

Biological Variation of Creatinine, Cystatin C, and Estimated Glomerular Filtration Rate over 24 hours

Citation for published version (APA):

Hilderink, J. M., van der Linden, N., Kimenai, D. M., Litjens, E. J. R., Klinkenberg, L. J. J., Aref, B. M., Aziz, F., Kooman, J. P., Rennenberg, R. J. M. W., Bekers, O., Koopmans, R. P., & Meex, S. J. R. (2018). Biological Variation of Creatinine, Cystatin C, and Estimated Glomerular Filtration Rate over 24 hours. *Acta Bioquimica Clinica Latinoamericana*, 52(4), 489-500.

Document status and date:

Published: 01/12/2018

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Document license:

Taverne

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

ISSN: 1851-6114

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Argentina

Hilderink, Judith M.; van der Linden, Noreen; Kimenai, Dorien M.; Litjens, Elisabeth JR; Klinkenberg, Lieke JJ; Aref, Breshna M.; Aziz, Fahra; Kooman, Jeroen P.; Rennenberg, Roger JMW; Bekers, Otto; Koopmans, Richard P.; Meex, Steven JR

Variación biológica de Creatinina, Cistatina C y Tasa de Filtrado Glomerular Estimada a lo largo de 24 horas

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 52, núm. 4, 2018, pp. 489-500

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires

Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53568431010>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Variación biológica de Creatinina, Cistatina C y Tasa de Filtrado Glomerular Estimada a lo largo de 24 horas

Biological Variation of Creatinine, Cystatin C, and Estimated Glomerular Filtration Rate over 24 hours

- Judith M. Hilderink¹, Noreen van der Linden¹, Dorien M. Kimenai¹, Elisabeth JR Litjens², Lieke JJ Klinkenberg^{1†}, Breshna M. Aref¹, Fahra Aziz¹, Jeroen P. Kooman², Roger JMW Rennenberg³, Otto Bekers¹, Richard P. Koopmans³, Steven JR Meex^{1*}

¹ Departamento de Química Clínica, Laboratorio Central de Diagnóstico, Centro Médico de la Universidad Maastricht, Maastricht, Países Bajos.

² Departamento de Nefrología, Centro Médico de la Universidad Maastricht, Maastricht, Países Bajos.

³ Departamento de Medicina Interna, Centro Médico de la Universidad Maastricht, Maastricht, Países Bajos.

* Dirigir la correspondencia a este autor a: Central Diagnostic Laboratory, Department of Clinical Chemistry, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht University Medical Center (MUMC), P.O. Box 5800, 6202 AZ Maastricht, the Netherlands. Fax +31-(0)43-3874692; e-mail: steven.meex@mumc.nl.

† Filiación actual: Laboratorio Clínico, Departamento de Química Clínica, Hospital Catharina, Eindhoven, Países Bajos.

Traducción: Dr. Diego Lucero. Lipoprotein Metabolism Laboratory. Translational Vascular Medicine Branch. National Heart, Lung, Blood Institute. National Institutes of Health. Bethesda, Maryland, Estados Unidos.

Este artículo ha sido traducido con el permiso de la AACC. La AACC no es responsable de la exactitud de la traducción. Las opiniones expresadas son las de los autores y no necesariamente de la AACC o de la Revista. Tomado de Clin Chem 2018; 64 (5): 851-860, con el permiso del editor. Derechos de autor original © Asociación Americana de Química Clínica, Inc, 2018. Al citar este artículo, por favor recurra a la fuente original de publicación en la revista Clinical Chemistry.

Abreviaturas no estándar: TFGe, tasa de filtración glomerular estimada; ERC, enfermedad renal crónica; TFG, tasa de filtración glomerular; CKD-EPI, Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration; MDRD, Modification of Diet in Renal Disease; CV_A, coeficiente de variación analítico; CV_I, coeficiente de variación intraindividual; CV_G, coeficiente de variación inter-individual; VCR, valor de referencia para el cambio; II, índice de individualidad.

Resumen

Antecedentes: La tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) es ampliamente utilizada en la práctica clínica. El presente estudio evaluó la variación biológica intraindividual (CV_I) de diferentes ecuaciones de TFGe en sujetos con enfermedad renal crónica (ERC) y sin ERC. Los objetivos de este estudio fueron (a) determinar los perfiles de variación biológica durante 24 horas de creatinina, cistatina C y TFGe y (b) determinar si el CV_I de la creatinina, la cistatina C y la TFGe cambia el deterioro de la filtración glomerular.

Métodos: Se analizaron muestras de sangre cada hora de 37 individuos (17 sin ERC, 20 con ERC) durante 24 h. La creatinina (método enzimático) y la cistatina C se midieron usando un Cobas 8000 (Roche Diagnostics). La TFGe se estimó utilizando la Modificación de la Dieta en la Enfermedad

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Renal y la Colaboración de Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica basada en creatinina y/o cistatina C. Las muestras de plasma se almacenaron a -80°C antes del análisis. Se verificaron los análisis de valores atípicos y de homogeneidad antes de realizar un ANOVA anidado para determinar la variación biológica.

Resultados: La CV_I de creatinina fue más alta en sujetos sin ERC que en aquellos con ERC (6.4% frente a 2.5%) debido principalmente al efecto más marcado del consumo de carne sobre la variabilidad de creatinina en individuos con concentraciones iniciales de creatinina más bajas. A diferencia de la creatinina, las concentraciones de cistatina C no se vieron afectadas por el consumo de carne. La cistatina C mostró alguna variación rítmica diurna y menor en los sujetos con ERC. Los valores de referencia del cambio (VCR) de todas las ecuaciones de TFGe estuvieron dentro del 13% al 20% en ambos grupos de estudio.

Conclusiones: A pesar de las diferencias en el CV_I de la creatinina, el CV_I y el VRC de las ecuaciones de TFGe fueron relativamente similares para los sujetos con o sin ERC.

Abstract

Background: Estimated glomerular filtration rate (eGFR) is widely used in clinical practice. This study assessed the within-subject biological variation (CV_I) of different eGFR equations in people with chronic kidney disease (CKD) and people without CKD. The aims of this study were (a) to determine the 24-h biological variation profiles of creatinine, cystatin C, and eGFR and (b) to determine whether CV_I of creatinine, cystatin C, and eGFR changes on deterioration of glomerular filtration.

Methods: Hourly blood samples were analyzed from 37 individuals (17 without CKD, 20 with CKD) during 24 h. Creatinine (enzymatic method) and cystatin C were measured using a Cobas 8000 (Roche Diagnostics). eGFR was estimated using the Modification of Diet in Renal Disease and the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration based on creatinine and/or cystatin C. Plasma samples were stored at -80°C before analysis. Outlier and homogeneity analyses were checked before performing a nested ANOVA to determine biological variation.

Results: CV_I of creatinine was higher in people without CKD than in those with CKD (6.4% vs. 2.5%) owing primarily to the more profound effect of meat consumption on creatinine variability in individuals with lower baseline creatinine concentrations. Unlike creatinine, cystatin C concentrations were unaffected by meat consumption. Cystatin C showed some diurnal rhythmic variation and less in people with CKD. Reference change values (RCVs) of all eGFR equations were within 13% to 20% in both study groups.

Conclusions: Despite differences in CV_I of creatinine, the CV_I and RCV of the eGFR equations were relatively similar for people with or without CKD.

Introducción

La tasa de filtración glomerular estimada (TFGe)⁴ se aplica ampliamente para el diagnóstico de la enfermedad renal y el monitoreo de la función renal en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) (1). Se define ERC como la presencia de daño renal o una tasa de filtración glomerular (TFG) $<60\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$ por un período ≥ 3 meses, independientemente de la causa (1) (2). Las ecuaciones de la *Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) y la *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) son las más comúnmente usadas en la práctica clínica para estimar la TFG (3) (4). Aunque las ecuaciones se construyen de forma diferente, el cálculo de CKD-EPI y MDRD se basa en los 2 biomarcadores renales: creatinina y cistatina C (3-5). Las concentracio-

nes séricas de creatinina y cistatina C pueden fluctuar durante el día, ya sea debido a diferencias circadianas verdaderas en la TFG o a una variación biológica aleatoria, sin que reflejen cambios reales (6) (7). Estas fluctuaciones podrían afectar la interpretación de los valores de TFGe calculados en base a valores de creatinina y/o cistatina C. La comprensión de la magnitud de estas fluctuaciones diurnas podría evitar que los profesionales médicos interpretasen erróneamente variaciones aleatorias como cambios de relevancia clínica (8).

Los estudios de variación biológica permiten una evaluación sistemática de la variación aleatoria diurna de biomarcadores. Hasta ahora, la mayoría de los estudios que han evaluado la variación biológica de los biomarcadores renales y la TFGe estudiaron la variación interdía (6) (9 -17), pero los datos sobre la variación

biológica intradía son escasos (18). Además, la mayoría de los estudios se llevaron a cabo con voluntarios sanos o en sujetos con función renal alterada, pero faltan datos respecto a una comparación directa de sujetos con y sin ERC (6) (15) (19) (20). En este estudio, se intentó construir perfiles de concentraciones de creatinina y cistatina C durante 24 horas, así como las estimaciones de TFG basadas en creatinina y/o cistatina C. Además, se evaluó si la variación a lo largo del día es de magnitud similar en sujetos con ERC y sujetos sin ERC.

Materiales y Métodos

DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN

Este estudio sobre la variabilidad a lo largo de 24 horas en la función renal y la TFG se realizó entre enero de 2013 y octubre de 2015, tal como se describió anteriormente (21) (22). Se llevó a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki (23) y fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional y el comité de ética del Centro Médico de la Universidad de Maastricht. Cada participante proporcionó el consentimiento informado por escrito.

El diseño del presente estudio cumplió con los requerimientos actuales para estudiar la variación biológica tanto como fue posible (24) (25).

En total, 44 sujetos fueron incluidos y divididos en 2 grupos de estudio: El primer grupo de estudio consistió en 24 individuos sin diagnóstico clínico de ERC (79% hombres y 21% mujeres), y el segundo grupo (70% hombres y 30% mujeres) consistió en 20 pacientes (participantes número 25 al 44) con ERC clínicamente diagnosticada como estadio 3 o superior (TFG, <60 mL/min/1,73 m²) (2). El número de individuos en cada grupo proporcionó suficiente poder estadístico para hacer estimaciones fiables sobre la variación biológica (26). Todos los sujetos enrolados en el estudio fueron de raza blanca y tenían entre 39 y 83 años. Glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL y/o HbA1c $\geq 6.5\%$ (47 mmol/mol) fueron criterios para definir diabetes (27). Los criterios de exclusión fueron: estar bajo tratamiento de diálisis en el momento del estudio, ocurrencia de infarto agudo de miocardio en los 12 meses anteriores al estudio, presencia de enfermedad cardíaca activa (angina de pecho, miocardiopatía o miocarditis) y anemia (hemoglobina $<10,5$ g/dL).

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE MUESTRAS

Tanto la creatinina como la cistatina C fueron medidas en un autoanizador Cobas® 8000 (Roche Diagnostics) usando los siguientes reactivos de Roche: CREP2 (*Creatinine plus ver.2*, código 05168589) y CYSC2 (*Tina-quant Cystatin C Gen.2*, código 06600239). Se utilizó un método enzimático para medir la creatinina, basado

en la conversión de creatinina mediante las enzimas creatininasa, creatinasa y sarcosina oxidasa en glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno. Se utilizaron controles Bio-Rad para creatinina y *Cystatin C Control Set Gen.2* para cistatina C (Roche Diagnostics).

La TFG se calculó usando las fórmulas MDRD y CKD-EPI (3) (5). Se calcularon tres estimaciones de CKD-EPI: CKD-EPI_{creatinina}, CKD-EPI_{cistatina C} y CKD-EPI_{creatinina-cistatina C} (4).

Se tomaron muestras de sangre con intervalos de una hora en tubos con EDTA como anticoagulante (8 mL). Las muestras de plasma se centrifugaron inmediatamente después de la recolección (centrifugación a 2700 x g durante 12 min a temperatura ambiente), y el plasma se almacenó a -80 °C hasta el momento del análisis. Las muestras de plasma se descongelaron y todas las muestras del mismo individuo se analizaron en una sola corrida.

Para estimar la variación analítica (CV_A), se analizaron por duplicado las muestras de 8 individuos seleccionados al azar (4 individuos sin ERC y 4 individuos con ERC, representando el 18% de todas las muestras).

PROCEDIMIENTO DE ESTUDIO

Para estudiar la variabilidad biológica intradía, se tomaron muestras de sangre cada hora durante 24 h usando una cánula intravenosa. Los participantes ingresaron al laboratorio a las 8 AM, después de un ayuno nocturno. Durante el día de la prueba, los participantes fueron restringidos al laboratorio en reposo. Los horarios de ingestas fueron estandarizados de la siguiente manera: a las 8:30 AM (desayuno), a las 12:30 PM (almuerzo) y a las 6 PM (cena). Los participantes podían seleccionar entre aproximadamente 4 diferentes opciones de cena. La mayoría de las opciones de cena consistieron en platos que contenían carne. Las opciones de comida y el contenido de carne no fueron estandarizados. El desayuno y el almuerzo consistían en sándwiches con queso, jamón o coberturas dulces. Los participantes se acostaron a las 11:30 PM y se levantaron a la mañana siguiente a las 7 AM. Durante la noche, se unió una línea de extensión a la cánula para evitar la alteración del sueño durante el muestreo de sangre.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tal como se recomienda para los estudios de variación biológica, se realizaron análisis de valores atípicos en los 3 niveles (analítico, intraindividual e interindividual) (7) (26). Se utilizó la prueba de Cochran para identificar valores atípicos a nivel analítico e intraindividual, y el criterio de Dixon-Reed se realizó para identificar valores atípicos a nivel interindividual (7) (8) (28) (29). Sujetos con variaciones intraindividuales atípicas fueron excluidos de los cálculos debido a su heterogeneidad de varianza (24). Dado que los datos en los

niveles analíticos, intra- e inter-individual presentaron una distribución gaussiana (prueba de Shapiro-Wilk), no se necesitó transformación de datos. Para la verificación de la normalidad analítica, se utilizaron datos de 8 individuos que se midieron por duplicado (192 repeticiones). Para el nivel intraindividual, se verificó la normalidad para cada participante. Para el nivel interindividual, se verificó la normalidad para las medias de cada sujeto. La variación en 3 niveles, la variación interindividual (CV_G), la variación biológica intraindividual (CV_I) y el CV_A , se calcularon usando un ANOVA anidado con IC del 95% determinado según el método de Burdick y Graybill (8) (26) (30).

Los valores de referencia para el cambio (VRC) (*score Z* de 1,96) y el índice de individualidad (II) se calcularon de acuerdo con el método de Fraser y Harris (8):

$$VRC = \sqrt{2} \times Z \times \sqrt{(CV_I^2 + CV_A^2)}$$

$$II = \sqrt{(CV_I^2 + CV_A^2) / CV_G}$$

Se utilizó la prueba F para corroborar si el grado de insuficiencia renal era estable en los sujetos con ERC. Para investigar esto, se examinó la TFGe 1 semana, 1 mes y 3 meses después del día de la prueba inicial. Los valores $P < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Para visualizar el ritmo diurno de la cistatina C, se ajustaron las curvas de concentración de 24 horas para ambos grupos de estudio usando *Cosinor Rhythmometry*.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron con SPSS para Windows versión 23 (IBM SPSS Statistics).

Resultados

SELECCIÓN DE PARTICIPANTES

Un total de 44 individuos, 24 sin ERC y 20 con ERC, participaron en este estudio de variabilidad biológica. Dos participantes (1 y 8) abandonaron el estudio prematuramente y de otros 2 participantes (15 y 23) se perdieron datos debido a problemas con la cánula endovenosa durante la noche. Para mantener un diseño equilibrado y en línea con las condiciones estadísticas para un ANOVA anidado, se consideró a estos sujetos como no seleccionados y fueron excluidos de los análisis posteriores (31). Además, se excluyó al participante 20 porque este participante sufría un resfrío severo en el día del examen; por lo tanto, su situación clínica era inestable. A pesar de que los participantes 10 y 18 no estuvieran clínicamente diagnosticados con ERC, estos participantes fueron excluidos del estudio debido a que sus concentraciones de creatinina no se ajustaban al grupo sin ERC (concentraciones medias, $1,8 \pm 0,2$ mg/dL y $2,0 \pm 0,08$ mg/dL, respectivamente). En la Figura 1 de

resultados suplementarios que acompaña a la versión en línea de este artículo en <http://www.clinchem.org/content/vol64/issue5>, se muestra el diagrama de flujo del estudio. Eventualmente, 37 sujetos fueron consideradas elegibles para análisis. Las características basales de los 2 grupos de estudio se muestran en la Tabla I.

ESTABILIDAD CLÍNICA DE LOS SUJETOS CON ERC

Para verificar que los sujetos con ERC estuvieran clínicamente estables y no progresaran rápidamente en términos de su ERC, se tomaron muestras de sangre adicionales a la semana, a 1 mes y a los 3 meses después del día de la prueba, a la misma hora que la medición de referencia en el día de la prueba inicial (8:30 AM). Los valores de TFGe (calculados con MDRD, CKD-EPI_{creatinina}, CKD-EPI_{cistatina C} y CKD-EPI_{creatinina-cistatina C}) no mostraron disminuciones significativas durante el período de seguimiento (intervalos de concentración mínimo-máximo en el seguimiento: MDRD, 18,7-19,3 mL/min/1,73 m², $P=0,63$; CKD-EPI_{creatinina}, 18,3-18,9 mL/min/1,73 m², $P=0,99$; CKD-EPI_{cistatina C}, 20,1-20,3 mL/min/1,73 m², $P=0,49$; CKD-EPI_{creatinina-cistatina C}, 18,6-19,0 mL/min/1,73 m², $P=0,99$). Por ende, se consideró que los participantes con ERC tenían una enfermedad crónica estable.

PERFILES DE VARIABILIDAD DURANTE 24 HORAS

Las Figuras 1 y 2 muestran perfiles de variabilidad de 24 horas de creatinina, cistatina C y de todas las ecuaciones de TFGe para ambos grupos de estudio. Las concentraciones medias de creatinina y cistatina C fueron, por definición, significativamente más bajas en sujetos sin ERC que en aquellos con ERC (creatinina: $1,0 \pm 0,3$ mg/dL *vs.* $3,3 \pm 1,0$ mg/dL, $P < 0,01$; cistatina C: $1,0 \pm 0,3$ mg/L *vs.* $2,7 \pm 0,8$ mg/L, $P < 0,01$). En consecuencia, todos los valores promedio de TFGe fueron significativamente superiores en sujetos sin ERC en comparación con los sujetos con ERC (MDRD: 75 ± 21 mL/min/1,73 m² *vs.* 20 ± 9 mL/min/1,73 m², $P < 0,01$; CKD-EPI_{creatinina}: 74 ± 18 mL/min/1,73 m² *vs.* 20 ± 10 mL/min/1,73 m², $P < 0,01$; CKD-EPI_{cistatina C}: 77 ± 17 mL/min/1,73 m² *vs.* 24 ± 14 mL/min/1,73 m², $P < 0,01$; CKD-EPI_{creatinina-cistatina C}: 76 ± 17 mL/min/1,73 m² frente a 21 ± 12 mL/min/1,73 m², $P < 0,01$).

Las concentraciones de creatinina evidenciaron un aumento de hasta un 50% (0,46 mg/dL) en sujetos sin ERC después de la cena (participante 11, no se mostró el perfil individual de 24 horas de este participante). El aumento absoluto fue numéricamente similar en sujetos con ERC (0,40 mg/dL) en comparación con sujetos sin ERC; pero calculado como porcentaje, el aumento fue sustancialmente menor (18%) debido a concentraciones basales de creatinina más altas en los sujetos con ERC.

A diferencia de creatinina, las concentraciones de

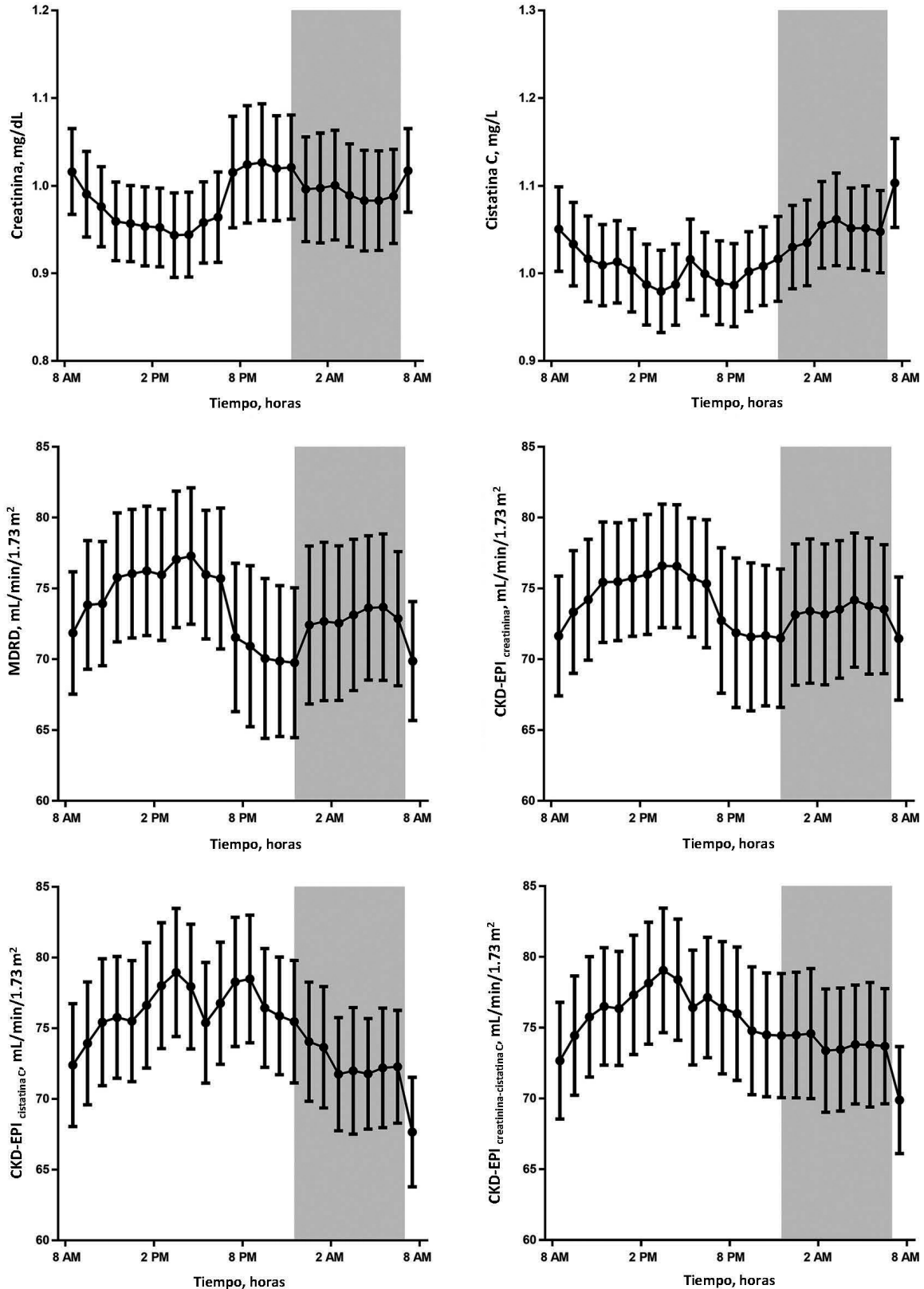


Figura 1. Perfiles de variación a lo largo de 24 horas en personas sin enfermedad renal crónica.

Los valores representan la media (Error Estándar). Todos los participantes durmieron entre las 11:30 p.m. y las 7 a.m. (Área sombreada).

Tabla I. Características basales^a.

	Pacientes sin Enfermedad Renal Crónica (n=17)	Pacientes con Enfermedad Renal Crónica (n=20)
Edad, años	72±7	66±12
Sexo masculino	14 (82)	14 (70)
Índice de masa corporal, Kg/m ²	26±3	28±4
Diabetes Mellitus ^b	6(35)	7 (35)
Colesterol plasmático, mg/dL	176±35	157±33
Presión arterial sistólica, mmHg	140±15	136±19
Presión arterial diastólica, mmHg	68±8	86±14
Creatinina, mg/dL	1,0±0,2	3,3±1,0
Cistatina C, mg/L	1,0±0,2	2,8±0,8
MDRD, mL/min/1,73 m ²	73,4±18,5	19,2±6,4
CKD-EPI _{creatinina} , mL/min/1,73 m ²	72,9±17,2	18,9±6,6
CKD-EPI _{cistatina C} , mL/min/1,73 m ²	74,2±17,2	20,2±8,5
CKD-EPI _{creatinina-cistatina C} , mL/min/1,73m ²	74,2±17,2	19,0±7,0
Enfermedad renal crónica	0 (0)	20 (100)
Enfermedad glomerular	NA ^c	7 (35)
Enfermedad tubulointersticial	NA	4 (20)
Enfermedad vascular	NA	8 (40)
Enfermedad quística congénita	NA	1 (5)

^a Variables continuas se muestran como media ± desvío estándar, y variables categóricas se muestran como n (%).

^b La diabetes se definió como glucosa plasmática en ayunas ≥126 mg/dL y/o HbA1c ≥6,5% (= 47 mmol/mol) (27).

^c NA, no aplica.

cistatina C no se vieron afectadas por la cena. Curiosamente, sin embargo, la cistatina C mostró un pequeño, pero evidente, ritmo diurno con concentraciones de cistatina C decrecientes durante el día y concentraciones crecientes durante el atardecer y la noche. Este ritmo circadiano de cistatina C fue menos prominente en sujetos con ERC (Fig. 1)(Fig. 2). En la Figura 2, en los Datos Suplementarios *on-line*, se visualiza el ritmo diurno de la cistatina C ajustando mediante un modelo cosinor a través de los puntos de datos promedio. Para aquellos sujetos sin ERC, la amplitud del ritmo cosinor diurno fue de 4,9±0,8%, mientras que esta amplitud se redujo a 1,6±0,5% para sujetos con ERC.

COMPONENTES DE LA VARIACIÓN EN SUJETOS CON Y SIN ERC

Los componentes de la variación de todos los parámetros en ambos grupos de estudio se muestran en la Tabla II. El CV_G tuvo una magnitud similar en ambos grupos de estudio. En ambos grupos, el CV_G fue significativamente mayor que el CV_I en todos los parámetros. Debido a los valores relativamente altos de CV_G, todos los índices de individualidad fueron bajos (0,1-0,3).

En la Figura 3, se muestran los rangos de concentra-

ción mínima-máxima de creatinina y cistatina C para los sujetos sin y con ERC. Los sujetos sin ERC (Fig. 3A) muestran un rango relativo más alto de concentraciones de creatinina que los sujetos con ERC (Figura 3C). Esta diferencia en las concentraciones contribuye a un CV_I significativamente mayor expresado como porcentaje en los sujetos sin ERC (6,4% vs. 2,5%); además, el VRC fue significativamente más alto en sujetos sin ERC (18% vs. 8%). Los valores de CV_I de cistatina C, CKD-EPI_{cistatina C} y CKD-EPI_{creatinina-cistatina C} también fueron significativamente diferentes entre los grupos. Sin embargo, estas diferencias fueron menores a las observadas con creatinina.

En sujetos sin ERC, la CKD-EPI calculada con la combinación de creatinina y cistatina C (CKD-EPI_{creatinina-cistatina C}), fue la ecuación de TFGe con CV_I más bajo. En sujetos con ERC, el CKD-EPI calculado con creatinina (CKD-EPI_{creatinina}) demostró el CV_I más bajo a lo largo del día. Sin embargo, en este grupo, la diferencia con CKD-EPI_{creatinina-cistatina C} fue mínima (5,2% vs. 5,4%, con IC superpuestos).

El CV_A fue bajo en ambos grupos de estudio (máximo 2,0% para sujetos sin ERC y 2,6% para sujetos con ERC). Todos los valores de CV_A alcanzaron la relación deseable

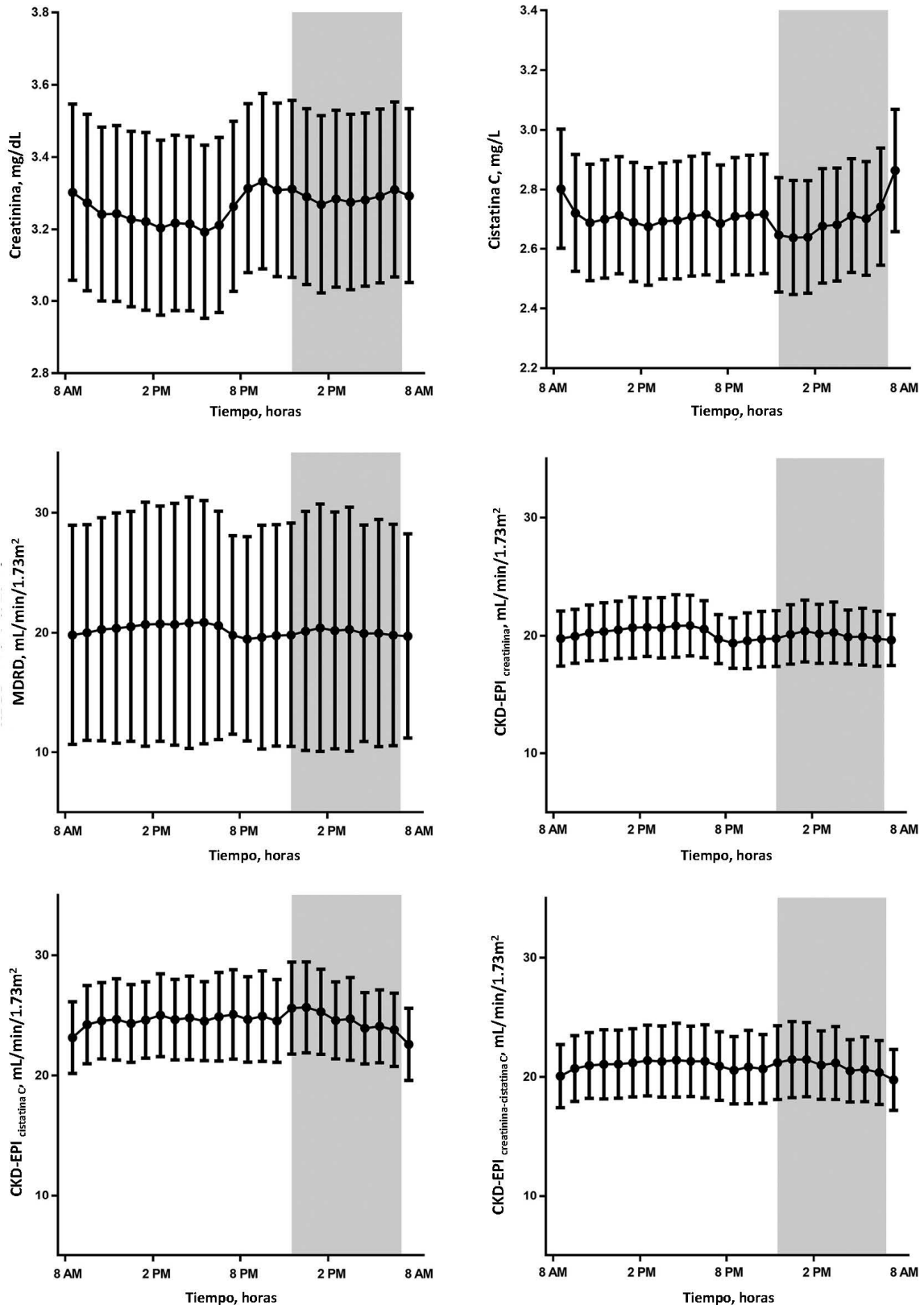


Figura 2. Perfiles de variación a lo largo de 24 horas en personas con enfermedad renal crónica. Los valores representan la media (Error Estándar). Todos los participantes durmieron entre las 11:30 p.m. y las 7 a.m. (Área sombreada).

Tabla II. Componentes de la variación biológica, índice de individualidad (II) y valores de referencia para el cambio (VRC) para biomarcadores renales y las distintas ecuaciones de TFGe en ambos grupos estudiados^a.

	<i>n</i>	Media	CV_A	CV_I	CV_G	II	VRC
Sujetos sin ERC							
Creatinina	16	1,0 mg/dL	1,1 (1,0–1,3)	6,4 (6,0–6,9)	21,2 (15,7–32,8)	0,3	18,2
Cistatina C	17	1,0 mg/dL	1,1 (1,0–1,3)	4,1 (3,8–4,4)	15,3 (11,3–23,2)	0,3	11,6
MDRD	16	75,3 mL/min/1,73 m ²	1,6 (1,4–1,9)	6,1 (5,7–6,6)	27,3 (20,2–42,3)	0,2	16,9
CKD-EPI _{creatinina}	16	73,8 mL/min/1,73 m ²	1,2 (1,0–1,4)	5,3 (5,1–5,6)	24,3 (18,0–37,7)	0,2	14,6
CKD-EPI _{cistatina C}	17	76,7 mL/min/1,73 m ²	2,0 (1,8–2,3)	5,5 (5,2–5,9)	21,2 (15,8–32,3)	0,3	15,3
CKD-EPI _{creatinina - cistatina C}	16	75,2 mL/min/1,73 m ²	1,2 (1,1–1,4)	4,6 (4,3–5,0)	20,3 (16,5–34,5)	0,2	13,2
Sujetos con ERC							
Creatinina	19	3,3 mg/dL	1,3 (1,1–1,5)	2,5 (2,4–2,7)	28,1 (21,2–41,6)	0,1	7,9
Cistatina C	18	2,7 mg/dL	0,8 (0,7–1,0)	3,2 (3,0–3,4)	27,2 (20,4–40,8)	0,1	9,1
MDRD	19	20,2 mL/min/1,73 m ²	2,4 (2,1–2,8)	5,5 (5,2–5,9)	28,4 (21,5–42,0)	0,2	13,3
CKD-EPI _{creatinina}	19	20,1 mL/min/1,73 m ²	2,6 (2,3–3,0)	5,2 (4,9–5,6)	30,0 (22,7–44,4)	0,2	14,4
CKD-EPI _{cistatina C}	18	23,8 mL/min/1,73 m ²	1,2 (1,1–1,4)	7,3 (6,8–7,8)	38,7 (29,1–58,1)	0,2	20,1
CKD-EPI _{creatinina - cistatina C}	17	20,9 mL/min/1,73 m ²	1,6 (1,4–1,8)	5,4 (5,0–5,8)	35,2 (26,4–52,9)	0,2	15,1

^a Excepto que sea aclarado de otra forma, los datos se representan como valores porcentuales (%); el IC del 95% se muestra entre paréntesis.

entre CV_I y CV_A , que es 1: 2. Una relación $<0,5$ asegura que el ruido analítico contribuye $<12\%$ a la variación total (7).

ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

De acuerdo con la prueba de Cochran para datos atípicos intra-individuales, el aumento de la creatinina post-cena obligó a la exclusión de algunos individuos (participantes 14 y 30, respectivamente: consulte Tabla I y Figura 3, Datos Suplementarios *on-line*). Sin embargo, esta perspectiva estadística estricta puede no considerar el hecho de que los incrementos de creatinina son, de hecho, cambios fisiológicos que también ocurren en pacientes hospitalizados. Se cree que excluir a estos participantes puede ser demasiado estricto y puede llevar a una subestimación de los datos de variación biológica. Un análisis de sensibilidad incluyó individuos que se excluyeron en el análisis primario debido a la heterogeneidad de la varianza. En este análisis, se obtuvieron valores de CV_I ligeramente más grandes para la mayoría de los biomarcadores (consultar Tabla II, Datos Suplementarios, *on-line*). La diferencia fue más pronunciada para creatinina que para cistatina C (que carece del aumento post-cena), y el efecto fue más fuerte en los sujetos sin ERC que en los sujetos con ERC.

Discusión

En el presente estudio, se presentaron perfiles de variación de 24 horas de creatinina, cistatina C y las estimaciones de TFG de ellas derivadas (MDRD, CKD-EPI_{creatinina}

CKD-EPI_{cistatina C} y CKD-EPI_{creatinina-cistatina C}) en sujetos sin ERC y en sujetos con ERC. Además, se calcularon componentes de variación separados y fueron comparados entre ambos grupos de estudio.

Un hallazgo importante de este estudio es que el CV_I para creatinina fue significativamente mayor en los sujetos sin ERC que en los sujetos con ERC. En este estudio, el efecto del pico de creatinina post-cena en el CV_I fue sustancial, especialmente para los sujetos sin ERC, dado que estos sujetos tienen bajas concentraciones basales de creatinina (media, 1,0 mg/dL). Para los sujetos con ERC, el efecto sobre el CV_I fue menor debido a concentraciones de creatinina basales más altas (media, 3,3 mg/dL). Esta diferencia fue incluso más pronunciada en el análisis de sensibilidad que incluyó individuos con un aumento de creatinina post-cena (fisiológico) elevado, probablemente debido al consumo de carne, aumentando su CV_I y determinando su eliminación en base a criterios estadísticos. Sin embargo, la variación en las concentraciones de creatinina causada por la composición de la cena es de interés para la práctica clínica, dado que los pacientes a menudo cenar con carnes y otros contenidos desconocidos. Para la práctica clínica, esta variación podría incluirse idealmente, incluso si esta variación es estadísticamente grande y aparentemente divergente. Rivara *et al.* realizaron un análisis de sensibilidad similar en el que mostraron un ligero aumento del CV_I de creatinina después de incluir individuos que se excluyeron en el análisis primario debido a la heterogeneidad de las varianzas (19).

EL CV_I para creatinina en este estudio fue más alto

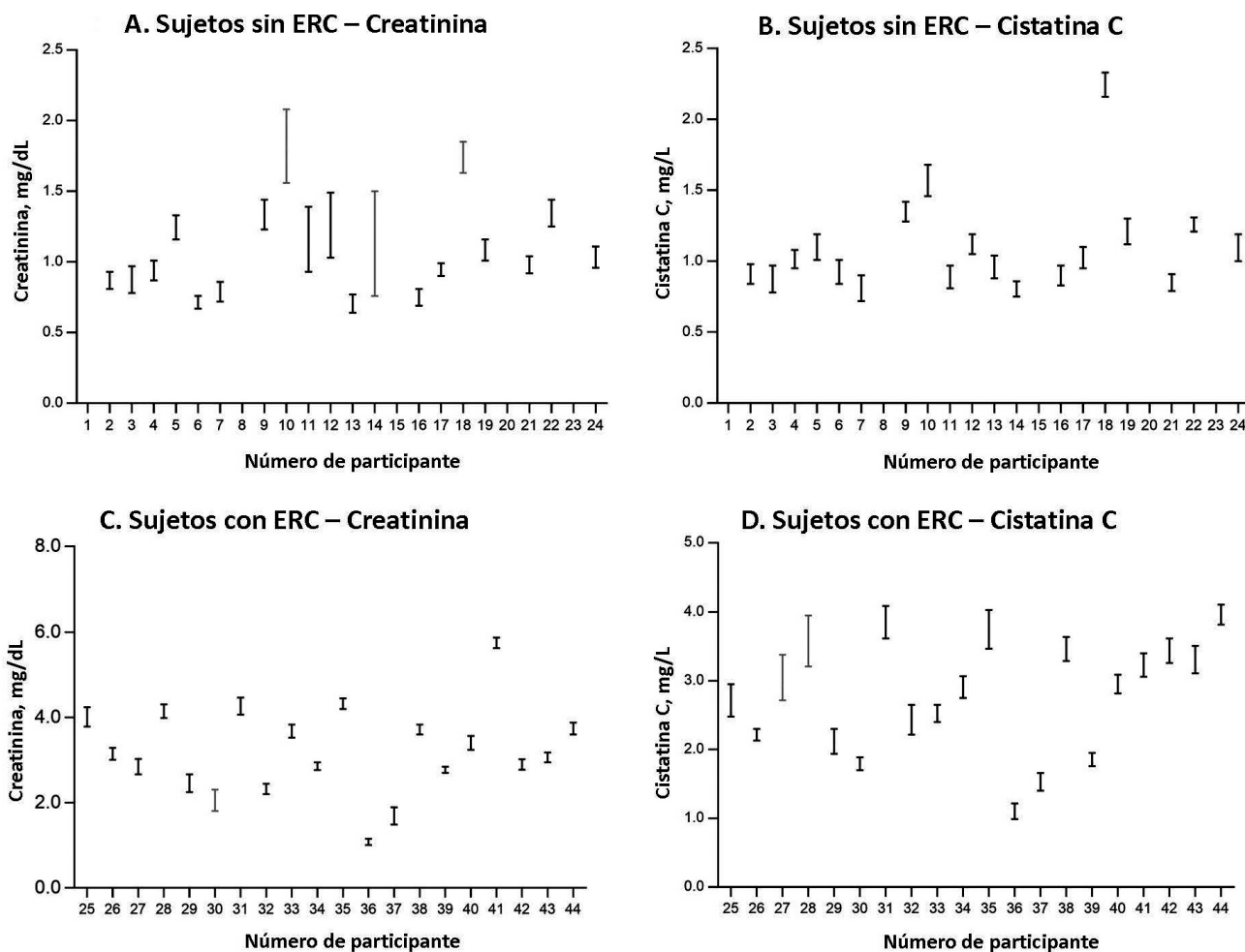


Figura 3. Rangos de concentración mínima-máxima de creatinina y cistatina C en personas sin y con enfermedad renal crónica (ERC). (A), Oscilación de la concentración de creatinina en 24 h en personas sin ERC. (B), Oscilación de la concentración de cistatina C en 24 h en personas sin ERC. (C), Oscilación de la concentración de creatinina en 24 h en personas con ERC. (D), Oscilación de la concentración de cistatina C en 24 h en personas con ERC. Los individuos indicados en gris fueron excluidos de acuerdo con los análisis de valores atípicos.

que el reportado en el proyecto EUBIVAS (6,2% vs. 4,4%), lo que probablemente pueda atribuirse al hecho de que las concentraciones de creatinina medidas en el proyecto EUBIVAS fueron valores de CV₁ entre días medidos en sangre en ayunas en muestras recolectadas una vez al día a la misma hora entre las 8 AM y las 10 AM (20) (32). Por lo tanto, el aumento de creatinina después del consumo de carne no está integrado en el valor de CV₁ de EUBIVAS. Debido a que el CV₁ intradía y el CV₁ interdías son conceptos diferentes, los resultados de este estudio no son directamente comparables con los del proyecto EUBIVAS.

El diseño de este estudio ha cumplido con los requerimientos actuales en relación a la variación biológica tanto como ha sido posible (24) (25). Solo en el ítem 7 de los requerimientos de variación biológica más reciente, el cual versa sobre la condición de estado estacionario, hubo un desvío respecto de los requerimientos, al no incluir el consumo de carne en el modelo para la concentración de

creatinina para crear un estado de equilibrio. Si se incluye el consumo de carne en un modelo para creatinina, esto tiene consecuencias en cuanto a la cantidad de variabilidad que queda sin explicar, y con eso, el tamaño del CV₁. En un entorno clínico, ni el momento de la cena de un paciente ni el contenido de carne de la cena (u otra comida) son conocidos por el médico que interpreta los resultados de laboratorio de creatinina. Por lo tanto, para fines clínicos, la variación resultante del consumo de carne no debe excluirse del modelo y debe incluirse en la estimación de CV₁ para permitir esta incertidumbre adicional. Debido a que la mayoría de los sujetos consume carne en su dieta, se puede considerar que nuestra estimación de CV₁ para un período de 24 horas refleja las condiciones fisiológicas típicas que enfrenta la interpretación de los resultados de creatinina y TFGe.

Debido a que este estudio no fue originalmente diseñado para investigar la influencia del consumo de carne sobre las concentraciones de creatinina, no se dispuso

de datos individuales de los participantes detallados con respecto al consumo de carne durante el día. Sin embargo, el estudio de Nair *et al.* estandarizó el consumo de carne de todos los participantes y comparó sus resultados con una comida sin carne. El estudio de Nair describió un aumento significativo de la concentración de creatinina después de una comida con carne en todos los participantes del estudio (33). Para individuos sanos e individuos con ERC en estadio 1 o 2, el estudio reportó incrementos estadísticamente significativos en creatinina de 5 $\mu\text{mol/L}$ (0,06 mg/dL) y 8 $\mu\text{mol/L}$ (0,09 mg/dL), respectivamente. Se observó un aumento promedio similar, de 0,07 mg/dL (6,2 $\mu\text{mol/L}$) entre 6 PM y 10 PM, que presumiblemente estaría relacionado con la composición de la cena. Para los sujetos con ERC, el estudio de Nair *et al.*, reportó aumentos máximos de creatinina de hasta 0,25 mg/dL (22 $\mu\text{mol/L}$), que es más pronunciado que el aumento promedio de 0,13 mg/dL (12 $\mu\text{mol/L}$) que se observó en los sujetos con ERC.

Sin embargo, el estudio de Nair *et al.* enfatiza el hallazgo de que la disminución relativa de TFGe después del consumo de carne es proporcionalmente menor en pacientes con estadios más avanzados de ERC (33), lo que es consistente con nuestros hallazgos. Otro estudio de Preiss *et al.*, demostró que el efecto del consumo de carne podría tener un impacto en el diagnóstico debido a clasificaciones erróneas de estadios de ERC, si las mediciones se realizan después de consumir una comida de carne cocida (34). Los autores de este estudio afirman que los médicos deben asegurarse de que, al clasificar el estadio de la ERC, las muestras hayan sido tomadas en las condiciones adecuadas (34). Se aprobó esta conclusión, especialmente en el contexto de un estudio de variación biológica a lo largo de 24 h. En nuestro estudio se incluyó la determinación de creatinina para poder determinar el TFGe calculado, pero no para ser un indicador de TFG (35).

A diferencia de la creatinina, el CV_I de cistatina C se ubicó en el mismo rango para los sujetos con o sin ERC, y su perfil de 24 h no se caracterizó por un pico posterior a la cena. A pesar de las diferencias sustanciales en la variación biológica y los VRC entre la cistatina C y la creatinina, especialmente en sujetos sin ERC, estas diferencias no se traducen en diferencias similares en la variación biológica y los VRC de las ecuaciones de TFGe derivadas de estos biomarcadores. De hecho, los valores CV_I y VRC de la ecuación $\text{CKD-EPI}_{\text{creatinina}}$ son de la misma magnitud en ambos grupos de estudio. Sin embargo, los valores CV_I y VRC de la $\text{CKD-EPI}_{\text{cistatina C}}$ son de diferente magnitud. La transformación de cistatina C a $\text{CKD-EPI}_{\text{cistatina C}}$ conduce a valores CKD-EPI más dispersos que la transformación de creatinina a $\text{CKD-EPI}_{\text{creatinina}}$.

Los perfiles diurnos de cistatina C mostraron ritmos diurnos intrínsecos moderados, con una ligera disminución durante el día y un aumento durante la tarde y la noche. Esto concuerda con una filtración glomeru-

lar modestamente reducida en la noche, en comparación con el día (36)(37). Una ritmicidad diurna similar puede ser aparente en los perfiles de creatinina (al menos un patrón decreciente desde la mañana hasta la noche), pero se ve opacada por el pico de creatinina posterior a la cena. Curiosamente, el ritmo diurno de la cistatina C está algo disminuido en los sujetos con ERC. Este efecto puede explicarse por la reducción del aclaramiento renal en sujetos con ERC, lo que lleva a la acumulación de cistatina C y la consiguiente reducción en su ritmo diurno (38).

Las grandes oscilaciones rítmicas diurnas impiden el cálculo de los componentes de variación general y de los VRC, ya que se volverían dependientes de la hora del día. En cambio, se pueden calcular los VRC de hora a hora, que consideran el cambio estructural de acuerdo con el ritmo diurno. Tal enfoque ha sido aplicado previamente por nuestro grupo y otros para el cálculo de VRC para varios biomarcadores hematológicos y troponina T cardíaca (39)(40). Sin embargo, la variación rítmica de la cistatina C en este estudio fue tan pequeña que el cálculo de los componentes de variación de hora a hora y VRC habría complicado su interpretación sin ofrecer un beneficio sustancial en términos de precisión matemática.

Algunas limitaciones de este estudio merecen consideración: en primer lugar, el diseño del estudio no se limitó a la evaluación de la variación biológica de los biomarcadores renales. Aunque las horas de comida fueron estandarizadas entre los participantes del estudio, el contenido de las comidas no lo fue. Por lo tanto, el consumo de carne entre las comidas fue variable y puede haber explicado los incrementos muy variables de creatinina, especialmente después de la cena.

En segundo lugar, la relación entre hombres y mujeres estuvo sesgada (77% hombres y 23% mujeres), lo que impidió una evaluación sólida de posibles diferencias entre sexos. En tercer lugar, la extrapolación de este estudio a otras etnias puede ser limitada porque todos los participantes fueron de raza blanca. En cuarto lugar, la mayoría de los individuos, incluidos aquellos sin ERC, tenían comorbilidades. Sin embargo, la presencia de comorbilidades, así como el hecho de que las comidas no fueron estandarizadas, son representativas de un paciente promedio (tanto hospitalizado como ambulatorio) y proporcionan estimaciones de la vida real de la variación biológica de interés cuando se interpretan los resultados.

En conclusión, se muestra que el CV_I de creatinina es mayor en los sujetos sin ERC que en los sujetos con ERC. A pesar de las diferencias en la variación biológica, los VRC de todas las estimaciones de TFG derivadas (MDRD , $\text{CKD-EPI}_{\text{creatinina}}$, $\text{CKD-EPI}_{\text{cistatina C}}$ y $\text{CKD-EPI}_{\text{creatinina-cistatina C}}$) están dentro del mismo rango (13% -20%) y son similares para sujetos con o sin ERC.

Referencias bibliográficas

1. Stevens PE, Levin A. Kidney disease: improving global outcomes chronic kidney disease guideline development work group M. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 2013; 158: 825–30.
2. Levey AS, Stevens LA, Coresh J. Conceptual model of CKD: applications and implications. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: S4–16.
3. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130: 461–70.
4. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, *et al.* Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 2012; 367: 20–9.
5. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, *et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150: 604–12.
6. Carter JL, Parker CT, Stevens PE, Eaglestone G, Knight S, Farmer CK, Lamb EJ. Biological variation of plasma and urinary markers of acute kidney injury in patients with chronic kidney disease. *Clin Chem* 2016; 62: 876–83.
7. Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. Washington (DC): AACC Press; 2001.
8. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1989; 27: 409–37.
9. Ozturk OG, Paydas S, Balal M, Sahin G, Karacor ED, Ariyurek SY, Yaman A. Biological variations of some analytes in renal posttransplant patients: a different way to assess routine parameters. *J Clin Lab Anal* 2013; 27: 438–43.
10. Delanaye P, Cavalier E, Depas G, Chapelle JP, Krzesinski JM. New data on the intraindividual variation of cystatin C. *Nephron Clin Pract* 2008; 108: c246–8.
11. Larsson A, Akerstedt T, Hansson LO, Axelsson J. Circadian variability of cystatin C, creatinine, and glomerular filtration rate (GFR) in healthymenduring normal sleep and after an acute shift of sleep. *Chronobiol Int* 2008; 25: 1047–61.
12. Carobene A, Graziani MS, Lo Cascio C, Tretti L, Cremonese E, Yabarek T, *et al.* Age dependence of within-subject biological variation of nine common clinical chemistry analytes. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 841–4.
13. Reinhard M, Erlandsen EJ, Randers E. Biological variation of cystatin C and creatinine. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69: 831–6.
14. Fraser CG, Williams P. Short-term biological variation of plasma analytes in renal disease. *Clin Chem* 1983; 29: 508–10.
15. Selvin E, Juraschek SP, Eckfeldt J, Levey AS, Inker LA, Coresh J. Within-person variability in kidney measures. *Am J Kidney Dis* 2013; 61: 716–22.
16. Pascoe PJ, Gallagher CS, Fraser CG. Components of biological variation of some serum analytes in hospitalized pregnant women. *Clin Chem* 1984; 30: 583–4.
17. Gowans EM, Fraser CG. Biological variation of serum and urine creatinine and creatinine clearance: ramifications for interpretation of results and patient care. *Ann Clin Biochem* 1988; 25(Pt 3): 259–63.
18. Ravn B, Larsson A, Martensson J, Martling CR, Bell M. Intra-day variability of cystatin C, creatinine and estimated GFR in intensive care patients. *Clin Chim Acta* 2016; 460: 1–4.
19. Rivara MB, Zelnick LR, Hoofnagle AN, Newitt R, Tracy RP, Kratz M, *et al.* Diurnal and long-term variation in plasma concentrations and renal clearances of circulating markers of kidney proximal tubular secretion. *Clin Chem* 2017; 63: 915–23.
20. Carobene A, Marino I, Coskun A, Serteser M, Unsal I, Guerra E, *et al.* The EuBIVAS project: within-and between-subject biological variation data for serum creatinine using enzymatic and alkaline picrate methods and implications for monitoring. *Clin Chem* 2017; 63: 1527–36.
21. Klinkenberg LJ, Wildi K, van der Linden N, Kouw IW, Niens M, Twerenbold R, *et al.* Diurnal rhythm of cardiac troponin: consequences for the diagnosis of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 2016; 62: 1602–11.
22. van der Linden N, Hilderink JM, Cornelis T, Kimenai DM, Klinkenberg LJJ, van Doorn WP, *et al.* Twenty-four hour biological variation profiles of cardiac troponin I in individuals with or without chronic kidney disease. *Clin Chem* 2017; 63: 1655–6.
23. World Medical Association. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013; 310: 2191–4.
24. Bartlett WA, Braga F, Carobene A, Coskun A, Prusa R, Fernandez-Calle P, *et al.* A checklist for critical appraisal of studies of biological variation. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53: 879–85.
25. Aarsand AK, R Raas T, Fernandez-Calle P, Ricos C, Diaz-Garzon J, Jonker N, *et al.* The biological variation data critical appraisal checklist: a standard for evaluating studies on biological variation. *Clin Chem* 2018; 64: 501–14.
26. Roraas T, Petersen PH, Sandberg S. Confidence intervals and power calculations for within-person biological variation: effect of analytical imprecision, number of replicates, number of samples, and number of individuals. *Clin Chem* 2012; 58: 1306–13.
27. de Leur K, Vroemen JP, Vos DI, Elmans L, van der Laan L. Outcome after osteosynthesis of hip fractures in nonagenarians. *Clin Interv Aging* 2014; 9: 41–9.
28. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem* 1971; 17: 275–84.
29. Dixon WJ. Processing data for outliers. *Biometrics* 1953; 9: 74–89.
30. Burdick RK, Graybill FA. Confidence intervals on variance components. New York (NY): Marcel Dekker; 1992.

31. McDonald JH. Handbook of biological statistics. 3rd Ed. Baltimore (MD): Sparky House Publishing; 2014.
32. Carobene A, Strollo M, Jonker N, Barla G, Bartlett WA, Sandberg S, *et al.* Sample collections from healthy volunteers for biological variation estimates' update: a new project undertaken by the working group on biological variation established by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54: 1599–608.
33. Nair S, O'Brien SV, Hayden K, Pandya B, Lisboa PJ, Hardy KJ, Wilding JP. Effect of a cooked meat meal on serum creatinine and estimated glomerular filtration rate in diabetes-related kidney disease. *Diabetes Care* 2014; 37: 483–7.
34. Preiss DJ, Godber IM, Lamb EJ, Dalton RN, Gunn IR. The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 35–42.
35. Diskin CJ. Creatinine and glomerular filtration rate: evolution of an accommodation. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 16–9.
36. Wuerzner G, Firsov D, Bonny O. Circadian glomerular function: from physiology to molecular and therapeutical aspects. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29: 1475–80.
37. Koopman MG, Koomen GC, Krediet RT, de Moor EA, Hoek FJ, Arisz L. Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci (Lond)* 1989; 77: 105–11.
38. van der Linden N, Cornelis T, Kimenai DM, Klinkenberg LJJ, Hilderink JM, Luck S, *et al.* Origin of cardiac troponin T elevations in chronic kidney disease. *Circulation* 2017; 136: 1073–5.
39. Hilderink JM, Klinkenberg LJJ, Aakre KM, de Wit NCJ, Henskens YMC, van der Linden N, *et al.* Within-day biological variation and hour-to-hour reference change values for hematological parameters. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55: 1013–24.
40. Aakre KM, Roraas T, Petersen PH, Svarstad E, Sellevoll H, Skadberg O, *et al.* Weekly and 90-minute biological variations in cardiac troponin T and cardiac troponin I in hemodialysis patients and healthy controls. *Clin Chem* 2014; 60: 838–47.