačinjavali bolesni i sumnjivi da boluju od EN, a drugu ostali i kontrolni, dok je bubrežna funkcija podijeljena u kategorije „zdravih“ (kategorije eGFR 1 i 2) i „bolesnih“ (kategorije eGFR 3, 4 i 5) ispitanika. Prediktivne vrijednosti kontinuiranih varijabli, dijagnostička osjetljivost i specifičnost testa, kao i pozitivni te negativni omjeri vjerojatnosti i prediktivne vrijednosti dobiveni su ROC (engl. *Receiver operating characteristic*) analizom.

Bland Altmanovom analizom utvrđena je razlika i procijenjeno je odstupanje pojedinih jednadžbi u klasifikaciji ispitanika u stadije - bubrežnog oštećenja 3, 4 i 5. Također, procijenjen je interval podudarnosti unutar kojeg se nalazi 95% razlika između određivanja.

Dijagnostičkim omjerom izgleda -DOI (engl. *Diagnostic Odds Ratio*, DOR) procijenjeni su izgledi koja jednadžba, iz skupine bolesnih, sumnjivih i rizičnih ispitanika, točnije klasificira ispitanike u stadije - bubrežnog oštećenja 3, 4 i 5. Cohenovom kapa-statistikom procijenjen je stupanj slaganja jednadžbi u klasifikaciji ispitanika u stadije - 3, 4 i 5.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Opće osobine ispitanika

Istraživanjem je obuhvaćeno 1573 ispitanika, 1229 iz endemskih sela i 344 iz kontrolnih, ne-endemskih sela. U ukupnom broju ispitanika bilo je 38 % muškaraca (590 ispitanika) i 62 % žena (983 ispitanica). Omjer spolova nije se razlikovao s obzirom na mjesto uključenja ispitanika u istraživanje (endemska sela 37 % muškaraca i 63 % žena; kontrolna sela (39 % muškaraca i 61 % žena). U endemskim selima bilo je 2,7 % (33) bolesnih (podskupina 1 prema kriterijima SZO za EN), 7,0 % (86) sumnjivih (podskupina 2), 22 % (268) rizičnih (podskupina 3) te ostalih 69 % (842) (podskupina 4).

Prosječna dob svih ispitanika iznosila je 52 godine (raspon 18 - 90) i bila je podjednaka u muškaraca (51 godina, raspon 18 - 88 godina) i žena (52 godine, raspon 19 - 90 godina; Mann-Whitneyev test,  $z = -1,553$ ,  $P=0,120$ ). Statistički značajna razlika u dobi između muškaraca i žena pronađena je u endemskim selima (50 prema 52;  $z = -2,140$ ,  $P=0,032$ ) dok je u kontrolnim selima nije bilo (54 prema 53;  $z = -0,806$ ,  $P=0,420$ ).

Prosječna tjelesna masa svih ispitanika iznosila je 78 kg (raspon 34 - 150 kg), a razlikovala se statistički značajno između muškaraca i žena neovisno o mjestu uključenja u ispitivanje (85 prema 74; Mann-Whitneyev test,  $z = -13,243$ ,  $P<0,001$ ), ali i unutar endemskih (85 prema 74;  $z = -12,284$ ,  $P<0,001$ ) i kontrolnih sela (85 prema 76;  $z = -5,010$ ,  $P<0,001$ ). Dobiveni su rezultati očekivani zbog statistički značajne razlike u spolu ispitanika. Iz istog razloga uočena je statistički značajna razlika u koncentraciji serumskoga kreatinina; muškarci su bili teži i imali višu koncentraciju kreatinina u odnosu na žene (100 vs. 86  $\mu\text{mol/l}$ ;  $P<0,001$ ). Također se koncentracija kreatinina značajno razlikovala kod muškaraca i žena unutar endemskih (102 prema 88  $\mu\text{mol/l}$ ;  $P<0,001$ ) i kontrolnih sela (93 prema 79  $\mu\text{mol/l}$ ;  $P<0,001$ ), ali i međusobno između muškaraca endemskih i kontrolnih sela (102 prema 93  $\mu\text{mol/l}$ ;  $P<0,001$ ).

Prisutnost šećerne bolesti (definirana koncentracijom glukoze natašte od 7,0 mmol/l ili više i/ili korištenjem lijekova za snižavanje glukoze u krvi), imalo je 8,8 % (138) svih ispitanika, 7,6 % (45) muškaraca i 9,5 % žena (93), što ne predstavlja statistički značajnu razliku ( $\chi^2 = 0,328$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,249$ ). Šećernu bolest imalo je 7,0 % muškaraca i 9,7 % žena iz endemskih i 9,6 % muškaraca i 8,6 % žena iz kontrolnih sela.

Bolesni i sumnjivi u endemskim selima kao i ispitanici iz kontrolnih sela imali su značajno veće koncentracije glukoze u serumu u odnosu na ispitanike iz podskupina rizičnih i ostalih iz

endemskih sela (svi  $P < 0,05$ ) ali nije bilo razlika u koncentraciji glukoze između bolesnih, sumnjivih te ispitanika iz kontrolnih sela.

Postavljenu dijagnozu arterijske hipertenzije (prema smjernicama ESH) imalo je 37 % (583) svih ispitanika, podjednako žena i muškaraca, što znači da nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti hipertenzije između muškaraca i žena (37 % prema 38 %;  $\chi^2 = 0,93$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,760$ ). Također, razlike s obzirom na spol i mjesto uključivanja ispitanika nisu uočene. Opće osobine ispitanika prikazane su u tablicama 11 i 12.

**Tablica 11.** Opće osobine ispitanika neovisno o mjestu uključivanja ispitanika

|                             | Svi<br>(n = 1573) | Žene<br>(n = 983) | Muškarci<br>(n = 590) | P       |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|---------|
| Dob (godine)                |                   |                   |                       |         |
| M                           | 52                | 52                | 51                    | 0,120*  |
| Raspon                      | (18 - 90)         | (19 - 90)         | (18 - 88)             |         |
| Tjelesna masa (kg)          |                   |                   |                       | <0,001* |
| x ± SD                      | 78 ± 16           | 74 ± 16           | 85 ± 15               |         |
| Kreatinin (S)(μmol/l)       |                   |                   |                       | <0,001* |
| x ± SD                      | 91 ± 57           | 86 ± 61           | 100 ± 49              |         |
| Šećerna bolest (%)          | 8,8               | 9,5               | 7,6                   | 0,249** |
| Arterijska hipertenzija (%) | 37                | 37                | 38                    | 0,760** |

Rezultati svih ispitanika (n=1573) su prikazani kao medijan i raspon (min-maks), aritmetička sredina ± standardna devijacija ili broj ispitanika (postotak). \* Mann-Whitneyev test  
\*\* hi-kvadrat test,  $df=1$

**Tablica 12.** Opće osobine ispitanika u endemskim i kontrolnim selima

|                             | Endemska sela           |                   |                       | P       | Kontrolna sela         |                   |                       | P       |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------|-----------------------|---------|------------------------|-------------------|-----------------------|---------|
|                             | Oba spola<br>(n = 1229) | Žene<br>(n = 774) | Muškarci<br>(n = 455) |         | Oba spola<br>(n = 344) | Žene<br>(n = 209) | Muškarci<br>(n = 135) |         |
| Dob (godine)                |                         |                   |                       |         |                        |                   |                       |         |
| M                           | 52                      | 52                | 50                    | 0,032*  | 53                     | 53                | 54                    | 0,420*  |
| Raspon                      | (19 - 88)               | (19 - 87)         | (19 - 88)             |         | (18 - 90)              | (20 - 90)         | (18 - 85)             |         |
| Tjelesna masa (kg)          |                         |                   |                       | <0,001* |                        |                   |                       | <0,001* |
| x ± SD                      | 78 ± 17                 | 74 ± 16           | 85 ± 16               |         | 80 ± 16                | 76 ± 16           | 85 ± 14               |         |
| Kreatinin (S)(μmol/l)       |                         |                   |                       | <0,001* |                        |                   |                       | <0,001* |
| x ± SD                      | 93 ± 59                 | 88 ± 60           | 102 ± 55              |         | 86 ± 51                | 79 ± 64           | 93 ± 12               |         |
| Šećerna bolest (%)          | 8,7                     | 9,7               | 7,0                   | 0,111** | 9,0                    | 8,6               | 9,6                   | 0,748** |
| Arterijska hipertenzija (%) | 37                      | 37                | 37                    | 0,935** | 38                     | 37                | 40                    | 0,635** |

Rezultati su prikazani kao medijan i raspon (min-maks), aritmetička sredina ± standardna devijacija ili broj ispitanika (postotak). \* Mann-Whitneyev test \*\* hi-kvadrat test,  $df=1$

## 4.2. Obilježja bubrežne funkcije ispitanika

### 4.2.1. Procijenjena brzina glomerularne filtracije (eGFR)

Prosječna vrijednost eGFR izračunane po jednadžbama CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI u ukupnom broju ispitanika iznosila je 92 (raspon 90 - 93), 75 (74 - 76), 96 (95 - 97) i 82 (81 - 83) ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Vrijednosti eGFR izračunane prema sve četiri jednadžbe međusobno su se statistički značajno razlikovale kod svih ispitanika neovisno o spolu i mjestu uključivanja ispitanika. Usporedbom prema spolu uočene su statistički značajno veće vrijednosti eGFR u muškaraca u odnosu na žene (tablica 13). Ova je razlika bila značajnije izražena u ispitanika iz endemskih sela (eGFR za 18 % viša u muškaraca u odnosu na žene prema jednadžbi CG; za 11 % prema MDRD2; za 8,2 % prema MCQE i za 7,6 % prema CKD-EPI) u odnosu na ispitanike iz kontrolnih sela (eGFR za 5,4 % viša u muškaraca u odnosu na žene prema jednadžbi CG; za 5,3 % prema MDRD2; za 5,7 % prema MCQE i za 1,3 % prema CKD-EPI). U tablici 14 prikazana je prosječna vrijednost eGFR u endemskim i kontrolnim selima.

**Tablica 13.** eGFR svih ispitanika prema različitim prediktivnim jednadžbama, ovisno o spolu

| Jednadžba           | Svi<br>(n = 1573) | Žene<br>(n = 983) | Muškarci<br>(n = 590) | P       |                              |
|---------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|---------|------------------------------|
| CG<br>(95% IP)      | 92<br>(90 - 93)   | 87<br>(85 - 89)   | 100<br>(97 - 102)     | <0,001* | precjenjuje<br>GFR           |
| MDRD<br>(95% IP)    | 75<br>(74- 76)    | 73<br>(71 - 74)   | 79<br>(78 - 81)       | <0,001* | podcjenjuje<br>GFR u zdravih |
| MCQE<br>(95% IP)    | 96<br>(94 - 97)   | 93<br>(92 - 95)   | 100<br>(99 - 102)     | <0,001* | neutralna                    |
| CKD-EPI<br>(95% IP) | 82<br>(81 - 83)   | 80<br>(79 - 81)   | 85<br>(83 - 87)       | <0,001* | neutralna                    |

*Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine 95 % IP u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; \*Statistički značajna razlika između spolova (Mann-Whitneyev test, P < 0,05); eGFR- procijenjena brzina glomerularne filtracije; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

**Tablica 14. eGFR ispitanika u endemskim i kontrolnim selima**

| Jednadžba | Endemska sela |           |            | Kontrolna sela |           |            |
|-----------|---------------|-----------|------------|----------------|-----------|------------|
|           | Oba spola     | Žene      | Muškarci   | Oba spola      | Žene      | Muškarci   |
|           | (n = 1229)    | (n = 774) | (n = 455)  | (n = 344)      | (n = 209) | (n = 135)  |
| CG        | 91            | 85        | 100*       | 96             | 94        | 99         |
| (95% IP)  | (89 - 92)     | (83 - 87) | (97 - 103) | (93 - 99)      | (90 - 98) | (94 - 104) |
| MDRD2     | 74            | 71        | 79*        | 79             | 77        | 82         |
| (95% IP)  | (73 - 75)     | (70 - 73) | (77 - 81)  | (77 - 81)      | (75 - 79) | (79 - 84)  |
| MCQE      | 95            | 92        | 100*       | 99             | 97        | 102        |
| (95% IP)  | (93 - 97)     | (91 - 94) | (98 - 102) | (97 - 101)     | (95 - 99) | (99 - 105) |
| CKD-EPI   | 81            | 78        | 85 *       | 85             | 85        | 86         |
| (95% IP)  | (80 - 82)     | (77 - 80) | (83 - 87)  | (84 - 87)      | (83 - 87) | (83 - 89)  |

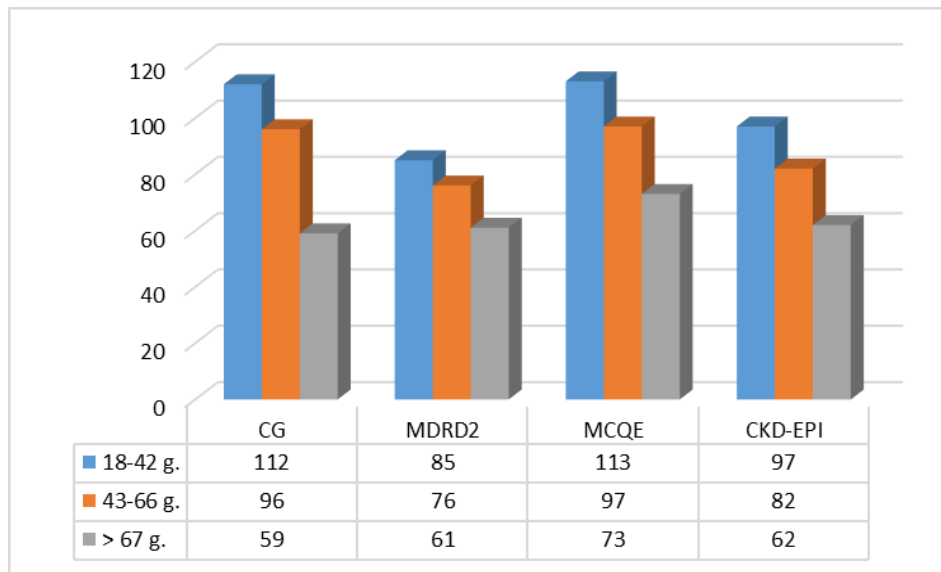
Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine 95 % IP u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; \*Statistički značajna razlika između spolova (Mann-Whitneyev test, P < 0,05); eGFR- procijenjena brzina glomerularne filtracije; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Usporedbom aritmetičkih sredina eGFR izračunane svakom od četiriju jednadžbi za tri dobne skupine ispitanika (18 - 42 god., 43 - 66 god. i > 67 god.) dobivena je negativna povezanost s dobi neovisno o spolu ispitanika. Sve tri dobne skupine međusobno su se razlikovale u rezultatu eGFR (One-way ANOVA, CG F<sub>2,1570</sub>=503,4 P < 0,001; MDRD2 F<sub>2,1570</sub> = 272,4 P < 0,001; MCQE F<sub>2,1570</sub> = 672,5 P<0.001 i CKD-EPI F<sub>2,1570</sub> = 575,3 P<0.001). Najmlađa skupina imala je najviši rezultat, zatim srednja pa najstarija (Tukey post hoc test, P < 0,001 za sve usporedbe) (tablica 15, slika 3).

**Tablica 15. eGFR prema dobnim skupinama ispitanika**

| Jednadžba                                 | Dobne skupine (godine) |           |           | ANOVA F i P                            |
|---|------------------------|-----------|-----------|--|
|   | 19-42                  | 43-66     | > 67      |  |
|   | (n = 497)              | (n = 676) | (n = 400) |  |
| <b>CG</b><br>aritmetička sredina ±SD      | 112 ± 27               | 96 ± 26   | 59 ± 21   | P<0,001*<br>F <sub>2,1570</sub> =503,4 |
| <b>MDRD</b><br>aritmetička sredina ±SD    | 85 ± 13                | 76 ± 15   | 61 ± 18   | P<0,001*<br>F <sub>2,1570</sub> =272,4 |
| <b>MCQE</b><br>aritmetička sredina ±SD    | 113 ± 13               | 97 ± 15   | 73 ± 21   | P<0,001*<br>F <sub>2,1570</sub> =672,5 |
| <b>CKD-EPI</b><br>aritmetička sredina ±SD | 97 ± 14                | 82 ± 15   | 62 ± 18   | P<0,001*<br>F <sub>2,1570</sub> =575,3 |

Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine ± SD u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; \* ANOVA; Tukey post hoc test, P < 0,001; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration



**Slika 3.** eGFR prema dobnim skupinama ispitanika (izraženo kao aritmetičke sredine u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Sve podskupine ispitanika u selima s EN kao i ispitanici iz kontrolnih sela imali su statistički značajno različite vrijednosti eGFR izračunane svakom od četiriju jednadžbi (*One-way ANOVA*, CG  $F_{4,1568} = 53,4$   $P < 0,001$ ; MDRD2  $F_{4,1568} = 81,1$   $P < 0,001$ ; MCQE  $F_{4,1568} = 106,4$   $P < 0,001$  i CKD-EPI  $F_{4,1568} = 85,3$   $P < 0,001$ ).

*Post hoc* analiza vrijednosti eGFR dobivenih jednadžbom CG pokazala je da se rizični i ostali ispitanici nisu statistički značajno razlikovali od ispitanika iz kontrolne skupine (rizični prema kontrolnima  $P = 0,376$ ; ostali prema kontrolnima,  $P = 0,289$ ), ali jesu međusobno, dok su se bolesni i sumnjivi razlikovali i međusobno i od rizičnih, ostalih i kontrolnih ispitanika ( $P < 0,001$ ). Kod *post hoc* analize vrijednost eGFR dobivene jednadžbom MDRD2 u podskupini rizičnih nije se statistički značajno razlikovala od podskupine ostalih i kontrolnih (rizični prema ostalima,  $P = 0,850$ ; rizični prema kontrolnim ispitanicima,  $P = 0,647$ ) dok su se ostale podskupine međusobno razlikovale (razlika između ostalih i kontrolnih zapravo je zanemarivo mala, 76 prema 79,  $P = 0,035$ , ali je zbog velikog uzorka statistički značajna). Kod jednadžbi MCQE i CKD-EPI podskupine rizičnih, ostalih i kontrolnih nisu se međusobno statistički značajno razlikovale (rizični prema ostalima MCQE  $P = 0,060$ ; CKD-EPI  $P = 0,366$ ; rizični prema kontrolnima MCQE  $P = 0,540$ ; CKD-EPI  $P > 0,950$ ; ostali prema kontrolnima MCQE  $P = 0,871$ ; CKD-EPI  $P = 0,352$ ), a bolesni i sumnjivi razlikovali su se i međusobno i od svih ostalih.

Najniža vrijednost eGFR (aritmetička sredina 95 % IP  $\pm$  SD) bila je očekivano u podskupini bolesnih izračunana prema sve četiri prediktivne jednadžbe: CG 34 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>  $\pm$  31; MDRD2 32  $\pm$  25; MCQE 36  $\pm$  31 i CKD-EPI 33  $\pm$  27. U podskupini sumnjivih najniža vrijednost eGFR dobivena je jednadžbom MDRD2 (61  $\pm$  20), a najviša jednadžbom MCQE (76  $\pm$  26). U podskupinama rizičnih, ostalih i kontrolnih eGFR izračunana svim jednadžbama bila je > 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) (tablica 16).

**Tablica 16.** eGFR u podskupinama ispitanika

|  | <b>Bolesni</b><br>(n = 33) | <b>Sumnjivi</b><br>(n = 86) | <b>Rizični</b><br>(n = 268) | <b>Ostali</b><br>(n = 842) | <b>Kontrolni</b><br>(n = 344) |                           |
|--|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| <b>CG</b><br>aritmetička sredina $\pm$ SD      | 34 $\pm$ 31                | 66 $\pm$ 30                 | 100 $\pm$ 27                | 92 $\pm$ 31                | 96 $\pm$ 29                   | P<0,001*<br>F2,1570=503,4 |
| <b>MDRD2</b><br>aritmetička sredina $\pm$ SD   | 32 $\pm$ 25                | 61 $\pm$ 20                 | 77 $\pm$ 14                 | 76 $\pm$ 17                | 79 $\pm$ 15                   | P<0,001*<br>F2,1570=272,4 |
| <b>MCQE</b><br>aritmetička sredina $\pm$ SD    | 36 $\pm$ 31                | 76 $\pm$ 26                 | 101 $\pm$ 18                | 98 $\pm$ 20                | 99 $\pm$ 16                   | P<0,001*<br>F2,1570=672,5 |
| <b>CKD-EPI</b><br>aritmetička sredina $\pm$ SD | 33 $\pm$ 27                | 64 $\pm$ 22                 | 86 $\pm$ 17                 | 83 $\pm$ 19                | 85 $\pm$ 17                   | P<0,001*<br>F2,1570=575,3 |

*Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine  $\pm$  SD u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; \* ANOVA; Tukey post hoc test, P < 0,001; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

Između skupina ispitanika sa i bez šećerne bolesti nije bilo statistički značajne razlike u vrijednosti eGFR izračunane prema jednadžbama CG, MDRD2 i CKD-EPI (t-test za nezavisne uzorke; CG t = 0,505, df = 1571, P = 0,613; MDRD2 t = 1,386, df = 1571, P = 0,166 i CKD-EPI t = 1,348, df = 1571, P = 0,178), dok je za MCQE razlika u vrijednosti izračunane GFR bila granično značajna (MCQE t = 1,902, df = 1571, P = 0,057). U obje skupine eGFR izračunana svim jednadžbama bila je > 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Najniža vrijednost eGFR dobivena je jednadžbom MDRD2, a najviša s MCQE (bez šećerne bolesti: 75  $\pm$  18 prema 96  $\pm$  22; sa šećernom bolesti: 73  $\pm$  18 prema 93  $\pm$  22) (tablica 17).



**Tablica 17. eGFR u skupinama ispitanika sa i bez šećerne bolesti**

| Jednadžba                                 | Šećerna bolest   |                 | Studentov<br>t i P   |
|---|------------------|-----------------|----------------------|
|   | ne<br>(n = 1435) | da<br>(n = 138) |                      |
| <b>CG</b><br>aritmetička sredina ±SD      | 92 ± 32          | 90 ± 30         | P=0,613*<br>t=0,505  |
| <b>MDRD2</b><br>aritmetička sredina ±SD   | 75 ± 18          | 73 ± 18         | P=0,166*<br>t=1,386  |
| <b>MCQE</b><br>aritmetička sredina ±SD    | 96 ± 22          | 93 ± 22         | P=0,057**<br>t=1,902 |
| <b>CKD-EPI</b><br>aritmetička sredina ±SD | 82 ± 20          | 80 ± 21         | P=0,178*<br>t=1,348  |

Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine ± SD u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; \* Studentov t-test; \*\* Granično značajna razlika između skupina (P = 0,057, Studentov t-test); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Između skupina ispitanika s i bez hipertenzije postojala je statistički značajna razlika u vrijednosti eGFR izračunane prema sve četiri prediktivne jednadžbe. Ispitanici bez hipertenzije imali su statistički značajno veću vrijednost eGFR od onih s hipertenzijom (t-test za nezavisne uzorke; CG t = 8,32, df = 1571, P < 0,001; MDRD2 t = 9,58, df = 1571, P < 0,001; MCQE t = 13,12, df = 1571, P < 0,001 i CKD-EPI t = 12,27, df = 1571, P < 0,001) (tablica 18).

**Tablica 18. eGFR u skupinama ispitanika s i bez arterijske hipertenzije**

| Jednadžba                                 | Arterijska hipertenzija |                 | Studentov<br>t i P  |
|---|-------------------------|-----------------|---------------------|
|   | ne<br>(n = 990)         | da<br>(n = 583) |                     |
| <b>CG</b><br>aritmetička sredina ±SD      | 97 ± 31                 | 83 ± 32         | P<0,001*<br>t=8,32  |
| <b>MDRD2</b><br>aritmetička sredina ±SD   | 78 ± 17                 | 70 ± 18         | P<0,001*<br>t=9,58  |
| <b>MCQE</b><br>aritmetička sredina ±SD    | 101 ± 20                | 87 ± 23         | P<0,001*<br>t=13,12 |
| <b>CKD-EPI</b><br>aritmetička sredina ±SD | 87 ± 19                 | 74 ± 20         | P<0,001*<br>t=12,27 |

Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine ± SD u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; \* Studentov t-test; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

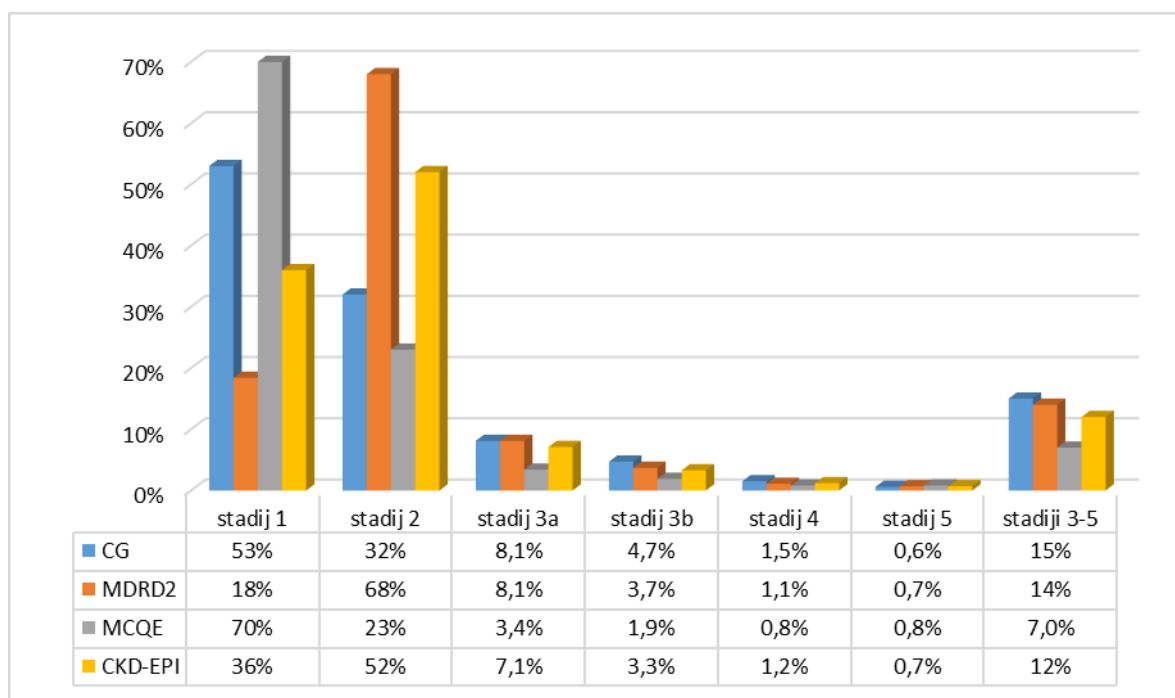
#### 4.2.2. Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR prema četiri prediktivne jednadžbe

U tablici 19 i na slici 4 prikazana je raspodjela ispitanika prema stadiju bubrežne disfunkcije. U ukupnom broju ispitanika bilo je manje od 1 % osoba sa stadije - m bubrežnog oštećenja 5, bez obzira na primijenjenu jednadžbu. Za ostale stadije - udio ispitanika znatno se razlikovao s obzirom na primijenjenu jednadžbu. U 1. stadiju bilo je najviše ispitanika (70 %) prema jednadžbi MCQE, 53 % ispitanika prema CG, 36 % prema CKD-EPI i 18 % prema jednadžbi MDRD2. U 2. stadiju prema jednadžbi CG bilo je 32 %, prema MDRD2 čak 68 % ispitanika (dokaz da jednadžba MDRD2 podcjenjuje GFR), oko polovica ispitanika (51 %) prema CKD-EPI i najmanje, 23 % prema MCQE. U 3.a stadij ispitanike su jednako svrstale jednadžbe CG i MDRD2 s 8,1 %, CKD-EPI sa 7,1 % i ponovo najmanje MCQE. U 3.b stadij najviše ispitanika svrstava jednadžba CG, jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI podjednako (3,7 % i 3,3 %), a MCQE najmanje ispitanika (1,9 %). U 4. stadiju prema svim je jednadžbama bilo nešto više od 1,0 % osoba, iznimka je MCQE s 0,8 % ispitanika. Iz svega navedenog vidljivo je da MCQE najviše ispitanika svrstava u skupinu 1 (početno smanjenje GFR) te da se značajno razlikuje od ostalih jednadžbi u svrstavanju ispitanika u ostale stadije - KBB. Prevalencija stadija 3-5 bubrežne funkcije bila je različita prema sve četiri jednadžbe. MDRD2 i CKD-EPI podjednako svrstavaju ispitanike u stadije - 3-5 (14 % prema 12 %), CG ih svrstava 15 %, a MCQE 7,0 %.

**Tablica 19:** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema četiri jednadžbe u ukupnom uzorku

| Jednadžba                      | Stadiji KBB/Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) |                 |                  |                  |                  |          | Prevalencija<br>3.-5. stadija<br>KBB |
|--------------------------------|--|-----------------|------------------|------------------|------------------|----------|--------------------------------------|
|                                | 1<br>≥90   | 2<br>60-89      | 3a<br>45-59      | 3b<br>30-44      | 4<br>15-29       | 5<br><15 |                                      |
| <b>CG</b><br>% ispitanika      | 53 <sup>a</sup>  | 32 <sup>a</sup> | 8,1 <sup>a</sup> | 4,7 <sup>a</sup> | 1,5 <sup>a</sup> | 0,6      | 15 <sup>a</sup>                      |
| <b>MDRD2</b><br>% ispitanika   | 18 <sup>b</sup>  | 68 <sup>b</sup> | 8,1 <sup>a</sup> | 3,7 <sup>b</sup> | 1,1 <sup>b</sup> | 0,7      | 14 <sup>b</sup>                      |
| <b>MCQE</b><br>% ispitanika    | 70 <sup>c</sup>  | 23 <sup>c</sup> | 3,4 <sup>b</sup> | 1,9 <sup>c</sup> | 0,8 <sup>c</sup> | 0,8      | 7,0 <sup>c</sup>                     |
| <b>CKD-EPI</b><br>% ispitanika | 36 <sup>d</sup>  | 52 <sup>d</sup> | 7,1 <sup>c</sup> | 3,3 <sup>d</sup> | 1,2 <sup>d</sup> | 0,7      | 12 <sup>d</sup>                      |

Rezultati svih ispitanika (n=1573) su prikazani kao postotak ispitanika. a,b,c,d: statistički značajne razlike među skupinama s obzirom na jednadžbu (Pearsonov  $\chi^2$  ili Fisherov test,  $P < 0,05$ ); KBB je definirana vrijednošću eGFR < 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (eGFR kategorije 3a – 5); eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB-kronična bubrežna bolest; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration



**Slika 4.** Zastupljenost pojedine eGFR kategorije/stadija bubrežne bolesti u ukupnom broju ispitanika (n=1573) prema sve četiri jednadžbe (izraženo kao % ispitanika); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

#### 4.2.3. Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR prema mjestu uključenja ispitanika

U skupini ispitanika iz sela s EN najmanje je bilo osoba sa stadije - m 4 i 5 prema sve četiri formule (stadij 4 od 1,1 % do 2,0 %; stadij 5 od 0,7 % do 0,8 %). Za ostale stadije - udio ispitanika znatno se razlikovao s obzirom na primijenjenu jednadžbu. Najveće razlike bile su u stadijima 1 i 2. U 1. stadiju bilo je 69 % ispitanika prema jednadžbi MCQE, 52 % ispitanika prema CG, 35 % prema CKD-EPI i 17 % prema jednadžbi MDRD2. U stadij 2 su jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI svrstale više od 50 % ispitanika, dok su ih CG i MCQE svrstale 31 % i 23 %. MCQE je u 3.a stadij svrstala znatno manje ispitanika od ostalih jednadžbi (MCQE 4,1 %, CG i MDRD2 8,9 %, CKD-EPI 7,7 %). Isti je slučaj bio sa stadije - m 3b (MCQE 2,4 %, CG 5,5 %, MDRD2 4,6 %, CKD-EPI 2,4 %).

U kontrolnim selima bio je samo 1 (0,3 % ) ispitanik sa stadije - m 5 prema sve četiri jednadžbe. Radilo se o ženskoj osobi u dobi od 32 godine s izuzetno visokom koncentracijom kreatinina u serumu (992  $\mu\text{mol/l}$ ) i albumina u mokraći (300 mg/l). Ispitanika sa stadije - m 4 odnosno eGFR od 15 do 29 ml/min/1,73m<sup>2</sup> prema sve četiri

jednadžbe u kontrolnoj skupini nije bilo. Najviše je bilo stadija 1 i 2 gdje je uočena značajna razlika u svrstavanju između jednadžbi MDRD2 i MCQE. U 3.a stadij ponovo najmanje svrstava jednadžba MCQE (0,9 %) dok ostale tri jednadžbe svrstavaju podjednako (GC 5,2 % : MDRD2 5,5 % : CKD-EPI 4,7 %), dok u 3.b stadij najviše ispitanika svrstava jednadžba CG (2,6 %), a ostale tri podjednako (od 0 % do 0,6 %). Prevalencija stadija 3 - 5 bubrežne funkcije bila je različita prema sve četiri jednadžbe kod obje skupine ispitanika, a značajno je odstupao rezultat dobiven MCQE jednadžbom.

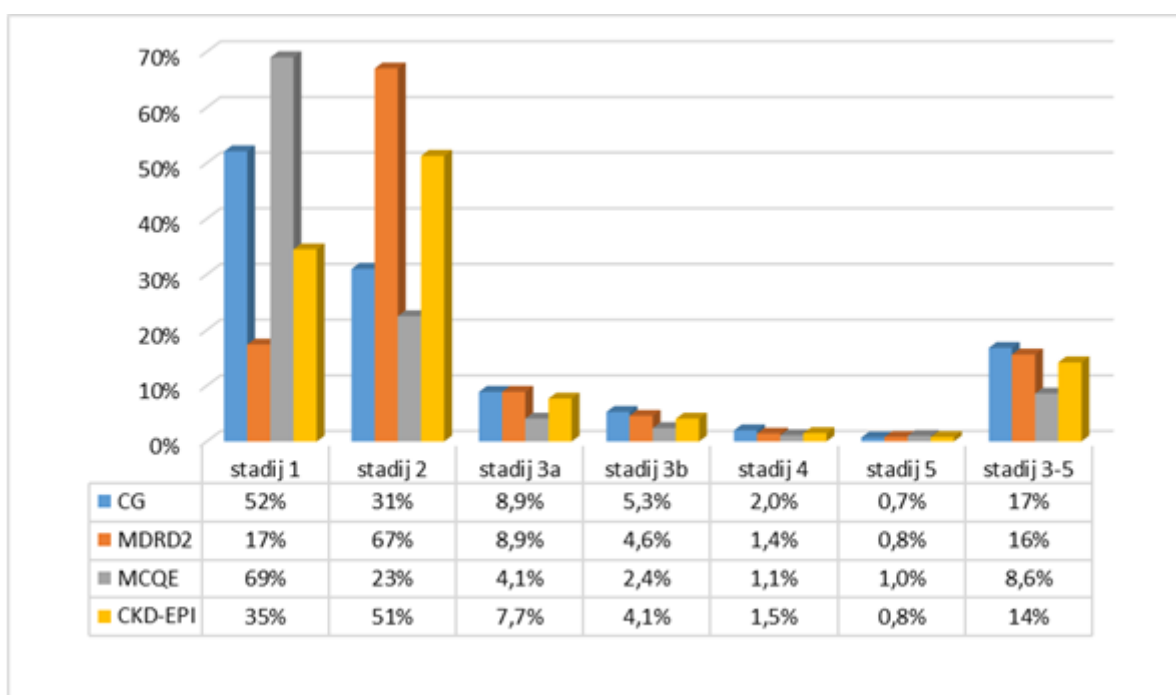
Bez obzira na mjesto uključivanja ispitanika prema dobivenim rezultatima evidentno je da su sve četiri jednadžbe podjednako točne u svrstavanju ispitanika u stadije - KBB 3 – 5, ali se značajno razlikuju kod vrijednosti eGFR > 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Stadiji bubrežne funkcije tj. kategorije eGFR prema skupinama ispitanika prikazani su u tablicama 20 i 21, te slikama 5, 6 i 7).

**Tablica 20:** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema četiri jednadžbe kod ispitanika iz endemskih sela

| Endemska sela<br>(n = 1229)    | Stadiji KBB/Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) |            |             |             |            |          | Prevalencija<br>3.-5. stadija<br>KBB |
|--------------------------------|--|------------|-------------|-------------|------------|----------|--------------------------------------|
|                                | 1<br>≥90   | 2<br>60-89 | 3a<br>45-59 | 3b<br>30-44 | 4<br>15-29 | 5<br><15 |                                      |
| <b>CG</b><br>% ispitanika      | 52   | 31         | 8,9         | 5,3         | 2,0        | 0,7      | 17                                   |
| <b>MDRD2</b><br>% ispitanika   | 17   | 67         | 8,9         | 4,6         | 1,4        | 0,8      | 16                                   |
| <b>MCQE</b><br>% ispitanika    | 69   | 23         | 4,1         | 2,4         | 1,1        | 1,0      | 8,6                                  |
| <b>CKD-EPI</b><br>% ispitanika | 35   | 51         | 7,7         | 4,1         | 1,5        | 0,8      | 14                                   |

*Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika. KBB je definirana vrijednošću eGFR < 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (eGFR kategorije 3a – 5); eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB-kronična bubrežna bolest; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

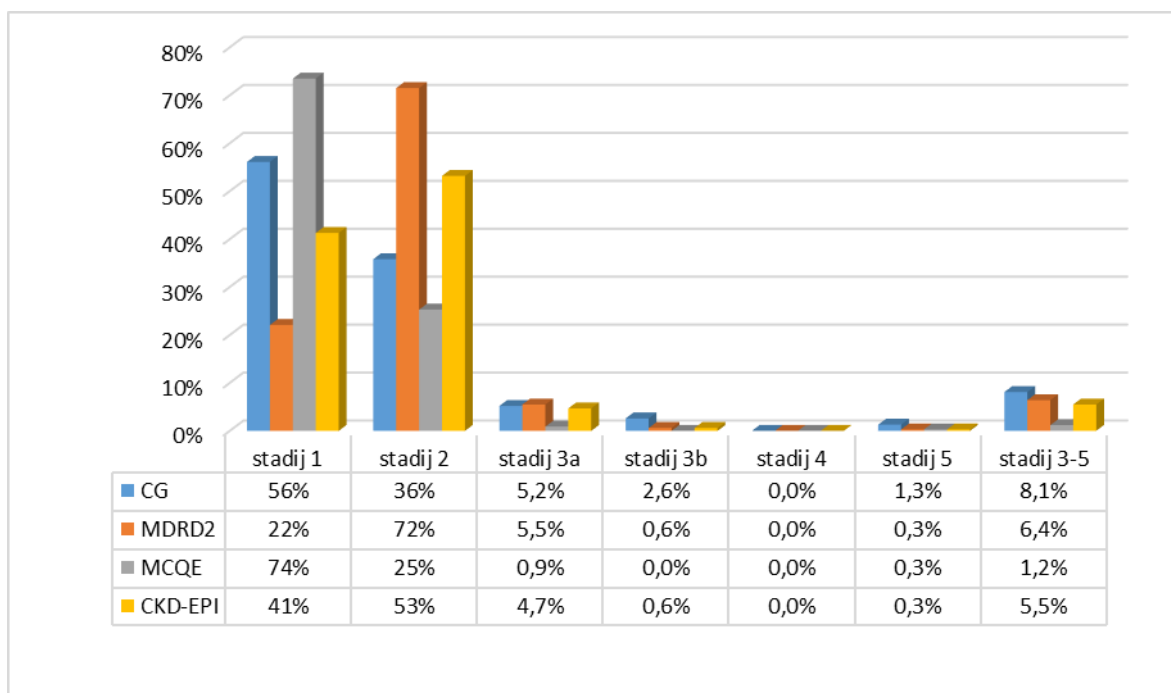


**Slika 5.** Zastupljenost pojedine eGFR kategorije/stadija bubrežne bolesti u endemskim selima prema sve četiri jednadžbe (izraženo kao % ispitanika); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

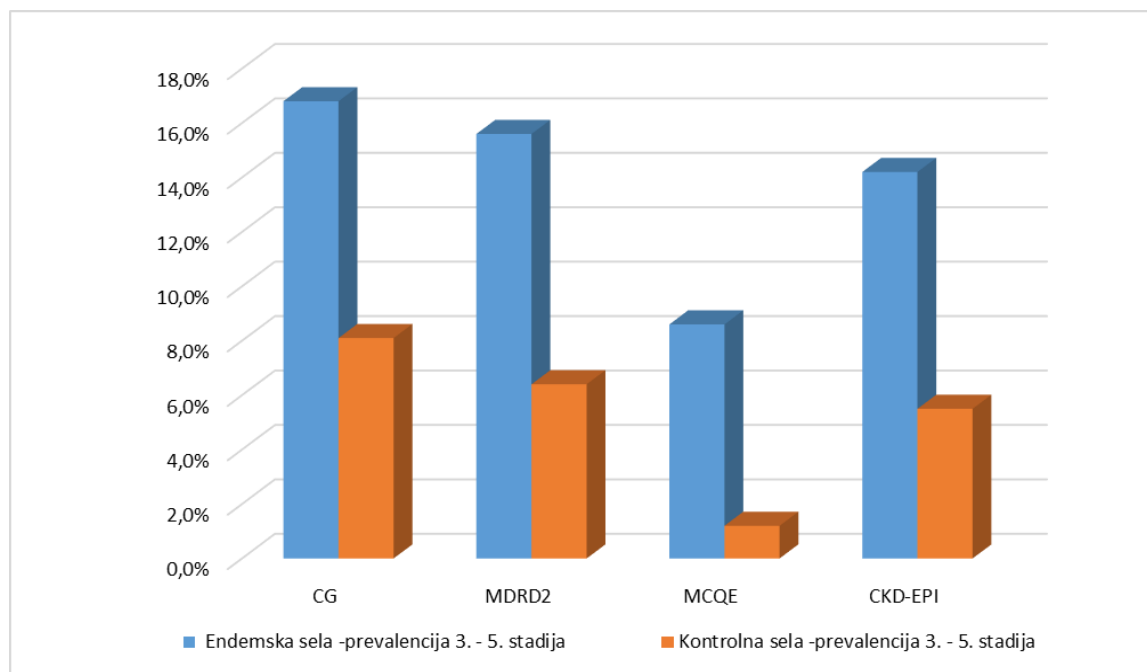
**Tablica 21:** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema četiri jednadžbe kod ispitanika iz kontrolnih sela

| Kontrolna sela<br>(n = 344)    | Stadiji KBB/Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) |       |       |       |       |     | Prevalencija<br>3.-5. stadija<br>KBB |
|--------------------------------|--|-------|-------|-------|-------|-----|--------------------------------------|
|                                | 1  | 2     | 3a    | 3b    | 4     | 5   |                                      |
|                                | ≥90  | 60-89 | 45-59 | 30-44 | 15-29 | <15 |                                      |
| <b>CG</b><br>% ispitanika      | 56   | 36    | 5,2   | 2,6   | 0,0   | 0,3 | 8,1                                  |
| <b>MDRD2</b><br>% ispitanika   | 22   | 72    | 5,5   | 0,6   | 0,0   | 0,3 | 6,4                                  |
| <b>MCQE</b><br>% ispitanika    | 74   | 25    | 0,9   | 0,0   | 0,0   | 0,3 | 1,2                                  |
| <b>CKD-EPI</b><br>% ispitanika | 41   | 53    | 4,7   | 0,6   | 0,0   | 0,3 | 5,5                                  |

Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika. KBB je definirana vrijednošću eGFR < 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (eGFR kategorije 3a – 5); eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB-kronična bubrežna bolest; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration



**Slika 6.** Zastupljenost pojedine eGFR kategorije/stadija bubrežne bolesti u kontrolnim selima prema sve četiri jednadžbe (izraženo kao % ispitanika); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration



**Slika 7.** Prevalencija stadija 3 – 5 bubrežnog oštećenja u endemskim i kontrolnim selima prema sve četiri jednadžbe (izraženo kao % ispitanika); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

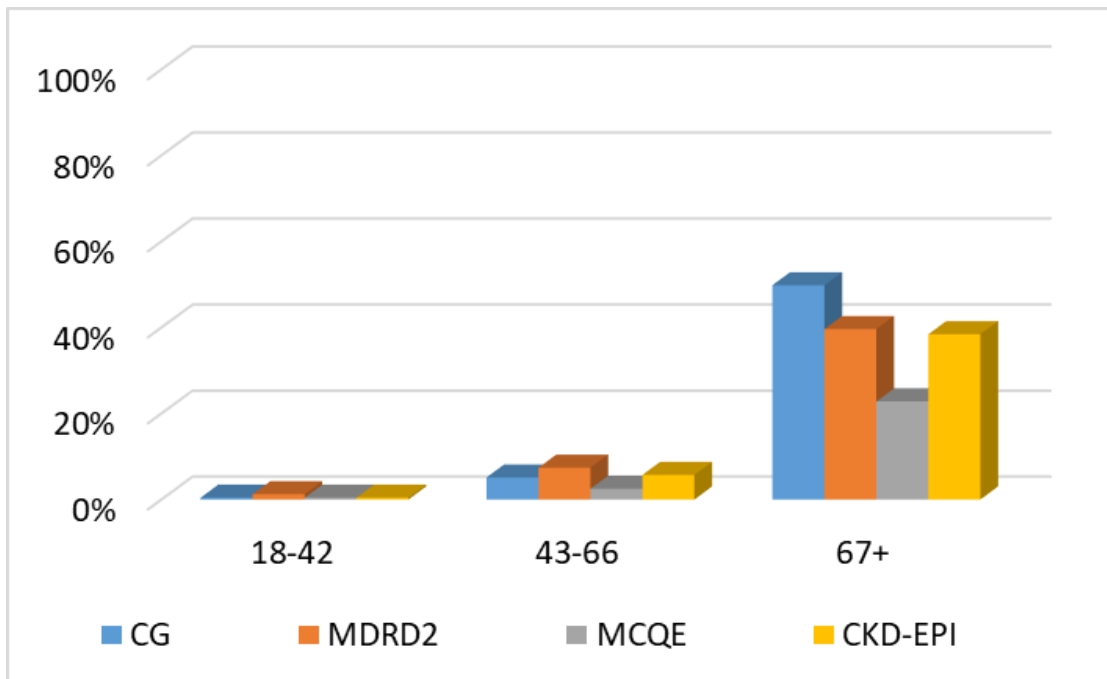
#### 4.2.4. Stadiji bubrežne funkcije/veličina eGFR prema dobi

Najviše ispitanika sa eGFR stadije - m - 1 bilo je u najmlađoj dobnoj skupini (18 - 42 god.) prema jednadžbama CG, MCQE i CKD-EPI (81 % : 97 % : 70 %), dok je u istoj dobnoj skupini prema jednadžbi MDRD2 najviše ispitanika bilo u stadiju - 2 (62 %). Također je uočeno da u navedenoj dobnoj skupini prema jednadžbama CG, MDRD2 i CKD-EPI uopće nije bilo stadija - 4. U dobnoj skupini 43 - 66 godina bilo je svih stadija bubrežne funkcije prema svim jednadžbama, a najviše je bilo stadija - 1 prema jednadžbama CG i MCQE (59 % i 82 %) i stadija - 2 prema jednadžbama MDRD2 i CKD-EPI (79 % i 64 %). U najstarijoj dobnoj skupini prema svim jednadžbama nije bilo stadija - 1 čime je dokazana ovisnost svih jednadžbi o dobi, a bilo je najviše stadija - 2, 3a i 3b. Također je u toj dobnoj skupini bilo značajno više stadija - 4 i 5 u odnosu na druge dobne skupine bez obzira na primijenjenu jednadžbu (Tukey *post hoc* test,  $P < 0,001$  za sve usporedbe). Stadiji bubrežne funkcije prema dobnim skupinama ispitanika prikazani su u tablici 22 i slikama 8 i 9.

**Tablica 22:** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema četiri jednadžbe u pojedinoj dobnoj skupini

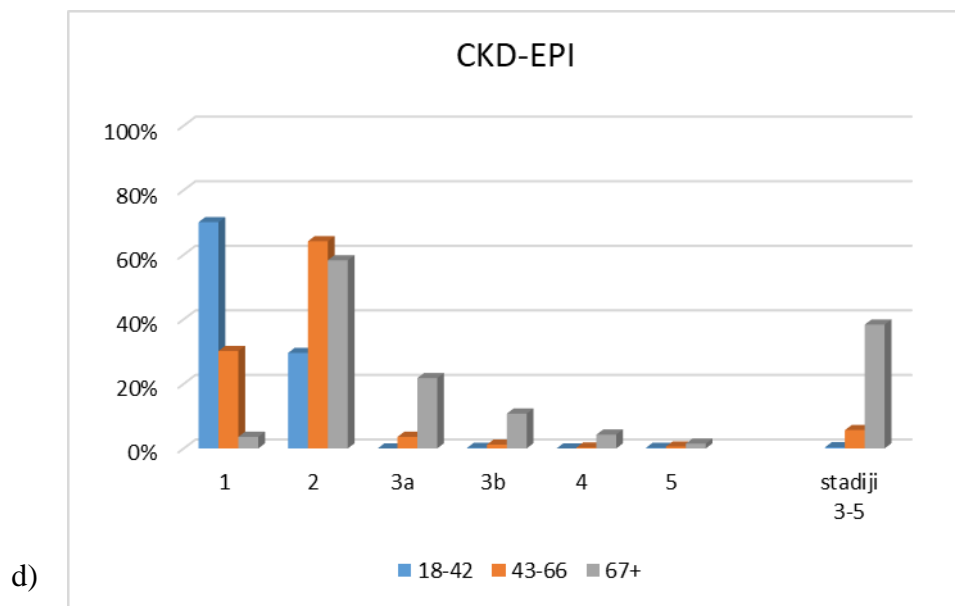
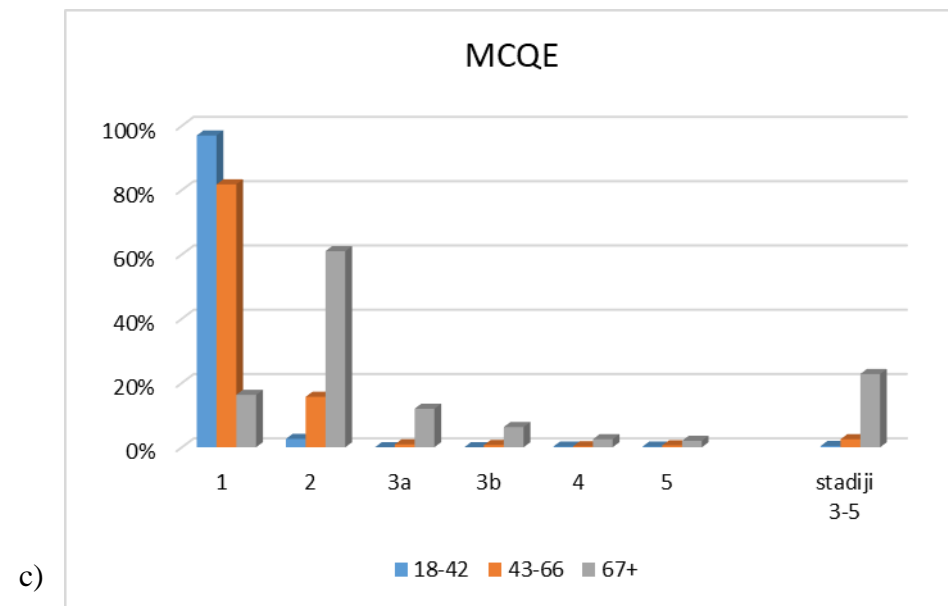
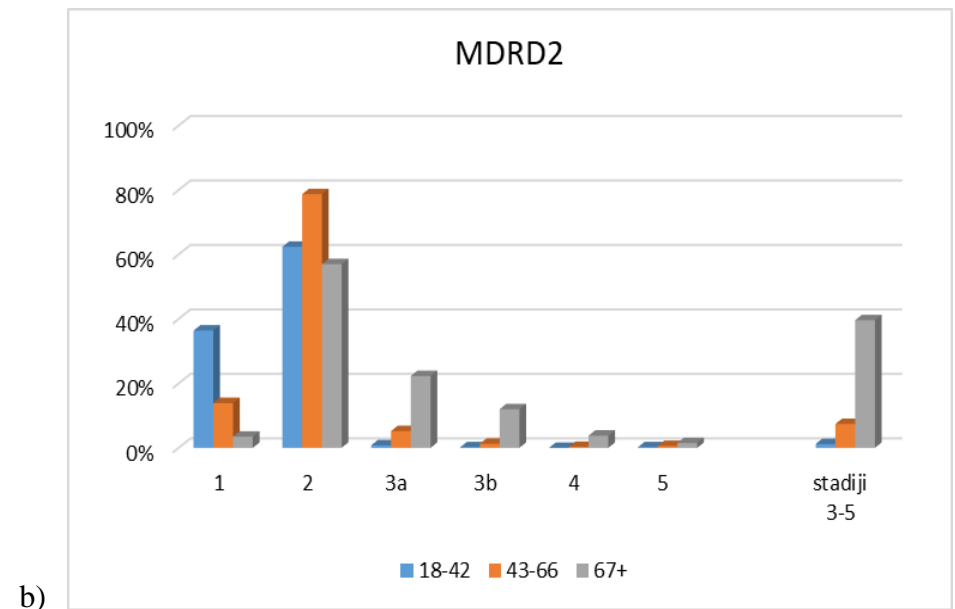
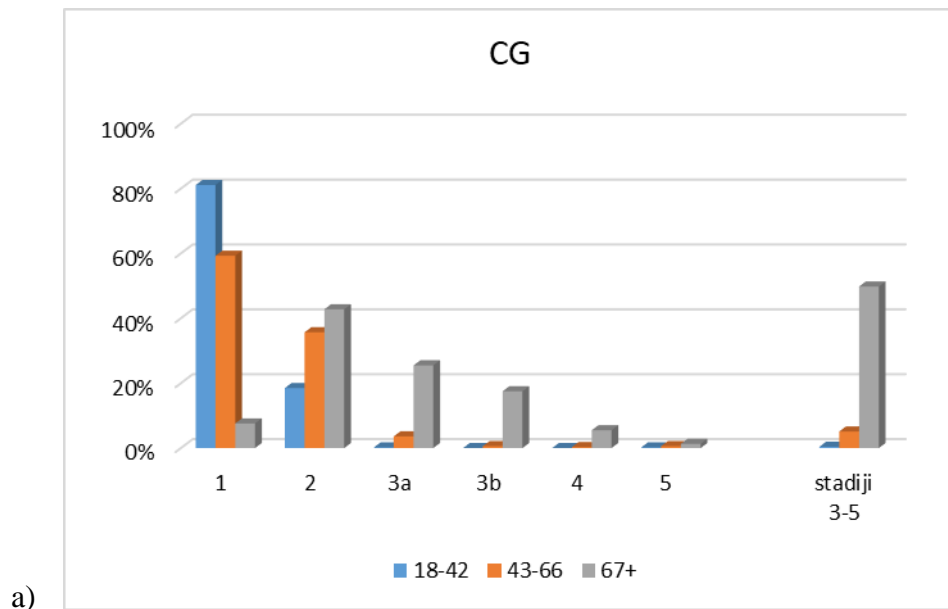
| Jednadžba               | Dobne skupine | Stadiji KBB/Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) |       |       |       |       |     | Prevalencija<br>3.-5. stadija |
|-------------------------|---------------|--|-------|-------|-------|-------|-----|-------------------------------|
|                         |               | 1  | 2     | 3a    | 3b    | 4     | 5   |                               |
|                         |               | ≥90  | 60-89 | 45-59 | 30-44 | 15-29 | <15 | KBB                           |
| CG<br>% ispitanika      | 18-42         | 81   | 19    | 0,2   | 0,0   | 0,0   | 0,2 | 0,4                           |
|                         | 43-66         | 59   | 36    | 3,6   | 0,6   | 0,3   | 0,6 | 5,1                           |
|                         | 67+           | 7,6  | 43    | 26    | 18    | 5,5   | 1,3 | 50                            |
| MDRD2<br>% ispitanika   | 18-42         | 36   | 62    | 0,8   | 0,2   | 0,0   | 0,2 | 1,2                           |
|                         | 43-66         | 14   | 79    | 5,2   | 1,3   | 0,3   | 0,6 | 7,4                           |
|                         | 67+           | 3,5  | 57    | 22    | 12    | 3,8   | 1,5 | 40                            |
| MCQE<br>% ispitanika    | 18-42         | 97   | 2,6   | 0,0   | 0,0   | 0,2   | 0,2 | 0,4                           |
|                         | 43-66         | 82   | 16    | 0,9   | 0,7   | 0,3   | 0,6 | 2,5                           |
|                         | 67+           | 16   | 61    | 12    | 6,3   | 2,5   | 2,0 | 23                            |
| CKD-EPI<br>% ispitanika | 18-42         | 70   | 30    | 0,0   | 0,2   | 0,0   | 0,2 | 0,4                           |
|                         | 43-66         | 30   | 64    | 3,6   | 1,2   | 0,3   | 0,6 | 5,7                           |
|                         | 67+           | 3,6  | 58    | 22    | 11    | 4,3   | 1,5 | 38                            |

*Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika. KBB je definirana vrijednošću eGFR < 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (eGFR kategorije 3a – 5); eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB-kronična bubrežna bolest; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*



**Slika 8.** Prevalencija 3. – 5. stadija bubrežnog oštećenja u tri različite dobne skupine prema sve četiri jednadžbe (izraženo kao % ispitanika; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)

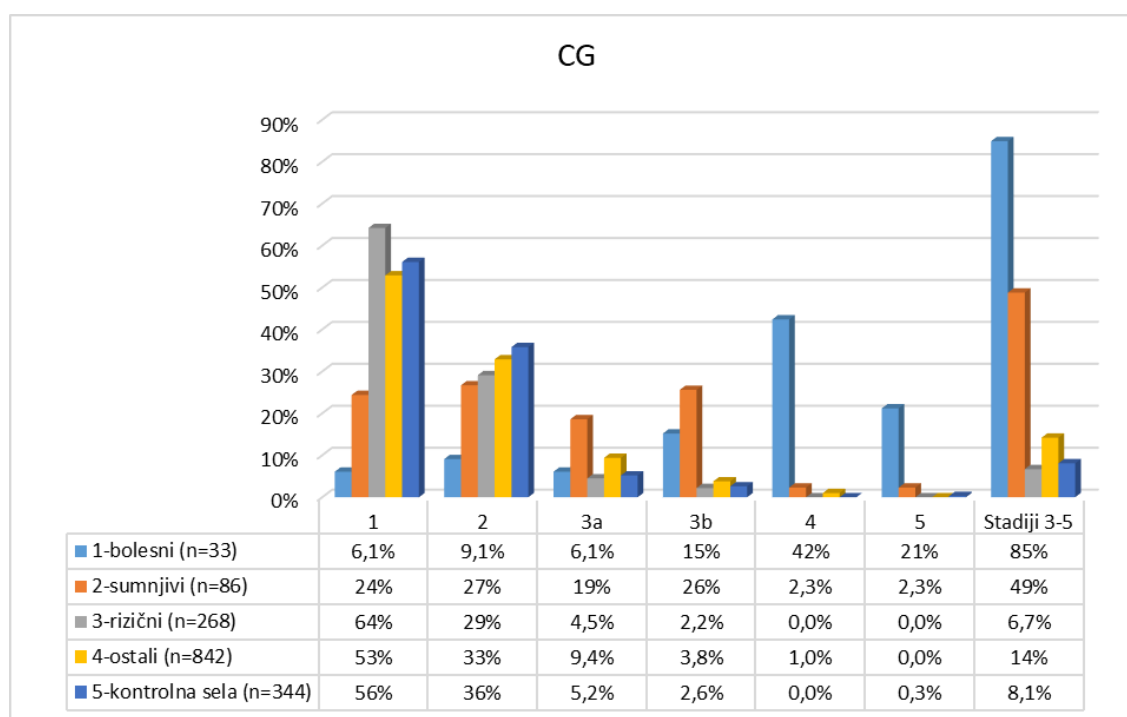




**Slika 9.** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema CG jednađbi (a) te jednađbama MDRD2 (b), MCQE (c) i CKD-EPI (d) u pojedinoj dobnoj skupini; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

#### 4.2.5. Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR u podskupinama ispitanika razvrstanih prema kriterijima SZO za EN

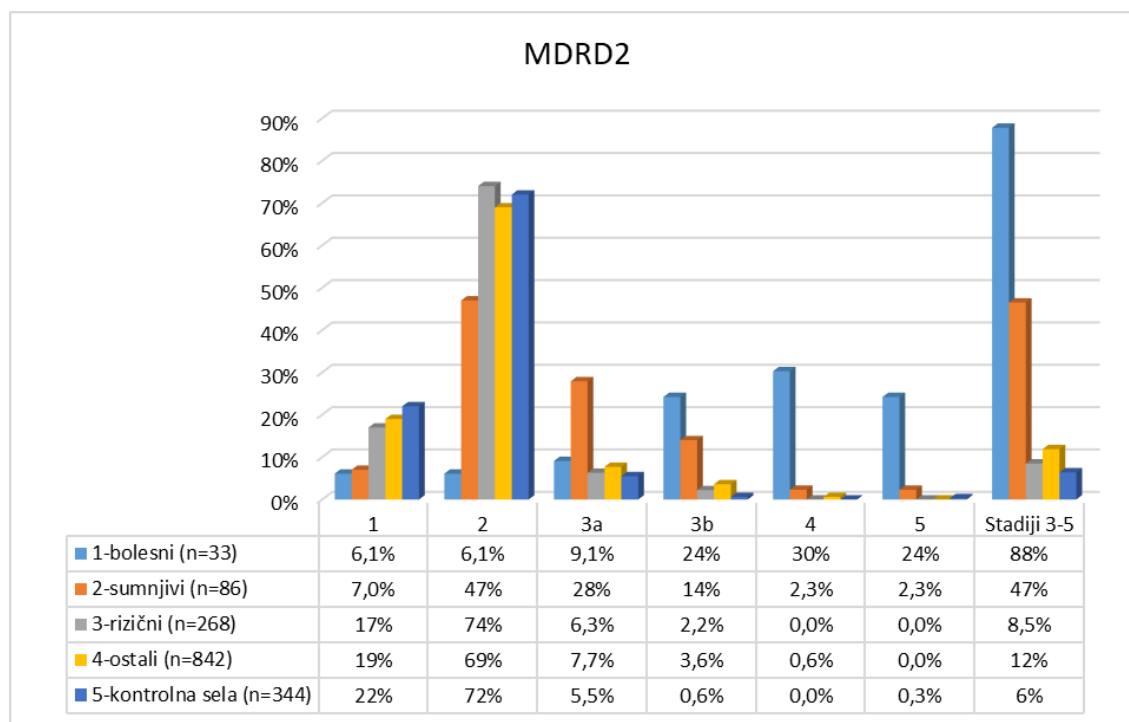
Prema jednadžbi CG u podskupini stvarno bolesnih ispitanika iz endemskih sela bilo je 42 % stadija - 4, 21 % stadija - 5 i 15 % stadija - 3a. Ostalih je stadija bilo < 10 %. U podskupini sumnjivih bilo je podjednako stadija - 1, 2 i 3b (24 %, 27 % i 26 %), 19 % stadija - 2 i po 2,3 % stadija - 4 i 5. U podskupini rizičnih bilo je najviše 1. stadija bubrežnog oštećenja (64 %), 29 % stadija - 2, 4,5 % i 2,2 % stadija - 3a i 3b, a ostalih stadija nije bilo. U podskupinama ostalih i kontrolnih ispitanika bilo je > 50 % stadija - 1 i > 30 % stadija - 2, zatim 9,4 % i 5,2 % stadija - 3a, 3,8 % i 2,6 % stadija - 3a. Ostalih stadija bilo je 1 % i < 1 % (Slika 10).



**Slika 10.** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema jednadžbi CG u podskupinama ispitanika iz kontrolnih i endemskih sela razvrstanih prema SZO kriterijima; CG-Cockcroft - Gault

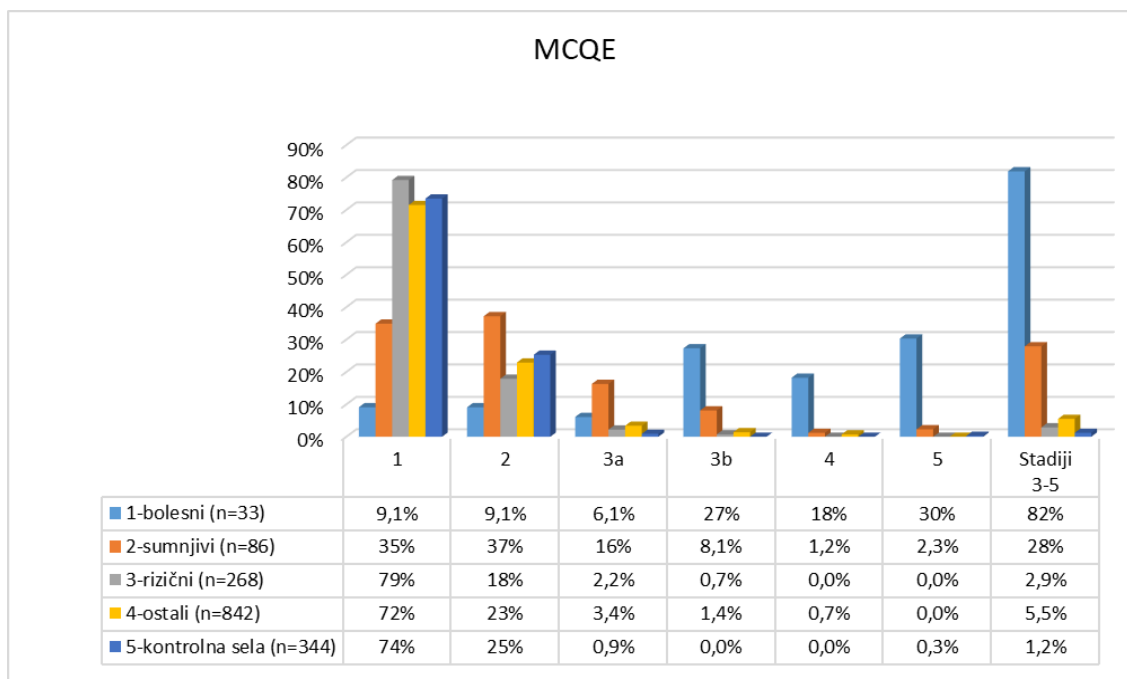
U podskupini bolesnih prema prediktivnoj jednadžbi MDRD2 bilo je najviše stadija - 4 (30 %), stadija - 3b i 5 bilo je jednako (24 %), a ostalih je stadija bilo < 10 %. U podskupini sumnjivih najviše je bilo stadija - 2 s 47 %, zatim stadija - 3a s 28 % i stadija - 3b s 14 %. Ispitanika s početnim smanjenjem eGFR (stadij - 1) bilo je po jednadžbi MDRD2 svega 7,0 % dok je stadija - 4 i stadija - 5 s teškim oštećenjem GFR bilo 2,3 %. I rizična skupina ispitanika imala je najviše stadija - 2 (74 %), 17 % stadija - 1, te 6,3 % i 2,2 % stadija - 3a i 3b. U podskupini ostalih 69 % ispitanika imalo je stadij - 2, 19 % stadij - 1, 7,7 % stadij - 3a i 3,6 % stadij - 3b. Stadija - 5 nije bilo, a stadija - 4 je bilo < 1 %. U kontrolnim selima najviše je bilo

stadija - 2 i 1 (72 % i 22 %), a ostalih je stadija bilo zanemarivo malo ili ih nije bilo (Slika 11).



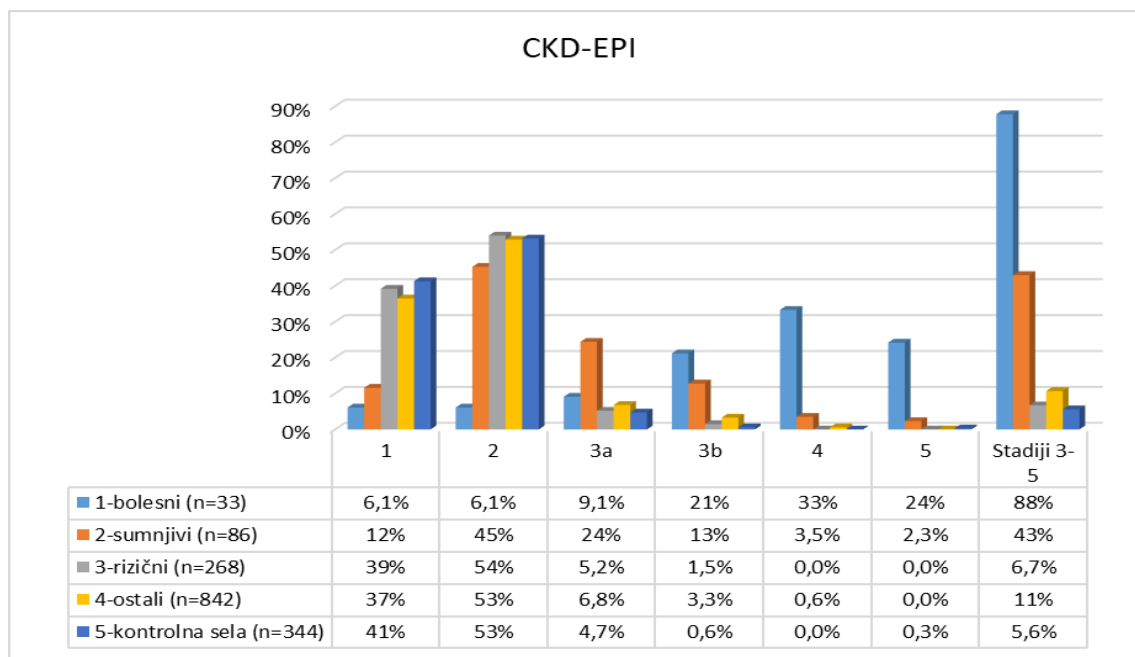
**Slika 11.** *Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema jednadžbi MDRD2 u podskupinama ispitanika iz kontrolnih i endemskih sela razvrstanih prema SZO kriterijima; MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study*

Raspodjela po stadijima bubrežnog oštećenja prema jednadžbi MCQE razlikuje se od raspodjele prema ostale tri prediktivne jednadžbe. Prema rezultatima jednadžbe MCQE u podskupini bolesnih najviše ima stadija - 5 s 30 % i stadija - 3b s 27 %. Stadij - 4 iz podskupine bolesnih ima 18 % ispitanika, stadij - 3a 6,1 %, a stadije - 1 i 2 po 9,1 % ispitanika. U podskupini sumnjivih najviše je stadija - 2 i 1 (37 % prema 35 %), 16 % stadija - 3a, 8,1 % stadija - 3b, dok je najmanje stadija - 4 (1,2 %) i stadija - 5 (2,3 %). U podskupinama rizičnih i ostalih ispitanika te ispitanika iz kontrolnih sela najviše je stadija - 1 (od 72 % do 79 %) i stadija - 2 (od 18 % do 25 %). Ostalih je stadija od 0,0 % do 3,4 % (Slika 12).



**Slika 12.** *Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema jednadžbi MCQE u podskupinama ispitanika iz kontrolnih i endemskih sela razvrstanih prema SZO kriterijima; MCQE-Mayo clinic quadratic equation*

Prema prediktivnoj jednadžbi CKD-EPI u podskupini bolesnih ima najviše 4. stadija bubrežnog oštećenja (33 %), zatim slijedi stadij - 5 s 24 % i stadij - 3b s 21,2 % ispitanika, a stadija - 1, 2 i 3a bilo je <10,0 %. U podskupini sumnjivih najviše ima stadija - 2 s 45 %, stadija - 3a s 24%, stadija - 3b s 13 % i stadija - 1 s 12 %. Stadiji-4 i 5 zastupljeni su s 3,5 % i 2,3 %. U skupini rizičnih podjednako je stadija - 1 i 2 (44 % prema 45 %), četvrtina ispitanika (24 %) ima stadij - 3a, a osmina (13 %) stadij - 3b. Stadiji-4 i 5 zastupljeni su u jednakom postotku kao i u podskupini sumnjivih. U podskupini ostalih također je najviše stadija - 2 (53 %) i nešto manje (37 %) stadija - 1. Stadija - 3a, 3b, 4 i 5 bilo je 6,8 %, 3,3 %, 0,6 % i 0,0 %. Sličan je omjer ispitanika bio u kontrolnim selima (nešto manje ispitanika sa stadije - m-3b u odnosu na podskupinu ostalih) (Slika 13).



**Slika 13.** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema jednadžbi CKD-EPI u podskupinama ispitanika iz kontrolnih i endemskih sela razvrstanih prema SZO kriterijima; CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

#### 4.2.6. Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR u skupini ispitanika sa šećernom bolešću

Zastupljenost pojedinih stadija bubrežne funkcije nije se razlikovala između skupina ispitanika sa i bez šećerne bolesti bez obzira na primijenjenu prediktivnu jednadžbu. Uočena je razlika u svrstavanju obje skupine u stadije - bubrežnog oštećenja - 1 i 2 ovisno o primijenjenoj jednadžbi (Tablica 23).

**Tablica 23:** Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema četiri jednadžbe u skupini ispitanika sa i bez šećerne bolesti

| Jednadžba    | Šećerna bolest (n=138) | Stadiji KBB/Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) |            |             |             |            |          | Prevalencija 3.-5. stadija KBB |
|--------------|------------------------|--|------------|-------------|-------------|------------|----------|--------------------------------|
|              |                        | 1<br>≥90   | 2<br>60-89 | 3a<br>45-59 | 3b<br>30-44 | 4<br>15-29 | 5<br><15 |                                |
| CG           | ne                     | 53   | 32         | 8,2         | 4,5         | 1,6        | 0,6      | 15                             |
| % ispitanika | da                     | 52   | 33         | 6,5         | 6,5         | 0,7        | 0,7      | 14                             |
| MDRD2        | ne                     | 19   | 68         | 8,2         | 3,3         | 1,1        | 0,7      | 13                             |
| % ispitanika | da                     | 14   | 70         | 7,2         | 7,2         | 0,7        | 0,7      | 16                             |
| MCQE         | ne                     | 70   | 23         | 3,3         | 1,7         | 0,9        | 0,8      | 6,7                            |
| % ispitanika | da                     | 67   | 24         | 4,3         | 4,3         | 0,0        | 0,7      | 9,3                            |
| CKD-EPI      | ne                     | 37   | 51         | 7,2         | 3,1         | 1,2        | 0,7      | 12                             |
| % ispitanika | da                     | 31   | 56         | 5,8         | 5,8         | 1,4        | 0,7      | 14                             |

Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB-kronična bubrežna bolest

S obzirom da je >85% ispitanika iz skupine sa šećernom bolesti imalo vrijednost eGFR prema sve četiri jednadžbe >60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, postavilo se pitanje je li to posljedica značajnijeg broja ispitanika s glomerularnom hiperfiltracijom u toj skupini. Glomerularna hiperfiltracija je u našem istraživanju definirana vrijednošću 95. percentile eGFR u rasponu od 102-141 ml/min/1,73m<sup>2</sup> ovisno o primjenjenoj jednadžbi (CG 141, MDRD 102, MCQE 125 i CKD-EPI 113 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) [104]. U ispitivanoj skupini nije bilo ispitanika s glomerularnom hiperfiltracijom koji su imali ACR > 30mg/g. Postotak ispitanika s glomerularnim hiperfiltracijom u skupini ispitanika sa šećernom bolesti prikazan je u tablici 24.

**Tablica 24.** Ispitanici s glomerularnom hiperfiltracijom u skupini sa šećernom bolesti prema sve četiri jednadžbe

| % ispitanika s glomerularnom hiperfiltracijom u skupini ispitanika sa šećernom bolesti (n=138) |       |      |         |
|--|-------|------|---------|
| CG   | MDRD2 | MCQE | CKD-EPI |
| 2,2  | 2,2   | 0,7  | 2,2     |

*Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika. ; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

#### 4.2.7. Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR u skupini ispitanika s arterijskom hipertenzijom

Zastupljenost pojedinih stadija bubrežne funkcije razlikovala se između skupina ispitanika s i bez arterijske hipertenzije. Ispitanici bez hipertenzije imali su znatno više stadija - 1 i 2 od ostalih stadija, dok su ispitanici s hipertenzijom, ovisno o primijenjenoj prediktivnoj jednadžbi, uz stadije - 1 i 2 imali statistički značajno više stadija - 3a, 3b, 4 i 5 (t-test za nezavisne uzorke, t = 8.32, df = 1571, P < 0,001) (Tablica 25).

Prema jednadžbi CG u skupini ispitanika bez arterijske hipertenzije najviše je bilo stadija - 1 i stadija - 2 (60 % i 30 %), stadija - 3a bilo je 5,5 %, a ostalih stadija < 5 %. U skupini s hipertenzijom bilo je podjednako stadija - 1 i stadija - 2 (41 % prema 36 %), 13 % stadija - 3a, 7 % stadija - 3b, a stadija - 4 i stadija - 5 < 3 %.

Prema rezultatima jednadžbe MDRD2 najviše je ispitanika iz skupine bez arterijske hipertenzije imalo stadij - 2 (67 %) i stadij - 1 (24 %). U ostalim je stadijima bilo od 0,3 % do 5,7 % ispitanika. U skupini s hipertenzijom je prema jednadžbi MDRD2 bilo najviše stadija - 2 i 3a (69 % prema 12 %), 9,6 % stadija - 1, 5,3 % stadija - 3b te 2,1 % i 1,4 % stadija - 4 i 5. Prema rezultatima MCQE u skupini bez hipertenzije najviše je stadija - 1 i stadija - 2 (79 % prema 16 %) isto kao i u skupini s hipertenzijom (54 % prema 35 %). Ostalih je stadija u obje

skupine prema jednadžbi MCQE bilo od 0,2 % do 5,5 %. Prema jednadžbi CKD-EPI u skupini bez hipertenzije podjednako ima stadija - 1 i stadija - 2 (45 % prema 47 %), dok u skupini s hipertenzijom ima najviše stadija - 2, a zatim stadija - 1 i 3a (60 % prema 21 % prema 12 %).

**Tablica 25.** *Stadiji bubrežne funkcije/kategorije eGFR prema četiri jednadžbe u skupini ispitanika sa i bez arterijske hipertenzije*

| Jednadžba    | Arterijska hipertenzija (n=583) | Stadiji KBB/Kategorije eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) |            |             |             |            |          | Prevalencija 3.-5. stadija KBB |
|--------------|---------------------------------|--|------------|-------------|-------------|------------|----------|--------------------------------|
|              |                                 | 1<br>≥90   | 2<br>60-89 | 3a<br>45-59 | 3b<br>30-44 | 4<br>15-29 | 5<br><15 |                                |
| CG           | ne                              | 60   | 30         | 5,5         | 3,3         | 0,7        | 0,3      | 9,8                            |
| % ispitanika | da                              | 41   | 36         | 12,5        | 7,0         | 2,9        | 1,2      | 24                             |
| MDRD2        | ne                              | 24   | 67         | 5,7         | 2,7         | 0,5        | 0,3      | 9,2                            |
| % ispitanika | da                              | 10   | 9          | 12,3        | 5,3         | 2,1        | 1,4      | 21                             |
| MCQE         | ne                              | 79   | 16         | 2,2         | 1,5         | 0,2        | 0,4      | 4,3                            |
| % ispitanika | da                              | 54   | 35         | 5,5         | 2,6         | 1,9        | 1,5      | 12                             |
| CKD-EPI      | ne                              | 45   | 47         | 4,2         | 2,6         | 0,6        | 0,3      | 7,7                            |
| % ispitanika | da                              | 21   | 60         | 11,8        | 4,5         | 2,2        | 1,4      | 20                             |

*Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; KBB-kronična bubrežna bolest*

#### 4.3. ROC analize jednadžbi CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI

Kako bi se utvrdila dijagnostička točnost, ROC analizom dobivenih rezultata (stadija bubrežnog oštećenja prema skupinama ispitanika) za sve su jednadžbe određene dijagnostička osjetljivost i specifičnost, prediktivne vrijednosti kontinuiranih varijabli, kao i pozitivni te negativni omjeri vjerojatnosti. Također je za svaku jednadžbu određen DOI kako bi se procijenilo koja jednadžba ima veći izgled točno svrstati ispitanike iz podskupina bolesnih i sumnjivih u stadije - bubrežnog oštećenja 3, 4 i 5. Zbog izvođenja ROC analize, skupine ispitanika razvrstanih prema SZO kriterijima za EN (os x) i kategorije eGFR tj. stadiji bubrežnog oštećenja prema smjernicama KDOQI (os y) su dihotomizirani. Bolesni i sumnjivi ispitanici (1. i 2. podskupina) označeni su kategorijom „1“ dok su ostali i kontrolni ispitanici (4. i 5. podskupina) označeni kategorijom „0“. Kategorije eGFR su također podijeljene u kategorije „0“ i „1“ („0“ = stadiji - 1 i 2; „1“ = stadiji - 3a, 3b, 4 i 5) (Tablica 26).

**Tablica 26. Dihotomizirane varijable**

| Kategorija | Stadiji bubrežnog oštećenja prema eGFR | Podskupine ispitanika prema klasifikaciji SZO za EN |
|------------|--|---|
| 0          | 1-2 (zdravi)                           | 4 i 5 (ostali i kontrolni)                          |
| 1          | 3-5 (bolesni)                          | 1 i 2 (bolesni i sumnjivi)                          |

*eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije; SZO-svjetska zdravstvena organizacija; EN-endemska nefropaija*

Dijagnostička osjetljivost je definirana kao postotak ispitanika s  $eGFR < 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u podskupinama bolesnih i sumnjivih. Dijagnostička specifičnost je definirana kao postotak ispitanika s  $eGFR \geq 60$  ml/min/1,73m<sup>2</sup> u podskupinama ostalih i kontrolnih ispitanika (Tablica 27).

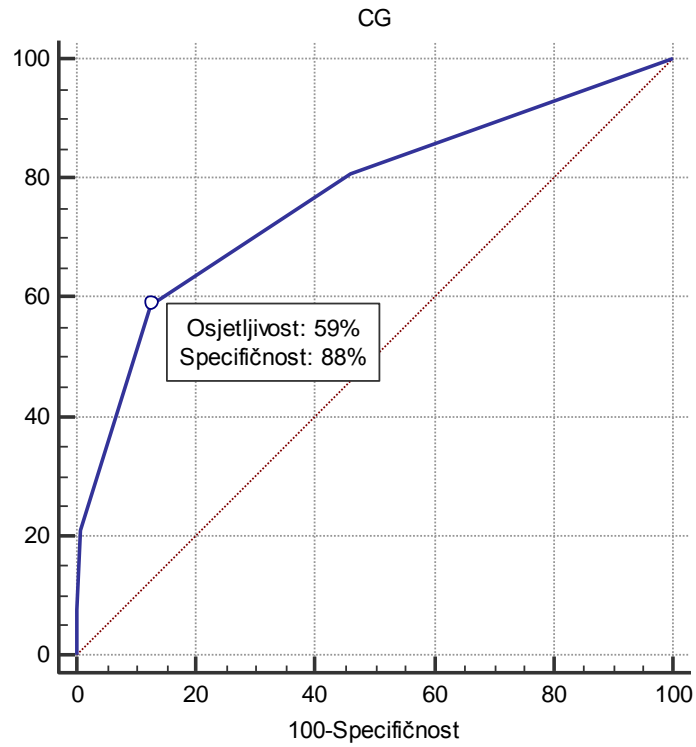
**Tablica 27. Rezultati ROC analize**

|                     | CG         |           | MDRD       |           | MCQE       |            | CKD-EPI    |           |
|---------------------|------------|-----------|------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|
|                     | vrijednost | 95% IP    | vrijednost | 95% IP    | vrijednost | 95% IP     | vrijednost | 95% IP    |
| <b>Osjetljivost</b> | 59%        | 49-68     | 58%        | 49-67     | 43%        | 34-52      | 55%        | 46-65     |
| <b>Specifičnost</b> | 88%        | 86-89     | 90%        | 88-91     | 96%        | 94-97      | 91%        | 89-92     |
| <b>POV</b>          | 4,75       | 3,83-5,87 | 5,64       | 4,49-7,07 | 9,97       | 7,10-13,99 | 6,30       | 4,74-7,68 |
| <b>NOV</b>          | 0,47       | 0,38-0,58 | 0,47       | 0,38-0,58 | 0,60       | 0,51-0,70  | 0,49       | 0,40-0,60 |
| <b>PPV</b>          | 32%        | 28-37     | 36%        | 32-42     | 50%        | 42-58      | 38%        | 32,3-43,5 |
| <b>NPV</b>          | 95%        | 94-96     | 96%        | 94-96     | 94%        | 93-95      | 95%        | 94-96     |
| <b>DOI</b>          | 10,09      |           | 12,03      |           | 15,22      |            | 12,30      |           |

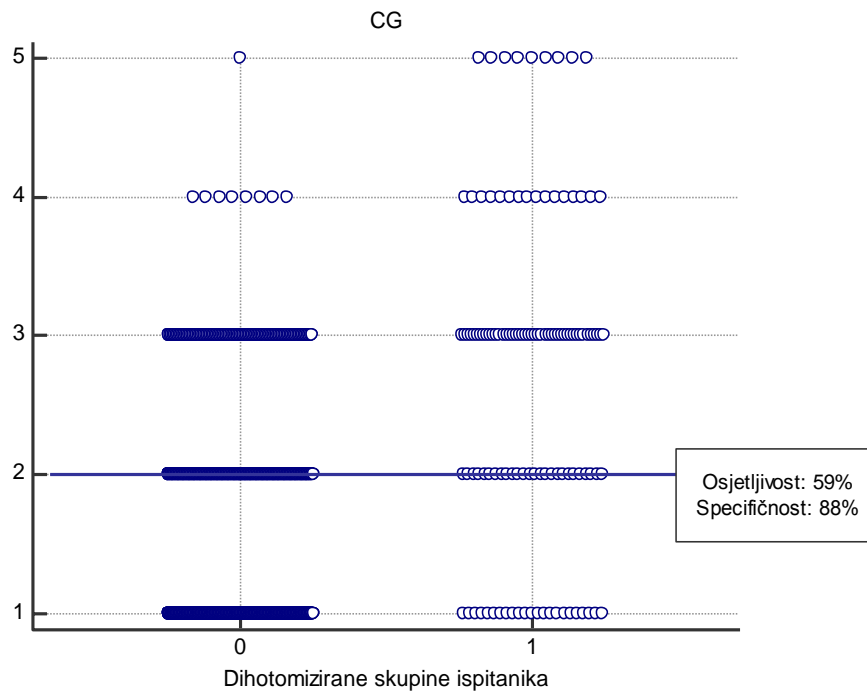
*Osjetljivost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrijednost (PPV i NPV) izraženi su u postocima; POV = pozitivan omjer vjerojatnosti: odnos između vjerojatnosti pozitivnog rezultata testa s obzirom na prisutnost bolesti i vjerojatnost pozitivnog rezultata testa s obzirom na odsutnost bolesti; NOV = negativan omjer vjerojatnosti: odnos između vjerojatnosti negativnog rezultata testa s obzirom na prisutnost bolesti i vjerojatnost negativnog rezultata testa s obzirom na odsutnost bolesti; DOI= dijagnostički omjer izgleda; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

Jednadžba CG imala je dijagnostičku osjetljivost od 59% (95 % IP 49-68) i dijagnostičku specifičnost od 88 % (95 % IP 86 - 89). POV je bio 4,75 (95 % IP 3,83-5,87), NOV 0,47 (95 % IP 0,38-0,58) uz najmanji DOI (10,09) od svih jednadžbi. PPV je iznosila 32 % (95 % IP 28-37), a NPV 95 % (95 % IP 94-96). Površina ispod ROC krivulje iznosila je 0,769 (95 % IP 0,746-0,792), što govori o dobroj dijagnostičkoj točnosti jednadžbe CG u ispitivanoj skupini [500]. Grafički prikaz odnosa između dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti za jednadžbu CG prikazan je ROC krivuljom (Slika 14) i interaktivnim dijagramom (Slika 15).



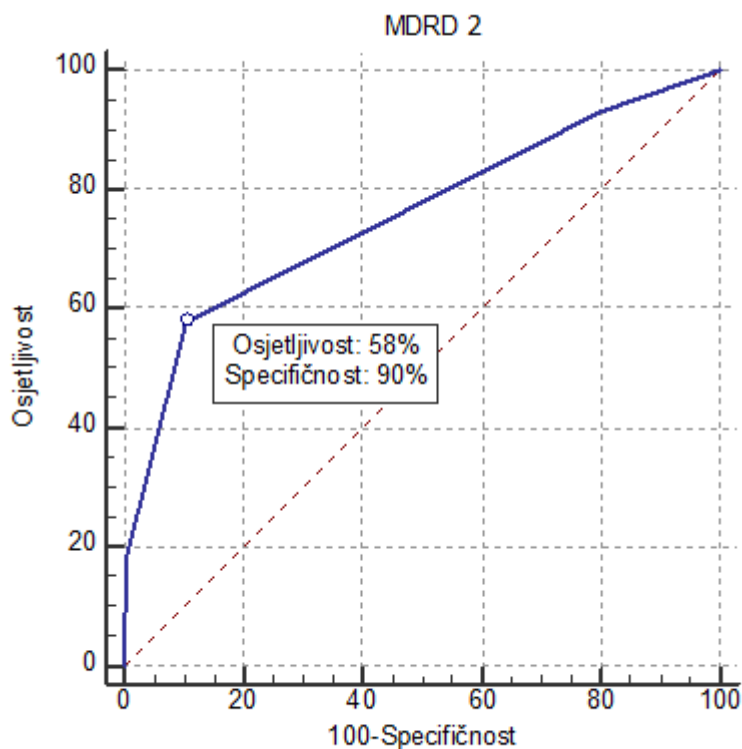


*Slika 14. ROC krivulja za jednadžbu CG; CG-Cockcroft - Gault*

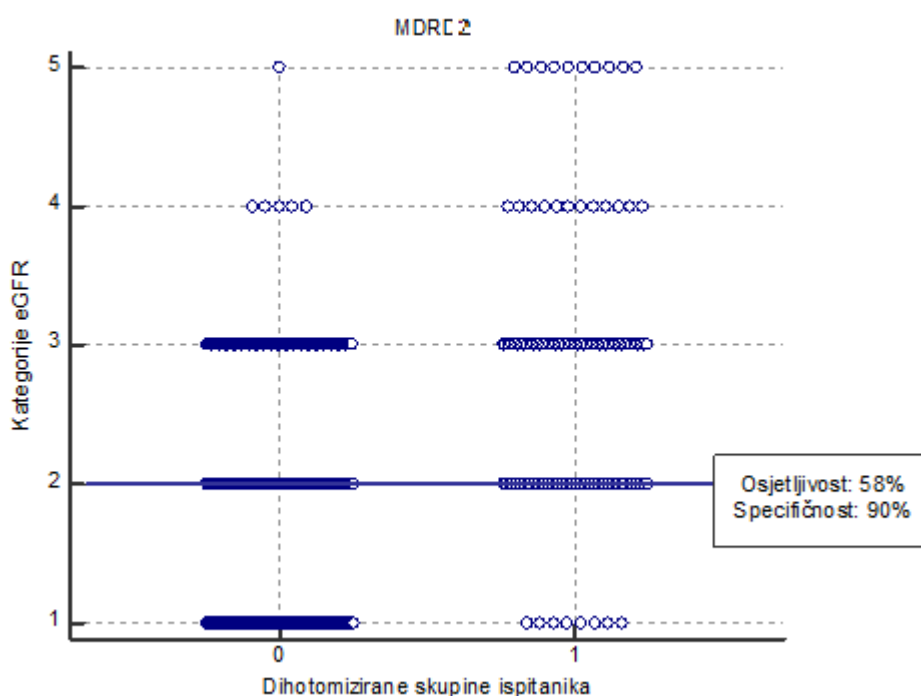


*Slika 15. Interaktivni dijagram za jednadžbu CG; 0 i 1 na osi x predstavljaju dihotomizirane skupine ispitanika (0 = podskupine ostalih i kontrolnih i 1 = podskupine bolesnih i sumnjivih prema kriterijima SZO za EN); na osi y 1 - 5 su stadiji bubrežnog oštećenja; CG-Cockcroft - Gault*

Dijagnostička osjetljivost i specifičnost jednadžbe MDRD2 bile su 58 % (95 % IP 49-67) i 90 % (95 % IP 88-91), s POV od 5,64 (95 % IP 4,49-7,07), NOV od 0,47 (95 % IP 0,38-0,58) i DOI od 12,03. PPV je iznosila 36 % (95 % IP 32-42), NPV 96 % (95 % IP 94-96), dok je površina ispod ROC krivulje iznosila 0,758 % (95 % IP 0,734-0,781), što govori o dobroj dijagnostičkoj točnosti i ove jednadžbe. Slike 16 i 17 prikazuju ROC krivulju i interaktivni dijagram odnosa između dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti za jednadžbu MDRD2.

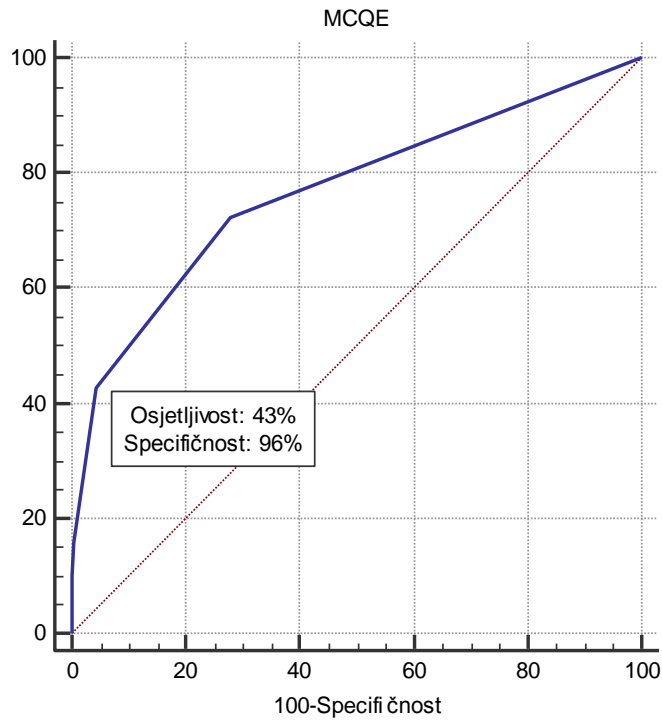


*Slika 16. ROC krivulja za jednadžbu MDRD2; MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study*

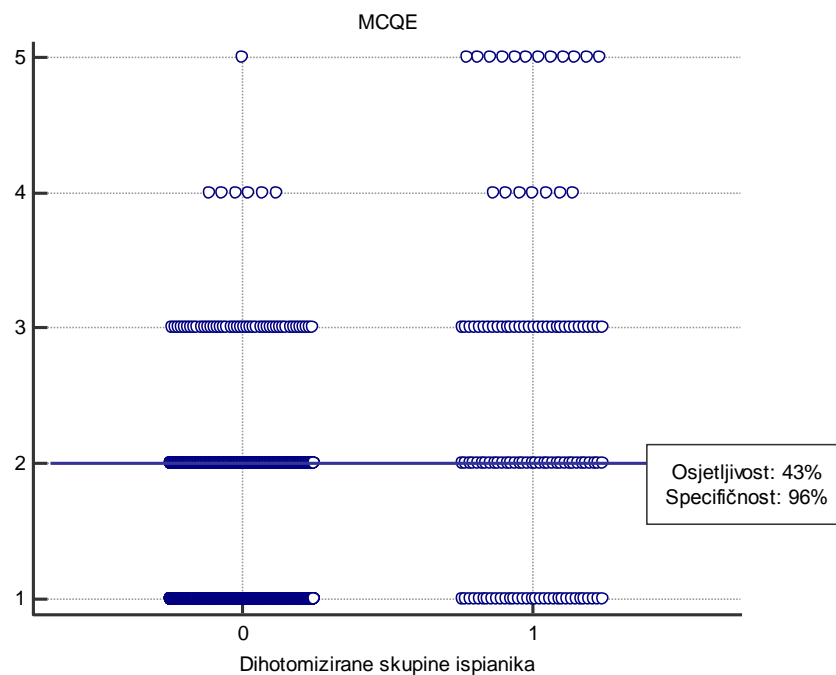


**Slika 17.** Interaktivni dijagram za jednadžbu MDRD2; 0 i 1 na osi x predstavljaju dihotomizirane skupine ispitanika (0 = podskupine ostalih i kontrolnih i 1 = podskupine bolesnih i sumnjivih prema kriterijima SZO za EN); na osi y 1 - 5 su stadiji bubrežnog oštećenja; MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study

Dijagnostička osjetljivost jednadžbe MCQE bila je samo 43 % (95 % IP 34-52) uz visoku dijagnostičku specifičnost od 96 % (95 % IP 94-97), POV 9,97 (95 % IP 7,10-13,99) i NOV 0,60 (95 % IP 0,51-0,70). DOI je iznosio 15,22 i bio je najveći u odnosu na ostale jednadžbe. PPV jednadžbe MCQE bila je 50 % (95 % IP 42-58), a NPV 94 % (95 % IP 93-95). Vrijednost površine ispod ROC krivulje iznosila je 0,768 (95 % IP 0,745-0,791), što pokazuje dobru dijagnostičku točnost i ove jednadžbe (Slike18 i 19).

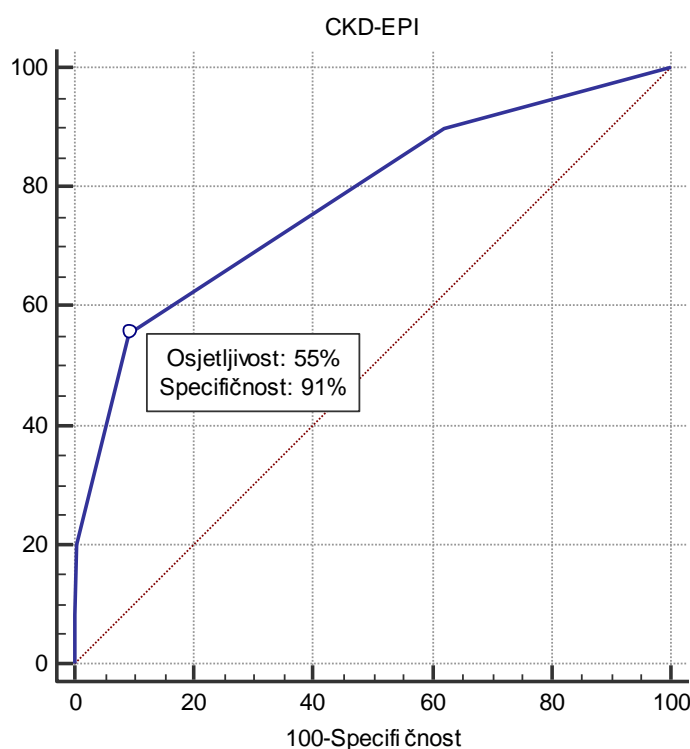


**Slika 18.** ROC krivulja za jednadžbu MCQE; MCQE-Mayo clinic quadratic equation

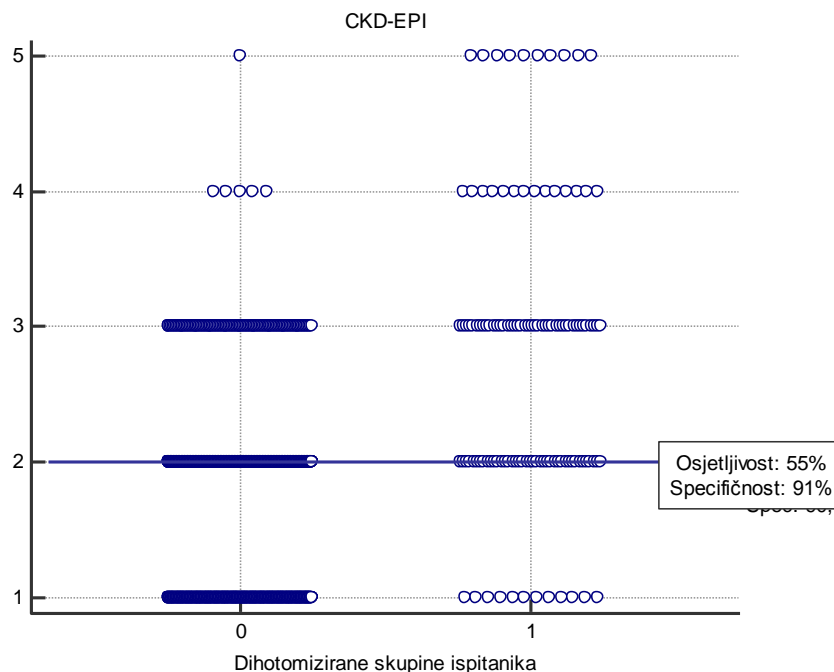


**Slika 19.** Interaktivni dijagram za jednadžbu MCQE; 0 i 1 na osi x predstavljaju dihotomizirane skupine ispitanika (0 = podskupine ostalih i kontrolnih i 1 = podskupine bolesnih i sumnjivih prema kriterijima SZO za EN); na osi y 1 - 5 su stadiji bubreznog oštećenja; MCQE-Mayo clinic quadratic equation

Za jednadžbu CKD-EPI dobiveni su sljedeći podaci: dijagnostička osjetljivost 55 % (95 % IP 46-65), dijagnostička specifičnost 91 % (95 % IP 89 - 92), POV 6,30 (95 % IP 4,74-7,68), NOV 0,49 (95 % IP 0,40-0,60) i DOI 12,30. PPV jednadžbe CKD-EPI iznosila je 38 % (95 % IP 32,3-43,5), a NPV 95 % (95 % IP 94-96). Površina ispod ROC krivulje od 0,778 (95 % IP 0,754 to 0,800) je i u slučaju jednadžbe CKD-EPI ukazivala na dobru dijagnostičku točnost. Grafički prikaz odnosa između dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti za jednadžbu CKD-EPI prikazan je ROC krivuljom (Slika 20) i interaktivnim dijagramom (Slika 21).

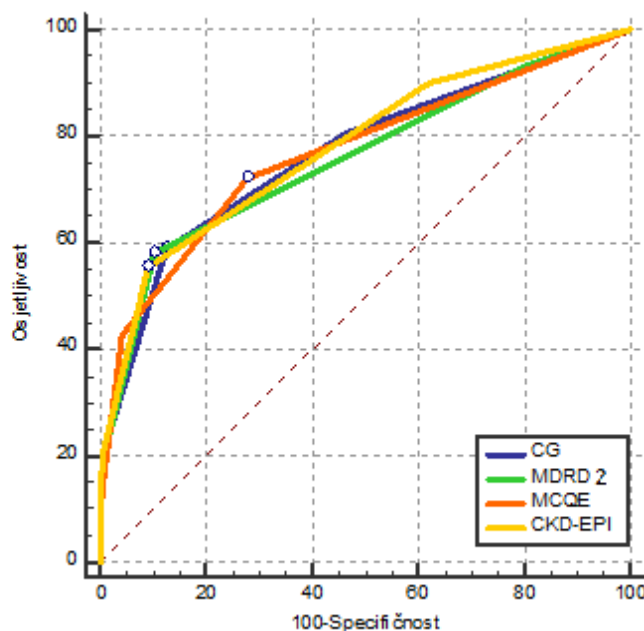


*Slika 20. ROC krivulja za jednadžbu CKD-EPI; CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*



**Slika 21.** Interaktivni dijagram za jednadžbu CKD-EPI; 0 i 1 na osi x predstavljaju dihotomizirane skupine ispitanika (0 = podskupine ostalih i kontrolnih i 1 = podskupine bolesnih i sumnjivih prema kriterijima SZO za EN); na osi y 1 - 5 su stadiji bubrežnog oštećenja; CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Usporedba ROC krivulja za sve četiri prediktivne jednadžbe prikazana je na slici 22.



**Slika 22.** ROC krivulja za sve četiri jednadžbe (CG u odnosu na MDRD2 u odnosu na MCQE u odnosu na CKD-EPI); CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

#### 4.4. Prevalencija 3. – 5. stadija bubrežne funkcije ovisno o primijenjenoj jednadžbi

Kako bi se utvrdile razlike u određivanju prevalencije pojedinih stadija bubrežnog oštećenja učinjena je međusobna usporedba svih korištenih jednadžbi, tj usporedba parova jednadžbi (svaka sa svakom) primjenom statističkog testa ANOVA za analizu varijance. U svim je skupinama uočena statistički značajna razlika ovisno o primijenjenoj jednadžbi pa je, kako bi se utvrdilo između kojih skupina postoji razlika, učinjena analiza hi-kvadrat *post hoc* testom. Iz dobivenih podataka izračunana je međusobna podudarnost jednadžbi u svrstavanju ispitanika u stadije - bubrežnog oštećenja.

Prema rezultatima svih jednadžbi postoji razlika u svrstavanju ispitanika u stadije - 3 - 5 bubrežnog oštećenja ovisno o dobnim skupinama; prema rezultatima jednadžbe MDRD2 značajno više ispitanika iz najmlađe dobne skupine (18 - 42 god.) i dobne skupine od 43 - 66 godina ima stadije - 3 - 5 nego prema rezultatima ostalih jednadžbi. Jednadžbom MCQE neovisno o dobnim skupinama ima najmanje ispitanika u stadijima - 3 - 5. U najstarijoj dobnoj skupini (> 67 god.) najviše stadija - 3 - 5 ima prema rezultatima jednadžbe CG, a najmanje prema rezultatima jednadžbe MCQE.

Prema mjestu uključenja ispitanika također postoji razlika u određivanju prevalencije stadija - 3 - 5 ovisno o primijenjenoj jednadžbi. U podskupini ispitanika iz kontrolnih sela najmanje stadija 3 - 5 ima prema MCQE (1,2 %), a najviše prema CG (8,1 %). U podskupini bolesnih iz sela s EN prema sve četiri jednadžbe podjednako se procijenio postotak ispitanika sa stadijima - 3 - 5 (85 % prema 88 % prema 82 % prema 88 %). U podskupinama sumnjivih, rizičnih i ostalih ispitanika prema jednadžbama CG, MDRD2 i CKD-EPI ima podjednako stadija - 3 - 5, a odskače jednadžba MCQE sa statistički značajno manjim brojem ispitanika sa stadijem - 3 - 5 u sve tri podskupine.

U skupini ispitanika sa šećernom bolesti postoji razlika u postotku ispitanika sa stadijem - 3 - 5 bubrežnog oštećenja ovisno o jednadžbi. Najviše stadija - 3 - 5, 16 %, ima prema rezultatima jednadžbe MDRD2, 15 % prema CG, 14 % prema CKD-EPI i prema MCQE samo 9,4 %. Slična je raspodjela stadija - 3 - 5 kod ispitanika s arterijskom hipertenzijom; CG 24 %, MDRD2 21 %, CKD-EPI 20 % i MCQE 12 %.

U tablici 28. prikazan je postotak ispitanika sa stadijima bubrežnog oštećenja 3. – 5. u različitim skupinama ispitanika prema četiri prediktivne jednadžbe, a u tablici 28. i na slici 23. podudarnosti jednadžbi u klasifikaciji stadija - 3 - 5 bubrežnog oštećenja (analiza varijance ANOVA i *post hoc* hi-kvadrat test) za sve skupine ispitanika. Tablica 28. je zalihosna jer uspoređuje jednadžbu CG s ostale tri (MDRD2, MCQE i CKD-EPI), zatim

uspoređuje jednadžbu MDRD2 s ostale dvije (MCQE i CKD-EPI) i na kraju MCQE s jednadžbom CKD-EPI.

**Tablica 28.** Stadiji bubrežne funkcije 3 - 5 prema četiri jednadžbe u različitim skupinama ispitanika

| Jednadžba               |       | % Stadija 3 -5 |       |      |         |
|-------------------------|-------|----------------|-------|------|---------|
|                         |       | CG             | MDRD2 | MCQE | CKD-EPI |
| Dobne skupine           | 18-42 | 0,4            | 1,2   | 0,4  | 0,4     |
|                         | 43-66 | 5,0            | 7,4   | 2,5  | 5,6     |
|                         | 67+   | 50             | 40    | 23   | 38      |
| Klasifikacija EN        | 1     | 85             | 88    | 82   | 88      |
|                         | 2     | 49             | 47    | 28   | 43      |
|                         | 3     | 6,7            | 8,6   | 3,0  | 6,7     |
|                         | 4     | 14             | 12    | 5,6  | 11      |
|                         | 5     | 8,2            | 6,4   | 1,2  | 5,5     |
| Šećerna bolest          | ne    | 15             | 13    | 6,8  | 12      |
|                         | da    | 15             | 16    | 9,4  | 14      |
| Arterijska hipertenzija | ne    | 9,8            | 9,2   | 4,3  | 7,8     |
|                         | da    | 24             | 21    | 12   | 20      |

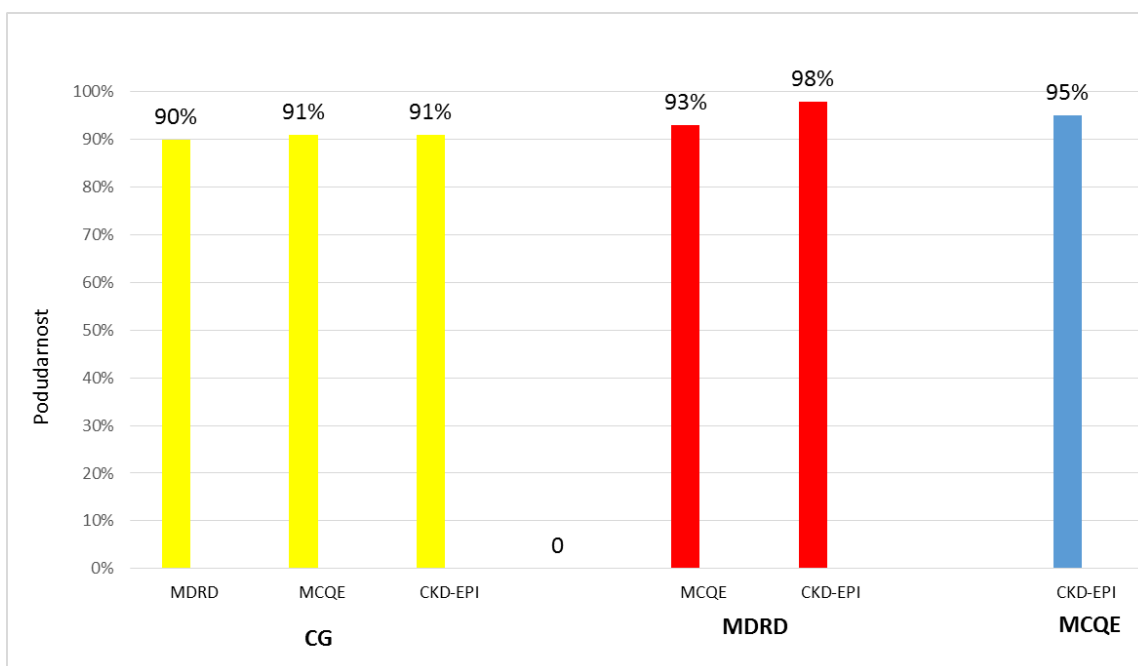
Rezultati su prikazani kao postotak ispitanika; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; EN – endemska nefropatija

**Tablica 29.** Podudarnost jednadžbi u klasifikaciji 3. – 5. stadija bubrežne bolesti za sve skupine ispitanika

|   | CG : MDRD                             | CG : MCQE                             | CG : CKD-EPI                          | MDRD : MCQE                           | MDRD : CKD-EPI                         | MCQE : CKD-EPI                        |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| podudarnost u klasifikaciji stadija 3-5 | 90%                                   | 91%                                   | 91%                                   | 93%                                   | 98%                                    | 95%                                   |
| hi-kvadrat test                         | $\chi^2=577,9$ ,<br>df=1,<br>P<0.001* | $\chi^2=569,7$ ,<br>df=1,<br>P<0.001* | $\chi^2=643,4$ ,<br>df=1,<br>P<0.001* | $\chi^2=743,1$ ,<br>df=1,<br>P<0.001* | $\chi^2=1339,0$ ,<br>df=1,<br>P<0.001* | $\chi^2=836,9$ ,<br>df=1,<br>P<0.001* |

Rezultati su prikazani kao postotak; \* ANOVA; hi-kvadrat post hoc test, df = 1, P <0,001; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration





**Slika 23.** Podudarnost jednadžbi u klasifikaciji stadija 3 -5 bubrežnog oštećenja; izraženo kao % u odnosu na ukupan broj ispitanika ( $n = 1573$ ); CG prema MDRD2, CG prema MCQE, CG prema CKD-EPI, MDRD2 prema MCQE, MDRD2 prema CKD-EPI, MCQE prema CKD-EPI; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

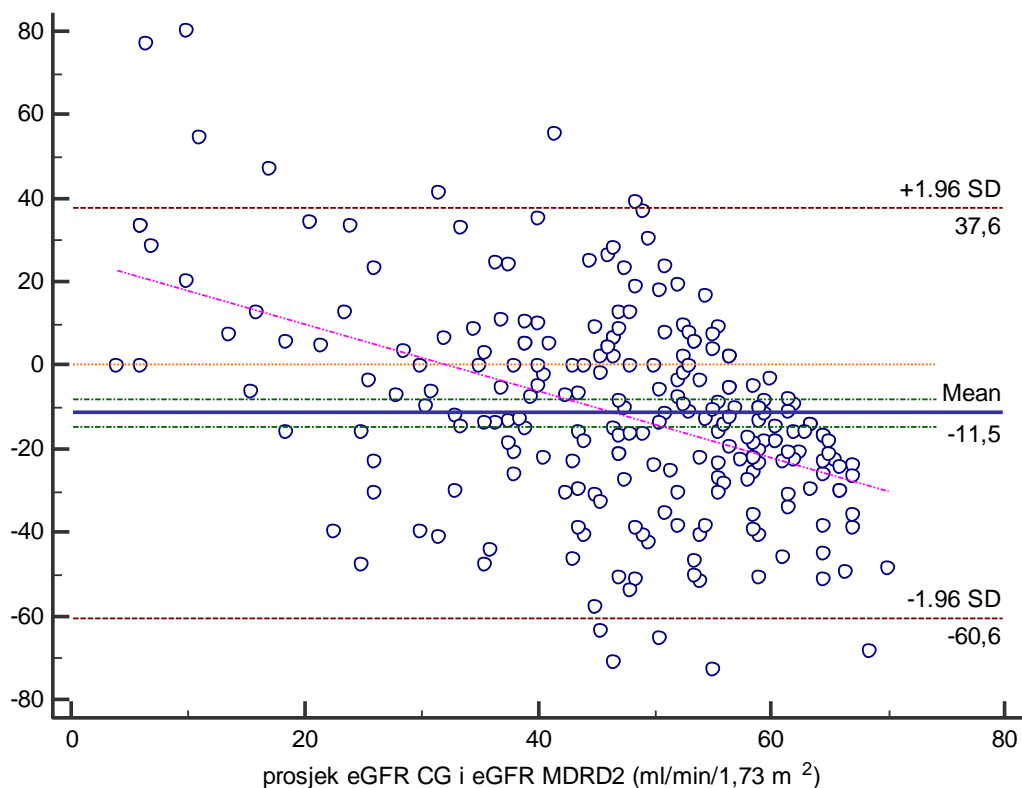
Usporedbom aritmetičkih sredina broja ispitanika sa stadijem - 3 - 5 (izraženo kao % ispitanika) izračunanih prema četiri različite prediktivne jednadžbe uočeno je da se jednadžbe statistički značajno razlikuju u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja, tj. da se razlikuju prevalencije koje se dobiju tim jednadžbama (CG prema MDRD2  $\chi^2 = 577,9$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$ ; CG prema MCQE  $\chi^2 = 569,7$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$ ; CG prema CKD-EPI  $\chi^2 = 643,4$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$ ; MDRD2 prema MCQE  $\chi^2 = 743,1$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$ ; MDRD2 prema CKD-EPI  $\chi^2 = 1339,0$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$  i MCQE prema CKD-EPI  $\chi^2 = 836,9$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$ ).

Najlošiju usporedbu, tj. podudarnost u klasifikaciji ispitanika u stadije - 3 - 5, s ostalim trima jednadžbama imala je jednadžba CG (CG prema MDRD2 90%, CG prema MCQE 91 %; CG prema CKD-EPI 91 %). Najbolju su usporedbu pokazale jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI s podudarnošću od 98 %. Jednadžba MCQE se u klasifikaciji u stadije - 3 - 5 podjednako slagala s MDRD2 i CKD-EPI (93 % prema 94 %).

Razliku u svrstavanju ispitanika u stadije bubrežnog oštećenja 3 - 5 kao i procijenjeno odstupanje u svrstavanju primjenjujući različite prediktivne jednadžbe dodatno je potvrđeno

Bland Altman-ovom analizom te je utvrđen interval pouzdanosti unutar kojeg se nalazi 95% razlika između određivanja.

Statistička analiza usporedivosti jednadžbi CG i MDRD2 u svrstavanju u stadije - bubrežnog oštećenja - 3 - 5 po Bland Altman-u pokazala je odstupanje između jednadžbi (N=235; prosječni otklon = -11,5%; 95% IP = 37,6 do -60,6%) što je posebno izraženo kod nižih vrijednosti eGFR (snižanjem vrijednosti raste rasipanje rezultata). Veća usporedivost i homogenost rezultata vidljiva je za vrijednosti eGFR >50 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. I ovim testom utvrđena je statistički značajna razlika u svrstavanju u stadije - 3 - 5 između jednadžbi CG i MDRD2 (95 % IP srednje razlike ne sadrži nulu, P <0,0001) (Slika 24).

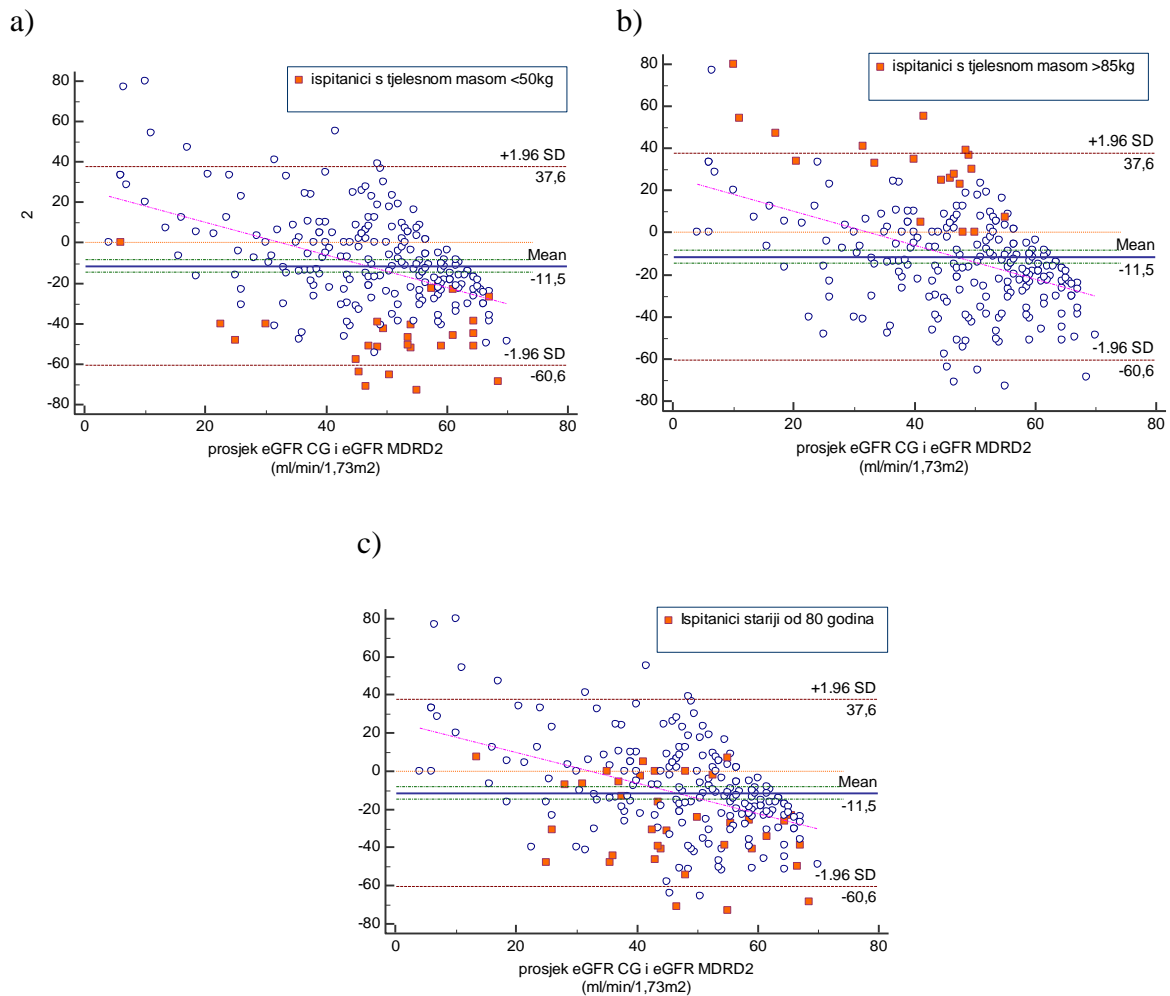


**Slika 24.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi CG i MDRD2 u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5.

*Na x osi prikazane su srednje vrijednosti eGFR procijenjene CG i MDRD2 jednadžbama, na y osi prikazane su razlike između vrijednosti eGFR procijenjene CG i MDRD2 jednadžbama izražene kao % odstupanja; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study; eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije*

Vrijednosti eGFR koje nisu bile unutar 95% IP od 37,6 do -60,6% pripadale su ispitanicima s tjelesnom masom manjom od 50 i većom od 85 kg. Veće rasipanje rezultata unutar 95% IP kao i vrijednosti eGFR izvan donje granice 95% IP ( -60,6% ) imali su ispitanici stariji od 80

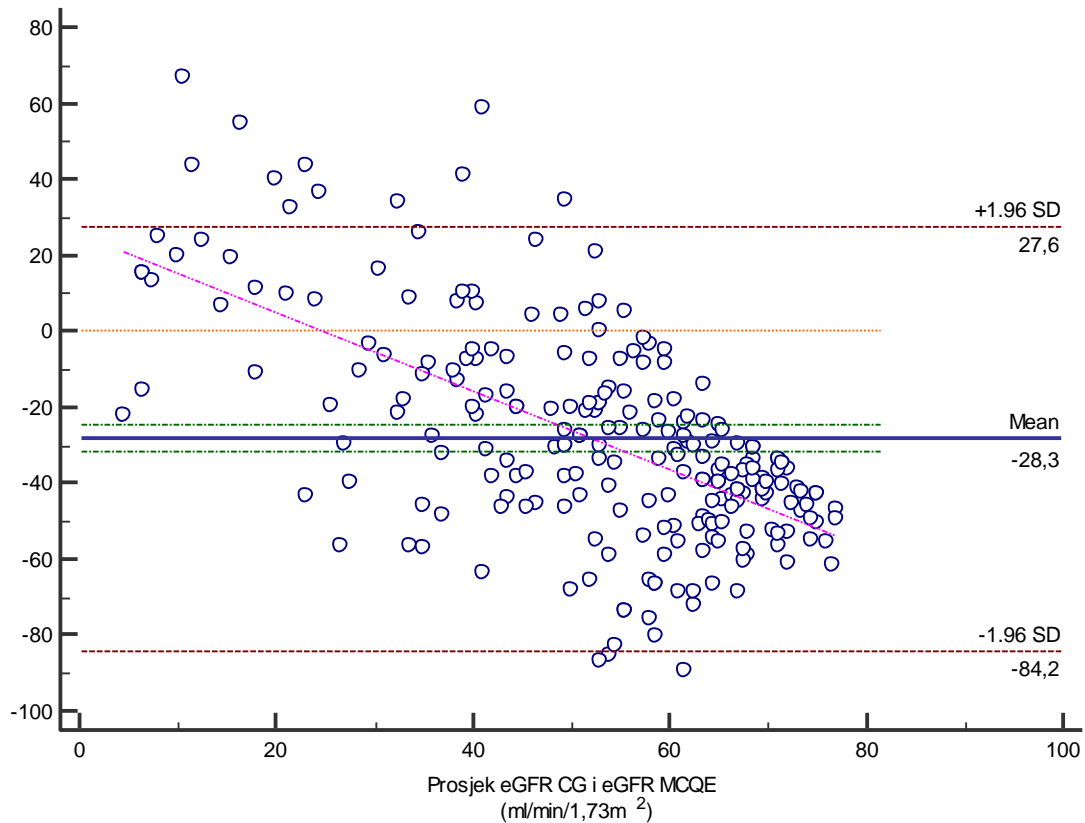
godina. Navedeni rezultati potvrđuju ovisnost jednadžbe CG o tjelesnoj masi i dobi (Slika 25).



**Slika 25.** Bland-Altmanov grafikoni za usporedbu jednadžbi CG i MDRD2 u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study; eGFR- procijenjena brzina glomerularne filtracije.  
 a) Ispitanici s tjelesnom masom <50kg; b) Ispitanici s tjelesnom masom >85kg; c) Ispitanici stariji od 80 godina

Usporedbom jednadžbi CG i MCQE utvrđena je još značajnija razlika u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja - 3 - 5 (N=235, srednja vrijednost razlike u mjerenjima = -28,3%; 95% IP = 27,6 do -84,2%).

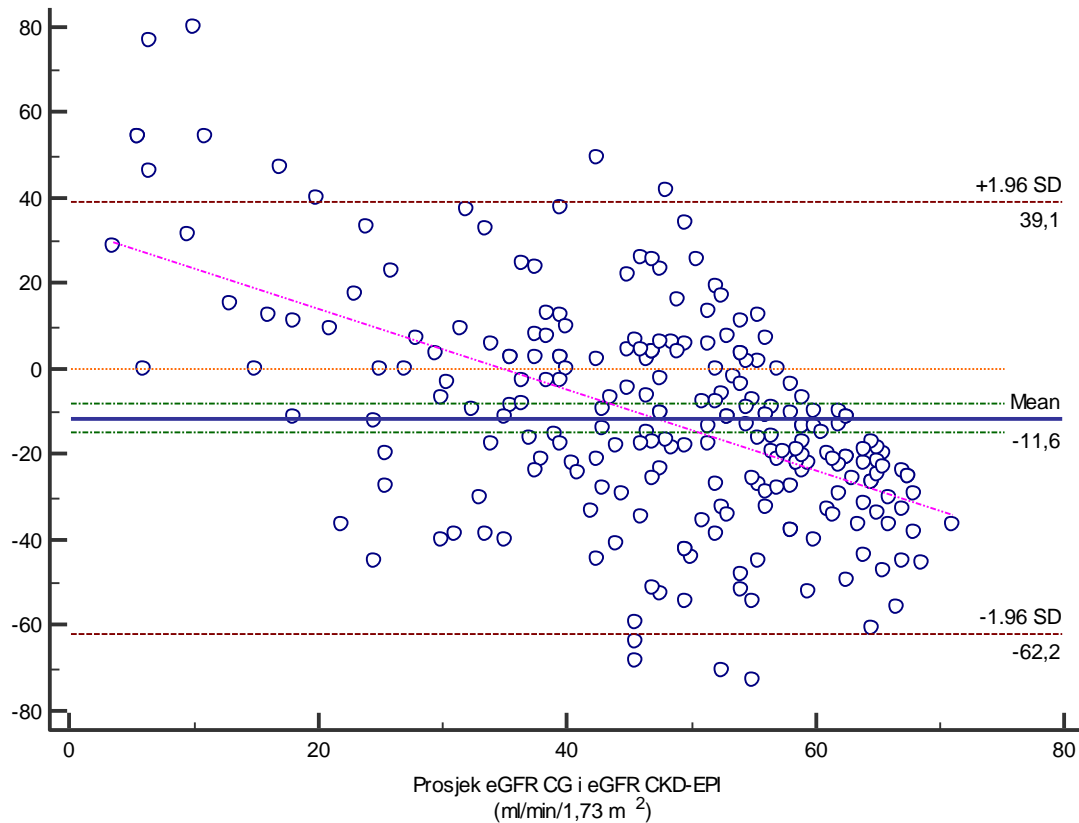
95% IP srednje razlike ne sadrži nulu pa je razlika u svrstavanju u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 između navedenih jednadžbi statistički značajna (P <0,0001) (Slika 26). U ovoj usporedbi je najveća razlika uočena kod ispitanika s tjelesnom masom > 85 kg i tri ispitanika s ekstremno niskom tjelesnom masom (34, 40 i 42 kg).



**Slika 26.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi CG i MCQE u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5

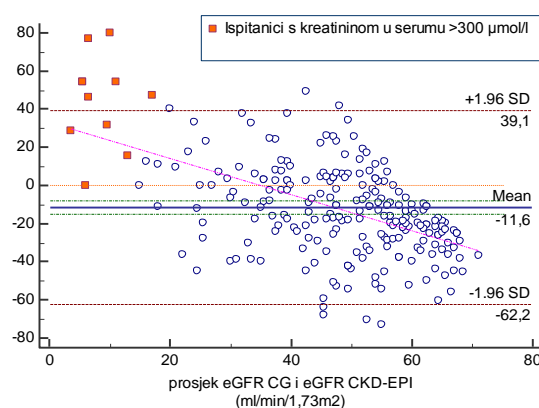
Na x osi prikazane su srednje vrijednosti eGFR procijenjene CG i MCQE jednadžbama, na y osi prikazane su razlike između vrijednosti eGFR procijenjene CG i MCQE jednadžbama izražene kao % odstupanja; CG-Cockcroft - Gault, MCQE-Mayo clinic quadratic equation; eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije

Analiza usporedivosti jednadžbi CG i CKD-EPI Bland-Altmanovim testom pokazala je i u ovom slučaju odstupanje između jednadžbi i statistički značajnu razliku u svrstavanju u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 (N=235; prosječni otklon = -11,6 %; 95% IP = 39,1 do -62,2 %; 95 % IP srednje razlike ne sadrži nulu,  $P < 0,0001$ ) (Slika 27). Uočena razlika značajnija je kod ispitanika s prekomjernom tjelesnom masom (>85 kg) i izrazito visokim koncentracijama kreatinina u serumu (raspon vrijednosti od 332 do 992  $\mu\text{mol/l}$ ) (Slika 28).



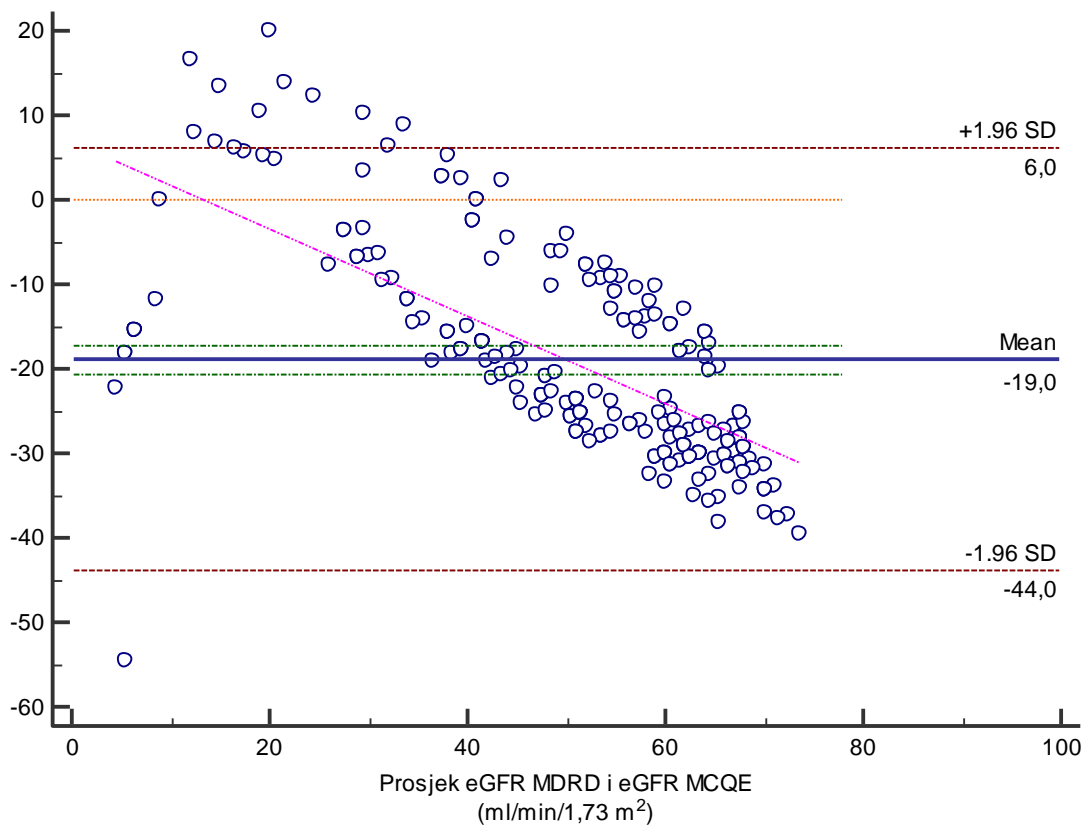
**Slika 27.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi CG i CKD-EPI u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5

Na x osi prikazane su srednje vrijednosti eGFR procijenjene CG i CKD-EPI jednadžbama, na y osi prikazane su razlike između vrijednosti eGFR procijenjene CG i CKD-EPI jednadžbama izražene kao % odstupanja; CG-Cockcroft - Gault, CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; eGFR- procijenjena brzina glomerularne filtracije



**Slika 28.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi CG i CKD-EPI u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5; ; CG-Cockcroft - Gault, CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; eGFR- procijenjena brzina glomerularne filtracije. Ispitanici s kreatininom u serumu > 300 µmol/l označeni su crvenom bojom

Uspoređujući jednadžbe MDRD2 i MCQE utvrđena je proporcionalna razlika u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja - 3 - 5 (N=214, srednja vrijednost razlike u mjerenjima = -19,0%; 95% IP = 6,0 do -44,0%). 95% IP srednje razlike ne sadrži nulu pa je razlika u svrstavanju u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 između navedenih jednadžbi statistički značajna (P <0,0001). Vrijednosti eGFR izvan gornje granice 95% IP srednje vrijednost razlike u mjerenjima (6,0%) imali su ispitanici s koncentracijama kreatinina u serumu u rasponu od 174 – 322  $\mu\text{mol/l}$  (Slika 29).

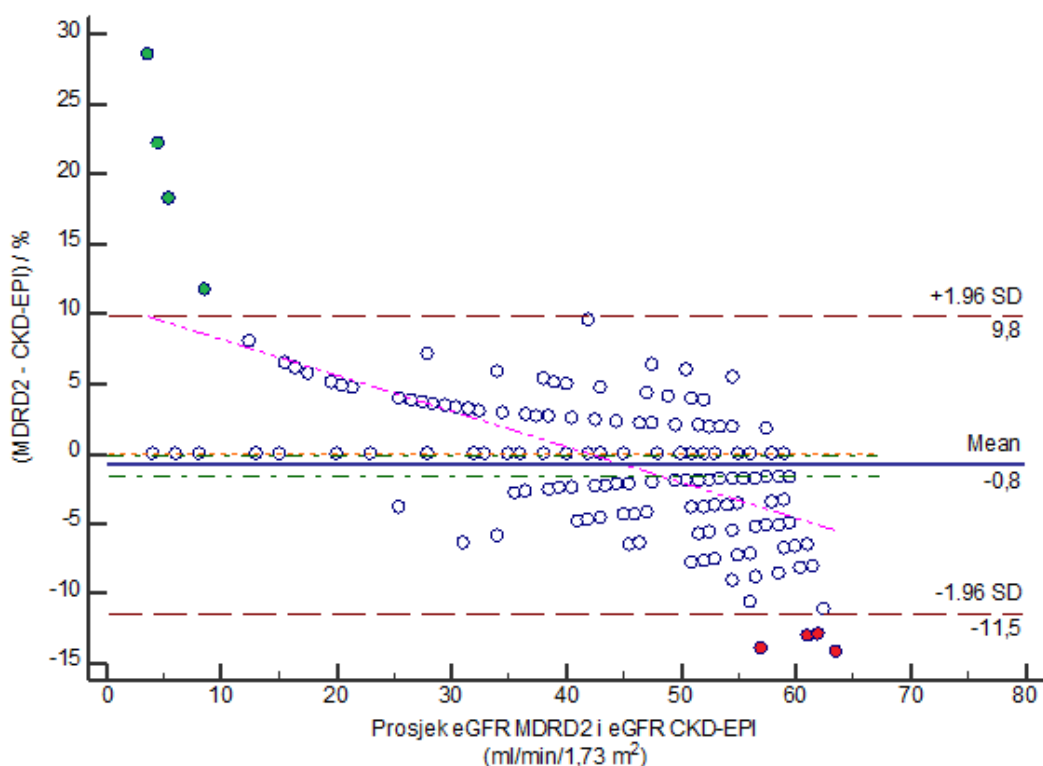


**Slika 29.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi MDRD2 i MCQE u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5

Na x osi prikazane su srednje vrijednosti eGFR procijenjene MDRD2 i MCQE jednadžbama, na y osi prikazane su razlike između vrijednosti eGFR procijenjene MDRD2 i MCQE jednadžbama izražene kao % odstupanja; MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation: eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije

Statistička analiza usporedivosti jednadžbi MDRD2 i CKD-EPI u svrstavanju u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 po Bland Altman-u pokazala je najmanje odstupanje između jednadžbi (N=214; prosječni otklon = -0,8%; 95% IP = 9,8 do -11,5%). Iako je srednja vrijednost razlike u mjerenjima svega -0,8%, 95% IP srednje razlike ne sadrži nulu (95% IP =

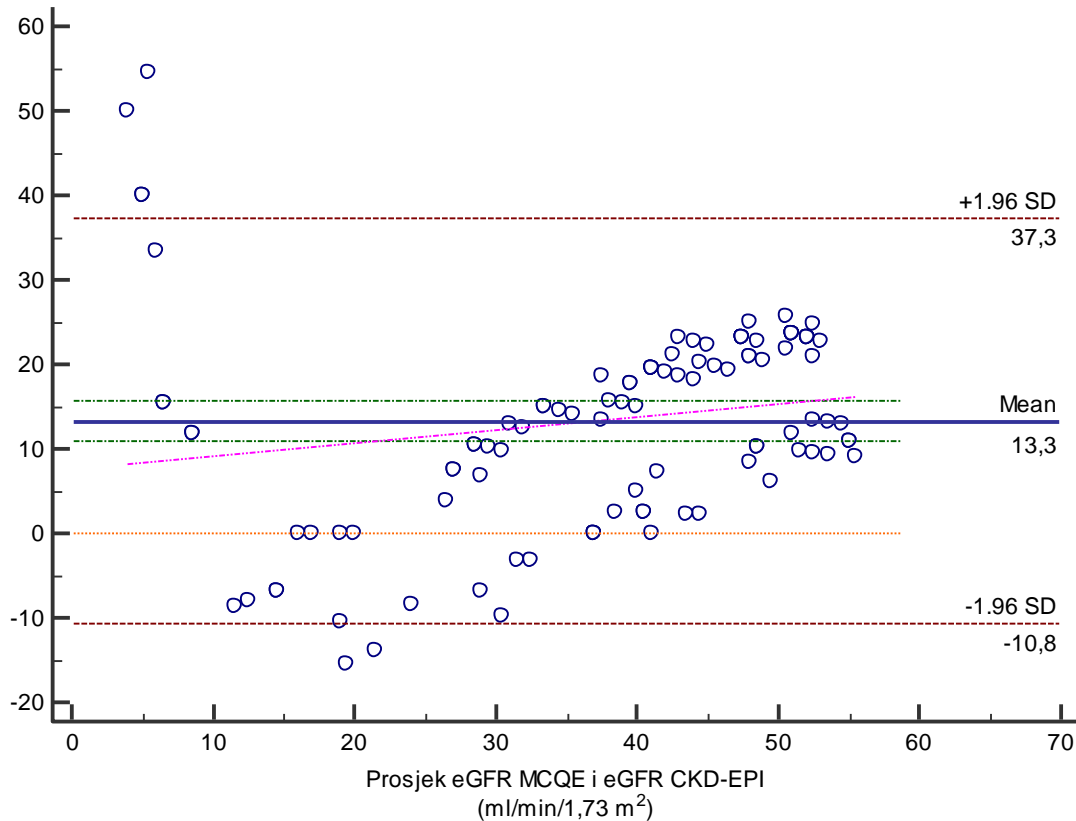
-1,5748 do -0,1069) pa je razlika između jednadžbi MDRD2 i CKD-EPI statistički značajna (Slika 30). Rezultati koji su odstupali izvan gornje granice 95% IP prosječnog otklona u mjerenjima (9,8%) odnose se na ispitanike koji su imali koncentraciju kreatinina u serumu > 550  $\mu\text{mol/l}$  i različite vrijednosti eGFR prema MDRD i CKD-EPI jednadžbama, iako su svi klasificirani u 5. stadij KBB neovisno o jednadžbi (na slici 30 označeni zelenom bojom). Rezultati izvan donje granice 95% IP prosječnog otklona u mjerenjima (-11,5%) odnose se na ispitanike s različitim vrijednostima eGFR ovisno o primjenjenoj jednadžbi prema kojima su svrstani u različite stadije bubrežnog oštećenja - stadij - 3 prema jednadžbi MDRD i stadij - 2 prema jednadžbi CKD-EPI (na slici 30 označeni crvenom bojom).



**Slika 30.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi MDRD2 i CKD-EPI u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5

Na x osi prikazane su srednje vrijednosti eGFR procijenjene MDRD2 i CKD-EPI jednadžbama, na y osi prikazane su razlike između vrijednosti eGFR procijenjene MDRD2 i CKD-EPI jednadžbama izražene kao % odstupanja; MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije

Uspoređujući jednadžbe MCQE i CKD-EPI utvrđena je razlika u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja - 3 - 5 (N=110, srednja vrijednost razlike u mjerenjima = -13,3%; 95% IP = 37,3 do -10,8%). 95% IP srednje razlike ne sadrži nulu pa je razlika u svrstavanju u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 između navedenih jednadžbi statistički značajna (P <0,0001) (Slika 31).



**Slika 31.** Bland-Altmanov grafikon za usporedbu jednadžbi MCQE i CKD-EPI u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja 3-5

Na x osi prikazane su srednje vrijednosti eGFR procijenjene MCQE i CKD-EPI jednadžbama, na y osi prikazane su razlike između vrijednosti eGFR procijenjene MCQE i CKD-EPI jednadžbama izražene kao % odstupanja; MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; eGFR-procijenjena brzina glomerularne filtracije



#### 4.5. Podudarnost jednadžbi u klasifikaciji stadija bubrežnog oštećenja (stupanj slaganja)

Slaganje različitih jednadžbi u klasifikaciji pacijenata u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 procijenjeno je Cohenovom *kappa*-statistikom (Tablica 30).

**Tablica 30:** Podudarnost jednadžbi u klasifikaciji 3. – 5. stadija bubrežnog oštećenja

|                                | CG :<br>MDRD | CG :<br>MCQE | CG :<br>CKD-EPI | MDRD :<br>MCQE | MDRD :<br>CKD-EPI  | MCQE :<br>CKD-EPI |
|--------------------------------|--------------|--------------|-----------------|----------------|--------------------|-------------------|
| <b>kappa index*</b>            | 0,608        | 0,555        | 0,638           | 0,646          | 0,924              | 0,699             |
| podudarnost stadija<br>KBB 3-5 | znatna       | umjerena     | znatna          | znatna         | gotovo<br>savršena | znatna            |

\*0 - 0,20 blaga, 0,21 - 0,40 relativno niska, 0,41 - 0,60 umjerena, 0,61 - 0,80 znatna, 0,81 - 1 gotovo savršena podudarnost – prilagođeno prema engl. 0 – 0.20 slight, 0.21 – 0.40 fair, 0.41 – 0.60 moderate, 0.61 – 0.80 substantial, and 0.81 – 1 almost perfect agreement [105]; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; KBB-kronična bubrežna bolest

Između svih uspoređivanih jednadžbi postojala je statistički značajna razlika (Kappa test,  $P < 0,001$ ). Najlošiju usporedbu u klasifikaciji stadija - 3 - 5 bubrežnog oštećenja imale su jednadžbe CG prema MCQE (kappa-indeks 0,555, umjerena podudarnost), a najbolju jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI (kappa-indeks 0,924, gotovo savršena podudarnost). Ostale kombinacije usporedivosti, CG prema MDRD2, CG prema CKD-EPI, MDRD2 prema MCQE i MCQE prema CKD-EPI imale su znatnu podudarnost (kappa-indeksi od 0,608 do 0,699).

#### 4.6. Povezanost TGFβ i bubrežne funkcije procijenjenje prediktivnim jednadžbama

U ovom istraživanju nije pronađena statistički značajna razlika u vrijednostima TGFβ između ispitanika iz endemskih i kontrolnih sela (53,58; 30,95 - 99,06 prema 56,02; 35,65 - 91,62;  $P = 0,648$ ) (Tablica 31).

**Tablica 31:** TGFβ prema mjestu uključenja u istraživanje

|                          | Endemska sela<br>(n = 680) | Kontrolna sela<br>(n = 209) | P          |
|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------|
| <b>TGFβ</b>              | 53,58                      | 56,02                       | 0,648      |
| <b>(ng/g kreatinina)</b> | (39,95 - 99,06)            | (35,65 - 91,62)             | $z=-0,456$ |

Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine 95 % IP u ng/g kreatinina; TGFβ – transformirajući čimbenik rasta β

Uspoređujući vrijednosti TGFβ u pojedinim endemskim podskupinama s koncentracijama dobivenim kod ispitanika iz kontrolnih sela uočen je trend snižavanja vrijednosti TGFβ od podskupine bolesnih i sumnjivih prema ostalim podskupinama (74,84 prema 60,50 prema 50,52 prema 53, 43 prema 56,02); međutim, uočena razlika nije statistički značajna (H = 7,219; P = 0,125) (Tablica 32).

**Tablica 32:** TGFβ u podskupinama ispitanika prema kriterijima SZO za EN

|                                   | <b>Bolesni<br/>(n = 28)</b>  | <b>Sumnjivi<br/>(n = 62)</b> | <b>Rizični<br/>(n = 183)</b> | <b>Ostali<br/>(n = 407)</b>  | <b>Kontrolna<br/>sela<br/>(n = 209)</b> | <b>Kruskal-<br/>Wallis<br/>H i P</b> |
|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---|--------------------------------------|
| <b>TGFβ<br/>(ng/g kreatinina)</b> | 74,84<br>(46,74 -<br>107,58) | 60,50<br>(41,66 -<br>85,69)  | 50,52<br>(26,17 -<br>91,79)  | 53,43<br>(30,03 -<br>104,50) | 56,02<br>(35,65 -<br>91,62)             | H=7,219<br>P=0,125                   |

*Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine 95 % IP u ng/g kreatinina; TGFβ – transformirajući čimbenik rasta β*

Također, uspoređujući dobivene vrijednosti TGFβ s vrijednostima eGFR izračunanim prema sve četiri prediktivne jednadžbe (CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI) u skupinama ispitanika iz endemskih i kontrolnih sela nije uočena povezanost bubrežne funkcije i koncentracije TGFβ bez obzira na primijenjenu jednadžbu i mjesto uključenja u istraživanje. Vrijednost korelacije brojčano je iskazana Spearmanovim koeficijentom korelacije ( $r_s$ ) uz koeficijent značajnosti P (EN sela CG  $r_s = 0,023$ , P = 0,651; MDRD  $r_s = 0,024$ , P = 0,538; MCQE  $r_s = 0,021$ , P = 0,756 i CKD-EPI  $r_s = 0,021$ , P = 0,756; kontrolna sela CG  $r_s = 0,033$ , P = 0,744; MDRD  $r_s = 0,032$ , P = 0,654 ; MCQE  $r_s = 0,036$ , P = 0,831 i CKD-EPI  $r_s = 0,034$ , P = 0,781) (Tablica 33).

**Tablica 33:** Povezanost TGF β i bubrežne funkcije prema jednadžbama CG, MDRD2, MCQE i CKD-EPI

|                                   |                   | <b>CG</b>                  | <b>MDRD</b>                | <b>MCQE</b>                | <b>CKD-EPI</b>             |
|-----------------------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>TGFβ<br/>(ng/g kreatinina)</b> | Endemska<br>sela  | P = 0,651<br>$r_s = 0,023$ | P = 0,538<br>$r_s = 0,024$ | P = 0,756<br>$r_s = 0,021$ | P = 0,616<br>$r_s = 0,020$ |
|                                   | Kontrolna<br>sela | P = 0,744<br>$r_s = 0,033$ | P = 0,654<br>$r_s = 0,032$ | P = 0,831<br>$r_s = 0,036$ | P = 0,781<br>$r_s = 0,034$ |

*Rezultati su prikazani Spearmanovim koeficijentom korelacije ( $r_s$ ); P < 0,05; TGFβ – transformirajući čimbenik rasta β; CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

## 5. RASPRAVA

Unatoč povećanju svijesti o problemima koje donosi KBB još uvijek nedostaju epidemiološki podaci o rasprostranjenosti KBB iz mnogih područja Hrvatske. U Hrvatskoj se kao jedan od specifičnih uzroka KBB spominje i EN [106], pa su u ovom istraživanju obuhvaćeni ispitanici iz hrvatskoga ruralnog područja (ukupno 1573) uključujući sela bez (n=344) i s EN (n=1229). S obzirom da su ispitanici iz endemske podskupine bolesnih i sumnjivih stariji nego što su bili prije dvadesetak godina pretpostavka je da se nalaze u uznapredovaloj fazi KBB.

U ukupnom broju ispitanika bilo je 37,5 % muškaraca (590 ispitanika) i 62,5 % žena (983 ispitanica). Omjer spolova nije se razlikovao s obzirom na mjesto uključenja u istraživanje, a prosječna dob svih ispitanika iznosila je 51,8 godina i bila je podjednaka u muškaraca i žena. Statistički značajna razlika u dobi između muškaraca i žena pronađena je u endemskim selima gdje su žene bile starije od muškaraca. Prosječna tjelesna težina svih ispitanika razlikovala se statistički značajno između muškaraca i žena neovisno o mjestu uključenja u istraživanje, ali i unutar endemskih i kontrolnih sela, a iznosila je 78 kg (raspon 34 - 150 kg). Muškarci su bili teži i imali su statistički značajno veću koncentraciju kreatinina u odnosu na žene unutar endemskih i kontrolnih sela. Međutim, kreatinin kao serumski biljeg praćenja bubrežne funkcije ima ograničenu primjenu jer se koncentracija kreatinina u serumu i mokraći mijenja ovisno o jačini bubrežnog oštećenja. Tek kada je oko 50 % nefrona nefunkcionalno, serumska koncentracija kreatinina značajnije će se promijeniti. Zbog toga kreatinin nije najbolji i najraniji pokazatelj bubrežne insuficijencije.

Prema literaturnim podacima u razvijenim zemljama najčešće bolesti koje prouzrokuju KBB jesu šećerna bolest: 20 - 40 %, hipertenzija: 5 - 20 % i glomerulonefritisi: 10 - 20 % [107] pa su iz tog razloga svi ispitanici u ovom istraživanju dodatno podijeljeni u podskupine sa i bez šećerne bolesti i hipertenzije. Šećernu je bolest imalo više žena nego muškaraca u endemskim selima, a u kontrolnim selima više muškaraca nego žena. Veću koncentraciju glukoze u serumu imali su u endemskim selima bolesni i sumnjivi nego ispitanici u ostalim podskupinama (rizični i ostali). Postavljenu dijagnozu arterijske hipertenzije imalo je 37,1 % (583) svih ispitanika, podjednako žena i muškarca. Također, razlike s obzirom na spol i mjesto uključenja u istraživanje nisu uočene. U drugim endemskim žarištima (južna Srbija i Bugarska) uočene su razlike s obzirom na mjesto uključenja ispitanika, što je posljedica zdravih osoba u njihovom kontrolnom uzorku (opisali autori iz Srbije i Bugarske) [108;109]. Kontrolna skupina u našem istraživanju nije bila homogena, tj. nije se sastojala isključivo od zdravih osoba nego od osoba kod kojih nije dijagnosticirana EN ali se ne isključuje prisutnost

drugih komorbiditeta. Takva kontrolna skupina predstavlja stvarniju sliku promatranih parametara u istraživanju, ali istodobno otežava dijagnosticiranje bolesti.

S obzirom na već spomenutu ograničenu vrijednost koncentracije kreatinina kao biljega bubrežne funkcije (vrijednost kreatinina u serumu može biti u granicama referentnih vrijednosti unatoč značajno smanjenoj bubrežnoj funkciji) procjena rizika za KBB u našoj ispitivanoj skupini temeljila se na procjeni veličine bubrežne funkcije s pomoću četiri različite prediktivne jednadžbe temeljenih na koncentraciji kreatinina u serumu. Do sada su provedena brojna istraživanja sa ciljem usporedbe točnosti pojedine jednadžbe za procjenu bubrežne funkcije, kao i vrijednosti pojedine jednadžbe za pojedine populacije uzimajući u obzir njihova specifična obilježja kao što su dob, spol, tjelesna masa i/ili prisutnost bubrežne ili nekih drugih bolesti, prvenstveno šećerne bolesti i arterijske hipertenzije. Najčešće korištene jednadžbe za procjenu GFR jesu CG, MDRD2 i CKD-EPI, dok je MCQE nešto rjeđe korištena. Sve se četiri temelje na kreatininu u serumu kao biljegu bubrežne funkcije, a uzimaju u obzir i druge parametre koji utječu na GFR. Niti jedna od navedenih jednadžbi ne odražava stvarnu GFR, ali su pogodne za procjenu GFR i praćenje dinamike u uvjetima stabilne bubrežne funkcije u zdravih osoba ili osoba s KBB [110; 111]. Budući da je ovo istraživanje obuhvatilo vrlo heterogenu skupinu ispitanika iz EN sela (bolesni, sumnjivi, rizični i ostali - prema kriterijima SZO) i nehomogenu kontrolnu skupinu (ranije opisano) u takvoj heterogenoj skupini ispitanika odlučeno je uz preporučenu CKD-EPI jednadžbu, ispitati pouzdanost i ostalih prediktivnih jednadžbi - CG, MDRD2 i MCQE.

Vrijednosti GFR izračunane prema sve četiri jednadžbe međusobno su se statistički značajno razlikovale kod svih ispitanika neovisno o spolu i mjestu uključenja u istraživanje. Usporedbom prema spolu uočene su statistički značajno veće vrijednosti GFR u muškaraca u odnosu na žene, posebno među ispitanicima iz sela s EN.

Dokazano je da GFR ovisi i o dobi ispitanika tj. smanjuje se s dobi prateći normalnu, Gaussovu distribuciju [112;113;114]. Nakon navršene tridesete godine života GFR se smanjuje u prosjeku oko 1 ml/godinu tako da bi u devetom desetljeću života zdrava osoba imala GFR od 65 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (prema smjernicama KDIGO kriterij za KBB je GFR < 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) [115; 116]. Smanjenje GFR s dobi fiziološki je proces jer se s dobi smanjuje udio mišićnog tkiva na račun povećanja masnog tkiva. Također, promjena mišićne mase u starijih osoba može biti posljedica različitih kroničnih bolesti i upala, ali i nedovoljnog unosa hrane – malnutricije [117; 118]. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na negativnu povezanost GFR s dobi za tri dobne skupine ispitanika (18 - 42 god., 43 - 66 god. i > 67 god.) bez obzira na spol i mjesto uključenja u istraživanje. Neovisno o primijenjenoj jednadžbi najmlađa dobna

skupina imala je najveću GFR, zatim srednja pa najstarija. Budući da je u starijoj dobi, osim ranije navedenih razloga, veća učestalost bolesti i stanja koja sama po sebi utječu na smanjenje bubrežne funkcije (npr. hipertenzija, šećerna bolest i sl.) teško je utvrditi je li smanjena GFR posljedica bolesti ili fiziološkog procesa starenja [119]. Prema istraživanju nekih autora (Dowling i sur.) [120] jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI imaju ograničenu vrijednost u starijih osoba jer su vrijednosti GFR dobivene njihovom primjenom značajno veće od stvarne GFR, što predstavlja veliku opasnost u situacijama kada je, primjerice, potrebno odrediti dozu lijeka. U našem istraživanju u najstarijoj dobnoj skupini najveća vrijednost GFR je dobivena primjenom MCQE jednadžbe, podjednaka primjenom MDRD2 i CKD-EPI, a najmanja CG jednadžbom. Dharmarajana i suradnici su u svom radu također pokazali da u osoba starijih od 70 godina CG jednadžba podcjenjuje stvarnu GFR tj. procjenjuje je nižom u usporedbi s MDRD2 i CKD-EPI jednadžbom [121]. Ako se značajnim smanjenjem u starijih smatra  $GFR < 45 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  učestalost KBB u starijih bila bi najveća kada bi se primjenjivala CG jednadžba, zatim MDRD2 i CKD-EPI jednadžbe, dok bi najmanja bila uz primjenu MCQE jednadžbe. Dob ispitanika najmanje je utjecala na GFR izračunanu prema jednadžbi MDRD2 – bez obzira na dobnu skupinu prema toj jednadžbi najčešće je zabilježen 2. stadij bubrežnog oštećenja. Niti jedna od navedenih jednadžbi nije idealna u procjeni bubrežne funkcije u starijih, no u nedostatku preciznijih metoda za procjenu bubrežne funkcije u starijih za sada se u kliničkoj praksi prednost daje CG jednadžbi koja blago podcjenjuje stvarnu GFR u starijih osoba, ali je ipak preciznija i daje vrijednosti koje su sličnije stvarnoj GFR [120; 128]. Za sve ostale dobne skupine, osim pedijatrijske, smjernice KDIGO preporučuju primjenu jednadžbe CKD-EPI.

U pretilih se osoba jednadžba CG pokazala nepreciznom u procjeni bubrežne funkcije [122; 123] te se njezinom primjenom GFR precjenjuje, što se može objasniti tjelesnom masom kao jednim od parametara jednadžbe. Primjenom jednadžbi MDRD2 i CKD-EPI GFR se podcjenjuje, što je očekivano, a objašnjava se činjenicom da je stvarni klirens kreatinina odraz kreatinina filtriranog u glomerulima i manjeg dijela secerniranog u kanalićima [124]. Kod osoba sa šećernom bolesti dobiveni su slični rezultati kao kod pretilih osoba. To je vjerojatno povezano s posebnim obilježjima ovih bolesnika koja ograničavaju vrijednost kreatinina u serumu kao biljega bubrežne funkcije, a to su hiperglikemija, hiperfiltracija i pretilost. Hiperglikemija interferira s testovima koji se koriste za mjerenje kreatinina u serumu, hiperfiltracija dodatno narušava preciznost jednadžbi, a šećerna bolest gotovo redovito sa sobom nosi teret pretilosti što dodatno ograničava vrijednost kreatinina u serumu kao biljega bubrežne funkcije [125; 126]. Upravo zbog visokih prosječnih vrijednosti eGFR u skupini

ispitanika sa šećernom bolesti, postavilo se pitanje ima li u toj skupini ispitanika s glomerularnom hiperfiltracijom i je li preciznost jednadžbi utjecala na njihov broj. Naime, hiperfiltracija se smatra bitnim čimbenikom razvoja mikroalbuminurije i progresivne bubrežne bolesti, no važno je znati je li ona zaista prisutna ili je rezultat greške pri korištenju metode. Finski autori su 2012. godine u istraživanju provedenom na ispitanicima sa šećernom bolesti dokazali da je CG jednadžba, uveliko korištena u većini istraživanja provedenih do tada, bila uzrok predijagnosticiranja glomerularne hiperfiltracije no nisu dokazali povezanost između hiperfiltracije i progresivne bubrežne bolesti [127]. U dostupnoj literaturi još uvijek nema jasno definiranih kriterija za postavljanje dijagnoze glomerularne hiperfiltracije, smatra se da je hiperfiltracija dihotomizirana varijabla, s rasponom vrijednosti 95. percentile eGFR od 125 do 140 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, ovisno o ispitivanoj populaciji i korištenoj jednadžbi [104; 129]. U ovom istraživanju hiperfiltracija je definirana vrijednostima 95. percentile eGFR u rasponu od 102-141 ml/min/1,73m<sup>2</sup> ovisno o primjenjenoj jednadžbi. Od ukupno 138 ispitanika iz skupine sa šećernom bolesti glomerularna hiperfiltracija je utvrđena u samo tri ispitanika (2,2%) prema jednadžbama CG, MDRD2 i CKD-EPI i jednog (0,7%) prema jednadžbi MCQE. Procijenjena GFR je kod ispitanika u ovom radu bila veća primjenom CG i MCQE jednadžbe nego primjenom MDRD2 i CKD-EPI što se slaže s literaturnim podacima koji govore da kod osoba sa šećernom bolesti CG i MCQE precjenjuju, a jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI podcjenjuju GFR [82]. Između skupina ispitanika sa i bez šećerne bolesti nije bilo statistički značajne razlike u vrijednosti GFR izračunane prema jednadžbama CG, MDRD2 i CKD-EPI dok je za MCQE razlika bila granično značajna (P = 0,057).

Između skupina ispitanika s i bez hipertenzije postojala je statistički značajna razlika u vrijednosti GFR izračunane prema sve četiri prediktivne jednadžbe. Ispitanici s hipertenzijom imali su statistički značajno niži rezultat od onih bez hipertenzije. Također su ispitanici s hipertenzijom imali, ovisno o primijenjenoj prediktivnoj jednadžbi, statistički značajno više stadija - 3a, 3b, 4 i 5.

Sve podskupine ispitanika u selima s EN (bolesni, sumnjivi, rizični, ostali) kao i ispitanici iz kontrolnih sela imali su statistički značajno različite vrijednosti GFR izračunane svakom od četiri jednadžbe. Prema jednadžbi CG podskupine rizičnih i ostalih nisu se statistički značajno razlikovale od kontrolne podskupine, ali jesu međusobno, dok su se podskupine bolesnih i sumnjivih razlikovale i međusobno i od rizičnih, ostalih i kontrolnih. Prema jednadžbi MDRD2 podskupina rizičnih nije se statistički značajno razlikovala od podskupina ostalih i kontrolnih, dok su se ostale međusobno razlikovale. Kod jednadžbi MCQE i CKD-EPI podskupine rizičnih, ostalih i kontrolnih nisu se međusobno statistički značajno razlikovale, a

bolesni i sumnjivi razlikovali su se i međusobno i od svih ostalih. Najniža vrijednost GFR bila je očekivano u podskupini bolesnih prema sve četiri jednadžbe – najniža vrijednost prema MDRD2, a najviša prema jednadžbi MCQE. U podskupini sumnjivih najniža je vrijednost GFR dobivena jednadžbom MDRD2, a najviša s MCQE. U podskupinama rizičnih, ostalih i kontrolnih GFR je, izračunana svim jednadžbama, bila  $> 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Budući da je dokazana značajna povezanost GFR izračunane prediktivnim jednadžbama i dijagnoze EN, ovi rezultati upućuju na mogućnost jasnog razlikovanja pojedinih podskupina ispitanika u selima s EN (po klasifikaciji SZO) prema izračunanoj GFR, i to bolesnih, sumnjivih i rizičnih s jedne strane, u odnosu na ostale i ispitanike iz kontrolnih sela s druge strane, što potvrđuje da procjena bubrežne funkcije prediktivnim jednadžbama treba ostati u kriterijima za dijagnosticiranje EN [130].

U prilog navedenom ide istraživanje Cvitković A. (Ante Cvitković, doktorska disertacija, 2012.) u kojem je s pomoću višedimenzijske statističke analize CoPlot ispitao međudjelovanje dijagnostičkih biljega za klasifikaciju EN prema SZO i ustanovio da su elementi kriterija SZO s najvećom korelacijom sljedeći: pozitivna obiteljska anamneza, GFR procijenjena jednadžbom CG, proteinurija, hematokrit i  $\alpha 1\text{m}$ . Istraživanje Dike Ž. (Živka Dika, doktorska disertacija, 2012.) potvrdilo je također superiornost procijenjene GFR nad izdvojenom vrijednosti kreatinina u razlikovanju bolesnih i suspektih od kontrolnih ispitanika.

Međutim, povezanost izračunane GFR s dijagnozom EN treba ipak uzeti s rezervom budući da su sve jednadžbe izvedenice koje sadržavaju koncentraciju kreatinina u serumu, a kreatinin je jedan od kriterija za postavljanje dijagnoze EN pa bi to zapravo predstavljalo mogući selekcijski otklon. No, bez obzira na mogući selekcijski otklon procjena bubrežne funkcije određivanjem GFR s pomoću prediktivnih jednadžbi osjetljivija je metoda procjene bubrežne funkcije od samog kreatinina u serumu, posebno u slučajevima stadija KBB 3, 4 i 5.

Sve su jednadžbe pokazale razliku u svrstavanju ispitanika u pojedine stadije - bubrežnog oštećenja – posebno u stadije - 3 - 5, a najviše se u odnosu na ostale razlikuje jednadžba MCQE iako između MCQE i ostalih jednadžbi postoji značajna korelacija. Veća nepodudarnost vrijednosti, a manje zadovoljavajuća korelacija s MCQE uočena je između jednadžbi u ispitanika s CG, MDRD2 i CKD-EPI procjenama GFR  $> 60 \text{ ml / min po } 1,73 \text{ m}^2$ , što posljedično utječe na prevalenciju ispitanika s abnormalnim vrijednostima GFR. S druge strane, MDRD2 daje točnu procjenu GFR u svim populacijskim podskupinama samo u slučajevima kad je GFR  $< 60 \text{ ml /min/1,73 m}^2$  te sustavno podcjenjuje GFR i pogrešno kategorizira zdrave osobe u skupinu bolesnih, što dovodi do lažno veće prevalencije početnih stadija KBB.

Prevalencija stadija 3 - 5 bubrežnog oštećenja je bila značajno veća u endemskim selima snego u kontrolnim prema sve četiri jednadžbe. Prema rezultatima jednadžbi MDRD2 i CKD-EPI podjednako ispitanika ima stadije - 3 - 5 dok ih prema jednadžbi CG ima najviše, a prema MCQE najmanje. U podskupini bolesnih iz endemskih sela sve četiri jednadžbe podjednako su procijenile postotak ispitanika sa stadije - m 3 - 5. Prema svim jednadžbama najviše je bilo stadija 4, osim prema MCQE jednadžbi prema kojoj je bilo najviše stadija 5. Bez obzira na mjesto uključenja ispitanika, EN i dobne podskupine te prisutnost hipertenzije i šećerne bolesti, u ukupnom broju ispitanika bilo je manje od 1 % osoba sa stadijem 5 KBB, bez obzira na primijenjenu jednadžbu. S druge strane, u kontrolnoj podskupini, prema jednadžbama CG i MCQE najviše ispitanika spada u kategoriju eGFR - 1 što znači da primjerenije procjenjuju GFR od MDRD2 i CKD-EPI prema kojima u toj podskupini ima najviše kategorije eGFR - 2. Također, prema ovim rezultatima jednadžba MCQE najmanje ispitanika kategorizira u stadijime 3 - 5 odnosno „zdrave ispitanike“ kategorizira u stadij - 1, a „bolesne“ isključivo u stadij - 5, što podupire hipotezu da može točnije procijeniti GFR kad dijagnoza KBB nije poznata [131].

Prevalencija svih stadija bubrežnog oštećenja, tj. ukupna prevalencija bila je iznenađujuće visoka prema sve četiri jednadžbe (CG 19,8 %, MDRD2 18,9 %, CKD-EPI 19,4 % i MCQE 13,2 %) bez obzira na mjesto uključenja ispitanika, iako je statistički značajno veća bila u endemskim selima nego u kontrolnim. Visoka prevalencija KBB može se objasniti visokim prevalencijama hipertenzije i pretilosti te slabom kontrolom hipertenzije u ispitivanoj populaciji [1]. Uočene razlike u prevalenciji KBB treba uzeti u obzir kod korištenja različitih jednadžbi.

Kako bismo dobili što točnije podatke o rasprostranjenosti KBB, točnije stadija 3 - 5 i utvrdili pouzdanost i učinkovitost prediktivnih jednadžbi u određivanju prevalencije KBB i pojedinih stadija bubrežnog oštećenja, za sve jednadžbe provedena je ROC analiza. Točnost pojedine jednadžbe u razlikovanju podskupine „zdravih“ ispitanika od „bolesnih“ odnosno, sposobnost razlikovanja skupina ispitanika sa stadijem KBB 3 – 5 ispitana je mjerenjem površine ispod ROC krivulje. Za graničnu vrijednost eGFR koja razlikuje zdrave od bolesnih uzeta je prema smjernicama KDIGO vrijednost od 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. „Zdrave“ ispitanike su u našem slučaju sačinjavali ispitanici iz podskupine ostalih iz endemskih sela i kontrolna skupina iz ne endemskih sela koju su činili ispitanici kojima nije potvrđena dijagnoza EN, što ne znači da su bili potpuno zdravi tj. da nisu imali komorbiditeta druge vrste. U kontrolnoj skupini je prevalencija stadija KBB 3 - 5 bila u rasponu od 1,2 – 8,1% (ovisno o korištenoj jednadžbi) što dokazuje da je u njoj bilo ispitanika s oštećenom bubrežnom funkcijom koja nije



posljedica EN. Sve jednadžbe su pokazale dobru dijagnostičku točnost. Najbolju dijagnostičku točnost pokazala je jednadžba CKD-EPI (površina ispod ROC krivulje 0,778), zatim CG (0,769), MCQE (0,768) i na kraju jednadžba MDRD2 (0,758). Autori koji su radili s homogenim kontrolnim skupinama (npr. Libório i ostali su točnost prediktivnih jednadžbi ispitivali u skupinama zdravih darivatelja bubrega) dobili su veću dijagnostičku točnost ispitivanih jednadžbi [132]. Osim dobre dijagnostičke točnosti, sve jednadžbe su pokazale relativno visoku specifičnost uz zadovoljavajuću osjetljivost. Zbog manje osjetljivosti prediktivnih jednadžbi temeljenih samo na vrijednosti kreatinina u serumu kod graničnih vrijednosti eGFR (prijelaz iz stadija bubrežnog oštećenja 2 u 3), neki autori predlažu primjenu jednadžbi koje umjesto kreatinina u serumu kao osnovnu varijablu koriste koncentraciju Cistatina C [133]. Ovakav pristup trebao bi značajnije smanjiti pogreške u klasifikaciji ispitanika kod graničnih vrijednosti eGFR ( $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ), odnosno poboljšati otkrivanje ranih stadija KBB (3a i 3b) [134; 135].

Najmanji DOI u svrstavanju ispitanika iz podskupina bolesnih i sumnjivih u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 imala je jednadžba CG, a najveći MCQE, što potvrđuje ranije iznesene tvrdnje o jednadžbi MCQE [131]. Jednadžba CG je uz najmanji DOI imala najlošiju usporedbu, tj. podudarnost u klasifikaciji ispitanika u stadije - 3 - 5 s ostale tri jednadžbe, dok su najbolju usporedbu pokazale jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI s podudarnošću od 98,3 %. Cohenovom *kappa*-statističkom analizom željelo se utvrditi koja jednadžba potvrđuje hipotezu da u podskupini bolesnih ima više stadija bubrežnog oštećenja - 3 - 5 i utvrdilo se da se sve jednadžbe bolje podudaraju u svrstavanju ispitanika u stadije bubrežnog oštećenja - 3 - 5 nego u ostale stadije. U klasifikaciji svih stadija bubrežnog oštećenja najlošije se slažu jednadžbe MDRD2 i MCQE, a najbolje MDRD2 i CKD-EPI, dok se u klasifikaciji stadija 3 - 5 najlošije slažu jednadžbe CG i MCQE, a najbolje MDRD2 i CKD-EPI. I literaturni podaci pokazuju da jednadžba CKD-EPI ima jednaku točnost kao MDRD2 u slučajevima kada je  $\text{GFR} < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  [84]. Sve navedeno se dodatno potvrdilo Bland Altman-ovom analizom te ustanovilo i ovom statističkom metodom najmanje odstupanje između jednadžbi MDRD2 i CKD-EPI.

Sve jednadžbe koje se koriste za procjenu GFR imaju svoje prednosti i nedostatke u klasifikaciji KBB pa primjena samo jedne jednadžbe nije preporučena. Također, ovo istraživanje ima nekoliko ograničenja:

- eGFR u ispitivanoj skupini, nisu uspoređene s GFR izmjerenom referentnom metodom, međutim, sve prediktivne jednadžbe nastale su na temelju vrijednosti GFR izmjerene „zlatnim standardom“ - referentnom metodom s egzogenim biljekom  $^{125}\text{I}$ -

iothalamatom ili drugim, što je potvrđeno u velikim epidemiološkim istraživanjima (stranica 31; tablica 10).

- koncentracija kreatinina je određivana samo jednokratno pa nije poznato bi li postojala klinički značajna razlika kod ponovnog određivanja (temeljem biološke i analitičke varijacije kreatinina u serumu klinički značajna razlika za eGFR je oko 14%).

U ovom istraživanju, osim gore navedenog, željelo se utvrditi bi li TGF $\beta$  u mokraći, kao biljeg uznapredovale fibroze koja je obilježje uznapredovale KBB u EN, mogao biti od dijagnostičke koristi te postoji li povezanost ovog biljega s eGFR, tj. je li njegova koncentracija veća u bolesnika sa sniženom eGFR u endemskim selima u usporedbi s kontrolnim. Naime, Ž. Dika (doktorska disertacija, 2012.) je na populaciji istih ispitanika koji su sudjelovali i u ovom istraživanju istražila povezanost između TGF $\beta$  u mokraći i dijagnoze EN, ali, osim uočene tendencije porasta TGF $\beta$  u podskupini oboljelih od EN u odnosu na ostale ispitivane podskupine, nije utvrdila nikakvu povezanost. Budući da je u tom radu korištena samo jednadžba MDRD2 za procjenu GFR, u ovom istraživanju željelo se utvrditi bi li dobiveni rezultati bili značajni i klinički korisni da je GFR procijenjena s pomoću drugih prediktivnih jednadžbi (CG, MCQE i CKD-EPI). Međutim, korelacija izmjerenih vrijednosti TGF $\beta$  s GFR procijenjenom prema ostalim prediktivnim jednadžbama nije pokazala povezanost bubrežne funkcije i koncentracije TGF $\beta$ .

U dosadašnjim istraživanjima TGF $\beta$  u EN nema jednoznačnih rezultata. Djukanović i sur. [67] su na malom uzorku ispitanika u Srbiji pokazali da je medijan koncentracije TGF $\beta$  u mokraći bio značajno veći u oboljelih od EN nego u zdravih kontrola, no njihovi su ispitanici klasificirani prema Danilovićevim kriterijima za EN, dok su u ovom istraživanju ispitanici klasificirani prema modificiranim kriterijima SZO. Japanski autori Murakami i Yamamoto [65;66] su u svojem istraživanju uočili povezanost koncentracije TGF $\beta$  sa stupnjem intersticijske fibroze u dijabetičkoj nefropatiji i glomerulonefritisu. S druge strane, prema istraživanjima drugih autora [136;137] koncentracija TGF $\beta$  u mokraci ne pokazuje povezanost sa stupnjem bubrežne fibroze. Za točnu procjenu stupnja fibroze u EN podskupinama ispitanika trebalo bi imati podatke o biopsiji bubrega, što u ovom istraživanju iz etičkih razloga nije učinjeno.

## 6. ZAKLJUČCI:

1. Ovo je prvo istraživanje o prevalenciji KBB u hrvatskom endemskom žarištu.
2. Prevalencija bolesnih (2,7%) i sumnjivih (6,9%) u endemskim selima u skladu je s opisanim trendom pada incidencije EN (stranica 21; dio 1.2.2.). Ovih 9,6% (118 ispitanika) objašnjava razliku u prevalenciji i važan je pokazatelj da će u nadolazećim godinama, bez obzira što vjerojatno neće biti novih slučajeva EN, broj novih pacijenata koji će započeti s bubrežnom nadomjesnom terapijom biti veći u endemskim selima nego u kontrolnim.
3. Sve podskupine ispitanika u endemskim selima kao i ispitanici iz kontrolnih sela imali su statistički značajno različite vrijednosti GFR izračunane svakom od četiri prediktivne jednadžbe.
4. Sve jednadžbe dobro razlikuju zdrave od bolesnih (dokazano Cohenovom kapastatističkom analizom).
5. Prevalencija stadija - 3 - 5 bubrežnog oštećenja bila je značajno veća u endemskim nego u kontrolnim selima prema sve četiri jednadžbe. Značajniju razliku u svrstavanju neovisno o skupinama ispitanika pokazala je jednadžba MCQE. Veći postotak bolesnika u stadijima KBB 3 - 5 iz endemskih sela ukazuje da više bolesnika s EN u odnosu na druge KBB doživi liječenje nadomještanjem bubrežne funkcije. To može govoriti u prilog bolje preventivne skrbi ugroženog stanovništva, ali i mogućeg manjeg kardiovaskularnog mortaliteta bolesnika u ranim fazama EN.
6. Najlošiju usporedbu, tj. podudarnost u klasifikaciji ispitanika u stadije - 3 - 5 s ostale tri jednadžbe imala je jednadžba CG, dok su najbolju usporedbu pokazale MDRD2 i CKD-EPI (potvrđeno primjenom dvaju različitih statističkih testova - ANOVA *hi*-kvadrat *post hoc* testom i Cohenovom *kappa*-statističkom analizom). Bland-Altman analizom utvrđena je statistički značajna razlika u klasifikaciji ispitanika u stadije - 3 - 5 primjenom svake od četiri jednadžbe.
7. Kod ispitanika sa šećernom bolesti dokazano je da CG i MCQE precjenjuju, a jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI podcjenjuju GFR .
8. U skupini s hipertenzijom dokazano je statistički značajno više stadija - 3a, 3b, 4 i 5 neovisno o primijenjenoj prediktivnoj jednadžbi.
9. Za sve jednadžbe dobivena je dobra dijagnostička točnost, zadovoljavajuća dijagnostička osjetljivost i visoka specifičnost (u kliničkom smislu više se može vjerovati da će zdravoga identificirati kao zdravoga, nego da će za bolesnog pokazati

da je bolestan), što potvrđuje da je procjena bubrežne funkcije s pomoću prediktivnih jednadžbi bolji pokazatelj od koncentracije kreatinina u serumu .

10. Budući da je dokazana značajna povezanost GFR izračunane prediktivnim jednadžbama i dijagnoze EN, ovi rezultati upućuju na mogućnost jasnog razlikovanja pojedinih podskupina ispitanika u selima s EN prema izračunanoj GFR što potvrđuje da eGFR treba ostati u kriterijima za EN, a preporučena jednadžba je CKD-EPI.
11. TGFβ kao biljeg uznapredovale fibroze nije se pokazao pouzdanim u razlikovanju podskupina bolesnih i ostalih ispitanika.

## 7. LITERATURA

1. U.S. Renal Data Systems. USRDS 2007 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. National Institutes of Health, NIDDK, Bethesda, MD, 2007.
2. Hrvatski registar nadomještanja bubrežne funkcije Hrvatskog društva za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju: [www.hdndt.org/registar](http://www.hdndt.org/registar) (02-05-2017)
3. Jelaković B, Fodor Lj. Bubrežna bolest i kardiovaskularni rizik. Zajednica udruga dijaliziranih i transplantiranih bubrežnih bolesnika Hrvatske: [www.Dijaliza.hr](http://www.Dijaliza.hr). (02-05-2017)
4. »Certificate of Analysis, Standard Reference Material 914a.« 1994.
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter., Suppl.* 2013; 3: 1–150.
6. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y i sur. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005;67:2089-100
7. Tonelli M, Muntner P, Lloyd A i sur. Using proteinuria and estimated glomerular filtration rate to classify risk in patients with chronic kidney disease: a cohort study. *Ann Int Med* 2011; 154:12-21.
8. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, Hobbs FD. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016 Jul 6;11(7).
9. Vrdoljak A, Fuček M, Premužić V, Karanović S, Vuković LI, Kos J. High prevalence of advanced ckd stages, but no differences in early phases of CKD in endemic nephropathy comparing to non-endemic village. 50th ERA-EDTA CONGRESS Nephrol. Dial. Transplant. 2013; 28 (suppl 1): i140-i154. , 2013. i140-i154.
10. <http://www.hdndt.org/doc/HRNBF-2014.pdf> (02-05-2017)
11. Čala S. Endemic nephropathy in Croatian registry for renal replacement therapy. II Nephrology Congress of Bosnia and Hezegovina; Tuzla2005. p. 148.
12. Jelaković B, Dika Ž, Karanović S, Vuković LI. Endemska nefropatija u Hrvatskoj. *Liječ Vjesn.* 2015;137:100–08.
13. Čeović S, Miletić-Medved M. Epidemiological features of endemic nephropathy in focal area of Brodska Posavina, Croatia. In: Čvorišćec S, Čeović S, Stavljenić-Rukavina

A, editors. Endemic nephropathy in Croatia. Zagreb, Croatia: Academia Croatica scientiarum medicarum; 1996. p. 7-21.

14. Danilović V. Chronic nephritis due to ingestion of lead contaminated flour. *Brit Med J* 1958;1:27-8.

15. Pichler O, Bobinac E, Miljuš B, Sindik A. Growing occurrence of kidney injuries in the district of Slavonski Brod. *Liječ Vjesn.* 1959;81:295-306.

16. Čević S. Balkanska nefropatija. *Medicinski vjesnik* 1982;14(1):22-6.

17. Voice TC, Long DT, Radanović Z i sur. Critical evaluation of environmental exposure agents suspected in the etiology of Balkan endemic nephropathy. *Int J Occup Environ Health* 2006;12:369–76.

18. Tatu CA, Orem WH, Finkelman RB, Feder GL. The Etiology of Balkan Endemic Nephropathy: Still More Questions than Answers, *Environ Health Perspect* 1998; 106:689-700.

19. Stefanović V, Toncheva D, Atanasova S, Polenaković M. Etiology of Balkan Endemic Nephropathy and Associated Urothelial Cancer. *Am J Nephrol* 2006;26:1-11.

20. O'Brien E, Dietrich DR. Ochratoxin A: the continuing enigma. *Crit Rev Toxicol* 2005;35:33-60.

21. Clark HA, Snedeker SM. Ochratoxin A: its cancer risk and potential for exposure. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2006;9:265-96

22. Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. U: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Some Naturally Occurring Substances. Lyon: IRAC; 1993, str.489-521.

23. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. *The EFSA Journal.* 2006;365:1-56.

24. Ozcelik N, Kosar A, Soysal D. Ochratoxin A in human serum samples collected in Isparta-Turkey from healthy individuals and individuals suffering from different urinary disorders. *Toxicol Lett.* 2001;121(1):9-13.

25. Breitholtz-Emanuelsson A, Minervini F, Hult K, Visconti A. Ochratoxin A in human serum samples collected in southern Italy from healthy individuals and individuals suffering from different kidney disorders. *Nat Toxins.* 1994;2(6):366-70.

26. Hassen W, Abid S, Achour A, Creppy E, Bacha H. Ochratoxin A and beta2microglobulinuria in healthy individuals and in chronic interstitial nephropathy patients in the centre of Tunisia: a hot spot of Ochratoxin A exposure. *Toxicology.* 2004;199(2-3):185-93.

27. Turesky RJ. Perspective: Ochratoxin A is not a genotoxic carcinogen. *Chem Res Toxicol* 2005;18:1082-90.
28. Mally A, Zepnik H, Wanek P i sur. Ochratoxin A: Lack of Formation of Covalent DNA Adducts. *Chem Res Toxicol*.2004;17:234-42.
29. Mally A, Hard GC, Dekant W. Ochratoxin A as a potential etiologic factor in endemic nephropathy: Lessons from toxicity studies in rats. *Food Chem Toxicol* 2007; 45:2254-60.
30. Cosyns JP. Aristolochic acid and 'Chinese herbs nephropathy': a review of the evidence to date. *Drug Saf.* 2003;26(1):33-48.
31. Grollman A, Scarborough J, Jelaković B. Aristolochic Acid Nephropathy: An Environmental and Iatrogenic Disease. *Advances in Molecular Toxicology*. 3: Elsevier B.V; 2009. p. 211-22.
32. Reginster F, Jadoul M, van Ypersele de Strihou C. Chinese herbs nephropathy presentation, natural history and fate after transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12(1):81-6.
33. Nortier JL, Martinez MC, Schmeiser HH, Arlt VM, Bieler CA, Petein M, et al. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *N Engl J Med*. 2000;342(23):1686-92
34. Schmeiser HH, Bieler CA, Wiessler M, van Ypersele de Strihou C, Cosyns JP. Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herbs nephropathy. *Cancer Res*. 1996;56(9):2025-8.
35. Arlt VM, Alunni-Perret V, Quatrehomme G, Ohayon P, Albano L, Gaid H, et al. Aristolochic acid (AA)-DNA adduct as marker of AA exposure and risk factor for AA nephropathy-associated cancer. *Int J Cancer*. 2004;111(6):977-80.
36. Ivić M. The problem of etiology of endemic nephropathy. *Liječ Vjes* 1969; 91:127881.
37. Hranjec T, Kovač A, Kos J i sur. The case for chronic poisoning by *Aristolochia*. *Croat Med J* 2005;46:116–25.
38. Grollman AP, Scarborough J, Jelaković B. Aristolochic acid nephropathy: an environmental and iatrogenic disease. *Adv Mol Tox* 2009;3:211-27.
39. Grollman AP, Shibutani S, Moriya M i sur. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. *Proc Natl Acad Sci* 2007;104:12129–34.
40. Belicza M, Dubravić A, Leniček T i sur. Comparison of upper urinary tract carcinomas in Brodsko-posavska endemic nephropathy region with those in the pathoanatomical registry of Sestre milosrdnice University hospital in Zagreb. *Coll Antropol* 2006; 30 Suppl1:68.

41. Karanović S, Castells X, Tomić K, Ardin M, Zavadil J, Jelaković B. Genomic Analysis Identifies Renal Cell Carcinoma as a New Tumor Type Linked to Aristolochic Acid. *J Am Soc Nephrol* 25, 2014; 761A.
42. Čukuranović R, Ignjatović I, Višnjić M, Veličković L, Petrović B, Potić M, et al. Characteristics of upper urothelial carcinoma in an area of Balkan endemic nephropathy in south Serbia. A fifty-year retrospective study. *Tumori*. 2010;96(6749).
43. Miletic-Medved M, Domijan AM, Peraica M. Recent data on endemic nephropathy and related urothelial tumors in Croatia. *Wien Klin Wochenschr*. 2005;117(17):604-9.
44. Popis stanovništva 2011.- DZS.Dostupno na: [www.dzs.hr/HRV/censuses2011/censustabshtm.htm](http://www.dzs.hr/HRV/censuses2011/censustabshtm.htm). (22-05-2017)
45. WHO. The Endemic Nephropathy of South-Eastern Europe. *Bull World Health Organ* 1965;32;441-8.
46. Dika Ž. Evaluacija dijagnostičkih kriteija za endemsku nefropatiju (disertacija). Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu; 2012.  
[http://medlib.mef.hr/1641/1/Dika\\_Z\\_disertacija\\_rep\\_1641.pdf](http://medlib.mef.hr/1641/1/Dika_Z_disertacija_rep_1641.pdf)
47. Djukanović L, Marić I, Marinković J, Ignjatović S, Bukvić D. Evaluation of criteria for the diagnosis of Balkan endemic nephropathy. *Ren Fail*. 2007;29(5):60714.
48. Cvitković A. Međudjelovanje dijagnostičkih biljega endemske nefropatije (disertacija). Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu; 2012.
49. Sonicki Z, Cvitković A, Edwards KL, Miletić-Medved M, Čvorišćec D, Babus V, et al. Visual assessment of endemic nephropathy markers relationship. *Stud Health Technol Inform*. 2009;150:836-40.
50. Jelaković B, Nikolić J, Radovanović Z, Nortier J, Cosyns JP, Grollman AP, et al. Consensus statement on screening, diagnosis, classification and treatment of endemic (Balkan) nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(11):2020-7.
51. Danilović V. Endemic nephropathy in Yougoslavia. U: Strahinjić S, Stefanović V, ur. Endemic (Balkan) nephropathy. Proceedings of the 4th Symposium on (Balkan) Nephropathy. Niš: Institute Nephro Haemod; 1981 str. 1-5.
52. Čvorišćec D. Early diagnosis of endemic nephropathy. *Clin Chim Acta* 2000; 297:8591.
53. Danilović V: Diagnosis of endemic nephropathy, *Radovi XLVII AN BiH* 1973;17:5364.



54. Stefanović V. Diagnostic criteria for endemic (Balkan) nephropathy. U: Strahinjić S, Stefanović V, ur. *Current Research in Endemic (Balkan) Nephropathy*. Niš: University Press; 1983, str. 351-63.
55. Čvorišćec D, Stavljenić-Rukavina A. Laboratory diagnosis of endemic nephropathy. In: Čvorišćec D, Čević S, Stavljenić-Rukavina A, editors. *Endemic nephropathy in Croatia*. Zagreb: Academia Croatica scientiarum medicarum; 1996. p. 77-87.
56. Kettner H. The Endemic Nephropathy of South-Eastern Europe. *Bull World Health Organ*. 1965;32:431-48.
57. Donaldson MD, Chambers RE, Woolridge MW, Whicher JT. Stability of alpha 1-microglobulin, beta 2-microglobulin and retinol binding protein in urine. *Clin Chim Acta*. 1989;179(1):73-7.
58. Guder WG, Hofmann W. Clinical role of urinary low molecular weight proteins: their diagnostic and prognostic implications. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2008;241:95-8.
59. Andersson L, Haraldsson B, Johansson C, Barregard L. Methodological issues on the use of urinary alpha-1-microglobuline in epidemiological studies. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:1252-6.
60. Endo G, Konishi Y, Kiyota A, Horiguchi S. Urinary alpha 1 microglobulin in lead workers. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1993;50(5):744-9.
61. Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA, Cooper EH, Crockson RA, MacLennan IC. Alpha-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J Clin Pathol*. 1983;36(3):253-9.
62. Finn WF, Porter GA. Urinary biomarkers: Recommendations of the joint European/Unites Sates Workshop for future reseaech. *Renal Failure*1999;21:445-51.
63. Nortier JL, Deschodt-Lanckman MM, Simon S i sur. Proximal tubular injury in Chinese herbs nephropathy: monitoring neural endopeptidase enzymuria. *Kidney International*1997;51:288-93
64. Stavljenić-Rukavina A, Čvorišćec D, Radonić M, Čević S. Evaluation of urinary enzyme patterns in Balkan endemic nephropathy. In: Strahinjić S, Stefanović V, editors. *Etiology of endemic (Balkan) nephropathy Proceedings of the 6th Symposium of Endemic (Balkan) Nephropathy*. Niš: University of Niš; 1987. p. 10913.
65. Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Ruoslahti E, Border WA. Expression of transforming growth factor beta is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1814-8.

66. Yoshioka K, Takemura T, Murakami K i sur. Transforming growth factor-beta protein and mRNA in glomeruli in normal and diseased human kidneys. *Lab Invest* 1993;68:154-63.
67. Djukanović Lj, Ležaić V, Momčilović M i sur. Transforming growth factor-beta 1 in Balkan endemic nephropathy. *Nephron Clin Pract* 2009;111:127-32.
68. Ristić S , Marić S , Maksimović Z, Marić V , Djukanović . Kidney length in healthy members of Balkan endemic nephropathy families. *Hippokratia* 2015;19(4): 304–8.
69. Stefanović V, Jelaković B, Čukuranović R, Bukvić D, Nikolić J, Lukić Lj et al. Diagnostic Criteria for Balkan Endemic Nephropathy: Proposal by an International Panel. *Renal Failure*; 2007; 29:7, 867-80
70. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function—measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006; 354:2473-83
71. Flegar Meštrić Z. Standardizacija mjerenja koncentracije kreatinina. U Harmonizacija medicinsko-biokemijskih pretraga - 2011. Flegar Meštrić Z, Honović L, ur. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
72. Development of Definitive Methods for the National Reference System for the Clinical Laboratory, Approved Guideline. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991
73. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.
74. Gault MH, Longrich LL, Harnett JD, Wesolowski C. Predicting glomerular function from adjusted serum creatinine. *Nephron* 1992;62:249-56.
75. Dionne RE, Bauer LA, Gibson GA, Griffen WO Jr, Blouin RA. Estimating creatinine clearance in morbidity obese patients. *Am J Hosp Pharm* 1981;38:841-4.
76. Dowling TC, Matzke GR, Murphy JE, Burckart GJ Evaluation of renal drug dosing: prescribing information and clinical pharmacist approaches. *Pharmacotherapy* 2010; 30:776-86
77. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, GreeneT, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Ann Intern Med* 1999;130:461-70
78. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GL; MDRD Study Group. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine (abstract) *J Am Soc Nephrol* 2000 Sep; 11:155A

79. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006 Aug 15;145(4):247-54.
80. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Coslo FG, et al. Using Serum Creatinine to Estimate Glomerular Filtration Rate: Accuracy in Good Health and in Chronic Kidney Disease. *Ann Intern Med.* 2004; 141: 929-37.
81. Froissart MC, Rossert J, Houillier P. The new Mayo Clinic equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2005; 142: 679.
82. Rigalleau V, Lasseur C, Raffaitin C, Perlemoine C, Barthe N, Chauveau P, Combe C, Gin H: The Mayo Clinic quadratic equation improves the prediction of glomerular filtration rate in diabetic subjects. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2007 Mar;22(3):813-8.
83. Fontseré N, Bonal J, Salinas I, et al. Is the New Mayo Clinic Quadratic Equation Useful for the Estimation of Glomerular Filtration Rate in Type 2 Diabetic Patients? . *Diabetes Care.* 2008;31(12):2265-67.
84. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH i sur. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150:604-12.
85. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, i sur. Comparative performance of CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations for estimating GFR levels above 60 ml/min/ 1.73 m<sup>2</sup>. *Am J Kidney Dis* 2010; 56:486-95.
86. Levey AS, Eckfeldt JH. Using Glomerular Filtration Rate Estimating Equations: Clinical and Laboratory Considerations. Editorial. *Clin Chem* 2015;1226-9.
87. Vučić Lovrenčić M, Radišić Biljak V, Božičević S, Prašek M, Knotek M. Estimating glomerular filtration rate (GFR) in diabetes: The performance of MDRD and CKD-EPI equations in patients with various degrees of albuminuria. *Clin Biochem* 2012;45:1694-6.
88. Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Coresh J, Manzi J, Landis R, i sur. Development and validation of GFRestimating equations using diabetes, transplant and weight. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:449-57. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp510>.
89. Wetzels JF, Kiemeneij LA, Swinkels DW, Willems HL, den Heijer M. Age- and gender-specific reference values of estimated GFR in Caucasians: the Nijmegen Biomedical Study. *Kidney Int.* 2007;72(5):632-7.

90. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, El Nahas M, Astor BC, Matsushita K, et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int.* 2011;80(1):17-28.
91. Pepper MS. Transforming growth factor-beta: vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1997;8:21-43.
92. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994;331:1286-92.
93. Ignatz, RA, Massague J. Transforming growth factor- $\beta$  stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Bio Chem* 1986;261:4337-45.
94. Bassols, A, Massague J. Transforming growth factor  $\beta$  regulates the expression and structure of extracellular matrix chondroitin/dermatan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem* 1988;263:3039-45.
95. Hirschberg R. Wound healing in the kidney: complex interactions in renal interstitial fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2005;16: 9–11.
96. Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Ruoslahti E, Border WA. Expression of transforming growth factor beta is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1814-8.
97. Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C i sur. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet* 1993;341:387–91.
98. Yang CS, Lin CH, Chang SH, Hsu HC. Rapidly progressive fibrosing interstitial nephritis associated with Chinese herbal drugs. *Am J KidneyDis* 2000;35: 313–18.
99. Uslu S, Efe B, Alatas O i sur. Serum Cystatin C and urinary enzymes screening markers of renal dysfunction in diabetic patients, *J Nephrol* 2005;18:559-67.
100. Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2008;31(1):555-60.
101. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462-536.
102. Rogier E, Durrbach A, Abecassis L i sur. A novel biological assay to detect the active form of TGF-beta in urine to monitor renal allograft rejection. *Kidney International* 2005;68:1875-83.

103. Wuyts B, Bernard D, Van Den Noortgate N, Van De Walle J, Van Vlem B, De Smet R, et al. Reevaluation of Formulas for Predicting Creatinine Clearance in Adults and Children Using Compensated Creatinine Methods. *Clinical Chemistry* 2003;49(6):1011-14.
104. Premaratne E, Macisaac RJ, Tsalamandris C, et al. Renal hyperfiltration in type 2 diabetes: effect of age-related decline in glomerular filtration rate. *Diabetologia* 2005; 48:2486-93.
105. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33(1):159–74.
106. Galešić K i Sabljarić Matovinović M (2008) Kronična insuficijencija bubrega. In: Vrhovac B, Jakšić B, Vucelić B (Ur.) *Interna medicina*, Zagreb, Naklada Lijevak, str. 1087-91
107. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis. Remuzzi G, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(7).
108. Ćukuranović R, Petrović B, Ćukuranović Z, Stefanović V. Balkan endemic nephropathy: a decreasing incidence of the disease, *Pathol Biol* 2000;48:558-61.
109. Dimitrov PS, Simeonov VA, Ganev VS, Karmaus WJ. Is the incidence of Balkan endemic nephropathy decreasing? *Pathol Biol* 2002;50:38-41.
110. Poggio ED, Wang X, Greene T, Van Lente F, Hall PM. Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:459-66.
111. Wang X, Lewis J, Appel L i sur. Validation of creatinine-based estimates of GFD when evaluating risk factors in longitudinal studies of kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:2900-9.
112. Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J AM geriatr Soc* 1985; 33:278-85.
113. Garg AX, Kiberd BA. Prevalence of low glomerular filtration rate in nondiabetic Americans: Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13:1338-49.
114. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS: prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult USA population: Third Health and Nutrition Examination Survey *Am J Kidney Dis* 2003; 41:1-12.
115. KDIGO. Chapter 1: Definition and classification of CKD, *Kidney Int Supp* 2013; 3: 514.

116. Morrisey PE, Yango AF, Renal transplantation:older recipients and donors. *Clin Geriatr Med* 2006; 22:687-707.
117. Rule AD, Bailey KR, Schwartz GL, Khosla S, Lieske JC, Melton LJ. For estimating creatinine clearance measuring muscle mass gives better results than those based on demographics. *Kidney Int* 2009; 75:1071-8.
118. Stevens LA, Padala S, Levey AS. Advances in glomerular filtration rate-estimating equations. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010, 19:298-307.
119. Glassock RJ, Rule AD. The implications of anatomical and functional changes of the aging kidney: with an emphasis on the glomeruli, *Kidney Int* 2012; 82:270-7.
120. Dowling TC, Matzke GR, Murphy JE, Burckart GJ Evaluation of renal drug dosing: prescribing information and clinical pharmacist approaches. *Pharmacotherapy* 2010; 30:776-86.
121. Dharmarajan TS, Norkus EP , Widjaja D. Staging of Chronic Kidney Disease [National Kidney Foundation (NKF) Guidelines]: Do the Cockcroft-Gault (C-G) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Equations Concur in Older Adults? *Journal of the American Medical Directors Association*, March 2009;10:3-15.
122. Demirović JA, Pai AB, Pai MP. Estimation of creatinine clearance in morbidly obese patients. *Am J Health Syst Pharm* 2009; 66:642-8.
123. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliot EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1003-9.
124. Park EJ, Pai MP, Dong T i sur. The influence of body size descriptors on the estimation of kidney function in normal weight, overweight, obese, and morbidly obese adults. *Ann Pharmacother* 2012;46:317-28.
125. Nair S, Hardy KJ, Wilding JP. The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formula performs worse than the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation in estimating glomerular filtration rate in Type 2 diabetic chronic kidney disease. *Diabet Med* 2011;28:1279.
126. Silveiro SP, Araújo GN, Ferreira MN, Souza FD, Yamaguchi HM, Camarago EG. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:2353-5.
127. Thomas MC<sup>1</sup>, Moran JL, Harjutsalo V, Thorn L, Wadén J, Saraheimo M, Tolonen N, Leiviskä J, Jula A, Forsblom C, Groop PH; FinnDiane Study Group. Hyperfiltration in

type 1 diabetes: does it exist and does it matter for nephropathy? *Diabetologia*. 2012 May;55(5):1505-13

128. Shaeffner ES, Ebert N, Delanaye P et al. Two novel equations to estimate kidney function in persons aged 70 years or older. *Ann Int Med* 2012; 157:471-81.

129. Ficociello LH1, Perkins BA, Roshan B, Weinberg JM, Aschengrau A, Warram JH, Krolewski AS. Renal hyperfiltration and the development of microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2009 May;32(5):889-93.

130. Wang X, Lewis J, Appel L i sur. Validation of creatinine-based estimates of GFR when evaluating risk factors in longitudinal studies of kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:2900-9.

131. Lippi G, Montagnana M, Banfi G, Guidi GC. Comparison of 2 Methods for the Calculation of Estimated Glomerular Filtration Rate. *Lab Med*. 2008;39(1):35-37.

132. Libório AB, Barros RM, Esmeraldo RM, Oliveira MLMB, Silva GB Jr, Daher E.F. Creatinine-Based Equations Predicting Chronic Kidney Disease After Kidney Donation. Elsevier Inc. 2011; 43: 2481–86.

133. Glaser N, Deckert A, Phiri S, Rothenbacher D, Neuhann F. Comparison of Various Equations for Estimating GFR in Malawi: How to Determine Renal Function in Resource Limited Settings? *PLoS One*. 2015;10(6): e0130453.

134. Nitta K, Hayashi T, Uchida K, Honda K, Tsukada M, Sekine S, et al. Serum cystatin C concentration as a marker of glomerular filtration rate in patients with various renal diseases. *Intern Med*. 2002;41:931-5.

135. Kazama JJ, Kutsuwada K, Ataka K, Maruyama H, Gejyo F. Serum cystatin C reliably detects renal dysfunction in patients with various renal diseases. *Nephron*. 2002;91:13-20.

136. Rogier E, Durrbach A, Abecassis L i sur. A novel biological assay to detect the active form of TGF-beta in urine to monitor renal allograft rejection. *Kidney International* 2005;68:1875-83.

137. Haramaki R, Tamaki K, Fujisawa M, Ikedo H, Haramaki N, Okuda S. Steroid therapy and urinary transforming growth factor-beta1 in IgA nephropathy. *Kidney Dis* 2001;38:1191-8.

## 8. PRILOZI

### Prilog A: Popis oznaka i kratica

|               |   |
|---------------|---|
| 95% IP        | 95% interval pouzdanosti (engl. 95% confidence interval)  |
| $\alpha$ 1m   | $\alpha$ 1-mikroglobulin (engl. $\alpha$ 1-microglobulin)   |
| $\alpha$ 1mCR | koncentracija $\alpha$ 1mikroglobulina izražena na koncentraciju kreatinina mokraći (engl. $\alpha$ 1microglobulin Creatinin Ratio) |
| AA            | aristolohična kiselina (engl. Aristolochic Acid)  |
| AAN           | nefropatija aristolohične kiseline (engl. Aristolochic Acid Nephropathy)  |
| ACR           | koncentracija albumina izražena na koncentraciju kreatinina u mokraći (engl. Albumin-Creatinine Ratio)                              |
| AER           | izlučivanje albumina (engl. Albumin Excretion Rate)   |
| ANOVA         | analiza varijance (engl. Analysis of variance)  |
| BB            | bubrežna bolest   |
| $\beta$ 2m    | $\beta$ 2-mikroglobulin (engl. $\beta$ 2-microglobulin)   |
| DOI           | dijagnostički omjer izgleda (engl. Diagnostic Odds Ratio - DOR)   |
| ECM           | izvanstanični matriks (engl. Extracellular Matrix)  |
| EN            | endemska nefropatija (engl. Endemic Nephropathy)  |
| ESRD          | krajnja faza bubrežne bolesti (engl. End Stage Renal Disease)   |
| F             | vrijednost testa analize varijance  |
| GFR           | brzina glomerularne filtracije (engl. Glomerul Filtration Rate)   |
| eGFR          | procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. Estimated Glomerul Filtration Rate)  |
| H             | vrijednost Kruskal-Wallis testa (engl. Kruskal-Wallis analysis)   |
| HRNBF         | Hrvatski Registar Nadomještanja Bubrežne Funkcije   |
| IDMS          | Izotopna Dilucijska Masena Spektrometrija   |
| ITM           | indeks tjelesne mase (engl. Body Mass Index)  |
| KBB           | kronična bubrežna bolest  |
| KDIGO         | Kidney Disease: Improving Global Outcomes   |
| MDRD2         | Modification of Diet in Renal Disease   |
| NIST          | Nacionalni institut za standarde i tehnologiju (engl. National Institute for Standards and Technology)                              |
| NKF/KDOQI     | National kidney foundation/kidney disease outcomes quality initiative   |
| NKDEP         | Nacionalni edukacijski program za bubrežne bolesti IFCC   |
| P             | vjerojatnost (engl. probability)  |
| ROC krivulja  | (engl. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve)   |



|             |   |
|-------------|---|
| rS          | Spearmanov koeficijent povezanosti (engl. Spearman's Correlation Coefficient)         |
| S           | serum   |
| SD          | standardna devijacija (engl. Standard Deviation)                                      |
| SZO         | svjetska zdravstvena organizacija   |
| SRM         | standardni referentni materijal (engl. Standard Reference Material)                   |
| T           | vrijednost Studentova testa nezavisnih (zavisnih) uzoraka (engl. Student's t-test)    |
| TGF $\beta$ | transformirajući čimbenik rasta $\beta$ (engl. Transforming Growth Factor - $\beta$ ) |
| U           | mokraća (urin)  |
| UUC         | karcinom gornjeg dijela urotela (engl. Upper Urothelial Cancer)                       |
| X           | aritmetička sredina (engl. mean)  |
| $\chi^2$    | vrijednost testa proporcija (engl. chi test)  |

## **Prilog B: Znanstveni radovi autorice zastupljeni u Current Contents bazi**

Prilog sadrži dva originalna znanstvena rada autorice ove doktorske disertacije objavljena u časopisima koji su zastupljeni u Current Contents bazi, jedan koji obrađuje problematiku iznesenu u ovom radu, a drugi iz šireg područja problematike obrađene u ovom radu:

1. **Mirjana Fuček**, Živka Dika, Sandra Karanović, Ivana Vuković Brinar, Vedran Premužić, Jelena Kos, Ante Cvitković, Maja Mišić, Josip Samardžić, Dunja Rogić, Bojan Jelaković. Reliability of CKD-EPI predictive equation in estimating chronic kidney disease prevalence in the Croatian endemic nephropathy area. *Biochemia Medica* 2018;28(1):010701.<https://doi.org/10.11613/BM.2018.010701>
2. Ante Cvitković, Ivana Vuković-Lela, Karen L. Edwards, Sandra Karanović, Dragana Jurić, Dubravka Čvorišćec, **Mirjana Fuček**, and Bojan Jelaković. Could disappearance of endemic (Balkan) nephropathy be expected in forthcoming decades? *Kidney Blood Press Res.* 2012;35(3):147-52.

## 9. ŽIVOTOPIS

Mirjana Fuček rođena je 10. srpnja 1968. u Zagrebu gdje je polazila i završila osnovnu i srednju školu (Zdravstveni obrazovni centar) stekavši zvanje zdravstvenog stručnog radnika sanitarno laboratorijskog smjera. Iste godine upisala je Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, diplomirala 1991. godine i stekla naslov diplomiranog inženjera medicinske biokemije. Nakon što je položila stručni ispit radi u Medicinsko biokemijskom laboratoriju Doma zdravlja Novi Zagreb do 2000. godine nakon čega se zapošljava u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku (KZLD) KBC Zagreb gdje radi i danas kao voditelj Odjela za predanalitiku, informatiku i kontrolu kvalitete. Specijalistički ispit iz medicinske biokemije položila je 2007. godine, a 2010. upisala poslijediplomski doktorski studij na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu. Područja rada i interesa su joj: opća i hitna laboratorijska dijagnostika – aplikacija i optimizacija metoda na automatskim analizatorima, poboljšanje radnog tijeka, primjena predanalitičkih stručnih standarda te akreditacija i informatizacija laboratorija. Aktivno sudjeluje u implementaciji laboratorijskog informacijskog sustava u KZLD te u projektu informatizacije KBC-a Zagreb (Bolnički i poslovni sustav informatizacije) te kao ključni korisnik Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku kontinuirano educira kliničko i laboratorijsko osoblje. Predavač je na stručnom studiju Zdravstvenog Veleučilišta u Zagrebu (kolegiji Fizikalne metode u Kliničkoj kemiji i Računalska obrada laboratorijskih podataka). Suradnik je na projektu Hrvatske zaklade za znanost pod naslovom „Epidemiologija hipertenzije i unosa kuhinjske soli u Hrvatskoj (EH-UH 2)“ u kojem je glavni istraživač prof.dr.sc. Bojan Jelaković s Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Aktivni je član Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu i Hrvatske komore medicinskih biokemičara.

Aktivno je sudjelovala na više domaćih i međunarodnih znanstvenih skupova. Autor je i koautor više znanstvenih i stručnih radova.

Popis znanstvenih i stručnih članaka:

1. Fuček M, Dika Ž, Karanović S, Vuković Brinar I, Premužić V, Kos J, Cvitković A, Mišić M, Samardžić J, Rogić D, Jelaković B. Reliability of CKD-EPI predictive equation in estimating chronic kidney disease prevalence in the Croatian endemic nephropathy area. *Biochem Med (Zagreb)* ahead of print version (publication date November 24, 2017); 2018;28(1):

2. Jelaković B, Vuković Lela I, Karanović S, Dika Ž, Kos J, Dickman K, Šekoranja M, Poljičanin T, Mišić M, Premužić V, Abramović M, Matijević V, Miletić Medved M, Cvitković A, Edwards K, Fuček M, Leko N, Teskera T, Laganović M, Čvorišćec D, Grollman AP. Chronic dietary exposure to aristolochic acid and kidney function in native farmers from a Croatian endemic area and Bosnian immigrants. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Feb 6;10(2):215-23.
3. Ivković V, Jelaković M, Laganović M, Pećin I, Vrdoljak A, Karanović S, Fuček M, Božina T, Kos J, Željковиć Vrkić T, Premužić V, Živko M, Jelaković B. Adiponectin is not associated with blood pressure in normotensives and untreated hypertensives with normal kidney function. *Medicine (Baltimore)*. 2014 Dec;93(28):e250.
4. Dika Ž, Antoine MH, Husson C, De Prez EG, Kos J, Mišić M, Fuček M, Čvorišćec D, Bourgeade MF, Nortier JL, Jelaković B. Evaluation of diagnostic criteria for endemic nephropathy. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)*. 2014;35(1):47-50.
5. Cvitković A, Vuković-Lela I, Edwards KL, Karanović S, Jurić D, Cvorišćec D, Fuček M, Jelaković B. Could disappearance of endemic (Balkan) nephropathy be expected in forthcoming decades? *Kidney Blood Press Res*. 2012;35(3):147-52.
6. Vrdoljak A, Fuček M, Premužić V, Karanović S, Vuković LI, Kos J. High prevalence of advanced ckd stages, but no differences in early phases of CKD in endemic nephropathy comparing to non-endemic village. 50th ERA-EDTA CONGRESS *Nephrol. Dial. Transplant*. 2013; 28 (suppl 1): i140-i154. , 2013. i140-i154.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Doktorski rad

### POUZDANOST RAZLIČITIH JEDNADŽBI PROCJENE GLOMERULARNE FILTRACIJE U KLASIFIKACIJI STADIJA ENDEMSKE NEFROPATIJE Mirjana Fuček

Otkrivanje kronične bubrežne bolesti (KBB) u ranoj fazi može spriječiti ili usporiti napredovanje bolesti i smanjiti rizik komplikacija. Stadiji KBB se prema klasifikaciji National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF K/DOQI) određuju na temelju procjene brzine glomerularne filtracije (engl. *Glomerular Filtration Rate*, GFR) koja se izračunava pomoću prediktivnih jednadžbi baziranim na vrijednosti kreatinina u serumu i drugih varijabli kao što su dob, spol, rasa i tjelesna masa. U ovom radu ispitana je pouzdanost prediktivnih jednadžbi (CG-Cockcroft - Gault, MDRD2-Modification of Diet in Renal Disease Study, MCQE-Mayo clinic quadratic equation i CKD-EPI-Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) za procjenu učestalosti pojedinih stadija KBB u područjima s endemskom nefropatijom (EN). Također, ispitano je koreliraju li vrijednosti transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta$  (engl. *Transforming Growth Factor- $\beta$* , TGF $\beta$ ) u uzorcima mokraće ispitanika s KBB, tj GFR određenoj različitim jednadžbama što predstavlja novi doprinos spoznavanju patofiziologije endemske nefropatije. Dobiveni rezultati pokazuju vrlo visoku prevalenciju KBB u ruralnom hrvatskom području te razliku u svrstavanju ispitanika u stadije bubrežnog oštećenja 3-5 ovisno o primjenjenoj jednadžbi. Najlošiju podudarnost s ostale tri jednadžbe imala je CG jednadžba, dok su najbolju usporedbu pokazale jednadžbe MDRD2 i CKD-EPI. Zbog dokazane značajne povezanosti procijenjene GFR i dijagnoze EN, dobiveni rezultati upućuju na mogućnost jasnog razlikovanja pojedinih podskupina ispitanika u EN selima pa procjena GFR prediktivnim jednadžbama treba biti i dalje uključena u kriterije za EN. TGF $\beta$  kao biljeg uznapredovale fibroze, nije se pokazao kao pouzdan biljeg u razlikovanju podskupina bolesnih i ostalih ispitanika.

**Rad sadrži:** 111 stranica, 31 sliku, 33 tablice, 137 literaturnih navoda; izvornik je na hrvatskom jeziku

**Ključne riječi:** kronična bubrežna bolest (KBB), endemska nefropatija (EN), brzina glomerularne filtracije (GFR), prediktivne jednadžbe

**Mentori:** prof. dr. sc. Bojan Jelaković, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i prof. dr. sc. Dunja Rogić, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

**Ocjenjivači:** red. prof. dr. sc. József Petrik, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; doc. dr. sc. Draško Pavlović, KBC Sestre Milosrdnice, Zagreb; dr. sc. Ivana Čepelak, professor emerita, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

**Datum prihvatanja rada:** 28. veljače 2018.

Rad je pohranjen u knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta te Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral thesis

### **RELIABILITY OF DIFFERENT EQUATION FOR ESTIMATING GLOMERULAR FILTRATION RATE IN THE CLASSIFICATION STAGE OF ENDEMIC NEPHROPATHY**

**Mirjana Fuček**

Detection of the Chronic kidney disease (CKD) disease in an early stage can help prevent or slow the progression of CKD and reduce the risk of complications. CKD stages, according to the classification NKF /DOQI, are classified based on the estimated glomerular filtration rate (GFR) calculated using predictive equations. This study analyze how different predictive equations (CG – Cockcroft -Gault, MDRD2 - Modification of DietinRenal DiseaseStudy, MCQE - Mayo Clinic Quadratic equation and CKD-EPI - Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) have an influence on assessing CKD in Croatia endemic nephropathy (EN) region. A total of 1573 inhabitants of the Croatian Posavina rural area from 6 endemic and 3 non-endemic villages were enrolled. Participants were classified according to the modified criteria of the World Health Organization for EN. The aim was to examine the effect of different GFR equations on GFR and to determine prevalence of CKD stages 3-5 in Croatian endemic region. Also, it was analyzed are the TGF $\beta$  values in patients urine samples correlated with estimated GFR calculated using different predictive equations. The results show a very high CKD prevalence and differences in the classification of patients in stages 3-5. The CG equation demonstrated worst concordance with other studied equations, while MDRD2 and CKD-EPI showed the best compatibility. TGF $\beta$  has not proved to be a reliable marker in distinguishing between a subset of the sick and other of subjects. Estimated GFR correlated significantly with the diagnosis of EN. Kidney function assessment using predictive equations proved to be a good marker in differentiating the study subgroups remained as one of the diagnostic criteria for EN.

**Thesis includes:** 111 pages, 31 figures, 33 tables, 137 references; originally written in Croatian

**Keywords:** chronic kidney disease (CKD), endemic nephropathy (EN), glomerular filtration rate (GFR), predictive equations

**Supervisor:** Professor Bojan Jelaković, PhD, Faculty of Medicine, University of Zagreb and Professor Dunja Rogić, PhD, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb

**Reviewers:** Full Professor József Petrik, PhD, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb; Assistant Professor Draško Pavlović, PhD, Sisters of Charity University Hospital, Zagreb; Professor Emerita Ivana Čepelak, PhD, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb

**Thesis accepted:** 28<sup>th</sup> February 2018.

The Thesis is deposited at the library of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry and the University Library.