

University of Groningen

Prediction and monitoring of chronic kidney disease

Schutte, Elise

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2017

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Schutte, E. (2017). *Prediction and monitoring of chronic kidney disease*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

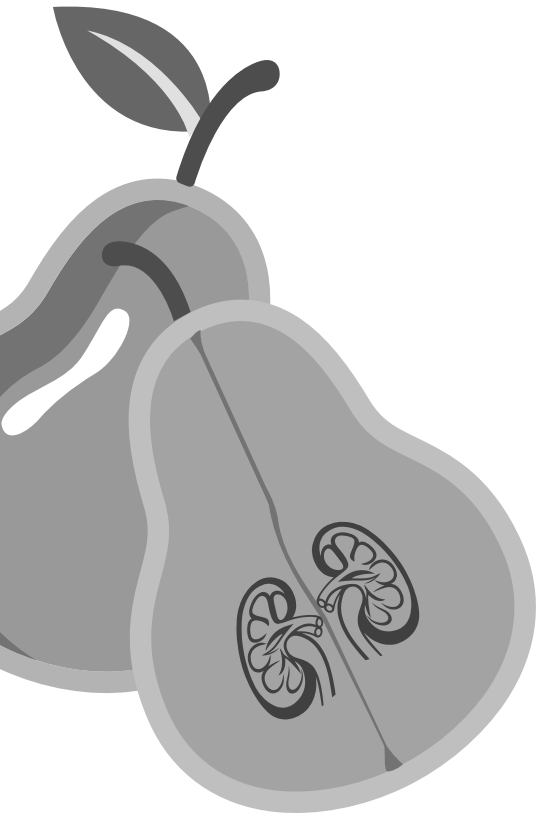
Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 10

Samenvatting voor de geïnteresseerde niet-medicus



Samenvatting voor de geïnteresseerde niet-medicus

Chronische nierschade (afgekort als CKD) wordt gedefinieerd als een verminderde nierfunctie of de aanwezigheid van tekenen van structurele nierschade die langer dan 3 maanden bestaan en de gezondheid beïnvloeden.¹ CKD komt voor bij ongeveer 10% van de wereldbevolking en vormt daarmee een substantiële belasting voor het mondiale welzijn.² CKD, en zijn belangrijkste veroorzakers hypertensie en diabetes mellitus, kunnen leiden tot eindstadium nierfalen, cardiovasculair lijden en sterfte.^{1,3} Gezien de grote impact die CKD heeft op het mondiale welzijn is het nodig om factoren te identificeren die kunnen voorspellen of een patiënt met CKD ziekteprogressie zal doormaken omdat dit de patiënten zijn die nauwlettend moeten worden gevolgd en behandeld om hun risico op progressie te verlagen. Biomarkers worden vaak gebruikt als zo'n voorspellende factor. Een biomarker is een stof of eigenschap (bijvoorbeeld gewicht of temperatuur) die objectief gemeten en geëvalueerd kan worden en gebruikt kan worden als indicator van normale biologische processen, ziekteprocessen of farmacologische reacties op een therapeutische interventie.⁴ Voor CKD zijn geschatte glomerulaire filtratiesnelheid (in dit hoofdstuk beschreven als nierfunctie) en aanwezigheid van albuminurie (eiwit in de urine) de belangrijkste biomarkers om het risico op het ontwikkelen van eindstadium nierfalen vast te stellen (Figuur 1).¹ Patiënten in de hoog-risico categorieën (veel albuminurie en/of een slechte nierfunctie) moeten behandeld worden om hun nierfunctieachteruitgang te vertragen, en daarmee zijn nierfunctie en albuminurie van groot belang in de dagelijkse praktijk van een nefroloog.

Dit proefschrift bestaat uit 2 delen. Deel 1 heeft als doel nieuwe biomarkers te onderzoeken die kunnen worden gebruikt om CKD progressie te voorspellen. Deel 2 heeft als doel te onderzoeken hoe de nierfunctie het beste kan worden gemonitord over de tijd, zowel wat betreft de keuze van biomarker om de nierfunctie te schatten, als pre-analytische behandeling van bloedmonsters. In dit laatste hoofdstuk worden de belangrijkste bevindingen van ieder hoofdstuk samengevat, en hun implicaties voor toekomstig onderzoek en de klinische praktijk worden besproken.

				Albuminurie categorieën		
				Beschrijving en range		
				A1	A2	A3
				Normaal	Matig verhoogd	Ernstig verhoogd
				<30 mg/g	30-299 mg/g	>300 mg/g
				<3 mg/mmol	3-29 mg/mmol	>30 mg/mmol
GFR categorieën Beschrijving en range (mL/min/1.73m ²)	G1	Normaal of hoog	>90			
	G2	Mild afgenomen	60-89			
	G3a	Mild tot matig afgenomen	45-59			
	G3b		30-44			
	G4	Ernstig afgenomen	15-29			
	G5	Nierfalen	<15			

	Geen CNS		Matig verhoogd risico
	Mild verhoogd risico		Sterk verhoogd risico

Figuur 1 Indeling van patiënten aan de hand van nierfunctie (nierfunctie) en albumine categorie, hetgeen leidt tot een globale stadiering wat betreft risico op het optreden van nierfalen, hart- en vaatziekten en sterfte. CNS: chronische nierschade

Deel 1. Biomarkers voor het voorspellen van CKD progressie

Serum bicarbonaat

Metabole acidose, verzuring van het bloed gekarakteriseerd door lage serum bicarbonaat spiegels, is geassocieerd met een verhoogd risico op eindstadium nierfalen en sterfte in CKD populaties zonder diabetes.⁵⁻⁹ Het is echter niet bekend of deze associatie ook aanwezig is bij patiënten met diabetes. Er zijn redenen om aan te nemen dat bij patiënten met diabetes deze relatie anders zou kunnen zijn. In **Hoofdstuk 2** hebben we daarom de associaties van serum bicarbonaat met nier- en cardiovasculaire eindpunten en sterfte bestudeerd in een cohort van patiënten met type 2 diabetes en diabetische nierziekte. We vonden dat patiënten met lage bicarbonaat spiegels inderdaad een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van eindstadium nierfalen en sterfte. Deze associaties waren echter volledig afhankelijk van en verklaard door de nierfunctie aan het begin van de studie. Deze bevindingen spreken de bevindingen van eerdere studies tegen die wel een onafhankelijke associatie van serum bicarbonaat met eindstadium nierfalen en sterfte vonden.⁵⁻⁹ Het belangrijkste verschil tussen die studies en onze studie was dat alle patiënten in onze studies type 2 diabetes hadden terwijl de andere studies voornamelijk patiënten zonder diabetes hebben geïncludeerd.

Sterker nog, toen in meer detail werd gekeken naar de bevindingen van de andere studies, vonden we inderdaad dat na stratificatie voor diabetes status de andere studies ook lieten zien dat lage serum bicarbonaat spiegels geen onafhankelijke associatie hebben met eindstadium nierfalen in deze subgroepen.^{6,8,9} Het ontbreken van een nierfunctie-onafhankelijke associatie tussen laag serum bicarbonaat en eindstadium nierfalen, sterfte en cardiovasculaire eindpunten in onze studie, suggereert dat correctie van metabole acidose bij patiënten met diabetes en CKD de uitkomsten voor hen niet verbetert, of gestart zou moeten worden bij een andere drempel dan de 22 mEq/L die wordt geadviseerd door de KDIGO richtlijn.¹ Toekomstig onderzoek zou daarom moeten onderzoeken of en wanneer bicarbonaat suppletie gestart zou moeten worden bij patiënten met CKD en diabetes. Op dit moment worden er 4 gerandomiseerde, gecontroleerde studies uitgevoerd om te onderzoeken wat de voordelen en risico's van bicarbonaat suppletie zijn bij patiënten met CKD, en twee studies richten zich specifiek op patiënten met diabetes.¹⁰⁻¹³ Hopelijk zullen de resultaten van die studies leiden tot het ontwikkelen van evidence-based richtlijnen voor de correctie van metabole acidose in patiënten met diabetes en CKD.

Advanced glycation end products en huid autofluorescentie

Advanced glycation endproducts (AGEs) zijn irreversibel versuikerde eiwitten, en stapeling van AGEs veroorzaakt ontsteking en weefselschade.¹⁴⁻²⁴ AGEs die opgeslagen liggen in de huid weerkaatsen ultraviolet licht van bepaalde golflengtes, en die zogenoemde huid autofluorescentie kan worden gemeten met een AGE-reader en gebruikt om te berekenen hoeveel AGEs er aanwezig zijn in de huid. Huid autofluorescentie is daarmee een gevalideerde proxy voor stapeling van AGEs in het lichaam. Er is al aangetoond dat verhoogde huid autofluorescentie geassocieerd is met de aanwezigheid van CKD en diabetes,^{22,25} en met progressie van CKD in patiënten met diverse stadia van CKD.²⁶ Het is nog niet bekend of huid autofluorescentie ook geassocieerd is met CKD progressie in patiënten met diabetes mellitus en intacte nierfunctie. In **Hoofdstuk 2** hebben we daarom de associaties van huid autofluorescentie met diabetes en nierfunctieachteruitgang onderzocht in patiënten met perifeer vaatlijden en intacte nierfunctie. We vonden geen associatie tussen huid autofluorescentie en nierfunctie achteruitgang, en deze associatie was ook niet verschillend voor mensen met en zonder diabetes. Deze resultaten spreken de resultaten van de enige eerder uitgevoerde studie die de associatie tussen huid autofluorescentie en nierfunctieachteruitgang onderzocht tegen.²⁶ Die andere studie is uitgevoerd in Japans CKD cohort, waarin gevonden werd dat huid autofluorescentie geassocieerd is met nierfunctieachteruitgang in patiënten met stadium 1-5 CKD. We hebben twee mogelijke verklaringen voor deze tegenstrijdige resultaten. Ten eerste, de Japanse studie gaf geen informatie over cardiovasculaire comorbiditeit aan het begin van de studie, en het is bekend dat patiënten met cardiovasculair lijden (inclusief perifeer vaatlijden) hogere huid autofluorescentie waarden hebben. De gemiddelde huid autofluorescentie waarde was in onze studie inderdaad beduidend hoger dan in het Japanse cohort, wat suggereert dat ons cohort een hogere prevalentie van cardiovasculaire comorbiditeit had. Het is daarom mogelijk dat huid autofluorescentie nierfunctieachteruitgang niet voorspelt bij patiënten die al hoge huid autofluorescentie waarden hebben door cardiovasculair lijden. Daarnaast worden AGEs uitgescheiden door de nier, en daarmee zijn AGE waarden afhankelijk van de nierfunctie.¹⁸ Het is mogelijk dat AGE accumulatie ten gevolge

van een slechte nierfunctie pas ontstaat als de nierfunctie is gedaald tot onder een bepaalde waarde. Aangezien onze patiënten een intacte nierfunctie hadden aan het begin van de studie, zou dit een reden kunnen zijn voor het ontbreken van een associatie tussen huid autofluorescentie en nierfunctieachteruitgang. De conclusie die uit dit hoofdstuk wordt getrokken is dat huid autofluorescentie geen goede voorspeller van nierfunctieachteruitgang is in patiënten met intacte nierfunctie en perifere vaatlijden.

Biomarker panels om progressie van nierziekte te voorspellen

Hoofdstukken 2 en 3 zijn voorbeelden van traditioneel biomarker onderzoek in CKD. De associaties van één marker met klinische eindpunten zoals eindstadium nierfalen worden onderzocht om te bepalen of de marker-uitkomst associatie onafhankelijk is van andere risicofactoren voor CKD progressie. Albuminurie en nierfunctie zijn op dit moment de belangrijkste markers voor het voorspellen van CKD progressie. Veel andere markers zijn onderzocht in studies met vergelijkbare methodes als hoofdstuk 2 en 3, maar tot nu toe heeft geen van die markers albuminurie en nierfunctie overtroffen met betrekking tot het voorspellen van nier gerelateerde eindpunten. CKD is een ziekte die bestaat uit veel factoren, en waarbij progressie wordt bepaald door diverse pathofysiologische routes. Het zou daarom nodig kunnen zijn om meerdere markers te gebruiken om zo de informatie over al deze routes te kunnen combineren om een optimale formule voor risicovoorspelling te verkrijgen. In **Hoofdstuk 4** hebben we daarom een review uitgevoerd van de literatuur over biomarker panels voor het voorspellen van CKD progressie, specifiek voor patiënten met type 2 diabetes. We hebben de methodologie van negen studies geanalyseerd die biomarker panels voor het voorspellen van progressie van diabetische nierziekte hebben onderzocht,²⁷⁻³⁵ gebaseerd op de criteria zoals gepresenteerd in Box 1. We vonden dat alle studies zich in de vroege stadia van het biomarker ontwikkelingsproces bevonden en dat geen van hen de stappen onderzochten die noodzakelijk zijn voor het implementeren van een biomarker panel in de klinische praktijk: het bestuderen van het biomarker panel in diverse patiënten cohorten (klinisch nut, vroege of late fase van de ziekte), en het bestuderen van het effect dat een biomarker panel kan hebben op behandeling voor het verbeteren van klinische uitkomsten. Derhalve is de conclusie van dit hoofdstuk dat biomarker panels veelbelovende resultaten boeken voor verbeterde voorspelling van CKD progressie, maar dat de nodige studies om die biomarker panels te controleren op hun juistheid (validatie) voor gebruik in de klinische praktijk ontbreken. Om deze kloof in onze kennis de dichteren presenteren we belangrijke punten om studie ontwerp en methodologie voor het ontwikkelen van biomarker panels bij chronische nierziekte te verbeteren.

Box 1 Essentiële punten voor het beoordelen of uitvoeren van biomarker studies

Ontwikkelingsfase

- Antonen dat een marker nuttig kan zijn voor de praktijk
- Associatie met harde eindpunten (zoals eindstadium nierfalen)
- Beoordelen van toegevoegde waarde
- Klinisch nut
- Klinische toepasbaarheid

Populatie

- Vroege of late fase van de ziekte

Eindpunten

- Surrogaat eindpunten
- Harde eindpunten

Het meten van biomarkers

- Selectie van de matrix (bloed, urine)
- Behandeling, invriezen en opslag van monsters voorafgaand aan analyse
- Assay karakteristieken
- Afkapwaarden van de biomarker

Statistische analyse

- Grootte van de studie en aantal events
- Corrigeren voor covariabelen (etiologisch of voorspellend)
- Discriminatie (AUC, NRI, IDI)
- Calibratie van het model (observed en expected event rates)

Deel 2. Biomarkers voor het monitoren van nierfunctie daling

Kreatinine assays

In epidemiologische studies en klinische onderzoeken wordt nierfunctie meestal geschat met behulp van de hoeveelheid kreatinine in het bloed, leeftijd en geslacht. Kreatinine is een afbraakproduct van skeletspieren en wordt daardoor continue geproduceerd. Het is een eiwit dat klein genoeg is om uitgescheiden kan worden door de nieren, en daarmee kan de hoeveel het kreatinine in het bloed worden gebruikt als maat voor de nierfunctie. Door regelmatig het kreatinine te meten kan de snelheid van nierfunctieachteruitgang (de nierfunctie slope) in kaart worden gebracht. Kreatinine wordt meestal gemeten tijdens ieder patiëntenbezoek en de nierfunctie wordt dan geschat met die kreatinine waarde. Een andere optie is om alle monsters die verzameld zijn tijdens het onderzoek op te slaan en dan aan het einde een alle monsters per individu tegelijk te onderzoeken onder dezelfde analytische omstandigheden (single run analyse). Hierdoor wordt het effect van dag tot dag variabiliteit geëlimineerd. Aan de andere kant kan het gebruik van langdurig opgeslagen monsters ook variabiliteit veroorzaken. Het is op dit moment nog niet duidelijk of single run analyse van de

verzamelde monsters per patiënt betrouwbaarder nierfunctie slopes genereert dan routine metingen uit verse samples. Het is ook nog niet bekend welk kreatinine assay de meest betrouwbare nierfunctie slopes oplevert. Er zijn twee assays beschikbaar om kreatinine te meten: de Jaffe en de enzymatische methode. Hoewel Jaffe assays goedkoper zijn, worden enzymatische assays beschouwd als meer betrouwbaar doordat er minder chemische interferentie door andere stoffen is.^{36,37} In **Hoofdstuk 5**, gebruik makend van data van de SUN-MACRO studie, onderzochten we daarom welke methode de meest betrouwbare nierfunctie slope op basis van kreatinine zou opleveren: het gebruik van een Jaffe of een enzymatisch assay, en routine of single-run meting. De originele studie maakte gebruik van routine Jaffe metingen, en in deze studie werden alle monsters opnieuw gemeten middels een single run meting met zowel een Jaffe als enzymatische methode. Zo ontstonden voor iedere patiënt 3 nierfunctie slopes die we met elkaar hebben vergeleken. De meest betrouwbare nierfunctie slope, en dus de meest betrouwbare methode, werd gedefinieerd als de slope met de laagste intra- en inter-individuele variabiliteit en de hoogste biologische geloofwaardigheid. Intra-individuele variabiliteit is gedefinieerd als de nierfunctie variabiliteit over de tijd binnen een patiënt, inter-individuele variabiliteit is gedefinieerd als nierfunctie variabiliteit over de tijd op groepsniveau. Biologische geloofwaardigheid van nierfunctie slopes is gedefinieerd als de waarschijnlijkheid dat een nierfunctie slope het gevolg is van daadwerkelijke verandering in nierfunctie, en niet van andere factoren (zoals bijvoorbeeld laboratoriumvariatie of opslag van bloedmonsters voorafgaand aan de meting). Aangezien patiënten met een snelle nierfunctieachteruitgang een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van eindstadium nierfalen, is het biologisch geloofwaardig dat nierfunctie slopes geassocieerd zijn met gevestigde risicofactoren voor CKD progressie, zoals albuminurie, en ziekten die geassocieerd zijn met eindstadium nierfalen, zoals hart- en vaatziekten en sterfte. We vonden dat de originele, op Jaffe gebaseerde nierfunctie slopes, de single run methodes overtroffen wat betreft de intra- en inter-individuele variabiliteit en biologische geloofwaardigheid. We vonden geen verschil in intra- en inter-individuele variabiliteit of biologische geloofwaardigheid tussen de nierfunctie slopes verkregen met een single run methode met ofwel een Jaffe dan wel een enzymatisch assay. Dit zijn verrassende resultaten aangezien we verwachtten dat kreatinine op basis van single run met een enzymatisch assay de meest betrouwbare nierfunctie slopes zou opleveren. Van enzymatische assays is al aangetoond dat ze superieur zijn ten opzichte van Jaffe assays, en single run analyse voorkomt variabiliteit ten gevolge van dag-tot-dag variabiliteit van de assays. We hebben twee mogelijke verklaringen voor deze onverwachte resultaten. Ten eerste is het mogelijk dat het langdurig invriezen van de monsters gedurende ongeveer 10 jaar, samen met vries-dooi cycli de kwaliteit van de monsters negatief heeft beïnvloed. Ten tweede wordt de Jaffe methode inferieur beschouwd ten opzichte van enzymatische methodes om kreatinine te meten omdat er sprake is van chemische interferentie met diverse stoffen, zoals albumine en glucose.³⁶ Aangezien deze stoffen min of meer constante spiegels neigen te hebben binnen patiënten, zou het best zo kunnen zijn dat dit geen invloed heeft op nierfunctie slopes die zijn gecalculeerd met een middels Jaffe methode verkregen kreatinine meting. Uit dit hoofdstuk concluderen we dat het single run meten van kreatinine het gebruik van verse monsters niet overtreft voor het monitoren van nierfunctieachteruitgang, onafhankelijk van het kreatinine assay dat wordt gebruikt.

Kreatinine versus cystatine C in een op de algemene bevolking gebaseerde cohort studie

Kreatinine, de meest gebruikte biomarker voor het schatten van nierfunctie, is niet accuraat bij patiënten met relatief extreem grote of kleine spiermassa in verhouding tot hun leeftijd en geslacht.³⁶ Daarom is cystatine C geïntroduceerd als alternatieve nierfunctiemarker. In tegenstelling tot kreatinine wordt cystatine C niet allen door spiercellen, maar door alle cellen in het menselijk lichaam gemaakt. Cystatine C is daardoor minder afhankelijk van spiermassa. Het CKD-EPI consortium heeft formules ontwikkeld waarmee de nierfunctie kan worden geschat met behulp van kreatinine, cystatine C en een combinatie van kreatinine en cystatine C.^{38,39} Studies om nieuwe nierfunctiemarkers te valideren worden traditioneel alleen uitgevoerd met eenmalige schattingen van nierfunctie, maar de nierfunctiemarker die een eenmalige nierfunctie meting het beste schat is mogelijk niet de beste marker voor het monitoren van nierfunctieverandering. Daarom hebben we in **Hoofdstuk 6** onderzocht of kreatinine of cystatine C de beste nierfunctiemarker is voor monitoren van nierfunctie verandering in een groot Nederlands, op de algemene bevolking gebaseerde cohort studie. Gebruik makend van dezelfde statistische methoden als in hoofdstuk 5 vonden we dat de intra- en inter-individuele variabiliteit het laagst was voor op kreatinine gebaseerde slopes. Daarentegen hadden op cystatine C gebaseerde slopes een significant sterkere associatie met risicofactoren voor CKD progressie dan op kreatinine gebaseerde slopes. We hebben het onderzoek naar de biologische geloofwaardigheid uitgebreid met Cox regressieanalyses om de marker die nierfunctie slopes opleverde met de sterkste associatie met het optreden van cardiovasculair lijden en sterfte te achterhalen. We vonden dat de associaties met sterfte gelijkwaardig waren voor alle markers, maar dat alleen op kreatinine gebaseerde slopes geassocieerd waren met cardiovasculair lijden. Twee andere studies hebben ook de associatie van nierfunctie slopes op basis kreatinine en cystatine C met cardiovasculaire events en sterfte onderzocht.^{40,41} Zij vonden ook dat de associaties van nierfunctie slopes met sterfte (door alle oorzaken) voor elke marker gelijkwaardig waren, maar dat de op kreatinine gebaseerde slopes een sterkere associatie hadden met cardiovasculair lijden. We concluderen daarom dat voor het monitoren van nierfunctie achteruitgang in de algemene populatie cystatine C niet consequent beter is dan kreatinine, alleen noch in combinatie met kreatinine.

Kreatinine, cystatine C, Beta-2-Microglobuline, en Beta-Trace protein in een cohort met diabetische nierziekte

Naast kreatinine en cystatine C zijn er recentelijk twee nieuwe nierfunctiemarkers geïntroduceerd: Beta-2-Microglobulin (B2M) en Beta-Trace protein (BTP). Beide markers worden continu geproduceerd, volledig uitgescheiden door de nier en niet opnieuw opgenomen in bloedbaan na uitscheiding, wat het veelbelovende kandidaten als nierfunctiemarker maakt. Het CKD-EPI consortium heeft drie nieuwe formules ontwikkeld om nierfunctie te schatten met B2M, BTP en B2M plus BTP.⁴² Daarom hebben we in **Hoofdstuk 7** herhaalde metingen van 4 markers voor het schatten van nierfunctie geanalyseerd: kreatinine, cystatine C, B2M en BTP. Net als in hoofdstuk 5 gebruikten we data van de SUN-MACRO studie. Ons doel was om de beste marker of combinatie van markers te vinden om nierfunctieachteruitgang te monitoren, wederom met dezelfde statistische

methoden als in hoofdstuk 5. We vonden dat de intra- en inter-individuele variabiliteit het laagst was voor nierfunctie slopes die geschat zijn met gebruik van BTP, wat suggereert dat nierfunctie slopes preciezer kunnen worden geschat met op BTP. Op cystatine C gebaseerde slopes hadden de sterkste associatie met risicofactoren voor CKD progressie en dus de hoogste biologische geloofwaardigheid. Het verschil tussen in biologische geloofwaardigheid tussen op cystatine C gebaseerde en op kreatinine gebaseerde nierfunctie schattingen was echter niet significant. Daarom concluderen we dat geen van de nieuwe nierfunctiemarkers, alleen of gecombineerd, consequent beter presteerde dan kreatinine voor het monitoren van nierfunctieachteruitgang. Als de resultaten van hoofdstuk 6 en 7 worden gecombineerd kunnen we concluderen dat er nog geen reden is om kreatinine te vervangen door (combinaties van) nieuwe nierfunctiemarkers.

Gemeten nierfunctie versus nierfunctie en hun associatie met klinische eindpunten

De studies die beschreven worden in hoofdstukken 5, 6 en 7 hebben allemaal de beperking dat de nierfunctie niet nauwkeurig gemeten maar geschat was met behulp van de bloed kreatinine waarde. Een nauwkeurige meting van de nierfunctie was niet beschikbaar door de kosten die verbonden zijn aan het verkrijgen van herhaalde nierfunctie metingen in een grote studie. De ware nierfunctie, de gouden standaard, is de klaring van inuline door de nieren gedurende 24 uur. Het is echter onmogelijk om zo'n dure en onhandige procedure in de klinische praktijk in te voeren. Als alternatief kan de nierfunctie ook worden geschat middels 3 methodes: nierfunctie berekenen met de plasma of urineklaring van een stof die niet door het lichaam zelf geproduceerd wordt (een exogene marker), zoals iohexol of iothalamaat (hierna beschreven als gemeten nierfunctie), het meten van de 24-uurs urineklaring van een stof die door het lichaam zelf geproduceerd wordt zoals kreatinine of ureum (een endogene marker) en het schatten van de nierfunctie met een formule die serum kreatinine, leeftijd, geslacht en ras combineert, zoals de CKD-EPI formule (hierna beschreven als geschatte nierfunctie).⁴³ Hoewel wordt aangenomen dat het meten van de nierfunctie op basis van de klaring van een exogene marker de gouden standard is, is het nog onduidelijk welke van deze drie methodes de nierfunctie oplevert met de sterkste associatie met harde eindpunten zoals eindstadium nierfalen en sterfte. In **Hoofdstuk 8** hebben we daarom de huidige literatuur over de drie nierfunctie schattingsmethodes geanalyseerd, en specifiek gemeten nierfunctie en geschatte nierfunctie vergeleken met betrekking tot het voorspellen van klinische eindpunten. We vonden dat zes studies de associatie van gemeten nierfunctie en geschatte nierfunctie met sterfte hebben onderzocht.^{40,44-48} De studies hadden uiteenlopende resultaten. Sommige studies vonden dat geschatte nierfunctie, en anderen juist dat gemeten nierfunctie sterkere associaties had met eindstadium nierfalen en sterfte, terwijl anderen geen verschil tussen geschatte en gemeten nierfunctie vonden. Over het algemeen laten deze data zien dat gemeten nierfunctie de geschatte nierfunctie niet consequent overtreft met betrekking tot de associatie met eindstadium nierfalen en sterfte. Een mogelijke verklaring voor deze tegenstrijdigheid is een gebrek aan standaardisatie van de procedure om een gemeten nierfunctie te verkrijgen. Formules om nierfunctie te schatten worden beoordeeld door ze te vergelijken met gemeten nierfunctie. Maar aangezien gemeten nierfunctie verkregen kan worden met diverse exogene nierfunctiemarkers, en omdat er geen

standaardisatie is van de protocollen en assays die worden gebruikt om gemeten nierfunctie te verkrijgen, is er altijd bias en onnauwkeurigheid binnen de diverse gemeten nierfunctie markers. Deze bias is ook aanwezig als gemeten nierfunctie wordt vergeleken met geschatte nierfunctie, en dus kan een verschil tussen geschatte en gemeten nierfunctie (als beiden bepaald worden in dezelfde patiënten) niet alleen maar het gevolg zijn van onnauwkeurigheid van de geschatte nierfunctie. Aan de andere kant is geschatte nierfunctie verkregen met kreatinine over de hele wereld gestandaardiseerd, zowel wat betreft het assay als de formule om nierfunctie te schatten.^{1,49} Als deze resultaten en overwegingen worden gecombineerd met het feit dat geschatte nierfunctie ook nog eens verkregen kan worden voor een fractie van de kosten van een gemeten nierfunctie, concluderen we dat geschatte nierfunctie mogelijk helemaal niet inferieur is aan gemeten nierfunctie.

Toekomstperspectieven

Box 2 Implicaties van dit proefschrift voor de praktijk:

- Serum bicarbonaat spiegels kunnen het verhoogde risico op eindstadium nierfalen en sterfte bij patiënten met type 2 diabetes niet verklaren.
- Huid autofluorescentie kan niet gebruikt worden voor het voorspellen van nierfunctieachteruitgang in patiënten met perifeer vaatlijden.
- Biomarker panels kunnen nog niet worden geïmplementeerd in de nefrologiepraktijk door een gebrek aan validatiestudies.
- Ieder kreatinine assay kan worden gebruikt voor het monitoren van nierfunctieachteruitgang zo lang het maar gekalibreerd is volgens internationale standaarden.
- Er is nog geen reden om kreatinine te vervangen door nieuwe markers voor het monitoren van nierfunctieachteruitgang.
- Procedures om de gemeten nierfunctie te verkrijgen moeten worden gestandaardiseerd zodat studies ter validatie van alternatieve nierfunctiemarkers kunnen worden verbeterd.

Van individuele markers naar biomarkerpanels voor het voorspellen van CKD progressie

De implicaties voor de praktijk van dit proefschrift worden samengevat in Box 2. Er kunnen twee hoofdconclusies getrokken worden uit deel 1 van dit proefschrift. Ten eerste, albuminurie en nierfunctie worden op dit moment gebruikt om CKD te diagnosticeren en stadiëren, en beiden zijn sterke voorspellers van het ontwikkelen van eindstadium nierfalen en sterfte. Een nieuwe biomarker moet toegevoegde voorspellende waarde hebben bovenop deze bekende markers om klinisch zinvol te zijn. Gezien de sterke voorspellende waarde van albumine en nierfunctie zal het lastig worden om afzonderlijke biomarkers te vinden die een significante en relevante verbetering bieden ten opzichte van bestaande markers. Ten tweede, biomarkerpanels hebben wel de potentie om voorspelling van CKD progressie te verbeteren ten opzichte van albuminurie en nierfunctie, maar de studies die tot nu toe zijn uitgevoerd om zulke biomarkerpanels te ontwikkelen voor de klinische praktijk zijn van onvoldoende kwaliteit. In het bijzonder worden er zelden studies uitgevoerd die een biomarkerpanel onderzoeken in diverse patiënten cohorten, of onderzoeken wat het effect van een biomarkerpanel is op de behandeling om zo de klinische uitkomsten mogelijk te verbeteren. Deze studies zijn van essentieel belang voor het implementeren van een nieuw biomarkerpanel in de klinische praktijk. Als deze studies niet worden uitgevoerd zullen we nooit weten of behandeling geleid door een biomarkerpanel daadwerkelijk de klinische uitkomsten zal beïnvloeden.

Op dit moment is er nog geen consensus over de criteria die gebruikt moeten worden om de waarde van biomarkers binnen de nefrologie te bepalen. Daarom is er een richtlijn nodig voor het valideren van biomarkers en biomarkerpanels. Bestaande kaders die worden gebruikt binnen andere takken van de geneeskunde kunnen hiervoor worden gebruikt. Het kader voor het evalueren van biomarkers binnen de cardiologie, voorgesteld door Hlatky et al., kan bijvoorbeeld worden gebruikt voor biomarkerpanel studies binnen de nefrologie.⁵⁰ Het gebruik van zo'n richtlijn of kader kan

helpen om de focus van onderzoekers te verleggen van ontdekking van nieuwe biomarkers richting validatie van bestaande biomarkerpanels, bepalen van hun klinische toepasbaarheid, en uiteindelijk implementatie in de klinische praktijk.

Biomarkerpanels kunnen niet alleen gebruikt worden om de predictie van CKD progressie te verbeteren, maar ook om de behandelrespons te evalueren, wat ze ook interessant maakt voor het verbeteren van ontwerpen van toekomstige studies. Als de kans op een gunstige behandelrespons kan worden voorspeld met een biomarkerpanel, zou zo'n panel gebruikt kunnen worden om de optimale studiepoppulatie te selecteren: voorspellen van ongunstige reacties om de mate van uitval te beperken, en voorspellen van gunstige reacties om de optimale populatie te selecteren voor een behandeling in de klinische praktijk. Twee voorbeelden van klinische trials die biomarker panels om een doelpopulatie te selecteren voor (onderzoeks-) medicatie zijn de PRIORITY (NCT 02040441) en SONAR studie (NCT 01858532). PRIORITY heeft als doel om het effect van spironolacton versus placebo te bepalen wat betreft het vertragen van het optreden van microalbuminurie (de aanwezigheid van kleine hoeveelheden albumine in de urine) bij patiënten met type 2 diabetes zonder albuminurie. De studie selecteert patiënten gebaseerd op een urine proteomics score. Proteomics is het grootschalig bestuderen van alle eiwitten die aanwezig kunnen zijn in de urine. De eiwitsamenstelling van urine wordt momenteel onderzocht om te zien of dit kan worden gebruikt om het risico op nierziekten te voorspellen. Patiënten met een positieve proteomics score worden geselecteerd aangezien zij een grotere kans hebben op het ontwikkelen van microalbuminurie en zij zullen willekeurig worden ingedeeld om spironolacton (een bloeddrukverlager die tevens de uitscheiding van albumine in de urine vermindert) of placebo te ontvangen. Patiënten met een negatieve proteomics score worden gevraagd om deel te nemen aan een prospectieve cohortstudie.⁵¹ Het andere voorbeeld is de SONAR studie. Hoewel SONAR niet het effect van een specifieke biomarker score onderzoekt, gebruikt het wel diverse biomarkers om vast te stellen wie voordeel zou kunnen hebben van behandeling met atrasentan, een nieuw medicijn dat is ontwikkeld om progressie van nierziekte te vertragen. SONAR gebruikt een open-label verrijkingfase, waarin iedere patiënt atrasentan ontvangt. Patiënten kunnen alleen deelnemen aan de daaropvolgende dubbelblinde behandelfase als ze een gunstige respons hebben van een gecombineerd veiligheids- en effectiviteitspanel, waaronder albuminurie, lichaamsgewicht, kreatinine en brain natriuretic peptide (een maat voor de vochtbelasting van het hart en het lichaam). Tezamen zullen deze studies hopelijk aantonen dat biomarkerpanels inderdaad patiënten kunnen identificeren die de grootste kans hebben op een gunstige respons op onderzoeksmedicatie. Bovendien zou dit kunnen leiden tot een nieuwe standaard voor studie ontwerp, waarbij biomarkerpanels bestaande uit zowel veiligheids- als effectiviteitsmarkers zullen worden gebruikt om de doelpopulatie voor nieuwe medicijnen voor de behandeling van CKD te bepalen. Dit zou niet alleen kunnen leiden tot studies met minder uitval of lagere incidentie van nadelige bijwerkingen, het zou ook kunnen helpen bij het registeren van nieuwe medicatie voor specifieke indicaties. Daarmee helpt het artsen om het juiste medicijn voor te schrijven aan de juiste patiënt. In een era waarin personalized medicine in opkomst is, zijn dit belangrijke ontwikkelingen.

Het monitoren van nierfunctie over de tijd

Deel 2 van dit proefschrift concentreerde zich op welke marker en welk assay het beste is voor het monitoren van nierfunctie over de tijd. Wat betreft kreatinine assays concludeerden we dat voor het monitoren van nierfunctie achteruitgang het in een single run meten van kreatinine uit plasma monsters die bevroren bewaard zijn niet superieur is aan het gebruik van verse monsters, onafhankelijk van het gebruikte kreatinine assay. Deze resultaten suggereren dat het gunstige effect van minder variabiliteit door assay-geïnduceerde drift en dag-tot-dag variabiliteit op de kreatinine metingen niet opweegt tegen de ongunstige effecten van langdurige opslag van serum monsters en vries-dooi cycli. Onze resultaten suggereren dat het niet noodzakelijk is om de huidige gewoonte van tijdens klinische studies kreatinine te meten uit verse monsters te veranderen naar een single run meting aan het einde van de studie. Daarentegen kan onze bevinding dat nierfunctie slopes niet beïnvloed worden door het gebruikte kreatinine assay wel toekomstige studies beïnvloeden. De Jaffe methode wordt nog altijd gebruikt omdat het goedkoper is dan enzymatische assays. Met de kennis dat het voor herhaalde nierfunctie metingen niet uitmaakt welk kreatinine assay gebruikt wordt, betekent deze vinding dat robuust nefrologie onderzoek ook uitgevoerd kan worden in gebieden met beperkte onderzoeksgelden.

Hoofdstuk 6 en 7 lieten zien dat geen van de nieuwe markers kreatinine overtroffen voor het monitoren van nierfunctie over de tijd. Bovendien presteerden zelfs combinaties van biomarkers niet beter dan kreatinine. Hierbij moet wel de kanttekening worden geplaatst dat dit alleen geldt voor herhaalde metingen van nierfunctie. Voor enkele metingen van nierfunctie leidt het combineren van kreatinine en cystatine C wel degelijk tot een meer accurate schatting van de gemeten nierfunctie.⁴² Het is mogelijk dat net als bij de vergelijking van Jaffe en enzymatische assays voor het meten van kreatinine, de mogelijke (systematische) onnauwkeurigheid voor een puntschatting van nierfunctie geen invloed heeft op de nierfunctie slopes.

Vier stappen moeten worden genomen om een definitieve keuze van een marker voor nierfunctie monitoring in de toekomst te kunnen maken. Als eerste moeten de geschatte nierfunctie slopes van elke marker worden vergeleken met de bijbehorende gemeten nierfunctie slopes. Ten tweede moeten toekomstige studies onderzoeken welke marker of combinatie van markers leidt tot nierfunctie slopes met de sterkste associatie met harde eindpunten zoals eindstadium nierfalen en sterfte. Ten derde, behandel-effecten op nierfunctie slopes gebaseerd op de diverse nierfunctiemarkers moeten worden beoordeeld en vergeleken. Ten vierde, in aanvulling op onze eerdere oproep voor de ontwikkeling van biomarkerpanels, is het noodzakelijk om formules te ontwikkelen om de nierfunctie te schatten waarbij B2M en/of BTP wordt toegevoegd aan kreatinine en cystatine C, en dat deze uitgebreid worden getest in diverse populaties. De marker of combinatie van markers die een nierfunctie slope opleveren die het dichtst in de buurt komt van de ware nierfunctie en die de minste variabiliteit heeft door invloeden buiten de nier om (bijvoorbeeld assay variabiliteit of biologische variabiliteit) moet worden gekozen. Onze resultaten uit Hoofdstuk 7 suggereren dat het gebruik van een multi-marker formule de schatting van nierfunctie daling niet lijkt te verbeteren. Hierbij moet echter wel worden opgemerkt dat onze studie een relatief korte follow-up duur had en dat harde eindpunten zoals eindstadium nierfalen niet beschikbaar waren. Daarom is het nog altijd nodig om deze markers te onderzoeken in diverse populaties en

cohorten met lange follow-up duur om een definitief antwoord te kunnen geven op de vraag welke marker het beste is voor het monitoren van nierfunctie. In de praktijk zou de keuze voor een marker kunnen afhangen van specifieke patiënteigenschappen. Kreatinine is bijvoorbeeld niet geschikt als nierfunctiemarker in studies met een behandeling die een direct effect heeft op de kreatinine productie of excretie, zoals een dieet met een laag eiwitgehalte. In die gevallen zou cystatine C of een van de andere markers een betere keuze kunnen zijn. Het gebruik van een combinatie van markers zou ook kunnen helpen om de beperking van individuele markers te ondervangen.

Inuline wordt beschouwd als de gouden standaard voor het meten van de nierfunctie, waartegen iedere marker en formule voor het schatten van de nierfunctie wordt gevalideerd. We hebben echter in Hoofdstuk 8 laten zien dat er aanzienlijke analytische variatie is van gemeten nierfunctie, mogelijk veroorzaakt door een gebrek aan standaardisatie. Alle endogene nierfunctiemarkers die worden gebruikt om de nierfunctie te schatten worden gevalideerd ten opzichte van de gemeten nierfunctie. Het is belangrijk om daarbij op te merken dat zolang de gemeten nierfunctie niet wordt verkregen middels een betrouwbare en gestandaardiseerde methode, er altijd bias en onnauwkeurigheid zal ontstaan voor de geschatte nierfunctie die niet alleen toegeschreven kan worden aan de endogene nierfunctiemarker. Daarom moeten de gemeten nierfunctie worden gestandaardiseerd op drie niveaus: standaardisatie van de gebruikte marker, het meten van de markers in het plasma, en standaardisatie van de procedure omtrent het meten van de nierfunctie. Net als bij de keuze van een nierfunctiemarker om de nierfunctie te schatten, zou het kunnen dat de meest geschikte procedure voor het meten van de nierfunctie afhangt van de context en indicatie. Delenaye et al. hebben recent een pragmatische aanpak voorgesteld voor het gebruik van gemeten nierfunctie in onderzoek en de klinische praktijk.⁵² Zij stellen voor dat meerdere monsters moeten worden verzameld met diverse intervallen in situaties waarbij gemeten nierfunctie wordt gebruikt als referentiemethode tijdens de ontwikkeling van nieuwe formules om nierfunctie te schatten. Daarentegen is een minder gecompliceerd protocol met een laat verzameld monster of een enkel verzameld monster nodig voor epidemiologische studies of in situaties waarbij nierfunctie een secundair eindpunt is.

Conclusie

In deel 1 van dit proefschrift hebben we laten zien dat een aantal enkele biomarkers CKD progressie niet beter voorspellen dan gevestigde risicomarkers voor CKD progressie, zoals nierfunctie en albuminurie. We adviseren om toekomstig onderzoek te richten op combinaties van biomarkers (biomarkerpanels) om zo nauwkeuriger de kans op CKD progressie te kunnen voorspellen. In deel 2 van dit proefschrift hebben we laten zien dat nieuwe nierfunctiemarkers en zelfs nierfunctie gemeten met exogene markers niet consequent nierfunctie gebaseerd op kreatinine overtreffen voor het monitoren van nierfunctie verandering over de tijd. Daarom is er vooralsnog geen reden om kreatinine, dat op dit moment de klinisch meest gebruikte en goedkoopste marker is om nierfunctie verandering te monitoren, te vervangen door andere biomarkers.

Referenties

- 1 KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 3(1), 2013.
- 2 Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Gansevoort RT. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: A collaborative meta-analysis. *Lancet* 375(9731): 2073-2081, 2010.
- 3 Noordzij M, Kramer A, Abad Diez JM, Alonso de la Torre R, Arcos Fuster E, Bikbov BT, Bonthuis M, Bouzas Caamano E, Cala S, Caskey FJ, Castro de la Nuez P, Cerneviskis H, Collart F, Diaz Tejeiro R, Djukanovic L, Ferrer-Alamar M, Finne P, Garcia Bazaga Mde L, Garneata L, Golan E, Gonzalez Fernandez R, Heaf JG, Hoitsma A, Ioannidis GA, Kolesnyk M, Kramer R, Lasalle M, Leivestad T, Lopot F, van de Luijngaarden MW, Macario F, Magaz A, Martin Escobar E, de Meester J, Metcalfe W, Ots-Rosenberg M, Palsson R, Pina C, Pippias M, Prutz KG, Ratkovic M, Resic H, Rodriguez Hernandez A, Rutkowski B, Spustova V, Stel VS, Stojceva-Taneva O, Suleymanlar G, Wanner C, Jager KJ. Renal replacement therapy in europe: A summary of the 2011 ERA-EDTA registry annual report. *Clin Kidney J* 7(2): 227-238, 2014.
- 4 Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 69(3): 89-95, 2001.
- 5 Dobre M, Yang W, Chen J, Drawz P, Hamm LL, Horwitz E, Hostetter T, Jaar B, Lora CM, Nessel L, Ojo A, Scialla J, Steigerwalt S, Teal V, Wolf M, Rahman M. Association of serum bicarbonate with risk of renal and cardiovascular outcomes in CKD: A report from the chronic renal insufficiency cohort (CRIC) study. *Am J Kidney Dis* 62(4): 670-678, 2013.
- 6 Menon V, Tighiouart H, Vaughn NS, Beck GJ, Kusek JW, Collins AJ, Greene T, Sarnak MJ. Serum bicarbonate and long-term outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis* 56(5): 907-914, 2010.
- 7 Shah SN, Abramowitz M, Hostetter TH, Melamed ML. Serum bicarbonate levels and the progression of kidney disease: A cohort study. *Am J Kidney Dis* 54(2): 270-277, 2009.
- 8 Kovesdy CP, Anderson JE, Kalantar-Zadeh K. Association of serum bicarbonate levels with mortality in patients with non-dialysis-dependent CKD. *Nephrol Dial Transplant* 24(4): 1232-1237, 2009.
- 9 Navaneethan SD, Schold JD, Arrigain S, Jolly SE, Wehbe E, Raina R, Simon JF, Srinivas TR, Jain A, Schreiber MJ, Nally JV. Serum bicarbonate and mortality in stage 3 and stage 4 chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 6(10): 2395-2402, 2011.
- 10 Di Iorio. Correction of Metabolic Acidosis in End Stage Renal Disease (ESRD). [Internet][Updated 2012 July 12; Cited 2014 March 6] Available from: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01640119?term=NCT01640119&rank=1>
- 11 Melamed. Alkali Therapy in Chronic Kidney Disease. [Internet][Updated 2011 October 12; Cited 2014 March 6] Available from: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01452412?term=NCT01452412&rank=1>
- 12 Gaggl M, Cejka D, Plichke M, Heinze G, Fraunschiel M, Schmidt A, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Effect of oral sodium bicarbonate supplementation on progression of chronic kidney disease in patients with chronic metabolic acidosis: Study protocol for a randomized controlled trial (SoBic-study). *Trials* 14(1): 196, 2013.
- 13 Raphael. Investigations of the Optimum Serum Bicarbonate Level in Renal Disease. [Internet][Updated 17 Jul 2014; Cited 2014 Sept/01] Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01574157?term=NCT01574157&rank=1>
- 14 Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff R, Huisman RJ, Links TP, den Hollander NC, Thorpe SR, Baynes JW, Navis G, Gans ROB, Smit AJ. Skin autofluorescence, a measure of cumulative metabolic stress and advanced glycation end products, predicts mortality in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology* 16(12): 3687-3693, 2005.
- 15 Lutgers HL, Graaff R, Links TP, Ubink-Veltmaat LJ, Bilo HJ, Gans RO, Smit AJ. Skin autofluorescence as a noninvasive marker of vascular damage in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 29(12): 2654-2659, 2006.
- 16 Meerwaldt R, Lutgers HL, Links TP, Graaff R, Baynes JW, Gans ROB, Smit AJ. Skin autofluorescence is a strong predictor of cardiac mortality in diabetes. *Diabetes Care* 30(1): 107-112, 2007.

- 17 Semba RD, Fink JC, Sun K, Windham BG, Ferrucci L. Serum carboxymethyl-lysine, a dominant advanced glycation end product, is associated with chronic kidney disease: The Baltimore longitudinal study of aging. *Journal of Renal Nutrition* 20(2): 74-81, 2010.
- 18 Smit AJ, & Gerrits EG. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation endproduct deposition: A novel risk marker in chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology & Hypertension* 19(6): 527-533, 2010.
- 19 McIntyre NJ, Fluck RJ, McIntyre CW, Taal MW. Skin autofluorescence and the association with renal and cardiovascular risk factors in chronic kidney disease stage 3. *Clin J Am Soc Nephrol* 6(10): 2356-2363, 2011.
- 20 Noordzij MJ, Lefrandt JD, Loeffen EA, Saleem BR, Meerwaldt R, Lutgers HL, Smit AJ, Zeebregts CJ. Skin autofluorescence is increased in patients with carotid artery stenosis and peripheral artery disease. *Int J Cardiovasc Imaging* 28(2): 431-438, 2012.
- 21 de Vos LC, Noordzij MJ, Mulder DJ, Smit AJ, Lutgers HL, Dullaart RP, Kamphuisen PW, Zeebregts CJ, Lefrandt JD. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation end products deposition is elevated in peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33(1): 131-138, 2013.
- 22 Tanaka K, Tani Y, Asai J, Nemoto F, Kusano Y, Suzuki H, Hayashi Y, Asahi K, Katoh T, Miyata T, Watanabe T. Skin autofluorescence is associated with renal function and cardiovascular diseases in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 26(1): 214-220, 2011.
- 23 de Vos LC, Mulder DJ, Smit AJ, Dullaart RP, Kleefstra N, Lijfering WM, Kamphuisen PW, Zeebregts CJ, Lefrandt JD. Skin autofluorescence is associated with 5-year mortality and cardiovascular events in patients with peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34(4): 933-938, 2014.
- 24 de Vos LC, Boersema J, Mulder DJ, Smit AJ, Zeebregts CJ, Lefrandt JD. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation end products deposition predicts 5-year amputation in patients with peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35(6): 1532-1537, 2015.
- 25 Gerrits EG, Smit AJ, Bilo HJG. AGEs, autofluorescence and renal function. *Nephrology Dialysis Transplantation* 24(3): 710-713, 2009.
- 26 Tanaka K, Nakayama M, Kanno M, Kimura H, Watanabe K, Tani Y, Kusano Y, Suzuki H, Hayashi Y, Asahi K, Sato K, Miyata T, Watanabe T. Skin autofluorescence is associated with the progression of chronic kidney disease: A prospective observational study. *PLoS One* 8(12): e83799, 2013.
- 27 Persson F, Rossing P, Hovind P, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tarnow L, Parving HH. Endothelial dysfunction and inflammation predict development of diabetic nephropathy in the irbesartan in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria (IRMA 2) study. *Scand J Clin Lab Invest* 68(8): 731-738, 2008.
- 28 Astrup AS, Tarnow L, Pietraszek L, Schalkwijk CG, Stehouwer CD, Parving HH, Rossing P. Markers of endothelial dysfunction and inflammation in type 1 diabetic patients with or without diabetic nephropathy followed for 10 years: Association with mortality and decline of glomerular filtration rate. *Diabetes Care* 31(6): 1170-1176, 2008.
- 29 Kern EF, Erhard P, Sun W, Genuth S, Weiss MF. Early urinary markers of diabetic kidney disease: A nested case-control study from the diabetes control and complications trial (DCCT). *Am J Kidney Dis* 55(5): 824-834, 2010.
- 30 Desai AS, Toto R, Jarolim P, Uno H, Eckardt KU, Kewalramani R, Levey AS, Lewis EF, McMurray JJ, Parving HH, Solomon SD, Pfeffer MA. Association between cardiac biomarkers and the development of ESRD in patients with type 2 diabetes mellitus, anemia, and CKD. *Am J Kidney Dis* 58(5): 717-728, 2011.
- 31 Schlatzer D, Maahs DM, Chance MR, Dazard JE, Li X, Hazlett F, Rewers M, Snell-Bergeon JK. Novel urinary protein biomarkers predicting the development of microalbuminuria and renal function decline in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 35(3): 549-555, 2012.
- 32 Wong MG, Perkovic V, Woodward M, Chalmers J, Li Q, Hillis GS, Yaghoobian Azari D, Jun M, Poulter N, Hamet P, Williams B, Neal B, Mancia G, Cooper M, Pollock CA. Circulating bone morphogenetic protein-7 and transforming growth factor-beta1 are better predictors of renal end points in patients with type 2 diabetes mellitus. *Kidney Int* 83(2): 278-284, 2013.
- 33 Verhave JC, Bouchard J, Goupil R, Pichette V, Brachemi S, Madore F, Troyanov S. Clinical value of inflammatory urinary biomarkers in overt diabetic nephropathy: A prospective study. *Diabetes Res Clin Pract* 101(3): 333-340, 2013.
- 34 Agarwal R, Duffin KL, Laska DA, Voelker JR, Breyer MD, Mitchell PG. A prospective study of multiple protein biomarkers to predict progression in diabetic chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2014.

- 35 Pena MJ, de Zeeuw D, Mischak H, Jankowski J, Oberbauer R, Woloszczuk W, Benner J, Dahlman G, Mayer B, Mayer G, Rossing P, Lambers Heerspink HJ. Prognostic clinical and molecular biomarkers of renal disease in type 2 diabetes. *Nephrol Dial Transplant Supp* in press 2015.
- 36 Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: New insights into old concepts. *Clin Chem* 38(10): 1933-1953, 1992.
- 37 Drion I, Cobbaert C, Groenier KH, Weykamp C, Bilo HJ, Wetzels JF. Clinical evaluation of analytical variations in serum creatinine measurements: Why laboratories should abandon jaffe techniques. *BMC Nephrology* 13, 2012.
- 38 Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150, 2009.
- 39 Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, Kusek JW, Manzi J, Van Lente F, Zhang YL, Coresh J, Levey AS, CKD-EPI Investigators. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 367(1): 20-29, 2012.
- 40 Ku E, Xie D, Shlipak M, Hyre Anderson A, Chen J, Go AS, He J, Horwitz EJ, Rahman M, Ricardo AC, Sondheim J, Townsend RR, Hsu CY, CRIC Study Investigators. Change in measured GFR versus eGFR and CKD outcomes. *J Am Soc Nephrol* 27: 2196-2204, 2016.
- 41 Rebholz CM, Grams ME, Matsushita K, Inker LA, Foster MC, Levey AS, Selvin E, Coresh J. Change in multiple filtration markers and subsequent risk of cardiovascular disease and mortality. *Clin J Am Soc Nephrol* 10(6): 941-948, 2015.
- 42 Inker LA, Tighiouart H, Coresh J, Foster MC, Anderson AH, Beck GJ, Contreras G, Greene T, Karger AB, Kusek JW, Lash J, Lewis J, Schelling JR, Navaneethan SD, Sondheim J, Shafi T, Levey AS. GFR estimation using beta-trace protein and beta-microglobulin in CKD. *Am J Kidney Dis* 2015.
- 43 Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J, CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150(9): 604-612, 2009.
- 44 Menon V, Shlipak MG, Wang X, Coresh J, Greene T, Stevens L, Kusek JW, Beck GJ, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. Cystatin C as a risk factor for outcomes in chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 147(1): 19-27, 2007.
- 45 Bhavsar NA, Appel LJ, Kusek JW, Contreras G, Bakris G, Coresh J, Astor BC. Comparison of measured GFR, serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein to predict ESRD in african americans with hypertensive CKD. *Am J Kidney Dis* 58(6): 886-893, 2011.
- 46 Foster MC, Inker LA, Hsu C, Eckfeldt JH, Levey AS, Pavkov ME, Myers BD, Bennett PH, Kimmel PL, Vasan RS, Coresh J, Nelson RG. Filtration markers as predictors of ESRD and mortality in southwestern american indians with type 2 diabetes. *American Journal of Kidney Diseases* 2015.
- 47 Foster MC, Coresh J, Hsu C, Xie D, Levey AS, Nelson RG, Eckfeldt JH, Vasan RS, Kimmel PL, Schelling J, Simonson M, Sondheim JH, Anderson AH, Akkina S, Feldman HI, Kusek JW, Ojo AO, Inker LA. Serum β -trace protein and β 2-microglobulin as predictors of ESRD, mortality, and cardiovascular disease in adults with CKD in the chronic renal insufficiency cohort (CRIC) study. *American Journal of Kidney Diseases* 2016.
- 48 Methven S, Gasparini A, Juan J, Caskey F, Evans M. Routinely measured iohexol GFR versus creatinine based eGFR as predictors of mortality in patients with advanced CKD: A swedish CKD registry cohort study. *Nephrol Dial Transplant* 2016.
- 49 Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, Hostetter T, Levey AS, Panteghini M, Welch M, Eckfeldt JH, for the National Kidney Disease Education Program Laboratory Working Group. Recommendations for improving serum creatinine measurement: A report from the laboratory working group of the national kidney disease education program. *Clinical Chemistry* 52(1): 5-18, 2006.
- 50 Hlatky MA, Greenland P, Arnett DK, Ballantyne CM, Criqui MH, Elkind MS, Go AS, Harrell FE, Jr, Hong Y, Howard BV, Howard VJ, Hsue PY, Kramer CM, McConnell JP, Normand SL, O'Donnell CJ, Smith SC, Jr, Wilson PW, American Heart Association Expert Panel on Subclinical Atherosclerotic Diseases and Emerging Risk Factors and the Stroke Council. Criteria for evaluation of novel markers of cardiovascular risk: A scientific statement from the american heart association. *Circulation* 119(17): 2408-2416, 2009.

- 51 Lindhardt M, Persson F, Currie G, Pontillo C, Beige J, Delles C, von dL, Mischak H, Navis G, Noutsou M, Ortiz A, Ruggenenti PL, Rychlik I, Spasovski G, Rossing P. Proteomic prediction and renin angiotensin aldosterone system inhibition prevention of early diabetic nephropathy in Type 2 diabetic patients with normoalbuminuria (PRIORITY): Essential study design and rationale of a randomised clinical multicentre trial. *BMJ Open* 6(3), 2016.
- 52 Delanaye P, Ebert N, Melsom T, Gaspari F, Mariat C, Cavalier E, Björk J, Christensson A, Nyman U, Porrini E, Remuzzi G, Ruggenenti P, Schaeffner E, Soveri I, Sterner G, Eriksen BO, Bäck S. Iohexol plasma clearance for measuring glomerular filtration rate in clinical practice and research: A review. part 1: How to measure glomerular filtration rate with iohexol? *Clinical Kidney Journal* 2016.