

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:**

**ENDOCRINOLOGIA**

**ESTIMATIVA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR COM  
EQUAÇÕES BASEADAS NA CREATININA E CISTATINA C  
SÉRICAS EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2**

**TESE DE DOUTORADO**

**EDUARDO GUIMARÃES CAMARGO**

**Porto Alegre, maio de 2011.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:**

**ENDOCRINOLOGIA**

**ESTIMATIVA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR COM  
EQUAÇÕES BASEADAS NA CREATININA E CISTATINA C  
SÉRICAS EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2**

**EDUARDO GUIMARÃES CAMARGO**

**Orientadora: Profa. Dra. Sandra Pinho Silveiro**

**Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Médicas: Endocrinologia da Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Doutor em Endocrinologia.**

**Porto Alegre, maio de 2011.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha orientadora, Profa. Sandra, por ser um exemplo de pessoa e de profissional nesse nosso meio tão competitivo. Nos 10 anos que nos conhecemos, desde a minha residência nesse serviço, passei por diferentes estágios da minha vida pessoal e profissional, sempre com seu incentivo, compreensão e apoio incondicional. Como ser humano, ela me fez reforçar conceitos outrora já ressaltados pelos meus pais, como honestidade, compromisso e respeito ao próximo. Como pesquisador, levo não somente o seu estilo em minha escrita, mas também a sua forma clara de demonstrar suas ideias e defender suas hipóteses.

Agradeço à Profa. Dra. Joíza, pelo apoio imprescindível na dosagem da cistatina C e todo suporte na execução da parte laboratorial.

Agradeço aos meus alunos de iniciação científica pelo trabalho árduo: Gustavo Araújo, Mariana Ferreira, Fabíola Souza, Halley Makino, Renata Pedrini e Ana Detanico; aos meus colegas de pós-graduação: Ariana Soares e Letícia Weinert; aos meus colegas de residência médica: Fernando Gerchman, Cristiane Leitão e Ticiania Rodrigues. Esse trabalho não chegaria ao final sem a sua colaboração, sempre na forma de incentivo.

Agradeço aos meus pacientes, com os quais convivi por todos esses anos, pela participação voluntária e incansável nos estágios mais importantes do nosso projeto.

Agradeço à minha família e amigos, pelo incentivo e apoio constantes.

## SUMÁRIO

### Capítulo 1 - Peculiaridades da avaliação da taxa de filtração glomerular em indivíduos com diabetes melito

Título.....	09
Resumo.....	10
Artigo.....	12
Referências.....	38

### Capítulo 2 - *The CKD-EPI Equation is Less Accurate in Type 2 Diabetes Patients When Compared to Healthy Individuals*

Título.....	55
Resumo .....	56
Introdução.....	57
Pacientes e métodos.....	57
Resultados.....	59
Discussão.....	60
Referências.....	63

### Capítulo 3 - Equações baseadas na cistatina C sérica para estimar a taxa de filtração glomerular: uma alternativa mais acurada?

Título.....	72
Resumo .....	73
Introdução.....	75
Pacientes e métodos.....	76
Resultados.....	77
Discussão.....	79
Referências.....	83

## PECULIARIDADES DA AVALIAÇÃO DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR EM INDIVÍDUOS COM DIABETE MELITO

Título abreviado: Taxa de filtração glomerular e DM

Eduardo Guimarães Camargo<sup>1</sup>

Mariana Nunes Ferreira<sup>1</sup>

Gustavo das Neves Araújo<sup>1</sup>

Sandra Pinho Silveiro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

<sup>2</sup>Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Endereço para correspondência:

Eduardo Guimarães Camargo

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Prédio 12, 4º andar, 90035-903

Porto Alegre, RS, Brasil

Fone: 51 33598127

[eg.camargo@terra.com.br](mailto:eg.camargo@terra.com.br)

**Artigo será submetido ao periódico *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*.**

## RESUMO

As diretrizes nacionais e internacionais de nefrologia e diabetologia recomendam que, em pacientes com diabetes melito (DM), além da aferição anual da excreção urinária de albumina, seja realizada a estimativa da TFG por meio de equações que incluam a creatinina sérica. As equações mais empregadas e analisadas têm sido as dos estudos MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) e CKD-EPI (*Chronic kidney Disease Epidemiology Collaboration*). No entanto, algumas evidências demonstram um pior desempenho dessas equações em indivíduos com DM, com acentuada subestimativa da TFG. Este desempenho limitado parece estar relacionado a peculiaridades do paciente com DM, como a presença de hiperglicemia e hiperfiltração glomerular, mas também a limitações da própria creatinina como marcador pouco sensível e específico da TFG. O uso de novos marcadores endógenos com perfil mais próximo do ideal, como é o caso da cistatina C, tem se mostrado promissor, mas a sua acurácia ainda não foi adequadamente demonstrada no DM. O objetivo desse artigo foi analisar criticamente os métodos disponíveis de medida e de estimativa da TFG em pacientes com DM, enfatizando aspectos peculiares e possíveis interferentes.

Palavras-chave: diabetes melito, taxa de filtração glomerular, creatinina, MDRD, CKD-EPI, cistatina C

## ABSTRACT

The current guidelines of Nephrology and Diabetology recommend that in patients with diabetes mellitus (DM), along with the annual measure of urinary albumin excretion, the glomerular filtration rate (GFR) should be estimated using creatinine-based equations. The most frequently recommended equations were developed by the MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) and CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) studies. However, recent evidences show a worse performance of these equations in diabetic patients, with a significant underestimation of GFR. This limited performance seems to be related to the peculiarities of the patient with DM, such as the presence of hyperglycemia and glomerular hyperfiltration, but also due to the limitations in the sensitivity and specificity of serum creatinine as GFR marker. The use of new markers with closer-to-the ideal endogenous profile, like cystatin C, has shown promise, but its accuracy has not been yet adequately demonstrated in DM. The purpose of this article was to critically analyze the current available methods of measurement and estimation of GFR in patients with DM, emphasizing its peculiarities and possible interferences.

Keywords: diabetes mellitus, glomerular filtration rate, creatinine, MDRD, CKD-EPI, cystatin C

## INTRODUÇÃO

A avaliação da função renal em indivíduos com diabetes melito (DM) é extremamente importante, já que a nefropatia diabética (ND) é mundialmente a causa mais comum de doença renal crônica terminal (DRCT) (1,2). Cerca de 40% dos pacientes com DM desenvolverá ND (3), que é o diagnóstico mais comum entre indivíduos em programas de substituição renal, sendo responsável por até 44% dos casos (4).

A taxa de filtração glomerular (TFG) é considerada o melhor índice de avaliação da função renal (5). Sua estimativa acurada é necessária não somente para detectar e classificar o estágio da doença renal, mas também para acompanhar a evolução do quadro e analisar a resposta a manobras terapêuticas. A TFG é também um preditor independente de mortalidade (6,7). Além disso, embora a medida da excreção urinária de albumina (EUA) seja um marcador importante da presença de nefropatia (7,8) e de doença cardiovascular em indivíduos diabéticos (9), até 25% desses indivíduos apresenta redução da TFG sem aumento de albuminúria (10,11). Dessa forma, atualmente a *American Diabetes Association* e a *National Kidney Foundation* recomendam, além da aferição anual da EUA, a realização da estimativa da TFG por meio de equações que incluam a creatinina sérica (7,8,12). As equações mais empregadas e analisadas têm sido as dos estudos MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) e CKD-EPI (*Chronic kidney Disease Epidemiology Collaboration*) (13,14). Entretanto, recentemente tem sido demonstrado um pior desempenho dessas equações em indivíduos com DM, com acentuada subestimativa da TFG (15,16). Esse desempenho limitado parece estar relacionado a peculiaridades do paciente com DM, como a presença de hiperglicemia, de hiperfiltração glomerular e de obesidade, mas também a limitações da própria creatinina como marcador pouco sensível e pouco específico da TFG (17). O uso de novos marcadores endógenos com perfil mais próximo do ideal, como é o caso da cistatina C, tem se mostrado promissor (18,19). No entanto, a acurácia desse marcador em indivíduos com DM ainda não foi adequadamente demonstrada. O objetivo desse artigo foi de analisar criticamente os métodos disponíveis de medida e de estimativa da



TFG em pacientes com DM, enfatizando aspectos peculiares e possíveis interferentes.

## **TFG MEDIDA COM SUBSTÂNCIAS EXÓGENAS**

### MÉTODOS DISPONÍVEIS

Os métodos de medida da TFG utilizam a infusão de substâncias exógenas e avaliam a sua depuração renal (5). O marcador ideal é aquele que é metabolicamente inativo, livremente filtrado pelos rins e que não sofre reabsorção ou secreção tubular (5,20). A inulina, um polímero da frutose metabolicamente inativo, é considerado o marcador ideal da TFG, mas devido às dificuldades técnicas para seu uso e à sua disponibilidade limitada, outros marcadores alternativos têm sido amplamente utilizados, como os agentes radioativos  $^{125}\text{I}$ -iotalamato,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA e  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA e o contraste não-radioativo ioexol (5).

Como estes métodos são laboriosos e de alto custo na sua execução, a sua indicação formal é restrita a algumas situações clínicas em que a utilização de marcadores endógenos como a creatinina podem subestimar ou superestimar a TFG (Tabela 1) (21).

Tabela 1 – Indicações para medida da taxa de filtração glomerular.

---

Extremos de idade (idosos ou crianças)  
Desnutrição ou obesidade severa  
Doença muscular esquelética  
Paraplegia ou tetraplegia  
Avaliação para doação renal  
Dieta vegetariana  
Após uso prolongado de substâncias nefrotóxicas

---

O iotalamato apresenta secreção tubular e pode resultar em medidas superestimadas da TFG (22). O  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA pode subestimar a TFG por se ligar às proteínas plasmáticas (23). Por sua vez, o contraste iodado ioexol pode apresentar reabsorção tubular e ligação às proteínas plasmáticas e subestimar a TFG (24). Esse contraste pode provocar reação alérgica e pode ser nefrotóxico em doses altas (21). O  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA, por sua vez, também parece sofrer reabsorção tubular e tende a subestimar a TFG em 10% em relação ao avaliado com inulina, o que é corrigido pela fórmula de Brochner-Mortensen (25). Os agentes radioativos necessitam um ambiente protegido para armazenamento e administração.

A interpretação da medida da TFG deve levar em consideração alguns fatores fisiológicos, específicos ou não do DM, como influência da idade, do ritmo circadiano, da alimentação e de seus componentes, do índice de massa corporal e da hiperglicemia.

#### Avanço da idade vs. TFG

Estudos conduzidos há mais de 60 anos já claramente estabeleceram que a TFG apresenta um declínio com a idade (26,27). Esse declínio é da ordem de 0,75-1,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/ano (28,29) e isso deve ser levado em conta no seguimento de pacientes, especialmente com DM tipo 2, que em geral apresentam-se acima dos 40 anos de idade. A estimativa de declínio da TFG com a idade é de cerca de 4 ml/min/década até os 50 anos e duplica após essa idade (30). Um acompanhamento longitudinal de pacientes DM 2 evidenciou que mesmo pacientes microalbuminúricos já apresentam declínio significativo da TFG (31).

Estudo recente em nossa população definiu valores de referência de 73 a 153 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> para indivíduos com menos de 50 anos e de 61 a 129 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> para mais de 50 anos (32). A hiperfiltração glomerular, que acomete 21% dos pacientes com DM tipo 2 (33), pode ser mascarada pelo declínio de TFG dependente da idade (34). Esse fenômeno é encontrado precocemente no curso clínico do DM, sendo definido como TFG correspondente a 2 desvios-padrão acima da média ou maior que 140 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (35). Sugere-se que a hiperfiltração ocasionaria dano direto à

parede capilar, iniciando a cascata de eventos que levaria à glomeruloesclerose, embora com evidências divergentes (35,36,37) Portanto, apesar da controvérsia do papel da hiperfiltração glomerular na patogênese da ND, deve ser levado em conta que esse achado pode estar sendo ocultado pela idade do paciente (35).

### Ritmo circadiano vs. TFG

Em indivíduos saudáveis, a TFG apresenta um ritmo circadiano, sendo cerca de 20% mais alta durante o dia em relação à noite (38), o que também foi observado em pacientes com DM, talvez relacionado à variações na pressão arterial (39). Portanto, para fins comparativos, é interessante realizar-se a medida da TFG sempre no mesmo horário.

### Jejum vs. TFG

A ingestão de alimentos associa-se com um pequeno aumento de cerca de 5 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> na TFG (40). Alguns estudos evidenciam aumentos de até 25% na TFG com a ingestão alimentar, mas em geral com dietas com alto teor protéico (41). Como forma de padronização dos resultados, a medida da TFG pode ser realizada sempre pela manhã. Para indivíduos com DM, deve-se orientar que os medicamentos que podem causar hipoglicemia no jejum devem ser usados logo após a primeira coleta de sangue e administração do marcador, seguidos de uma refeição leve, já que o paciente com DM não deve permanecer em jejum prolongado.

### Componentes da dieta vs. TFG

Fatores relacionados à dieta, como a quantidade de proteínas ingeridas é capaz de influenciar a TFG em indivíduos saudáveis (42). Esquemas nutricionais com manipulação da quantidade de proteínas da dieta são recomendados para indivíduos com DM, portanto, podem interferir na medida da TFG (43). É sabido que a dieta hiperproteica causa elevação da filtração

glomerular (44) e em contrapartida, redução da ingestão de proteínas recomendada para pacientes com DM e nefropatia pode resultar em redução secundária da TFG (45) e não representar declínio associado à progressão da doença renal. Não apenas a quantidade mas o tipo de proteína ingerida poderia influenciar a hemodinâmica renal em indivíduos saudáveis e com DM. Em pacientes com DM1 sem nefropatia observou-se que uma dieta normoproteica à base de carne de peixe e de galinha reduziu a TFG na mesma magnitude do que uma dieta hipoproteica, ambas comparadas a uma dieta com ingestão proteica usual (46).

### Hiperglicemia vs. TFG

O aumento da TFG relacionado à hiperglicemia é um fenômeno encontrado na fase precoce da ND em pacientes com DM tipo 1 e tipo 2 (47,48). A medida da TFG pode sofrer a influência adicional do estado hiperglicêmico no momento do exame, uma vez que a hiperglicemia resulta em alterações hemodinâmicas glomerulares agudas (49,50). Em pacientes hiperfiltrantes tem sido demonstrado que a redução da glicemia para níveis normais resulta em declínio da TFG em até 10 dias (49). É recomendável que os níveis de glicemia estejam estáveis e abaixo de 200 mg/dl para que não haja uma medida superestimada da TFG (51).

### Obesidade vs. TFG

Embora a obesidade e o predomínio de adiposidade abdominal estejam associados à hiperfiltração glomerular e sejam considerados por alguns autores fatores de risco para DRC (52,53), a real influência do excesso de peso sobre a TFG ainda é controversa. Esse é um ponto particularmente importante em indivíduos com DM, que apresentam uma prevalência elevada de sobrepeso e obesidade e poderiam apresentar flutuações da TFG relacionadas à mudança de peso durante o seu curso clínico.

Como demonstrado recentemente, a associação entre o excesso de peso e o declínio da TFG não permanece quando a filtração glomerular é

ajustada para a superfície corporal (54). O resultado desse ajuste é que indivíduos obesos, que apresentam uma maior superfície corporal, conseqüentemente tem valores mais baixos de TFG. Embora a necessidade do ajuste da TFG para a superfície corporal ainda seja motivo de discussão (55,56), isso parece particularmente importante nos indivíduos obesos e com DM. Em índios Pima normoalbuminúricos e com índice de massa corporal  $>30$  kg/m<sup>2</sup>, a hiperfiltração não foi mais prevalente do que em não-diabéticos quando a TFG foi corrigida para a superfície corporal (57), sugerindo que a obesidade superestima a TFG. Em outro grupo de indivíduos com DM e obesidade, a correção para superfície corporal resultou em valores de TFG 12% mais baixos (56).

Um argumento para que não se corrija a TFG pela superfície corporal é que como o número de néfrons não aumenta com o aumento da adiposidade, a obesidade resulta em um aumento da TFG de um “único néfron” e conseqüente hiperfiltração (55). A TFG não corrigida reflete verdadeiramente esse fenômeno, enquanto aquela corrigida resulta em um valor subestimado (54). Ademais, não existe um consenso de qual fórmula empregar para o cálculo da superfície corporal em indivíduos obesos (55).

#### Ingestão de sal vs. TFG

O consumo exagerado de sal parece reduzir a eficácia dos medicamentos que atuam sobre o sistema renina-angiotensina e, portanto, interferir na hemodinâmica glomerular (58). Uma meta-análise recente de 13 estudos incluindo 254 pacientes com DM tipo 1 e 2 mostrou que a redução do sal para 6,5 g/dia baixou a pressão arterial em 7/3 mm Hg e como a hipertensão acelera a progressão da ND, essa recomendação é benéfica, embora ainda exija estudos para confirmar o efeito sobre a ND (59). Por outro lado, foi demonstrado que a resposta renal à restrição do sódio é qualitativamente diferente em pacientes com DM, onde se observa aumento da TFG e do fluxo plasmático renal (60), o que torna o assunto controverso.

## TFG ESTIMADA COM EQUAÇÕES BASEADAS NA CREATININA

Embora os métodos de medida da TFG sejam considerados o padrão de referência para determinar a filtração glomerular, são laboriosos, de alto-custo e exigem material e pessoal especializado, o que os torna impraticáveis na prática diária (61). A medida da creatinina sérica tem sido o método mais frequentemente utilizado para estimar a função renal. Entretanto, a creatinina preenche somente alguns critérios de marcador ideal da TFG. Ela é produzida por uma reação não-enzimática da creatina muscular, não circula ligada a proteínas, é livremente filtrada, é metabolizada e fisicamente inerte. No entanto, a creatinina é secretada pelas células tubulares, o que resulta em superestimativa da TFG. Uma importante limitação da creatinina é que ela não é um método sensível para detectar pequenas reduções da TFG e seus valores somente se elevam quando pelo menos 40% da função renal está comprometida (62). Diferenças na geração de creatinina a partir de fatores determinantes da massa muscular como idade, gênero e etnia podem afetar o resultado da medida da creatinina sérica. Por isso, é recomendado o uso da creatinina em equações de estimativa da TFG que levem em conta essas variáveis. Atualmente, são recomendadas as equações de Cockcroft-Gault, do estudo MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) e a do estudo CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) (Tabela 2) ([www.mdrd.com](http://www.mdrd.com)) (63).

Tabela 2 – Equações de estimativa da taxa de filtração glomerular baseadas na creatinina sérica

---

**Cockcroft-Gault**

TFG (ml/min) = [140 - idade] × peso / [72 × Cr] × 0,85 (mulher)

**MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*)**

TFG (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) = 186 × (Cr)<sup>-1,154</sup> × (idade)<sup>-0,203</sup> × 1,212 (negro) × 0,742 (mulher)

**MDRD (re-expressa com creatinina calibrada)**

TFG (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) = 175 × (Cr)<sup>-1,154</sup> × (idade)<sup>-0,203</sup> × 1,212 (negro) × 0,742 (mulher)

**QCM (*Quadrática Clínica Mayo*)**

TFG (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) = exp [1,911 + 5,249/Cr - 2,114/Cr - 0,00686 × idade - 0,205 (mulher)]

Observação: Creat <0,8 = fixada como 0,8 mg/dl

**CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*)**

TFG (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) = 141 × min(Cr/k, 1)<sup>α</sup> × max(Cr/k, 1)<sup>-1,209</sup> × 0,993<sup>idade</sup> × 1,018 [mulher] × 1,159 [negro]

---

TFG: taxa de filtração glomerular; Cr: creatinina sérica; k é 0,7 para mulheres e 0,9 para homens; α é -0,329 para mulheres e -0,411 para homens; min indica o mínimo de creatinina sérica ou 1; max indica o máximo de creatinina sérica ou 1.

O desempenho das diferentes equações de estimativa pode ser avaliado através da comparação com a TFG medida, utilizando como parâmetros o viés (diferença calculada entre a TFG medida e a TFG estimada), a acurácia (calculada como a percentagem dos valores estimados dentro de 15% e 30% da TFG medida) e a precisão (desvio-padrão do viés ou a raiz quadrada do erro médio).

**CREATININA SÉRICA VS. INTERFERENTES ANTROPOMÉTRICOS E ANALÍTICOS**

A produção da creatinina é fortemente influenciada pela massa muscular, independente da função renal e também pode sofrer influência analítica de várias substâncias (Tabela 3) (64,65).

Tabela 3 – Fatores que interferem com a medida sérica da creatinina

Fator	Efeito	Mecanismo
Idade avançada	Diminui	Geração
Gênero feminino	Diminui	Geração
Etnia		
Negros	Aumenta	Geração
Hispânicos	Diminui	Geração
Massa muscular	Aumenta	Geração
Amputação	Diminui	Geração
Obesidade	Não modifica	
Doenças		
Desnutrição	Diminui	Geração
Doença neuromuscular	Diminui	Geração
Doença hepática	Diminui	Geração
Hiperglicemia	Aumenta	Analítico
Dieta		
Dieta vegetariana	Diminui	Geração
Consumo de carne	Aumenta	Geração
Medicações		
Cimetidina	Aumenta	Reduz secreção tubular
Trimetoprim	Aumenta	Secreção tubular
Fenofibrato	Aumenta	?
Interferências com Método Jaffe		
Hiperglicemia	Aumenta	Interferência analítica
Cetose	Aumenta	Interferência analítica
Ácido ascórbico	Aumenta	Interferência analítica
Hiperuricemia	Aumenta	Interferência analítica
Hiperbilirrubinemia	Diminui	Interferência analítica
Cefalosporinas	Aumenta	Interferência analítica

Fonte: Modificado de Stevens et al. (21).



Diferenças na massa muscular resultante de fatores como idade, gênero e etnia podem afetar o resultado da medida da creatinina sérica (17). Dessa forma, a idade avançada e o sexo feminino tendem a apresentar valores menores de creatinina sérica, em contraste com o sexo masculino, que pela maior massa muscular apresenta níveis séricos mais elevados de creatinina (65). Em negros em hemodiálise (66) e em pré-diálise (67) tem sido descrita creatinina sérica mais elevada do que em brancos, o que não parece se dever ao estado nutricional, composição corporal ou a diferenças sócio-econômicas. Portanto, devido a possíveis variações étnicas, é necessário o desenvolvimento de intervalos de referência para a creatinina para cada população específica.

Medicações como cefalosporinas e trimetoprim sabidamente aumentam o nível sérico da creatinina por interferência analítica (68) e já foi demonstrado haver elevação da creatinina com o uso de fenofibrato (69). A aspirina também pode resultar em elevação da creatinina em algumas condições, como idade avançada e insuficiência renal (68). Já em indivíduos com nefropatia incipiente e DM 2, previamente já relatamos a ausência de efeito deletério do uso de doses intermediárias da aspirina sobre a creatinina e TFG medida (70). Os inibidores da enzima de conversão da angiotensina II (IECA) e os bloqueadores dos receptores da angiotensina (BRA), recomendados para tratamento da ND e prevenção cardiovascular, podem causar redução da TFG, mas esse fenômeno é considerado como preditor de proteção renal se ocorrer uma elevação de até 30% da creatinina (71). No caso de elevações da creatina acima desse valor, deve-se pensar na possibilidade de estenose bilateral das artérias renais, uma causa reconhecida de hipertensão arterial em indivíduos com DM.

Outro fator importante é a variação da medida da creatinina ocasionada pelos diferentes ensaios disponíveis, o que adiciona erros sistemáticos na estimativa da TFG (64). A maioria dos métodos são variantes da reação de Jaffe. Nesse método, a creatinina reage com o picrato em ambiente alcalino e forma um complexo facilmente quantificável (62). Embora a técnica seja simples, a grande desvantagem é que a creatinina pode aumentar em até 20% por interferência de várias substâncias, como ácido ascórbico, glicose, ácido úrico, acetoacetato, piruvato e cefalosporinas. A hiperbilirrubinemia reduz consideravelmente a medida da creatinina com esse método. Em contraste, os

métodos não-enzimáticos não detectam os cromógenos não-creatinina, mas têm um custo muito mais elevado. Para minimizar esses erros analíticos, a recomendação atual é que se utilizem métodos calibrados usando um padrão internacional de referência. Idealmente, todos os métodos de medida de creatinina deveriam ser alinhados para o padrão ouro de espectrometria de massa (ID-MS) (72).

## **EQUAÇÕES BASEADAS NA CREATININA**

### **1. EQUAÇÃO DE COCKCROFT-GAULT (CG)**

A equação de CG foi desenvolvida utilizando dados de 236 homens hospitalizados que tinham duas medidas de depuração de creatinina endógena que diferiam entre si <20% (73). A média das duas medidas foi utilizada para elaborar a equação, considerando a idade e o peso do paciente. A depuração média de creatinina (DCE) foi  $72,7 \pm 36,6$  ml/min. Uma redução de 15% do valor foi recomendada quando a equação fosse aplicada em mulheres, o que equivale a multiplicar o resultado obtido por 0,85. Portanto, a proposta inicial envolveu o cálculo de estimativa da DCE (74).

Embora a equação de CG seja de fácil execução, a sua aplicação tem mostrado resultados que superestimam a TFG em diferentes grupos com doença renal crônica (75,76). A principal razão para isso é que essa equação foi desenvolvida usando como parâmetro a DCE em 24 horas, que sabidamente superestima a TFG devido ao fato de que a creatinina também é secretada pelos túbulos renais. Adicionalmente, quanto maior for o peso, maior será a TFG estimada pela equação (77,78). Essa superestimativa é particularmente importante em indivíduos com DM, que apresentam uma maior prevalência de obesidade (79). Em relação ao ajuste do resultado da TFG estimada pela equação CG para superfície corporal, os estudos têm apresentado resultados controversos e não há um consenso sobre a necessidade desse ajuste (80). No estudo original, Cockcroft e Gault recomendaram que em indivíduos obesos ou com edema devesse ser utilizado o peso ideal na fórmula (73).

Embora os estudos iniciais em indivíduos com DM tipo 1 e filtração elevada mostrem que a equação de CG superestima a TFG (81,82), estudos subsequentes demonstraram que nos indivíduos com DM tipo 2 com filtração normal ou hiperfiltrantes, a equação CG tende a subestimar a TFG (83,84,85,86). Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato de que os níveis séricos de creatinina não conseguem detectar a TFG aumentada. Da mesma forma, a equação subestima a taxa de declínio da TFG em pacientes com nefropatia incipiente ou clínica, não se mostrando uma boa ferramenta para monitorizar a função renal (84,85,87). Adicionalmente, essa equação tem uma baixa sensibilidade para detectar TFG abaixo de 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> em indivíduos com DM quando comparada com a equação do estudo MDRD (84).

A equação CG foi desenvolvida com métodos de creatinina não-calibrados, que resultavam em valores mais elevados de creatinina devido a interferência de cromógenos na reação de Jaffe. Isso poderia subestimar os valores de TFG, principalmente naqueles com valores de TFG mais elevados. Com o atual emprego de métodos calibrados, os valores de creatinina sérica são mais baixos, o que provavelmente resulta em valores mais elevados de TFG estimada e ampliação da superestimativa da TFG calculada pela equação CG (88).

Para ajuste de doses de drogas, a equação MDRD, ainda que com limitações, mostrou uma concordância melhor do que a equação CG, sendo preferida à essa (89).

Em resumo, em indivíduos com DM a equação de CG subestima o resultado naqueles com TFG normal e superestima naqueles com TFGs baixas e/ou peso elevado (Tabela 4).

## **2. Equação MDRD**

Para o desenvolvimento da equação MDRD foram incluídos 1628 indivíduos com doença renal crônica (DRC), dos quais apenas 6% tinham DM. Na equação original, chamada de “6 variáveis”, foram empregadas as variáveis idade, gênero, raça, albumina, creatinina e uréia séricas (75). Atualmente, são recomendadas as equações com “4 variáveis”, sem albumina e uréia, utilizando a creatinina não calibrada (90) ou idealmente a creatinina calibrada – equiparada a padrões de referência com espectrometria de massa (91). Essa

informação está disponível nos kits de creatinina. Diferente do estudo da equação de CG, o estudo MDRD validou adequadamente a equação em um grupo de indivíduos diferente daquele da fase de desenvolvimento e utilizou como método padrão a medida da TFG por  $^{125}\text{I}$ -iotalamato.

Em pacientes com DM e TFG  $<60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , a equação MDRD é mais precisa e acurada do que a equação de CG (75,85,90,92). Entretanto, em indivíduos com TFG normal a equação subestima os valores de filtração glomerular (83,84,85,92), o que a torna limitada para identificar os estágios mais precoces da DRC. Essa subestimativa sistemática é justificada pelo fato de que a equação foi desenvolvida em indivíduos com DRC, o que limita sua validade para indivíduos com TFG normal. Em indivíduos com DM e filtração  $>60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , a equação MDRD subestima a TFG de forma mais significativa do que indivíduos saudáveis (16).

Em estudo que comparou a influência do controle glicêmico sobre o desempenho das equações, foi demonstrado que a MDRD apresentou melhor acurácia do que a CG, não sendo afetada pelo mau controle glicêmico, enquanto a CG se tornou menos acurada quando A1C  $>8\%$  (93).

Quando empregada para seguimento da TFG, a equação MDRD subestima o declínio da TFG (84), embora pareça ser melhor do que a equação CG para esse propósito (85). Entretanto, em um estudo multicêntrico com 2208 indivíduos com e sem DRC e ampla faixa de TFG medida por inulina, a equação MDRD, assim como CG, teve um desempenho limitado, com baixa acurácia (94). Nesse estudo, ambas as equações classificaram corretamente apenas 60% dos indivíduos nos diferentes estágios de DRC.

Em resumo, a equação MDRD tende a subestimar as TFGs normais ou elevadas, enquanto que tem um desempenho superior à CG naquelas faixas mais baixas de filtração glomerular (Tabela 4). A precisão da equação para diagnosticar os diferentes estágios de DRC é limitada. Os resultados da equação MDRD podem ser reportados somente para níveis  $<60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , devendo ser anunciados como  $>60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  para valores acima.

### **3. Equação CKD-EPI**

Com o objetivo de melhorar a acurácia da estimativa da TFG, recentemente foi desenvolvida uma nova equação pelo mesmo grupo que

desenvolveu a equação MDRD, denominada de CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) (95). O desenvolvimento da equação foi baseado nos dados de 10 estudos de diferentes populações, com um total de 8252 indivíduos, dos quais 73% tinham DRC e 29% apresentavam DM. Os autores demonstraram que a CKD-EPI tem um desempenho melhor que a equação MDRD, com menor viés, melhor acurácia, mas ainda com uma precisão baixa, especialmente nas faixas normais de TFG. Nesse estudo, poucos foram os participantes com mais de 70 anos e também com representação limitada de etnias. Posteriormente, os autores confirmam que a CKD-EPI tem um melhor desempenho do que a MDRD em indivíduos com TFG >60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (96).

Outros estudos reforçam que a acurácia para detectar DRC seria maior com a CKD-EPI do que com a MDRD (97,98). Matsushita et al.(97), analisando uma população de indivíduos afro-americanos e brancos, demonstraram que 43,5% dos participantes com estágio 3 de DRC (TFG estimada por MDRD de 45-59 ml/min) foram reclassificados como não apresentando DRC usando a CKD-EPI. White et al. (98) reclassificaram para a faixa normal aproximadamente 25% de indivíduos australianos com a nova equação. Em ambos os estudos, os indivíduos que foram reclassificados eram na sua maioria brancos, mulheres e mais jovens.

A equação tem sido validada em diferentes populações e tem demonstrado um desempenho superior a equação MDRD (99,100,101,102). Entretanto, parece haver influência da etnia sobre a TFG estimada pela nova equação (103,104,105). Baseado no fato de que a creatinina varia conforme a etnia e as equações disponíveis incluem somente negros ou brancos, recentemente foi desenvolvida uma nova versão da CKD-EPI com quatro variáveis étnicas (negros, asiáticos, americanos nativos/hispânicos, brancos/outros) (106). Nesse estudo, foram avaliados dados de 8254 pacientes de 10 estudos e a equação foi validada em 4014 pacientes de 17 estudos adicionais dos Estados Unidos e Europa e 1022 pacientes da China, Japão e África do Sul. Entretanto, com exceção da população de chineses, os resultados não mostraram um melhor desempenho da versão 4 variáveis quando comparado com a equação original, o que reforçou a idéia de que as

diferenças étnicas interferem na acurácia das equações e que modelos adicionais devem ser desenvolvidos para melhor avaliar a TFG.

Avaliando os possíveis fatores determinantes da TFG no cálculo da equação CKD-EPI, foram avaliadas a influência do peso do indivíduo e presença de transplante renal, assim como a inclusão da variável diabetes no desenvolvimento dessa equação. Foi demonstrado que não há melhora da acurácia da equação com essas manobras (107). Entretanto, demonstramos que em indivíduos com DM o desempenho da CKD-EPI, assim como da MDRD, permanece limitado quando comparado com indivíduos saudáveis (16). No grupo com DM, a CKD-EPI apresenta um viés maior e uma menor precisão do que em indivíduos saudáveis e classifica erroneamente como DRC 16% dos indivíduos com função renal normal.

Em resumo, a CKD-EPI parece ter um melhor desempenho do que as equações CG e MDRD para estimar a TFG em uma ampla faixa, o que permite a descrição do resultado obtido mesmo para valores acima de 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. No entanto, o desempenho da equação em indivíduos com DM necessita de mais estudos (Tabela 4).

#### **4. Equação quadrática da Clínica Mayo (QCM)**

Os resultados de Rule et al. (108) comprovam que as equações derivadas de pacientes com DRC, como o MDRD, adotam preceitos que não são válidos para a aplicação na população em geral, identificando como doentes renais uma percentagem de indivíduos que na realidade é saudável. A equação QCM foi desenvolvida analisando-se 320 indivíduos com DRC e 580 indivíduos saudáveis como uma melhor opção para equação MDRD (109). O modelo criado foi de uma equação quadrática, com as variáveis creatinina, idade e gênero para prever o logaritmo da TFG medida por iotalamato. No entanto, algumas limitações no desenvolvimento da equação limitam sua validade externa. Na equação, é preconizado que seja utilizado o valor mínimo de 0,8 mg/dl para valores de creatinina, mesmo com valores inferiores a esse, o que resulta em maior viés nesses indivíduos. Ademais, o estudo incluiu um número muito reduzido de indivíduos idosos e da raça negra, o que pode reduzir a sua acurácia na população em geral.

Em pacientes com DM e DRC, a equação QCM superestima a TFG, embora tenha um melhor desempenho que a CG (87,110). Nesse grupo, quando comparada com MDRD, a QCM tem uma menor acurácia e um maior viés (87,110). Nos indivíduos diabéticos com TFG normal ou hiperfiltrantes, a equação QCM teve um desempenho desapontador, subestimando a TFG e com uma acurácia que não foi superior à equação MDRD (111). Recentemente demonstramos que a QCM subestimou a TFG em indivíduos com DM 2 e TFG normal ou elevada de forma equivalente a CKD-EPI, apresentando uma melhor acurácia, mas com uma baixa precisão (88). Em uma pequena amostra de pacientes reavaliados prospectivamente, a equação QCM foi superior às equações MDRD e CG para detectar o declínio da TFG (87), mas estudos adicionais são necessários para melhor avaliar o papel da equação nesses indivíduos.

Em resumo, a equação QCM não se mostrou superior às equações MDRD e CKD-EPI para estimar a TFG em indivíduos com DM, resultando em valores superestimados nos indivíduos com DRC e subestimados naqueles com TFG normal ou hiperfiltrantes (Tabela 4). A NKF não recomenda o seu uso na prática clínica.

Tabela 4 – Estudos com as equações de Cockroft-Gault (CG), do estudo MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*), CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology*) e QCM (Quadrática da Clínica Mayo) em indivíduos com diabetes melito (DM).

<b>Autor e ano de publicação</b>	<b>População</b>	<b>Método-padrão</b>	<b>Equações avaliadas</b>	<b>Comentários</b>
<b>CG vs. MDRD</b>				
Vervoort et al. (2002)	46 DM tipo1 e 46 saudáveis; TFG 122±18 ml/min/1,73m <sup>2</sup>	Inulina	CG, DCE e MDRD “6-variáveis”	CG e MDRD “6-variáveis” subestimaram a TFG nas faixas normais.
Ibrahim et al (2005)	1286 DM tipo1 Idade: 34±7 anos; TFG 122±23 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>125</sup> I-iotalamato	CG e MDRD “186”	CG e MDRD “186” subestimaram A TFG nas faixas normais e superestimaram quando TFG>120 ml/min/1,73m <sup>2</sup> .
Poggio et al. (2005)	828 indivíduos com DRC (249 com DM) TFG 24 ± 21 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>125</sup> I-iotalamato	CG e MDRD “186”	MDRD “186” teve melhor acurácia que CG em DRC com ou sem DM.
Rigalleau et al. (2005)	160 DM tipo 2; Idade: 62±14 anos; TFG 61±36 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>51</sup> Cr-EDTA	CG e MDRD “186”	CG superestimou no grupo com TFG baixa e sobrepeso. MDRD “186” subestimou a TFG naqueles com TFG mais elevadas, mas foi mais acurado que CG para estratificar os estágios de DRC.
Rossing et al. (2006)	383 DM tipo 2 caucasianos; Todas as faixas de TFG	<sup>51</sup> Cr-EDTA	CG e MDRD “186”	CG e MDRD “186” subestimaram a TFG, principalmente em microalbuminúricos e hiperfiltrantes. A taxa de declínio da TFG também foi subestimada em ambas as equações.
Fontseré et al. (2006)	87 DM tipo 2; Idade: 54±9 anos; Todas as faixas de TFG	<sup>125</sup> I-iotalamato	CG , MDRD “186”, 100/creatinina e DCE.	CG e MDRD “186” subestimaram a TFG em indivíduos com TFG normal ou hiperfiltrantes,. MDRD teve um melhor desempenho que CG nos indivíduos com DRC.
Chudleigh et al. (2007)	292 DM tipo 2; TFG > 60 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>51</sup> Cr-EDTA	CG e MDRD “186”	CG e MDRD “186” subestimaram em TFG, principalmente nos indivíduos com TFG normal.



Chudleigh et al. (2008)	293 DM tipo 2 TFG >60 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> .	<sup>51</sup> Cr-EDTA		MDRD "175", que utiliza creatinina calibrada, teve melhor desempenho que MDR "186", embora ambas as equações subestimaram a TFG.
<b>MDRD vs. CKD-EPI</b>				
Camargo et al. (2010)	56 DM tipo 2 e 55 saudáveis Idade: 58 ±9 anos; TFG >60ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>51</sup> Cr-EDTA	MDRD e CKD-EPI	CKD-EPI e MDRD "175" foram menos acuradas no DM do que em saudáveis. Ambas as equações subestimaram a TFG.
<b>CG, MDRD vs. QCM</b>				
Rigalleau et al. (2007)	200 DM Idade: 63±13 anos TFG 56±35 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>51</sup> Cr-EDTA	MDRD "186", CG e QCM	QCM teve um desempenho equivalente ao MDRD "186".
Beauvieux et al. (2007)	124 pctes com DM TFG 56±35 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>51</sup> Cr-EDTA	CG, MDRD "186" e "175", QCM e equações de cistatina	CG superestimou a TFG, principalmente nas TFG mais baixas. A QCM teve melhor desempenho que CG, mas foi menos acurada que MDRD "186".
Fontseré et al (2008)	118 DM tipo 2 caucasianos TFG 96±51 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	<sup>125</sup> I-iotalamato	MDRD "186", CG e QCM	CG, MDRD "186" e QCM subestimaram a TFG nos pacientes com TFG normal. Naqueles com DRC, a QCM não teve desempenho superior a MDRD.

DM: diabete melito; TFG: taxa de filtração glomerular; DCE: depuração da creatinina endógena; CG: Cockcroft-Gault; MDRD: Modification of Diet in Renal Disease; CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology; QCM: quadrática da Clínica Mayo; DRC: doença renal crônica

## **TFG ESTIMADA COM EQUAÇÕES BASEADAS NA CISTATINA C**

### **Cistatina C - ORIGEM E SIGNIFICADO**

A cistatina C foi descoberta em 1961, como traço gama numa banda eletroforética de fluido cerebrospinal, sendo também, no mesmo ano, identificada na urina. Em 1985, foi demonstrada, pela primeira vez, a forte correlação inversa da cistatina C sérica com a TFG (112). A cistatina C é um dos 11 membros da superfamília dos inibidores da cisteína protease e é considerada a inibidora fisiologicamente mais importante das proteases endógenas da cisteína (113). Acredita-se que seu papel seja o de inibir tais proteases secretadas dos lisossomos de células doentes ou rompidas, protegendo o tecido conjuntivo. Há evidências de que todas as células nucleadas expressam cistatina C e que a sua taxa de produção é constante e menos variável que a da creatinina. A cistatina C é completamente metabolizada pelas células do túbulo proximal. Assim, uma vez filtrada, a cistatina C não vai retornar à circulação em uma forma intacta, embora possa retornar após a degradação em peptídeos menores e/ou seus aminoácidos constituintes (114). Na ausência de dano tubular renal, não há passagem de cistatina C da vasculatura renal diretamente no túbulo.

### **Interferências na medida da cistatina C:**

Uma meta-análise baseada nos resultados de 46 estudos usando curva ROC mostrou que a medida da cistatina C seria superior à medida da creatinina sérica como marcador de função renal (115). Quando comparada com a creatinina sérica, a cistatina C tem uma melhor acurácia e é considerada um melhor marcador para estimar a TFG em indivíduos com perda leve a moderada da função renal (116). Esses estudos, entretanto, não levaram em consideração outros fatores além da TFG que poderiam afetar a acurácia da creatinina e da cistatina C. Assim como a massa muscular afeta a creatinina sérica, alguns fatores têm sido associados a variações da medida da cistatina C independente da função renal (117,118,119,120).

O uso de doses elevadas de corticóides tem sido associado ao aumento da produção de cistatina C e elevação dos seus níveis séricos (117). A terapia

com corticóides resulta em uma subestimativa da TFG dose-dependente devido à elevação da cistatina C (121).

A disfunção da tireóide, mesmo que leve, também interfere nos níveis de cistatina C (122,123). Em contraste com a creatinina, cujos níveis séricos são afetados pelo efeito dos hormônios tireoideanos nas células tubulares renais, a cistatina C tem seus níveis influenciados pela ação dos hormônios na sua produção celular (124). Dessa forma, ao contrário do que acontece com a creatinina, os níveis de cistatina são mais baixos no hipotireoidismo e mais elevados no hipertireoidismo (123,124).

Outros fatores supostamente associados a níveis elevados de cistatina c, de forma independente da função renal, são a idade avançada, gênero masculino, obesidade, tabagismo (125), níveis elevados de proteína C reativa (120,125), níveis elevados de leucócitos, hipoalbuminemia, diabete (120) e etnia branca-não hispânica (126). Em relação à idade, a elevação da cistatina C reflete a redução da TFG associada com o avançar da idade e o marcador é considerado mais útil que a creatinina sérica para avaliar a função renal em idosos (127,128).

Em relação ao gênero, ao contrário da creatinina, não há diferença clinicamente significativa entre homens e mulheres (127,129). A cistatina C possui a vantagem de não sofrer interferência da massa muscular sobre seus níveis séricos como ocorre com a creatinina (130), não sendo necessária estratificação por gênero. Por outro lado, foi descrita uma maior magnitude de associação entre peso e índice de massa corporal e cistatina C do que com a creatinina (120), sugerindo que a obesidade poderia estar associada a níveis mais elevados de cistatina C. Nesse mesmo estudo, a associação entre níveis elevados de cistatina C e diabete poderia ser justificada, em parte, pela maior prevalência de obesidade nesse grupo (120), o que mantém a questão não completamente esclarecida.

Em relação aos marcadores inflamatórios, ao contrário dos relatos prévios (119,120,131), recentemente foi demonstrado que a cistatina C não se correlaciona com níveis elevados de proteína C reativa em diferentes populações (132,133). Por outro lado, embora tenha sido descrito a associação entre níveis elevados de cistatina C com tabagismo, níveis elevados de leucócitos (120) e etnia branca não-hispânica (126), estudos adicionais são

necessários para estabelecer essas associações. Recentemente foi demonstrado que, ao contrário da creatinina sérica, a redução do consumo de proteínas em pacientes com DRC moderada a severa não interfere com os níveis séricos de cistatina C (134).

### **CISTATINA C ISOLADA COMO MEDIDA DA TFG**

Em indivíduos com DM, a dosagem da cistatina C apresenta uma melhor correlação com a medida da TFG quando comparada com a dosagem da creatinina sérica (135,136). Harmoinen et al. (135) avaliaram 47 pacientes com DM tipo 2 quanto à dosagem da cistatina C, da creatinina sérica e à medida da TFG e concluíram que a dosagem da cistatina C apresenta uma melhor correlação com a medida da TFG quando comparada com a dosagem da creatinina sérica. Mussap e colaboradores (136) demonstraram uma maior correlação entre a dosagem da cistatina e a medida da TFG do que entre a dosagem da creatinina sérica e a TFG em 52 pacientes com DM tipo 2 normoalbuminúricos. Embora a correlação não seja a melhor forma de comparar dois métodos, nesses estudos houve um aumento progressivo da concentração sérica da cistatina C proporcionalmente à redução da TFG, sugerindo que este exame poderia ser uma alternativa mais precisa do que a medida da creatinina sérica. Posteriormente, foi demonstrado que a dosagem da cistatina C seria mais efetiva do que a creatinina sérica na detecção da nefropatia diabética (ND) incipiente (137).

A medida isolada da cistatina C também foi comparada com as equações baseadas na creatina recomendadas para avaliação da função renal (138,139). Wasén et al. (138) avaliaram a TFG de 1246 indivíduos idosos, dos quais 187 apresentavam DM, fazendo uma comparação entre equações MDRD e Cockcroft-Gault e a medida da cistatina C sérica. O desempenho da cistatina C, incluindo a variação através das diferentes faixas etárias, mostrou grande similaridade com a TFG estimada pelo MDRD e teve um desempenho melhor do que a creatinina sérica isolada ou a TFG estimada pela equação CG. Em indivíduos com DM, a acurácia da cistatina C foi maior que da creatinina e comparável a equação CG no rastreamento de pacientes com TFG <80 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> e níveis normais de creatinina sérica (139). A medida da

cistatina C também demonstrou uma maior sensibilidade do que as equações de CG e MDRD para detectar redução leve da função renal (TFG 75-90 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) em indivíduos com DM (140), o que a torna um marcador mais precoce de perda de função renal.

## **EQUAÇÕES BASEADAS NA CISTATINA C – DESEMPENHO E LIMITAÇÕES**

De forma análoga às equações de estimativa da TFG baseadas na creatinina sérica, nos últimos anos foram desenvolvidas várias equações incluindo a cistatina C e validadas em diferentes populações (141). Essas equações baseadas na cistatina C tem demonstrado um desempenho similar (142) ou melhor (143, 144) do que as equações MDRD e CG, incluindo aqueles indivíduos com função renal normal (144). Adicionalmente, a equação de Hoek et al. (143) apresentou uma melhor correlação com a medida da TFG do que CG em pacientes com DM 2 acompanhados por 2 anos. Em indivíduos com DM tipo 1, as equações de cistatina foram mais acuradas para detectar o declínio da TFG do que as equações CG (145,146) e MDRD (146). Em indivíduos hiperfiltrantes, a cistatina C encontra-se significativamente reduzida, sugerindo que seus níveis baixos poderiam ser um marcador de hiperfiltração (145).

Entretanto, as equações baseadas na cistatina não parecem ter um desempenho adequado em todas as populações. Em pacientes diabéticos chineses, a equação MDRD mostrou uma melhor acurácia quando comparada com diversas equações baseadas na cistatina, sugerindo que o desempenho das equações nos diferentes grupos étnicos ainda deve ser validado (147).

Para detecção precoce da ND, Chudleigh et al (148) comparou o desempenho da MDRD e diferentes equações baseadas na cistatina C em 106 DM 2 normoalbuminuricos com função renal normal. Como esperado, a equação MDRD subestimou a TFG, enquanto que as equações da cistatina estimaram a TFG com maior acurácia e menor viés, principalmente as equações validadas exclusivamente em populações de pacientes com DM (142,145).

O desempenho das equações CG, MDRD e QCM e de diferentes equações baseadas na cistatina C foi avaliado em indivíduos com DM e DRC (87). As equações testadas tiveram um desempenho similar ao MDRD, superestimando as TFG mais baixas, não demonstrando vantagens para o seu uso. Nos 20 indivíduos reavaliados após 2 anos, apenas a equação QCM e as equações da cistatina tiveram uma correlação significativa com as mudanças das TFG medidas (87). Em outro estudo feito para detectar o declínio precoce da TFG em indivíduos com DM e com função renal normal ou hiperfiltrantes, a recíproca da cistatina C (100/cistatina C) mostrou correlação estatisticamente significativa com a depuração de iotalamato em 4 anos de acompanhamento, o que não foi verificado com a recíproca da creatinina (100/ creatinina) ou com a equação CG (149). Esses achados sugerem que a cistatina inserida em equações ou a sua recíproca podem ser mais úteis para avaliar o declínio da TFG em indivíduos com DM do que as equações baseadas na creatinina.

Ao contrário das equações baseadas na creatinina recomendadas, o uso das diferentes equações publicadas com a cistatina C ainda é restrito às populações onde foram desenvolvidas e não há um consenso sobre qual é a equação com melhor desempenho para avaliar a TFG de uma forma comparável ao MDRD ou CKD-EPI. O emprego de diferentes calibradores e métodos de medida da cistatina C, em diferentes estágios de função renal e populações étnicas diversas e o emprego de diferentes modelos matemáticos explicam o desempenho não uniforme e com baixa reprodutibilidade das diversas equações (150). O racional ao se escolher uma equação é que essa tenha sido desenvolvida com o mesmo método de medida da cistatina C que está sendo utilizado. Como forma de reduzir os erros sistemáticos na medida da cistatina C com os diferentes métodos disponíveis, recentemente foi desenvolvido um calibrador padronizado internacionalmente (151).

Em resumo, as equações baseadas na cistatina C são uma opção às equações MDRD e CKD-EPI para estimar a TFG, principalmente em situações em que a medida da creatinina sérica possa sofrer algum tipo de influência (Tabela 5). O seu uso, entretanto, ainda é restrito às populações onde as equações foram desenvolvidas e poucos estudos foram feitos em indivíduos com DM.

Tabela 5 – Estudos com as equações baseadas na cistatina C em indivíduos com diabetes melito (DM) e equações combinadas de cistatina C e creatinina séricas.

Autor e ano de publicação	N	População	Método-padrão; TFG medida (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	Ensaio	Equação
<b>Equações em DM</b>					
Chudleigh et al. (2009)	106	DM tipo 2, normoalbuminúricos	<sup>51</sup> Cr-EDTA; 104,5±20,1	Ensaio colorimétrico.	138,7 – 39,8(CisC)
Pucci et al. (2007)	288	125 DM tipo 1, 163 DM tipo 2 com diferentes estágios de função renal	loexol; 4-222	PENIA	1/CisC
Maclsaac et al. (2006)	251	82% DM tipo 2	<sup>99m</sup> Tc-DTPA; 88±2	PENIA	(84,6/CysC) – 3,2
Perkins et al. (2005)	30	DM tipo 2 Índios Pima	lotalamato;153±27	PENIA	100/CisC
Hoek et al. (2003)	123	93 pacientes com DRC estabelecida ou suspeita and 30 DM (11- 77 anos)	lotalamato; 81 (12 – 157)	PENIA	-4,32 + 80,35/CisC
Tan et al. (2002)	40	DM tipo 1 e saudáveis	loexol; 35-132	PETIA	(87,1/CisC) – 6,87
<b>Equações combinadas</b>					
Tidman et al. (2008)	644	Pacientes referidos para medida da TFG	loexol; 51,7±30,2 (12-150)	PETIA	Média do MDRD e Orebro (Gentian): 100/CisC - 14 ou Orebro (Dako): 119/CistC - 33
Stevens et al. (2008)	3418	DRC	lotalamato e <sup>51</sup> Cr-EDTA; 48±25	PENIA	177,6 x Cr <sup>-0,65</sup> X CisC <sup>-0,7</sup> x idade <sup>-0,20</sup> x 0,82 (se mulher) x 1,11 (se negro)
Ma et al. (2007)	567	Chineses com DRC	<sup>99m</sup> Tc-DTPA; 57,9±36,4 (4,7-167,4)	PENIA	169 x Cr <sup>-0,608</sup> x CisC <sup>-0,63</sup> x idade <sup>-0,157</sup> x (0,83 se mulher)
Rule et al, 2006	460	DRC	lotalamato;57±29	PENIA	$\sqrt{[66,8 \times (\text{CisC})^{-1,30}] \times [273 \times (\text{Cr})^{-1,22} \times \text{idade}^{-0,299} \times 0,798 \text{ (se mulher)}]}$

DM: diabetes melito; CisC: cistatina C sérica; Cr: creatinina sérica; DRC: doença renal crônica; TFG: taxa de filtração glomerular; PENIA: particle-enhanced nephelometric immunoassay (nefelometria); PETIA: particle-enhanced turbidimetric immunoassay (imunoturbidimetria)

## **EQUAÇÕES COMBINADAS DE CREATININA E CISTATINA C**

Tanto a creatinina como a cistatina C apresentam limitações para a estimativa da TFG, mas as fontes de erro são distintas. Portanto, para alguns autores, a combinação de ambos analitos poderia fornecer uma estimativa mais acurada da TFG (Tabela 5). Tem-se demonstrado que equações que combinam cistatina c e creatinina séricas têm uma maior percentagem de valores estimados entre  $\pm 30\%$  da TFG medida (141). A combinação dos marcadores em uma mesma equação resultou em uma acurácia significativamente maior do que quando os marcadores foram avaliados em equações separadamente. Além de apresentar um melhor desempenho para classificar corretamente em DRC (152), as equações combinadas têm uma melhor acurácia e menor viés nos indivíduos com TFG normal ou elevada. (153).

Entretanto, as equações combinadas não são a melhor opção em todas as situações clínicas. Uma proposta de Grubb et al. (154) é que a escolha entre equações baseadas na creatinina ou cistatina C leve em consideração o contexto clínico. Se o emprego das duas equações resulta em valores concordantes, a média aritmética dos dois resultados é considerada a TFG estimada. Se os resultados das 2 equações não são concordantes, deve-se levar em consideração os dados clínicos, uma vez que situações como massa muscular anormal (que influencia a creatinina sérica) ou uso de corticóides (que influencia a cistatina C) podem invalidar os resultados. Nesse caso, escolhe-se a melhor equação para a situação clínica. Quando não há razão aparente para resultados discrepantes obtidos com as equações da cistatina c e da creatinina, a TFG deve ser medida por um método padronizado.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Embora laboriosos, os métodos de medida com substâncias exógenas são considerados o padrão-ouro para mensurar a filtração glomerular e têm indicação formal em situações específicas. O desempenho de cada diferente marcador exógeno utilizado na medida da TFG deve ser considerado na interpretação dos resultados, assim como as variáveis fisiológicas que



influenciam a TFG e podem ocasionar erros sistemáticos no momento da sua avaliação. O declínio da TFG com a idade deve ser considerado, assim como a influência do horário do exame, com valores mais elevados durante o dia. A alimentação pode elevar a TFG, de forma mais intensa quanto maior o conteúdo protéico e de sal da dieta. A hiperglicemia pode causar alterações hemodinâmicas agudas e causar superestimativa da TFG medida. Em indivíduos obesos, no caso com DM 2, são necessários mais estudos para avaliar a real necessidade de fazer o ajuste da TFG para a superfície corporal.

Na prática clínica, é recomendado que se estime a TFG com equações baseadas na creatinina sérica. No entanto, recentemente tem sido demonstrado que essas equações têm um desempenho insatisfatório em indivíduos com DM, com acentuada subestimativa da TFG nas faixas normais ou elevadas de filtração glomerular. Esse desempenho limitado parece estar relacionado à peculiaridades do paciente com DM, mas também à limitações da própria creatinina sérica como marcador pouco sensível e pouco específico da TFG. A cistatina C tem sido avaliada como um novo marcador sensível da função renal, embora sua acurácia para estimar a TFG ainda não foi completamente definida. O papel das equações baseadas na cistatina C sérica, ou na combinação da cistatina e creatinina séricas, ainda não foi definido, bem como a sua real vantagem em relação às equações baseadas na creatinina atualmente disponíveis, principalmente em indivíduos com DM.

## Referências:

1. Atkins RC, Zimmet P. World Kidney Day 2010: diabetic kidney disease--act now or pay later. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55: 205-8.
2. Zhang QL, Rothenbacher D. Prevalence of chronic kidney disease in population-based studies: systematic review. *BMC Public Health.* 2008; 8:117.
3. Murussi M, Campagnolo N, Beck MO, Gross JL, Silveiro SP. High-normal levels of albuminuria predict the development of micro- and macroalbuminuria and increased mortality in Brazilian Type 2 diabetic patients: an 8-year follow-up study. *Diabet Med.* 2007; 24: 1136-42.
4. U S Renal Data System, USRDS 2010 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2010.
5. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006; 354:2473-83.
6. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010; 375: 2073-2081.
7. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Nahas ME, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt KU. The definition, classification and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int.* 2010; [Epub ahead of print].
8. Standards of Medical Care in Diabetes—2010. American Diabetes Association. *Diabetes Care* January. 2011; 34:S11-S61.
9. Valmadrid CT, Klein R, Moss SE, Klein BE. The risk of cardiovascular disease mortality associated with microalbuminuria and gross proteinuria in persons with older-onset diabetes mellitus. *Arch Intern Med.* 2000; 160:1093-100.

10. Maclsaac RJ, Tsalamandris C, Panagiotopoulos S, Smith TJ, McNeil KJ, Jerums G. Nonalbuminuric renal insufficiency in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 195-200.
11. Kramer CK, Leitão CB, Pinto LC, Silveiro SP, Gross JL, Canani LH. Clinical and laboratory profile of patients with type 2 diabetes with low glomerular filtration rate and normoalbuminuria. *Diabetes Care*. 2007; 30:1998-2000.
12. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med*. 2003; 139:137-147.
13. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG et al. Evaluation of the Modification of Diet in Renal Disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18:2749-2757.
14. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3<sup>rd</sup>, Feldman HI et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009; 150:604-612.
15. Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Coresh J, Manzi J, Landis R et al. Development and validation of GFR-estimating equations using diabetes, transplant and weight. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25:449-457.
16. Camargo EG, Soares AA, Detanico AB, Weinert LS, Veronese FV, Gomes EC, Silveiro SP. The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation is less accurate in patients with Type 2 diabetes when compared with healthy individuals. *Diabet Med*. 2011; 28:90-5.
17. Rosner MH, Bolton WK. Renal function testing. *Am J Kidney Dis*. 2006; 1: 174-183.
18. Christensson A, Elmståhl S. Estimation of the Age-Dependent Decline of Glomerular Filtration Rate from Formulas Based on Creatinine and Cystatin C in the General Elderly Population. *Nephron Clin Pract*. 2010; 117(1):c40-c50.
19. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L. Serum cystatin C-based formulas for prediction of glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract*. 2010; 114:c118-26.

20. Brochner-Mortensen J. Routine methods and their reliability for assessment of glomerular filtration rate in adults. *Dan Med Bull* 25: 1978; 181-201.
21. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol*. 2009; 20: 2305-2313.
22. Notghi A, Merrick MV, Ferrington C, Anderton JL A comparison of simplified and standard methods for the measurement of glomerular filtration rate and renal tubular function. *Br J Radiol*. 1986; 59:35-9.
23. Lewis R, Kerr N, Van Buren C, Lowry P, Sandler C, et al. Comparative evaluation of urographic contrast media, inulin, and <sup>99m</sup>Tc-DTPA clearance methods for determination of glomerular filtration rate in clinical transplantation. *Transplantation*. 1989; 48:790-6.
24. Gaspari F, Perico N, Matalone M, Signorini O, Azzollini N, Mister M, Remuzzi G. Precision of plasma clearance of iohexol for estimation of GFR in patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 1998; 9:310-3.
25. Mortensen JB, Rödbro P. Comparison between total and renal plasma clearance of [<sup>51</sup>Cr] EDTA. *Scand J Clin Lab Invest*. 1976; 36:247-9.
26. Shock NW. Age changes in renal function. *Rev Med Liege*. 1950; 15:5:649-51.
27. Davies DF, Shock NW. Age changes in glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, and tubular excretory capacity in adult males. *J Clin Invest*. 1950; 29:496-507.
28. Murussi M, Gross JL, Silveiro SP. Glomerular filtration rate changes in normoalbuminuric and microalbuminuric Type 2 diabetic patients and normal individuals A 10-year follow-up. *J Diabetes Complications*. 2006; 20:210-5.
29. Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by <sup>51</sup>Cr-EDTA. Gross JL, Friedman R, Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(2):129-34.
30. Granerus G, Aurell M. Reference values for <sup>51</sup>Cr-EDTA clearance as a measure of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest*. 1981; 41(6):611-6.
31. Murussi M, Gross JL, Silveiro SP. Glomerular filtration rate changes in normoalbuminuric and microalbuminuric Type 2 diabetic patients and

- normal individuals A 10-year follow-up. *J Diabetes Complications*. 2006; 20:210-5.
32. Soares AA, Weinert LS, Siebeneichler AS; Prates AB, Gomes EC, Veronese FJV, Silveiro SP. Valores de referência da taxa de filtração glomerular estratificados por faixa etária. Trabalho apresentado na 30ª Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. *Rev HCPA* 2010; 30 (Supl 1): 77.
33. Silveiro SP, Friedman R, Gross JL. Glomerular hyperfiltration in NIDDM patients without overt proteinuria. *Diabetes Care*. 1993; 16:115-9.
34. Premaratne E, Macisaac RJ, Tsalamandris C, Panagiotopoulos S, Smith T, Jerums G. Renal hyperfiltration in type 2 diabetes: effect of age-related decline in glomerular filtration rate. *Diabetologia*. 2005; 48(12):2486-93.
35. Jerums G, Premaratne E, Panagiotopoulos S, Macisaac RJ. The clinical significance of hyperfiltration in diabetes. *Diabetologia*. 2010; 53: 2093-2104.
36. Nelson RG, Bennett PH, Beck GJ, Tan M, Knowler WC, Mitch WE, Hirschman GH, Myers BD. Development and progression of renal disease in Pima Indians with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetic Renal Disease Study Group. *N Engl J Med*. 1996; 335(22):1636-42.
37. Silveiro SP, da Costa LA, Beck MO, Gross JL. Urinary albumin excretion rate and glomerular filtration rate in single-kidney type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 1998; 21:1521-4.
38. Koopman MG, Koomen GCM, Krediet RT, et al: Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci* 77:105–11, 1987.
39. Hansen HP, Hovind P, Jensen BR, Parving HH. Diurnal variations of glomerular filtration rate and albuminuria in diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2002; 61(1):163-8.
40. Bird NJ, Peters C, Michell AR, Peters AM. Reproducibilities and responses to food intake of GFR measured with chromium-51-EDTA and iohexol simultaneously and independently in normal subjects. *Nephrol Dial Transplant*. (2008) 23: 1902–1909.

41. De Santo NG, Anastasio P, Cirillo M et al. Sequential analysis of variation of glomerular filtration rate to calculate the haemodynamic response to a meat meal. *Nephrol Dial Transplant*. 2002; 10: 1629–1637.
42. Wiseman NJ, Hunt R, Goodwin A, Gross JL, Keen H, Viberti G. Dietary composition and renal function in healthy subjects. *Nephron*. 1987; 46:37-42.
43. de Mello VDF, Azevedo MJ, Zelmanovitz T, Gross JL. Papel da dieta como fator de risco e progressão da nefropatia diabética. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2005; 49: 485-494.
44. Viberti G, Boggetti E, Wiseman MJ, Dodds R, Gross JL, Keen H. Effect of protein-restricted diet on renal response to a meat meal in humans. *Am J Physiol*. 1987; 253: F388-93.
45. Azevedo MJ, Padilha LM, Gross JL. A short-term low-protein diet reduces glomerular filtration rate in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Braz J Med Biol Res*. 1990; 23(8):647-54.
46. Pecis M, de Azevedo MJ, Gross JL. Chicken and fish diet reduces glomerular hyperfiltration in IDDM patients. *Diabetes Care*. 1994; 17:665-72.
47. Mogensen CE: Early glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetics and late nephropathy. *Scand J Clin Lab Invest* 46:201–206. 1986.
48. Silveiro SP, Friedman R, de Azevedo MJ, Canani LH, Gross JL: Five-year prospective study of glomerular filtration rate and albumin excretion rate in normofiltering and hyperfiltering normoalbuminuric NIDDM patients. *Diabetes Care* 19:171–174, 1996.
49. Parving HH, Rutili F, Granath K, Noer I, Deckert T, Lyngsøe J, Lassen NA. Effect of metabolic regulation on renal leakiness to dextran molecules in short-term insulin-dependent diabetics. *Diabetologia*. 1979; 17:157-60.
50. Rigalleau V, Lasseur C, Raffaitin C, Perlemoine C, Barthe N, Chauveau P, Combe C, Gin H. Glucose control influences glomerular filtration rate and its prediction in diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2006; 29:1491-5.
51. Wiseman MJ, Viberti GC, Keen H. Threshold effect of plasma glucose in the glomerular hyperfiltration of diabetes. *Nephron*. 1984; 38(4):257-60.

52. Wang Y, Chen X, Song Y, Caballero B, Cheskin LJ.: Association between obesity and kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Kidney Int* 73: 19–33. 2008.
53. Noori N, Hosseinpanah F, Nasiri AA, Azizi F. Comparison of overall obesity and abdominal adiposity in predicting chronic kidney disease incidence among adults. *J Ren Nutr.* 2009; 19:228-37.
54. Wuerzner G, Pruijm M, Maillard M, Bovet P, Renaud C, Burnier M, Bochud M. Marked association between obesity and glomerular hyperfiltration: a cross-sectional study in an African population. *Am J Kidney Dis.* 2010; 56(2):303-12. Epub. 2010.
55. Delanaye P, Radermecker RP, Rorive M, Depas G, Krzesinski JM. Indexing glomerular filtration rate for body surface area in obese patients is misleading: concept and example. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20:2024-8.
56. Rigalleau V, Chauveau P, Lasseur C, Perlemoine C, Barthe N, Raffaitin C, Combe C, Gin H. Indexing glomerular filtration rate for body surface area is useful in obese subjects. *Nephrol Dial Transplant.* 2006; 21:821.
57. Myers BD, Nelson RG, Williams GW, Bennett PH, Hardy SA, Berg RL, Loon N, Knowler WC, Mitch WE. Glomerular function in Pima Indians with noninsulin-dependent diabetes mellitus of recent onset. *J Clin Invest.* 1991; 88 (2):524-30.
58. Boero R, Pignataro A, Quarello F. Salt intake and kidney disease. *J Nephrol.* 2002; 15:225-9.
59. Suckling RJ, He FJ, Macgregor GA. Altered dietary salt intake for preventing and treating diabetic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 12:CD006763.
60. Miller JA. Renal responses to sodium restriction in patients with early diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol.* 1997; 8(5):749-55.
61. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol;* 2009; 20: 2305-2313.
62. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.* 1992; 38(10):1933-53.

63. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med.* 2003; 139:137-47.
64. Husdan H, Rapaport A. Estimation of creatinine by Jaffe reaction: a comparison of three methods. *Clin Chem.* 1967; 14: 222-238.
65. Silveiro SP, Soares AA, Zelmanovitz T, Azevedo MJ. Recomendações atuais para detecção da nefropatia diabética. *Rev HCPA* 2010; 30 (4): 419-425.
66. Hsu J, Johansen KL, Hsu C, Kaysen GA, Chertow GM. Higher serum creatinine concentrations in black patients with chronic kidney disease: beyond nutritional status and body composition. *Clin J Soc Nephrol.* 2008; 3(4):992-7.
67. Ward MM. Laboratory abnormalities at the onset of treatment of end-stage renal disease: are there racial or socioeconomic disparities in care?. *Arch Intern Med.* 2007; 167(10):1083-91.
68. Andreev E, Koopman M, Arisz L. A rise in plasma creatinine that is not a sign of renal failure: which drugs can be responsible? *J Intern Med.* 1999; 246:247-252.
69. Forsblom C, Hiukka A, Leinonen ES, Sundvall J, Groop PH, Taskinen MR. Effects of long-term fenofibrate treatment on markers of renal function in type 2 diabetes: the FIELD Helsinki substudy. *Diabetes Care.* 2010; 33:215-220.
70. Camargo EG, Weinert LS, Lavinsky J, Gross JL, Silveiro SP. The effect of aspirin on the antiproteinuric properties of enalapril in microalbuminuric type 2 diabetic patients: a randomized, doubleblind, placebo-controlled study. *Diabetes Care.* 2007; 30: e66.
71. Bakris GL, Weir MR. Angiotensin-converting enzyme inhibitor associated elevations in serum creatinine. Is this a cause for concern? *Arch Intern Med.* 2000; 160: 685–693.
72. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, Hostetter T, Levey AS, Panteghini M, Welch M, Eckfeldt JH; 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. *Clin Chem*. 2006; 52(1):5-18.
73. Cockcroft DW, Gault HM: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16:31– 41.
74. Gault MH, Longerich LL, Harnett JD, Wesolowski C. Predicting glomerular function from adjusted serum creatinine. *Nephron*. 1992; 62(3):249-56.
75. 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(6):461-70.
76. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16:763-73.
77. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5(6):1003-9.
78. Rigalleau V, Chauveau P, Lasseur C, Perlemoine C, Barthe N, Raffaitin C, Combe C, Gin H. Indexing glomerular filtration rate for body surface area is useful in obese subjects. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21(3):821.
79. Rigalleau V, Lasseur C, Perlemoine C, Barthe N, Raffaitin C, Liu C, Chauveau P, Baillet-Blanco L, Beauvieux MC, Combe C, Gin H. Estimation of glomerular filtration rate in diabetic subjects: Cockcroft formula or modification of Diet in Renal Disease study equation? *Diabetes Care*. 2005; 28(4):838-43.
80. Hsu CY, Chertow GM, Curhan GC. Methodological issues in studying the epidemiology of mild to moderate chronic renal insufficiency. *Kidney Int* 61: 1567-1576, 2002.
81. Vervoort G, Willems HL, Wetzels JF. Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity

- of a new (MDRD) prediction equation. *Nephrol Dial Transplant*. 2002; 17(11):1909-13.
82. Ibrahim H, Mondress M, Tello A, Fan Y, Koopmeiners J, Thomas W. An alternative formula to the Cockcroft-Gault and the modification of diet in renal diseases formulas in predicting GFR in individuals with type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16(4):1051-60.
83. Chudleigh RA, Dunseath G, Evans W, Harvey JN, Evans P, Ollerton R, Owens DR. Monitoring kidney function in type 2 diabetic patients with incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2007; 30(2):300-5.
84. Rossing P, Rossing K, Gaede P, Pedersen O, Parving HH. Monitoring kidney function in type 2 diabetic patients with incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2006; 29(5):1024-30.
85. Fontseré N, Salinas I, Bonal J, Bayés B, Riba J, Torres F, Rios J, Sanmartí A, Romero R. Are prediction equations for glomerular filtration rate useful for the long-term monitoring of type 2 diabetic patients? *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21(8):2152-8.
86. Chudleigh RA, Dunseath G, Evans W, Harvey JN, Evans P, Ollerton R, Owens DR. How reliable is estimation of glomerular filtration rate at diagnosis of type 2 diabetes? *Diabetes Care*. 2007; 30(2):300-5.
87. Beauvieux MC, Le Moigne F, Lasseur C, Raffaitin C, Perlemoine C, Barthe N, Chauveau P, Combe C, Gin H, Rigalleau V. New predictive equations improve monitoring of kidney function in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30(8):1988-94.
88. Camargo EG, Araújo GN, Ferreira MN, Souza FDS, Yamaguchi HM, Silveiro SP. Estimated glomerular filtration rate using creatinine-based equations in type 2 diabetes. Artigo enviado para publicação em 28/04/2011.
89. Stevens LA, Nolin TD, Richardson MM, Feldman HI, Lewis JB, Rodby R, Townsend R, Okparavero A, Zhang YL, Schmid CH, Levey AS; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Comparison of drug dosing recommendations based on measured GFR and kidney function estimating equations. *Am J Kidney Dis*. 2009; 54(1):33-42.

90. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck G. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine. *J Am Soc Nephrol* 11: 155A, 2000.
91. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006; 145(4):247-54.
92. Poggio ED, Wang X, Greene T, Van Lente F, Hall PM: Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 16:459–466, 2005.
93. Rigalleau V, Lasseur C, Raffaitin C, Perlemoine C, Barthe N, Chauveau P, Combe C, Gin H. Glucose control influences glomerular filtration rate and its prediction in diabetic subjects. *Diabetes Care.* 2006; 29(7):1491-5.
94. Botev R, Mallié JP, Couchoud C, Schück O, Fauvel JP, Wetzels JF, Lee N, De Santo NG, Cirillo M. Estimating glomerular filtration rate: Cockcroft-Gault and Modification of Diet in Renal Disease formulas compared to renal inulin clearance. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009; 4(5):899-906.
95. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, 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.* 2009; 150(9):604-12.
96. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang YL, Beck GJ, Froissart M, Hamm LL, Lewis JB, Mauer M, Navis GJ, Steffes MW, Eggers PW, Coresh J, Levey AS. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. *Am J Kidney Dis.* 2010; 56(3):486-95.
97. Matsushita K, Selvin E, Bash LD, Astor BC, Coresh J. Risk implications of the new CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation compared with the MDRD Study equation for estimated GFR: the

- Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55(4):648-59.
98. White SL, Polkinghorne KR, Atkins RC, Chadban SJ. Comparison of the prevalence and mortality risk of CKD in Australia using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study GFR estimating equations: the AusDiab (Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle) Study. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55(4):660-70.
99. Sabanayagam C, Wong TY, Tai ES. The CKD-EPI equation and MDRD study equation find similar prevalence of chronic kidney disease in Asian populations. *Ann Intern Med.* 2009; 151(12):892-3.
100. Montañés Bermúdez R, Bover Sanjuán J, Oliver Samper A, Ballarín Castán JA, Gràcia García S. Assessment of the new CKD-EPI equation to estimate the glomerular filtration rate. *Nefrologia.* 2010; 30(2):185-94.
101. Giavarina D, Cruz DN, Soffiati G, Ronco C. Comparison of estimated glomerular filtration rate (eGFR) using the MDRD and CKD-EPI equations for CKD screening in a large population. *Clin Nephrol.* 2010; 74(5):358-63.
102. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, Silveiro SP. Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations in healthy South Brazilians. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55(6):1162-3.
103. Horio M, Imai E, Yasuda Y, Watanabe T, Matsuo S. Modification of the CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation for Japanese: accuracy and use for population estimates. *Am J Kidney Dis.* 2010; 56(1):32-8.
104. Peralta CA, Lin F, Shlipak MG, Siscovick D, Lewis C, Jacobs DR Jr, Bibbins-Domingo K. Race differences in prevalence of chronic kidney disease among young adults using creatinine-based glomerular filtration rate-estimating equations. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25(12):3934-9.

105. Nyman U, Grubb A, Sterner G, Björk J. The CKD-EPI and MDRD equations to estimate GFR. Validation in the Swedish Lund-Malmö Study cohort. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011; 71(2):129-38.
106. Stevens LA, Claybon MA, Schmid CH, Chen J, Horio M, Imai E, Nelson RG, Van Deventer M, Wang HY, Zuo L, Zhang YL, Levey AS. Evaluation of the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation for estimating the glomerular filtration rate in multiple ethnicities. *Kidney Int.* 2011; 79 (5):555-62.
107. Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Coresh J, Manzi J, Landis R, Bakoush O, Contreras G, Genuth S, Klintmalm GB, Poggio E, Rossing P, Rule AD, Weir MR, Kusek J, Greene T, Levey AS. Development and validation of GFR-estimating equations using diabetes, transplant and weight. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25 (2):449-57.
108. Rule AD, Rodeheffer RJ, Larson TS, Burnett JC Jr, Cosio FG, Turner ST, Jacobsen SJ. Limitations of estimating glomerular filtration rate from serum creatinine in the general population. *Mayo Clin Proc.* 2006; 81(11):1427-34.
109. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med.* 2004; 141(12):929-37.
110. Rigalleau V, Lasseur C, Raffaitin C, Perlemoine C, Barthe N, Chauveau P, Combe C, Gin H. The Mayo Clinic quadratic equation improves the prediction of glomerular filtration rate in diabetic subjects. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22(3):813-8.
111. Fontseré N, Bonal J, Salinas I, de Arellano MR, Rios J, Torres F, Sanmartí A, Romero R. Is the new Mayo Clinic Quadratic equation useful for the estimation of glomerular filtration rate in type 2 diabetic patients? *Diabetes Care.* 2008; 31(12):2265-7.
112. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest.* 1985; 45(2):97-101.

113. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martinez-Brú C, Grubb A: Cystatin C as a marker of GFR – history, indications, and future research. *Clin Biochem.* 38: 1-8, 2005.
114. Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem.* 39: 89-104, 2002.
115. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40(2):221-6.
116. Roos JF, Doust J, Tett SE, Kirkpatrick CM. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children--a meta-analysis. *Clin Biochem.* 2007; 40(5-6):383-91.
117. Bjarnadóttir M, Grubb A, Olafsson I. Promoter-mediated, dexamethasone-induced increase in cystatin C production by HeLa cells. *Scand J Clin Lab Invest.* 1995; 55(7):617-23.
118. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int.* 2003; 63(5):1944-7.
119. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int.* 2004; 65(4):1416-21.
120. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, Froissart M, Kusek JW, Zhang YL, Coresh J, Levey AS. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int.* 2009; 75(6):652-60.
121. Bökenkamp A, Laarman CA, Braam KI, van Wijk JA, Kors WA, Kool M, de Valk J, Bouman AA, Spreeuwenberg MD, Stoffel-Wagner B. Effect of corticosteroid therapy on low-molecular weight protein markers of kidney function. *Clin Chem.* 2007; 53(12):2219-21.
122. Wiesli P, Schwegler B, Spinass GA, Schmid C. Serum cystatin C is sensitive to small changes in thyroid function. *Clin Chim Acta.* 2003; 338(1-2):87-90.
123. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int.* 2003; 63(5):1944-7.

124. den Hollander JG, Wulkan RW, Mantel MJ, Berghout A. Is cystatin C a marker of glomerular filtration rate in thyroid dysfunction? *Clin Chem*. 2003; 49(9):1558-9.
125. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int*. 2004; 65(4):1416-21.
126. Groesbeck D, Köttgen A, Parekh R, Selvin E, Schwartz GJ, Coresh J, Furth S. Age, gender, and race effects on cystatin C levels in US adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3(6):1777-85.
127. Finney H, Bates CJ, Price CP. Plasma cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr*. 1999; 29(1):75-94.
128. O'Riordan SE, Webb MC, Stowe HJ, Simpson DE, Kandarpa M, Coakley AJ, Newman DJ, Saunders JA, Lamb EJ. Cystatin C improves the detection of mild renal dysfunction in older patients. *Ann Clin Biochem*. 2003; 40(Pt 6):648-55.
129. Weinert LS, Prates AB, do Amaral FB, Vaccaro MZ, Camargo JL, Silveiro SP. Gender does not influence cystatin C concentrations in healthy volunteers. *Clin Chem Lab Med*. 2010; 48(3):405-8.
130. Vinge E, Lindergård B, Nilsson-Ehle P, Grubb A. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999; 59(8):587-92.
131. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Plasma concentrations of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events: more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem*. 2005; 51(2):321-7.
132. Okura T, Jotoku M, Irita J, Enomoto D, Nagao T, Desilva VR, Yamane S, Pei Z, Kojima S, Hamano Y, Mashiba S, Kurata M, Miyoshi K, Higaki J. Association between cystatin C and inflammation in patients with essential hypertension. *Clin Exp Nephrol*. 2010; 14(6):584-8.
133. Grubb A, Björk J, Nyman U, Pollak J, Bengzon J, Ostner G, Lindström V. Cystatin C, a marker for successful aging and glomerular

- filtration rate, is not influenced by inflammation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011; 71(2):145-9.
134. Tangri N, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Beck GJ, Greene T, Coresh J, Levey AS. Changes in dietary protein intake has no effect on serum cystatin C levels independent of the glomerular filtration rate. *Kidney Int.* 2011; 79(4):471-7.
135. Harmoinen APT, Kouri TT, Wirta OR, Lehtimäki TJ, Rantalaiho V, Turjanmaa VMH, Pasternack AI: Evaluation of plasma cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. *Clin Nephrol* 1999; 52: 363-370.
136. Mussap M, Vestra DV, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R, Plebani M: Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2002; 61: 1453-1461.
137. Christensson AG, Grubb AO, Nilsson JA, Norrgren K, Sterner G, Sundkvist G: Serum cystatin C advantageous compares with serum creatinine in the detection of mild but not severe diabetic nephropathy. *J Intern Med* 2004; 256: 510-518.
138. Wasén E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivelä SL, Irjala K. Estimation of glomerular filtration rate in the elderly: a comparison of creatinine-based formulae with serum cystatin C. *J Intern Med.* 2004; 256(1):70-8.
139. Perlemoine C, Beauvieux MC, Rigalleau V, Baillet L, Barthes N, Derache P, Gin H. Interest of cystatin C in screening diabetic patients for early impairment of renal function. *Metabolism.* 2003; 52(10):1258-64.
140. Pucci L, Triscornia S, Lucchesi D, Fotino C, Pellegrini G, Pardini E, Miccoli R, Del Prato S, Penno G. Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. *Clin Chem.* 2007; 53(3):480-8.
141. Weinert LS, Camargo EG, Soares AA, Siveiro SP. Glomerular filtration rate estimation: review of cystatin C-based prediction equations. Artigo enviado para publicação em 20/04/2011.
142. Maclsaac RJ, Tsalamandris C, Thomas MC, Premaratne E, Panagiotopoulos S, Smith TJ, et al: Estimating glomerular filtration rate in



- diabetes: a comparison of cystatin C- and creatinine-based methods. *Diabetologia*. 2006; 1686-1689.
143. Hoek FJ, Kemperman FAW and Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18:2024-2031.
144. Pucci L, Triscornia S, Lucchesi D, Fotino C, Pellegrini G, Pardini E, et al. Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure of kidney function in diabetics patients. *Clin Chem*. 2007; 53(3):480-488.
145. Tan GD, Lewis AV, James TJ, Altmann P, Taylor RP, Levy JC: Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in type 1 diabetes: reproducibility and accuracy compared with standard measures and iohexol clearance. *Diabetes Care* 2002; 25:2004-2009.
146. Premaratne E, Maclsaac RJ, Finch S, Panagiotopoulos S, Ekinci E, Jerums G. Serial measurements of cystatin C are more accurate than creatinine-based methods in detecting declining renal function in type 1 diabetes. *Diab Care*. 2008; 31(5):971-3.
147. Li HX, Xu GB, Wang XJ, Zhang XC, Yang JM. Diagnostic accuracy of various glomerular filtration rates estimating equations in patients with chronic kidney disease and diabetes. *Chin Med J (Engl)*. 2010; 123(6):745-51.
148. Chudleigh RA, Ollerton RL, Dunseath G, Peter R, Harvey JN, Luzio S and Owens DR. Use of cystatin C-based estimations of glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009; 52:1274-1278.
149. Perkins BA, Nelson RG, Ostrander BEP, Blouch KL, Krolewski S, Myers BD and Warram JH. Detection of renal function decline in patients with diabetes and normal or elevated GFR by serial measurements of serum cystatin C concentration: results of a 4-year follow-up study. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16(5):1404-1412.
150. Grubb A. Non-invasive estimation of glomerular filtration rate (GFR). The Lund model: Simultaneous use of cystatin C- and creatinine-

- based GFR-prediction equations, clinical data and an internal quality check. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010; 70(2):65-70.
151. Grubb A, Blirup-Jensen S, Lindström V, Schmidt C, Althaus H, Zegers I; IFCC Working Group on Standardisation of Cystatin C (WG-SCC). First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48(11):1619-21.
  152. Tidman M, Sjöström P and Jones I. A comparison of GFR estimating formulae based upon s-cystatin C and s-creatinine and a combination of the two. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23:154-160.
  153. Ma YC, Zuo L, Chen JH, Luo Q, Yu XQ, Li Y, et al. Improved GFR estimation by combined creatinine and cystatin C measurements. *Kidney Int.* 2007; 72:1535-42.
  154. Grubb A. Non-invasive estimation of glomerular filtration rate(GFR). The Lund-model: Simultaneous use of cystatin C- and creatinine-based GFR-prediction equations, clinical data and internal quality check. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010; 70(2):65-70.

**THE CKD-EPI EQUATION IS LESS ACCURATE IN TYPE 2  
DIABETES PATIENTS WHEN COMPARED TO HEALTHY INDIVIDUALS**

**Running title: CKD-EPI Equation in Diabetes**

Eduardo Guimarães Camargo<sup>1</sup>

Ariana Aguiar Soares<sup>1</sup>

Ana Bittencourt Detanico<sup>1</sup>

Letícia Schwertz Weinert<sup>1</sup>

Francisco Veríssimo Veronese<sup>2</sup>

Eduardo Costa Gomes<sup>2</sup>

Sandra Pinho Silveiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Endocrine Division, <sup>2</sup>Nephrology Division - Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Corresponding author:

Sandra Pinho Silveiro

Endocrine Division, HCPA

Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Prédio 12, 4º andar

CEP: 90035-903

Porto Alegre, RS - Brazil

[sandrasilveiro@terra.com.br](mailto:sandrasilveiro@terra.com.br)

**Artigo publicado no periódico Diabetic Medicine em janeiro de 2011.**

## Abstract

**Aim:** To analyze the performances of Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and of Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equations to estimate glomerular filtration rate (GFR) in patients with type 2 diabetes mellitus with GFRs >60 ml/min and in healthy volunteers.

**Methods:** This cross-sectional study included 111 individuals (56 type 2 diabetic patients and 55 healthy volunteers), aged  $58 \pm 9$  years; 54 individuals were men (49%) and ninety-eight (88%) were white. GFR was measured by  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA single-injection method ( $^{51}\text{Cr}$ -GFR) and estimated according to the standardized MDRD and CKD-EPI equations. Serum creatinine was measured by a traceable Jaffe method. Bland-Altman analysis was used to examine the agreement between measured and estimated GFR. Bias, accuracy and precision were evaluated.

**Results:** In diabetic individuals,  $^{51}\text{Cr}$ -GFR was  $106 \pm 27$ , CKD-EPI-GFR was  $82 \pm 18$ , and MDRD-GFR was  $80 \pm 21$  ml/min/ $1.73 \text{ m}^2$  ( $P < 0.001$ ). In healthy volunteers, the correspondent values were  $98 \pm 20$ ,  $89 \pm 13$ , and  $84 \pm 14$  ml/min/ $1.73 \text{ m}^2$  ( $P < 0.001$ ), respectively. CKD-EPI accuracy (P30) was higher in healthy volunteers than in diabetic patients (90% vs. 66%, respectively,  $P < 0.001$ ). MDRD equation performed as poorly as CKD-EPI equation in diabetic individuals.

**Conclusion:** The CKD-EPI equation is less accurate in type 2 diabetic patients when compared to healthy individuals, with a 2.5-fold greater bias.

The American Diabetes Association (ADA) recommends the annual screening of diabetic nephropathy by evaluation of urinary albumin excretion and estimation of glomerular filtration rate (GFR) (1). The National Kidney Foundation (NKF) recommends the use of the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equation to estimate GFR (2). However, it has been extensively demonstrated that this equation, although reasonably accurate to evaluate the kidney function of patients with chronic kidney disease (CKD) (3, 4), tends to underestimate the GFR in subjects with normal or near-normal renal function (5, 6, 7), as well as in diabetic patients (8, 9). This systematic underestimation has been ascribed to the fact that MDRD equation was developed in CKD patients. Due to this reason, a new equation, the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation was developed analyzing individuals with and without renal function loss (10). The initial analyses have demonstrated the improved accuracy of GFR estimation with the new formula, which could eventually replace MDRD equation for routine clinical use (10,11). However, as suggested by the authors, it remains to be determined if it will work equally well in all populations. The purpose of this study was to assess the performance of CKD-EPI equation in type 2 diabetes patients with normal renal function compared to healthy individuals.

### **Patients and Methods**

This cross-sectional study was conducted in type 2 diabetes patients and healthy volunteers, after signing a written informed consent. The Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) approved the protocol.

The exclusion criteria for healthy volunteers were the presence of body mass index (BMI)  $>35 \text{ kg/m}^2$ , diabetes mellitus, hypertension, kidney disease, cancer in the last 5 years or use of drugs (except oral contraceptives and thyroid hormone). The exclusion criteria for diabetic patients were uncontrolled hyperglycemia (glycemia  $>11.1 \text{ mmol/l}$ ), high blood pressure levels ( $>150/90 \text{ mmHg}$ ), and GFR  $<60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ . The following drugs were used by the 56 included diabetic patients: metformin (N=56), sulphonylureas (N=25), insulin (N=42), angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) (N=54), calcium

channel blockers and/or  $\beta$ -blockers (N=40), vasodilators (N=27), diuretics (N=46); aspirin (N=50); statins (N=54) or fenofibrate (N=3). Weight was measured with light clothes without shoes, and waist was measured according to the recommended by the World Health Organization.

GFR was measured by the  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA single-injection method, after a single intravenous dose of 150  $\mu\text{Ci}$ . GFR was calculated as: volume of distribution  $\times$  0.693  $\times$  0.87  $\times$  1000/ $t_{1/2}$ , where 0.87 is a correction factor developed by Chantler (12). Serum creatinine was measured by the Jaffe method (Modular P Roche Diagnostic, Mannheim, Germany), which is traceable to isotope dilution mass spectrometry (ID-MS). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 1.5% and 2.5%, respectively, for creatinine levels of 116.7 mmol/l. The CKD-EPI equation was calculated as recommended:  $\text{GFR (ml/min/1.73 m}^2) = 141 \times \min(\text{Scr}/k, 1)^\alpha \times \max(\text{Scr}/k, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{Age}} \times 1.018$  (if female)  $\times$  1.159 (if black), where Scr is serum creatinine, k is 0.7 for females and 0.9 for males,  $\alpha$  is -0.329 for females and -0.411 for males, min indicates the minimum of Scr/k or 1, and max indicates the maximum of Scr/k or 1 (10). GFR was estimated with the re-expressed MDRD equation:  $\text{GFR (ml/min/1.73 m}^2) = 175 \times (\text{serum creatinine})^{-1.154} \times (\text{age})^{-0.203} \times (0.742 \text{ for women}) \times (1.210 \text{ for black})$  (13). Plasma glucose was measured by UV glucose oxidase enzymatic method, and HbA1c and urinary albumin excretion (UAE), by immunoturbidimetry.

Results were presented as mean  $\pm$  standard deviation or median (range), unless otherwise stated. Kolmogorov-Smirnov was employed to assess the distribution of variables. Bias was calculated as the mean difference between measured and estimated GFR. Accuracy was calculated as the percentage of estimates within 15% (P15) and 30% (P30) of measured GFR. P values for comparisons of the agreement between estimated vs. measured GFR were obtained using McNemar test for percentage. Precision was measured as one SD of bias. The agreement between measured GFR and formulas was evaluated by Bland-Altman analysis, with the calculation of agreement limits (bias  $\pm$  2 SD) and confidence intervals (CI) (14). Sample size was calculated to detect a difference of at least 12 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> between measured and estimated CKD-EPI GFR, based on previous findings from healthy individuals

(6). Therefore, the study would require a sample of at least 51 pairs of measurements to ensure a power of 80%, with a significance level of 5%. Pearson's correlation was used to evaluate the relation between measured GFR and formulas. Hyperfiltration was defined as GFR values above the mean plus 2 SD (15). SPSS 16.0 was employed in the analyses.

## Results

This cross-sectional study included 111 individuals (56 type 2 diabetes patients and 55 healthy volunteers) with a mean age of  $58 \pm 9$  years (39-89 years); 54 were men (49%) and 98 individuals (88%) were white. Overall,  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA GFR was  $102 \pm 24$  (61-185) ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, CKD-EPI equation was  $85 \pm 16$  (49-126) ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, and MDRD equation,  $82 \pm 18$  (46-127) ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. In order to evaluate putative differences in the performance of equations due to the presence of diabetes, in subsequent analyses the healthy individuals were compared with diabetic patients. The clinical characteristics of these groups are shown in Table 1. The groups were matched by age and gender. Fasting plasma glucose of diabetic patients was  $7.6 \pm 1.2$  (3.4-10.8) mmol/l and A1C test was  $8.1 \pm 0.4$  % (65 mmol/mol). Regarding albuminuria, 40% of diabetic patients were microalbuminuric and 11%, macroalbuminuric.

Figure 1 depicts the measured and estimated GFR values of type 2 diabetes patients and healthy individuals. The equations underestimated measured GFR in both groups, more pronouncedly in diabetic patients. Despite similar  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA GFR values between patients and normal individuals, serum creatinine was significantly higher in diabetic patients ( $73.4 \pm 13.3$  vs.  $82.2 \pm 19.4$  mmol/l,  $P=0.006$ ).

Figure 2 shows the correlation between the  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA GFR and the estimated GFR in healthy and diabetic individuals. The correlation was significant but moderate in both groups.

Figure 3 presents the plots of the mean of estimated and measured GFR vs. the difference between them, according to the presence of diabetes. No

agreement was observed between the equations and  $^{51}\text{Cr}$ -GFR, either for healthy or diabetic individuals ( $P < 0.001$ ).

Bias, precision, accuracy and misclassification of CKD stage for both groups are shown in Table 2. The performance of CKD-EPI and MDRD equations were similar in the diabetic group, misclassifying as kidney disease 16% and 21% of the patients, respectively. The bias of both equations was significantly higher in diabetic individuals when compared to the control group. The CKD-EPI bias was significantly higher in diabetic individuals with GFRs above the median, as compared with those presenting GFRs below the median (bias: 37 vs. 12 ml/min, respectively,  $P < 0.0001$ ). These findings were even more pronounced in the 7 hyperfiltering diabetic patients when compared with the remaining patients (bias: 69 vs. 18 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>,  $P < 0.001$ ). The hyperfiltering group presented a significantly lower accuracy (P30: 14% vs. 73%,  $P = 0.002$ ).

## Discussion

We analyzed the performance of a new equation to estimate GFR, the CKD-EPI equation, in a group of type 2 diabetes patients with normal renal function, in comparison to a group of healthy volunteers, matched by age, gender and GFR values. We demonstrated that the equation underestimated GFR in both healthy and diabetic individuals, more pronouncedly in the diabetic group, where the CKD-EPI equation was significantly less accurate, presenting a 2.5-fold greater bias than in healthy volunteers. To our knowledge, this is the first paper, after the original description (10) to address this issue in diabetic individuals.

MDRD also underestimated GFR in both groups, a previously well known finding in normal range GFRs. This systematic underestimation has been ascribed to the fact that MDRD equation was developed in individuals with CKD, for whom the equation works well (3, 4). Levey et al. have recently shown that the CKD-EPI equation works better than the MDRD equation, with less bias (3.5 vs. 10.6 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, respectively), especially for normal GFRs (10). In that study, the percentage of GFR estimates within 30% of measured GFR was



similar to what we have found for healthy individuals (88% vs. 90%, respectively). According to these authors, the lower bias reflects the use of log serum creatinine modeled as a 2-slope linear spline with sex-specific knots (10). We have recently confirmed these findings in healthy South Brazilian individuals (6). The analysis of another large pooled sample of 18,066 individuals from two longitudinal studies, revealed that the new equation decreases the erroneous prevalence of individuals with estimated GFRs below 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (11), corroborating the better accuracy. Matsushita et al., analyzing a cohort of African-American and White individuals, described that 43.5% of participants with stage 3 CKD were reclassified to no CKD using the CKD-EPI equation (16). White et al. reclassified to normal approximately 25% of Australian individuals with the new equation (17). In both studies, the individuals who were reclassified were more often white, women, and younger (18).

Stevens et al. subsequently published the description of the CKD-EPI equation validation as well as the development of alternative equations, incorporating diabetes, weight, and transplant as additional predictor variables (19,20). It was observed that the addition of these variables did not significantly improve the equation performance. However, just like in our study, the authors report that the bias of CKD-EPI equation was greater in diabetic patients when compared to non-diabetic individuals. In spite of these findings, the authors recommend that the equation could also be used for diabetes. In our study, 16% of the diabetic patients would have been misclassified as having CKD using CKD-EPI equation. Therefore, our data raises concern about this issue, and additional investigation is clearly necessary.

A possible explanation for this surprisingly poor performance of CKD-EPI in diabetic patients, which was similar to that of MDRD equation, could be the highest levels of serum creatinine observed in diabetic patients when compared to healthy individuals, independently of GFR values. A plausible hypothesis could be the analytical interference of diabetes-related factors on measured creatinine, such as the influence of glycemic levels or drug effects. Plasma glucose is a well known interfering substance in the measurement of creatinine by the Jaffe reaction (21). However, this analytical error is only observed with glucose levels above 300 mg/dl (16.55 mmol/l), and our patients had levels well

below these values. Other possibility would be the effect of drugs on serum creatinine, either by reducing GFR, or by analytical interference (22,23). Recently, it was demonstrated that serum creatinine increases during fenofibrate treatment (24), but only 3 patients were using this drug in our study. A subanalysis excluding them did not affect the results. The use of aspirin can also induce a rise of serum creatinine concentration in some conditions, such as advanced age, and renal failure (23). Nevertheless, we have previously reported a lack of effect of intermediate-dose aspirin on both GFR and serum creatinine in type 2 diabetes (25). ACEI can reduce GFR, but this phenomenon, recognized as a predictor of renal protection, tends to occur in patients presenting loss of renal function (26).

Other source of misinterpretation of serum creatinine could be that the higher BMI of the diabetic group would be an indicator of higher muscle mass. However, since it was indeed associated with a bigger mean waist, it rather indicated body fat accumulation and not muscle mass. Furthermore, as previously described, higher BMIs were related to smaller bias (19). Therefore, the higher serum creatinine observed in the diabetic group, although not fully explainable, would justify the lower values of GFR falsely obtained with the equations.

Variation in creatinine assays is also a great concern, adding systematic errors in GFR estimation (3). However, following the most recent recommendations, in our study creatinine was measured by an ID-MS traceable Jaffe method.

Perhaps the higher range of GFRs usually found in diabetes could be related to the drawback of formulas (19). Accordingly, the bias was significantly higher in our patients with elevated GFRs, mainly in the hyperfiltering individuals. The accuracies were worse, especially for extremely high GFRs. The meaning of glomerular hyperfiltration as a risk factor for kidney disease has been recently reevaluated, suggesting that further studies are still required to explore this relationship (27,28). In this regard, it can still worth to have a more precise estimation of GFR in these individuals.

In conclusion, although CKD-EPI equation seems to perform better than MDRD equation in healthy individuals, in diabetic patients a pronounced

underestimation of GFR is still present with both equations, and additional adjustments are required.

**Declaration of competing interest:** Nothing to declare.

### **Acknowledgements**

We would like to thank the Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and the Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX) for the financial support. *We have no conflicts of interest to declare.*

### **References**

1. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes - 2010. *Diabetes Care* 2010;33:S11-S61.
2. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003;139:137-147.
3. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Camargo JL, Silveiro SP. Glomerular filtration rate measurement and prediction equations. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1023-1032.
4. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG et al. Evaluation of the Modification of Diet in Renal Disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2749-2757 .
5. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:763-773.
6. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, Silveiro SP. Performance of the CKD-EPI and the MDRD study equations in healthy South Brazilians. *Am J Kidney Dis* 2010;55:1162-1163.

7. López-Suárez A, Beltrán-Robles M, Elvira-González J, Fernández-Palacín F, Bascuñana-Quirell A, Benítez-Del-Castillo J, et al. Comparison of the MDRD and the CKD-EPI equations to estimate the glomerular filtration rate in the general population. *Med Clin (Barc)*. 2010; 134:617-623.
8. Chudleigh RA, Ollerton RL, Dunseath G, Peter R, Harvey JN, Luzio S et al. Performance of the revised '175' Modification of Diet in Renal Disease equation in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2008;51:1714-1718.
9. Rossing P, Rossing K, Gaede P, Pedersen O, Parving HH. Monitoring kidney function in type 2 diabetic patients with incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2006; 29:1024-1030.
10. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3<sup>rd</sup>, Feldman HI et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150:604-612.
11. Weiner ED, Krassilnikova M, Tighiouart H, Salem DN, Levey AS, Sarnak MJ. CKD classification based on estimated GFR over three years and subsequent cardiac and mortality outcomes: a cohort study. *BMC Nephrology* 2009;10:26.
12. Chantler C, Barrat TM. Estimation of glomerular filtration rate from plasma clearance of 51-Chromium Edetic Acid. *Arch Dis Child* 1972;47:613-617.
13. Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW et al. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease study for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53:766-772.
14. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research* 1999;8:135-160.
15. Silveiro SP, Friedman R, Gross JL. Glomerular hyperfiltration in NIDDM patients without overt proteinuria. *Diabetes Care* 1993;16:115-119.
16. Matsushita K, Selvin E, Bash LD, Astor BC, Coresh J. Risk implications of the new CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation compared with the MDRD Study equation for estimated GFR: the

- Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Kidney Dis* 2010;55:648-659.
17. White SL, Polkinghorne KR, Atkins RC, Chadban SJ. Comparison of the prevalence and mortality risk of CKD in Australia using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study GFR estimating equations: the AusDiab (Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle) Study. *Am J Kidney Dis* 2010;55:660-670.
  18. Levey AS, Stevens LA. Estimating GFR using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) creatinine equation: more accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates, and better risk predictions. *Am J Kidney Dis* 2010;55:622-627.
  19. Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Coresh J, Manzi J, Landis R et al. Development and validation of GFR-estimating equations using diabetes, transplant and weight. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:449-457.
  20. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang YL, Beck GJ, Froissart M et al. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. *Am J Kidney Dis* 2010 "in press".
  21. Husdan H, Rapaport A. Estimation of creatinine by Jaffe reaction: a comparison of three methods. *Clin Chem* 1967; 14: 222-238.
  22. Andreev E, Koopman M, Arisz L. A rise in plasma creatinine that is not a sign of renal failure: which drugs can be responsible? *J Intern Med* 1999; 246:247-252.
  23. Ducharme MP, Smythe M, Strohs G. Drug-induced alterations in serum creatinine concentrations. *Ann Pharmacother* 1993; 27:622-633.
  24. Forsblom C, Hiukka A, Leinonen ES, Sundvall J, Groop PH, Taskinen MR. Effects of long-term fenofibrate treatment on markers of renal function in type 2 diabetes: the FIELD Helsinki substudy. *Diabetes Care* 2010; 33:215-220.
  25. Camargo EG, Weinert LS, Lavinsky J, Gross JL, Silveiro SP. The effect of aspirin on the antiproteinuric properties of enalapril in

- microalbuminuric type 2 diabetic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Diabetes Care* 2007; 30:e66.
26. Bakris GL, Weir MR. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-associated elevations in serum creatinine. Is this a cause for concern? *Arch Intern Med* 2000; 160:685-693.
27. Jerums G, Premaratne E, Panagiotopoulos S, MacIsaac RJ. The clinical significance of hyperfiltration in diabetes. *Diabetologia* online first may 2010.
28. Magee GM, Bilous RW, Cardwell CR, Hunter SJ, Kee F, Fogarty DG. Is hyperfiltration associated with the future risk of developing diabetic nephropathy? A meta-analysis. *Diabetologia* 2009;52:691–697.

Table 1. Clinical characteristics of the healthy individuals and of the type 2 diabetic patients.

	Healthy Individuals (N=55)	Type 2 diabetes (N=56)	P
Age (years)	56±9	59±6	0.055
Male	24 (44)	30 (53)	0.295
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27±3	29±6	0.002
Waist (cm)			
Male	92±14	100±11	0.021
Female	90±13	99±11	0.008
SBP (mmHg)	126±14	131±16	0.001
DBP (mmHg)	73±10	82±10	0.001
Smoking habit	5 (12)	5 (9)	0.667

Data expressed as mean±SD or number (%).

BMI=body mass index; SBP=systolic blood pressure; DBP=diastolic blood pressure

Table 2. Bias, precision and accuracy (P15, P30) of CKD-EPI and MDRD equations.

	Healthy Individuals (N=55)	Type 2 diabetes (N=56)	P value
<b>CKD-EPI</b>			
Bias (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	9±18	24±24	<0.001
Accuracy P15 (%)	60	41	0.046
Accuracy P30 (%)	90	66	<0.001
CKD (%)	2	16	0.009
<b>MDRD</b>			
Bias (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	19±20	26±26	0.009
Accuracy P15 (%)	47	27	0.025
Accuracy P30 (%)	80	64	0.065
CKD (%)	2	21	0.001

Bias is defined as mean difference between measured and estimated glomerular filtration rate (GFR). Precision is defined as one SD of bias. Accuracy is defined as percentage of GFR estimations within 15% (P15) and 30% (P30) of the measured value. CKD (Chronic kidney disease) was defined as the percentage of misclassification given by estimated GFRs below 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>.



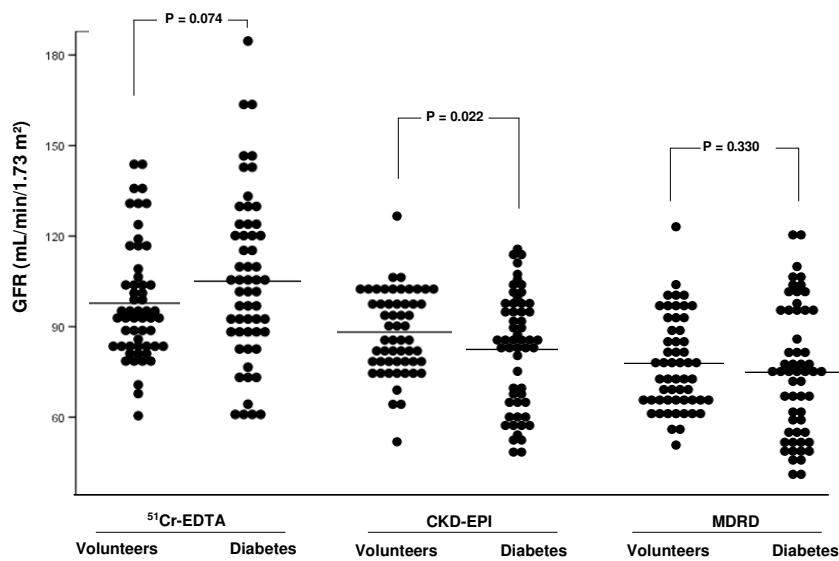


Figure 1 - Measured and estimated glomerular filtration rate (GFR) of type 2 diabetes patients (N=56) and of healthy volunteers (N=55). In diabetic individuals, <sup>51</sup>Cr-GFR was 106±27, CKD-EPI-GFR, 82±18, and MDRD-GFR was 80±21ml min<sup>-1</sup> 1.73 m<sup>2</sup>-1. In volunteers, the values were 98±20, 89±13, and 84±14 ml min<sup>-1</sup> 1.73 m<sup>2</sup>-1, respectively.

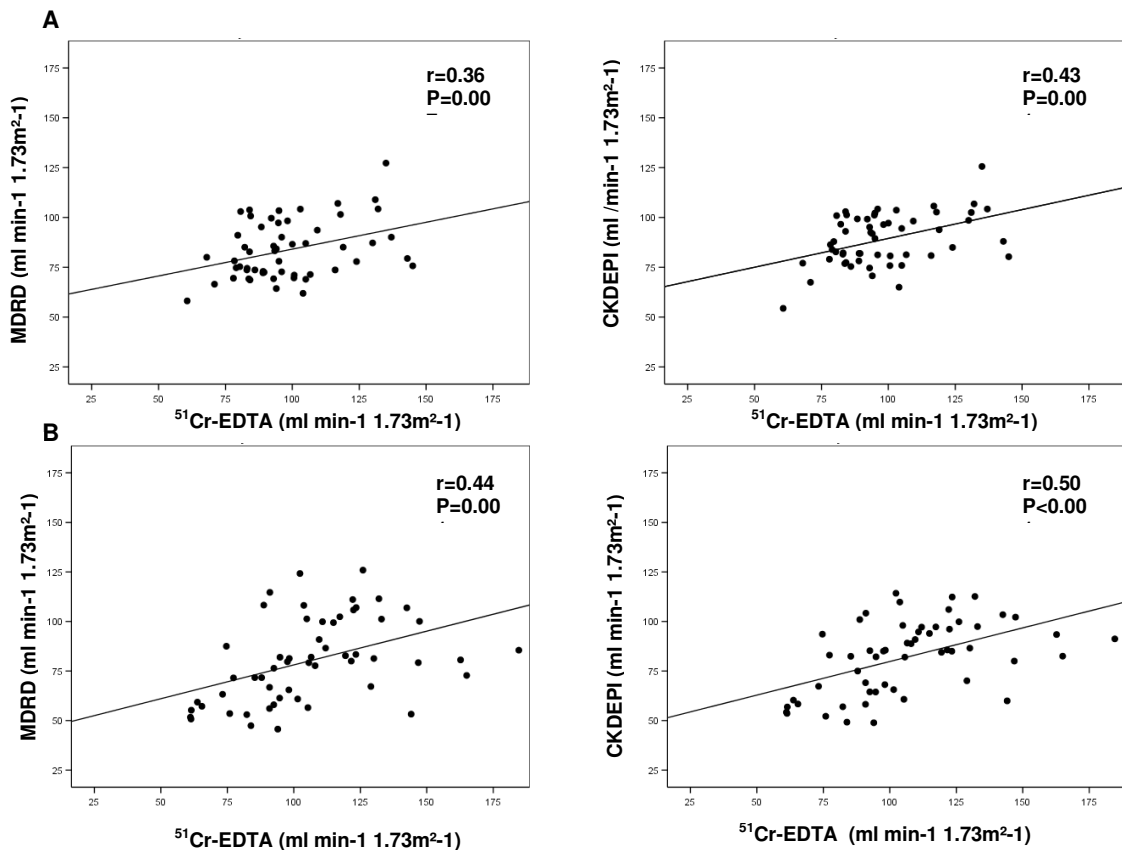


Figure 2 – Pearson's correlation between  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ -measured GFR and estimated GFRs in healthy volunteers (a) and patients with Type 2 diabetes (b).

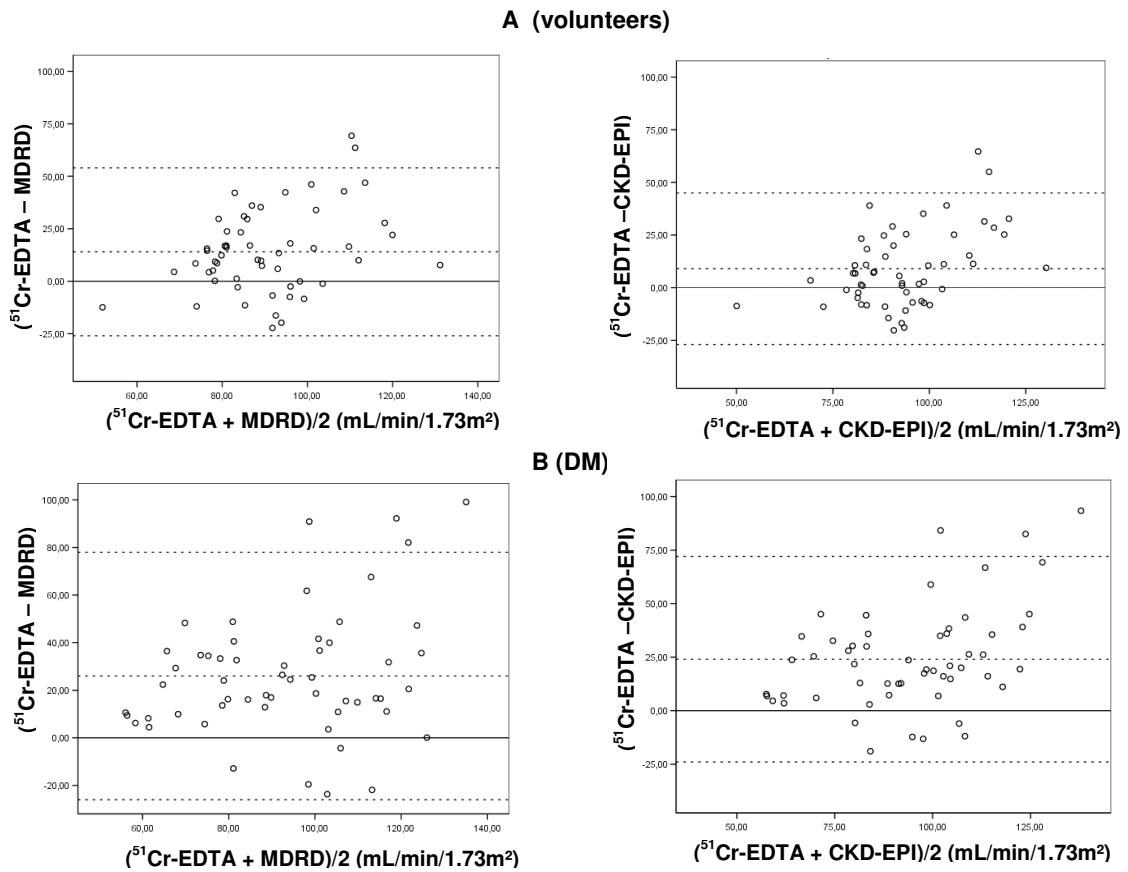


Figure 3 – Plots of the mean of estimated and measured GFR vs. the difference between them, in healthy volunteers (Panel A) and type 2 diabetes (Panel B).  $P < 0.001$  for all comparisons.

## **EQUAÇÕES BASEADAS NA CISTATINA C SÉRICA PARA ESTIMAR A TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR: UMA ALTERNATIVA MAIS ACURADA?**

Eduardo Guimarães Camargo<sup>1</sup>

Gustavo das Neves Araújo<sup>1</sup>

Mariana Nunes Ferreira<sup>1</sup>

Leticia Schwertz Weinert<sup>1</sup>

Ariana Aguiar Soares<sup>1</sup>

Joíza Lins Camargo<sup>2</sup>

Sandra Pinho Silveiro<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>2</sup>Unidade de Bioquímica e Imunoensaios, Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

<sup>3</sup>Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Correspondência:

Eduardo Guimarães Camargo

Serviço de Endocrinologia, HCPA

Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Prédio 12, 4º andar

CEP: 90035-903 – Porto Alegre

Fone: 51 33598127

eg.camargo@terra.com.br

**Artigo será submetido ao periódico *Nephrology Dialysis Transplantation*.**

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A dosagem sérica de creatinina é o marcador mais amplamente utilizado para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG), mas apresenta limitações como interferência de drogas e da massa muscular, além da baixa sensibilidade. A cistatina C tem-se mostrado um marcador mais sensível, mas ainda não foi completamente validado.

**OBJETIVO:** Avaliar o desempenho da cistatina C sérica em equações de estimativa da TFG em indivíduos com TFG >60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, em comparação com a filtração medida.

**MÉTODOS:** Estudo transversal avaliando 205 indivíduos, dos quais 108 (53%) mulheres, 175 (85%) brancos, com idade média de 46±15 anos, 60 (29%) com DM (duração 16±8 anos) e 145 (71%) saudáveis. A cistatina C foi medida por imunoturbidimetria, a creatinina por Jaffe e a TFG pela técnica do <sup>51</sup>Cr-EDTA. A TFG estimada com cistatina C foi calculada com as equações: van Deventer=  $10^{2,35} \times 10^{(CisC \times -0,33) \times 10 \exp(-0,003 \times idade)}$ ; Tidman = 119/CisC – 33; Grubb= 83,93 x CisC<sup>-1,676</sup>; Sjöstrom =124/CisC – 22,3; Tan= (87,1/CisC) – 6,87 e Larsson= 99,43 x CisC<sup>-1,5837</sup>. O viés foi calculado como a diferença entre o valor medido e o estimado da TFG e a acurácia como a percentagem de estimativas da TFG de até 30% em relação ao valor medido.

**RESULTADOS:** A creatinina sérica encontrada foi de 0,9 (0,5-1,5) mg/dl e a cistatina C sérica de 0,78 (0,41-2,15) mg/l. A TFG medida foi de 107±23, variando de 61 a 185 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. A TFG estimada pelas diferentes equações foi: Tan 111±16, Tidman 128±49, van Deventer 144±17, Sjöstrom 145±51, Grubb 146±76 e Larsson 176±88 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. A única equação concordante com a TFG medida foi a de Tan (P=0,129). Todas as equações apresentaram acurácia inferior a 75%.

**CONCLUSÃO:** As equações de estimativa da TFG baseadas na cistatina C não apresentaram um bom desempenho, superestimando inaceitavelmente a TFG medida.

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Serum creatinine is the most widely used marker to estimate glomerular filtration rate (GFR), but it has limitations such as interference from drugs and muscle mass. Cystatin C has been shown to be a more sensitive marker, but has not yet been fully validated.

**AIM:** To evaluate the performance of serum cystatin C in equations to estimate GFR in subjects with GFR >60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, compared to measured GFR.

**PATIENTS AND METHODS:** This cross-sectional study evaluated 205 individuals, 108 (53%) women, 175 (85%) white, mean age 46±15 years, 60 (29%) with DM (duration 16 ± 8 years) and 145 (71%) healthy individuals. Cystatin C was measured by immunoturbidimetry, creatinine by Jaffe and GFR by <sup>51</sup>Cr-EDTA. The estimated GFR was calculated using the following cystatin C-based equations: van Deventer=  $10^{2.35} \times 10^{(\text{CisC} \times -0.33)} \times 10^{\exp(-0.003 \times \text{idade})}$ , Tidman= 119/CisC – 33; Grubb= 83.93 x CisC<sup>-1.676</sup>, Sjöstrom=124/CisC – 22.3; Tan= (87.1/CisC) – 6.87 e Larsson= 99.43 x CisC<sup>-1.5837</sup>. Bias was calculated as the difference between measured and estimated GFR and accuracy as the percentage within 30% of the estimated value in relation to measured GFR.

**RESULTS:** The serum creatinine was 0.9 (0.5-1.5) mg/dl and cystatin C 0.78 (0.41 to 2.15) mg/l. Measured GFR was 107±23 (61-185) ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. GFRs estimated by different equations were: Tan 111±16, Tidman 128±49, van Deventer 144±17, Sjöstrom 145±51, Grubb 146±76, and Larsson 176±88 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. The only equation in agreement with measured GFR was Tan (P= 0.129). However, all equations presented accuracy below 75%.

**CONCLUSION:** The cystatin C-based equations for estimating GFR did not present a good performance, with an unacceptable overestimation of measured GFR.

## INTRODUÇÃO

De acordo com os dados do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), 13% da população adulta dos Estados Unidos apresenta doença renal crônica (DRC) (1). O aumento dessa prevalência, em parte, tem sido associado à epidemia global de obesidade e diabetes melito (2). A nefropatia diabética (ND) é a principal causa de DRC terminal e é responsável por 54% dos novos casos em diálise (3). Dada à natureza silenciosa da DRC nos seus estágios iniciais, não é surpreendente que os pacientes sejam diagnosticados tardiamente, muitas vezes já necessitando de terapia de substituição renal.

Como estratégia para detectar a presença de DRC, é fundamental estimar-se adequadamente a função renal. A *National Kidney Foundation* (NKF) recomenda para esse fim o emprego de equações que empregam a creatinina sérica (4). Entretanto, embora essas equações tenham sido amplamente avaliadas (5,6), o seu desempenho ainda é limitado e tende a subestimar a taxa de filtração glomerular (TFG) nas faixas normais ou elevadas (7,8,9,10). Esse desempenho insatisfatório pode ser atribuível às diferentes características das populações envolvidas no desenvolvimento das equações (11) e às limitações inerentes à medida da creatinina sérica, que sofre influência de vários fatores biológicos e analíticos (12). Dessa forma, nos últimos anos têm-se buscado, de forma sistemática, novos marcadores que sejam mais precisos para estimar a TFG.

A dosagem da cistatina C tem sido sugerida como uma alternativa para a medida da creatinina sérica por ser um marcador sensível de alterações precoces da função renal (13,14). Essa proteína de baixo peso molecular apresenta as características de um marcador ideal da função renal: é sintetizada e secretada de forma constante por todas as células nucleares, é livremente filtrada pela membrana glomerular e completamente reabsorvida pelas células do túbulo proximal (15). A cistatina C sérica tem apresentado um desempenho melhor do que a TFG estimada pelas equações baseadas na creatinina (16). De forma análoga ao ocorrido com a creatinina, várias equações baseadas na cistatina C sérica têm sido desenvolvidas em diferentes populações e com diferentes métodos, com o objetivo de melhorar a estimativa da TFG, ainda sem um consenso para recomendação de seu uso na prática

clínica (17). O objetivo desse estudo foi avaliar o desempenho de diferentes equações baseadas na cistatina C em uma população de indivíduos sul-brasileiros com TFG >60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

## PACIENTES E MÉTODOS

Esse estudo transversal foi conduzido em indivíduos com TFG >60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, após a assinatura de termo de consentimento livre esclarecido. O protocolo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram incluídos 205 indivíduos, sendo 145 voluntários saudáveis e 60 pacientes com DM tipo 2. Os critérios de exclusão para os pacientes com DM foram glicemia de jejum >200 mg/dl, disfunção da tireóide sem tratamento e uso de corticóides. O peso dos pacientes foi medido com roupas leves e sem sapatos e a cintura foi medida de acordo com a recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS).

A TFG foi medida pelo método de injeção única de <sup>51</sup>Cr-EDTA, após dose endovenosa única de 150 µCi. A TGF foi calculada como: volume de distribuição x 0,693 x 0,87 x 1000/t1/2, onde 0,87 é um fator de correção desenvolvido por Chantler (18). A creatinina sérica foi medida pelo método de Jaffe (Modular P Roche Diagnostic, Mannheim, Germany), calibrada por ID-MS (isotope dilution mass spectrometry). A cistatina C foi medida pelo método de imunoturbidimetria (Dako, Denmark). Foram testadas todas as equações atualmente disponíveis desenvolvidas com esse método, com resultados descritos em ml/min/1,73m<sup>2</sup>: van Deventer et al.(19)=  $10^{2,35} \times 10^{(CisC \times -0,33) \times 10^{\exp(-0,003 \times idade)}}$ ; Tidman et al. (20)= 119/CistC – 33; Grubb et al. (21)= 83,93 x CisC<sup>-1,676</sup>, Sjöstrom (22) = 124/CisC – 22,3; Tan et al. (23)= (87,1/CisC) – 6,87 e Larsson et al (24) (ml/min)= 99,43 x CisC<sup>-1,5837</sup>, essa ajustada para superfície corporal (SC). A SC foi calculada pela fórmula de Du Bois e Du Bois (25): SC (m<sup>2</sup>)= 0,20247 x [altura (m)]<sup>0,725</sup> x [peso(kg)]<sup>0,425</sup>. A glicose plasmática foi medida pelo método enzimático glicose oxidase, e HbA1c e excreção urinária de albumina (EUA), por imunoturbidimetria. Os indivíduos foram classificados conforme a EUA em amostra como normo- (<17 mg/l), micro- (17-174 mg/l) e macroalbuminúricos (>174 mg/l) (26).

Os resultados foram apresentados como média±desvio padrão ou mediana (intervalo). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi empregado para



avaliar a distribuição das variáveis. O viés foi calculado como a diferença média entre a TFG medida e a estimada. A acurácia P30 foi calculada como a percentagem da TFG estimada pelas equações que difere em até 30% da TFG medida. Uma acurácia P30 de no mínimo 75% é considerada como adequada (27). A concordância entre TFG estimada vs. medida foi obtida utilizando o teste McNemar. A precisão foi medida como 1 desvio padrão do viés. A concordância entre as fórmulas e a medida da TFG foi avaliada pela análise de Bland-Altman, com os limites de concordância calculados como viés menos 2 DP (limite inferior) e viés mais 2 DP (limite superior), e intervalo de confiança de 95% (28). O tamanho da amostra foi baseado na recomendação de Bland-Altman (29). Hiperfiltração foi definida como valores de TFG 2 DP acima da média (30). SPSS 16.0 foi utilizado para realização das análises.

## RESULTADOS

As características clínicas dos 205 indivíduos avaliados estão descritas na Tabela 1. Sessenta indivíduos (29%) apresentavam o diagnóstico de DM (duração  $16 \pm 8$  anos, HbA1c  $8,1 \pm 0,2\%$ , 43% micro- e 13% macroalbuminúricos) e 145 (71%) eram saudáveis.

A creatinina sérica foi de 0,9 (0,5-1,5) mg/dl e a cistatina C de 0,78 (0,41-2,15) mg/l. Subdividindo-se por gênero e mantendo o emparelhamento por idade, IMC e TFG, os valores de creatinina sérica foram significativamente mais elevados nos homens [1,0 (0,6-1,5) vs. 0,8 (0,5-1,2) mg/dl;  $P < 0,0001$ ]. Em contraste, os valores de cistatina C não diferiram entre homens e mulheres, respectivamente: 0,79 (0,41- 2,15) vs. 0,77 (0,44-1,79) mg/l,  $P = 0,987$ .

A medida da TFG por  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  foi  $107 \pm 23$  (61-185) ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. A TFG estimada pelas equações baseadas na cistatina C foram: Tan  $111 \pm 16$ , Tidman  $128 \pm 49$ , van Deventer  $144 \pm 17$ , Sjöstrom  $145 \pm 51$ , Grubb  $146 \pm 76$  e Larsson  $176 \pm 88$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Figura 1). A TFG medida foi significativamente mais baixa em comparação com todas as equações ( $P < 0,0001$ ), exceto com a equação de Tan ( $P = 0,129$ ).

Viés, precisão e acurácia das equações foram descritos na Tabela 2. Quando comparada com as outras equações, a equação de Tan teve uma acurácia P30 significativamente maior ( $P < 0,0001$ ). Entretanto, a acurácia de todas as equações foi inferior a 75%. Em relação ao viés, todas as equações

apresentaram um resultado de sinal negativo, o que significa que superestimaram a TFG medida. Nesse sentido, a equação de Tan apresentou um melhor desempenho do que as outras equações.

A Figura 2 mostra a representação gráfica da relação entre a média da TFG medida e estimada e a sua diferença, conforme recomendado por Bland-Altman, empregando as diferentes equações baseadas na cistatina C. As equações sistematicamente superestimaram a TFG medida, principalmente a equação de Larsson. A equação de Tan teve um padrão menos previsível, apresentando uma grande variação dos valores tanto acima como abaixo da média do viés. Não houve concordância entre a TFG medida pelo  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  e as equações ( $P < 0,0001$ ), exceto com a equação de Tan ( $P = 0,129$ ). Para analisar-se a influência do nível da TFG sobre o desempenho das fórmulas, o grupo foi estratificado em valores de TFG acima ( $N = 159$ ) vs. abaixo ( $N = 46$ ) de  $90 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . O viés calculado ( $\text{ml/min/1,73 m}^2$ ) com cada equação foi, respectivamente, para valores acima vs. valores abaixo de 90: van Deventer -32 vs. -57,  $P < 0,001$ ; Tan -1 vs. -14,  $P = 0,02$ ; Tidman -20 vs. -24,  $P = 0,63$ ; Sjöstrom -37 vs. -40,  $P = 0,75$ ; Larsson -73 vs. -54,  $P = 0,09$ ; Grubb -41 vs. -32,  $P = 0,45$ .

Para comparar o desempenho das equações em indivíduos saudáveis ( $N = 56$ ) e com DM ( $N = 55$ ), os dois grupos foram respectivamente pareados para idade ( $55 \pm 8$  vs.  $57 \pm 8$  anos,  $P = 0,06$ ) e TFG ( $106 \pm 28$  vs.  $99 \pm 16 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ;  $P = 0,06$ ). Em relação ao grupo de saudáveis, os indivíduos com DM eram na sua maioria homens (58% vs. 45%,  $P < 0,001$ ), tinham maior IMC ( $30 \pm 4$  vs.  $27 \pm 4 \text{ kg/m}^2$ ), maior medida de cintura e níveis mais elevados de pressão arterial. Embora emparelhados por TFG, a medida da cistatina C foi significativamente mais elevada nos indivíduos com DM [ $0,96$  ( $0,66-2,15$ ) vs.  $0,77$  ( $0,42-1,17$ )  $\text{mg/l}$ ;  $P < 0,0001$ ]. A TFG estimada foi significativamente mais baixa nos indivíduos com DM com todas as equações, respectivamente: Tan  $114 \pm 35$  vs.  $82 \pm 20$ , Tidman  $133 \pm 49$  vs.  $89 \pm 28$ , Sjöstrom  $150 \pm 51$  vs.  $105 \pm 29$ , van Deventer  $151 \pm 15$  vs.  $133 \pm 18$ , Grubb  $153 \pm 78$  vs.  $90 \pm 32$  e Larsson  $174 \pm 83$  vs.  $106 \pm 36 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  ( $P < 0,0001$ ) (Figura 3). A acurácia foi muito baixa para ambos os grupos, variando de 16% a 57% nos saudáveis e de 51% a 73% naqueles com DM.

## DISCUSSÃO

Nosso estudo demonstrou que as diferentes equações baseadas na cistatina C sistematicamente superestimam a TFG em indivíduos com valores  $>60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Ao contrário do que já foi relatado em indivíduos com DRC (31) e DM (23,32), as equações apresentaram um desempenho desapontador, com uma baixa acurácia para estimar a TFG nessa faixa de valores.

A estimativa mais precisa da função renal em indivíduos com TFG normal ou elevada tem se tornado um desafio, uma vez que a determinação adequada da filtração glomerular nessa faixa e o acompanhamento do seu declínio podem permitir manobras terapêuticas preventivas mais precoces (33,34). Por outro lado, estimativas incorretas podem levar ao superdiagnóstico de DRC, implicando em custos e preocupação desnecessários para pacientes e médicos (35,36). No entanto, é justamente nessa faixa que as equações baseadas na creatinina, como a do estudo MDRD, apresentam maior falha, em geral subestimando a TFG (5,7). Nesse sentido, a nova equação CKD-EPI foi criada para contornar essa limitação, com desempenho superior para faixas de TFG próximas da normalidade, já que foi desenvolvida a partir de um mais amplo espectro de função renal (6,33). Contudo, determinados subgrupos, como idosos, negros e indivíduos com DM foram sub-representados nesses estudos (33) e, sabidamente, esses grupos têm um maior risco para desenvolver DRC. Além disso, alguns estudos apontam inclusive para um pior desempenho da CKD-EPI em pacientes com DM. Portanto, é importante avaliar novos e mais sensíveis marcadores para detectar as alterações precoces da TFG que possam ser aplicados nas diferentes categorias de doença e validados para diferentes etnias.

A cistatina C é uma proteína de baixo peso molecular (13kDa) que é filtrada livremente pelos glomérulos, reabsorvida e catabolizada completamente nos túbulos proximais (15). Esse marcador endógeno tem sido considerado como um potencial substituto da creatinina sérica por ser menos influenciado pela massa muscular e por fatores analíticos (37). Tem-se demonstrado que a cistatina C sérica é um marcador de alterações precoces da TFG (13) e que, quando inserida em equações de estimativa, pode refletir adequadamente a medida da TFG em diferentes faixas de filtração glomerular (38). Nosso estudo

confirma que, ao contrário da creatinina, que apresenta valores mais elevados no sexo masculino, a cistatina C não sofre influência do gênero (39,40). Essa peculiaridade confere vantagem adicional para cistatina C e também justifica a não inclusão da variável gênero nas equações, como foi o caso nas equações selecionadas em nosso estudo.

Diversas equações para estimar a TFG a partir da cistatina C têm sido elaboradas nos últimos anos (17), a partir dos resultados obtidos em diferentes etnias, com diferentes faixas de filtração glomerular e com o emprego de diferentes métodos de medida e modelos matemáticos (41). Ao contrário das equações baseadas na creatinina, o uso das diferentes equações com a cistatina C ainda é restrito às populações onde foram desenvolvidas e não há um consenso sobre qual é a equação com melhor desempenho para avaliar a TFG. O racional ao se escolher uma equação é que essa tenha sido desenvolvida com o mesmo método de medida da cistatina C que está sendo utilizado (42). Em nosso estudo, empregamos o método de imunoturbidimetria (Dako) e testamos o desempenho de todas as equações desenvolvidas com esse método.

Nossos dados indicam um desempenho inaceitável de todas as equações, com ocorrência de uma super-estimativa acentuada, com valores de TFG incompatíveis com o descrito em estudos prévios que mediram a TFG com substâncias exógenas em indivíduos saudáveis e com DM (10,43). As razões para esses achados podem ter origem multifatorial. A disfunção da tireóide, mesmo que leve, pode interferir nos níveis de cistatina C. Ao contrário do que acontece com a creatinina, os níveis de cistatina são mais baixos no hipotireoidismo e mais elevados no hipertireoidismo (44,45). Para controlar essa interferência, excluímos indivíduos com disfunção de tireóide descompensados. Outro fator a ser levado em conta é a influência da faixa de TFG avaliada. Comparamos a acurácia das equações em cada extrato de TFG, acima vs. abaixo de  $90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , e não encontramos um resultado uniforme, sugerindo que a faixa de TFG não parece afetar o desempenho da equação de forma sistemática.

A etnia é outra variável que poderia afetar o desempenho das equações, tanto na possível influência sobre os níveis de cistatina C - mais elevados em certas populações - quanto sobre os determinantes da TFG que deverão ser

levados em conta conforme a população (46). Por exemplo, assim como em nosso estudo, em pacientes chineses, as diversas equações baseadas na cistatina não mostraram acurácia satisfatória (47). Essa definição necessita de estudos adicionais específicos em cada população em uma primeira fase e uma avaliação posterior para validação dos resultados.

Recentemente, foi desenvolvido um calibrador padronizado internacionalmente, como forma de reduzir os erros sistemáticos na medida da cistatina C (48). Essa estratégia é fundamental para harmonizar os resultados de cistatina C e permitir comparação de dados entre os diferentes laboratórios. Esse sistema de calibração foi disponibilizado no ano de 2011 e assim as medidas de cistatina C do presente estudo e dos estudos realizados até então não usaram essa estratégia. Estudos futuros, ao dispor dessa ferramenta, deverão diminuir a indesejável variabilidade atribuível a esse fator.

Em nosso estudo, a sub-análise dos indivíduos com DM mostrou uma melhor comportamento das equações nesse grupo. Os valores de TFG estimada mostraram-se mais compatíveis com os valores de TFG medida. Esse achado deveu-se ao fato de que as dosagens de cistatina C foram significativamente mais elevadas no grupo de DM em relação aos saudáveis, mesmo equiparando-se por grau de função renal e idade. Esse achado já foi descrito por outros autores e atribuído possivelmente a uma associação positiva entre gordura corporal e cistatina C (49). De fato, como esperado, nossos pacientes com DM apresentavam um maior IMC e maior cintura em relação aos saudáveis. Outra possível inter-relação entre DM e níveis mais elevados de cistatina C seria a existência de inflamação em baixo grau nesses pacientes, corroborado pela associação com níveis elevados de proteína C reativa (49). No entanto, recentemente foi demonstrado que a cistatina C não se correlaciona com níveis elevados de proteína C reativa em diferentes populações (50,51). Já foi descrita a associação entre níveis elevados de cistatina C com tabagismo (49,52), mas não houve diferença entre os grupos em relação à essa variável.

Em conclusão, as equações atualmente disponíveis de estimativa da TFG baseadas na cistatina C são inaceitavelmente inaccuradas, ainda não sendo uma alternativa recomendável para estimar a TFG. Diferentes calibradores, diferenças étnicas e diferentes modelos matemáticos utilizados na

construção das equações explicam o grande número de equações existentes e os resultados incongruentes obtidos. Em futuro próximo, o emprego de um calibrador internacional para uniformizar as medidas séricas de cistatina C deverá resultar em resultados mais consistentes e comparáveis, permitindo uma avaliação mais precisa das variáveis a serem incluídas em equações de predição.

**CONFLITOS DE INTERESSE:** Nenhum a declarar.

### **AGRADECIMENTOS**

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do HCPA e ao CNPq pelo auxílio financeiro nas dosagens laboratoriais, especialmente da cistatina C. EGC recebeu bolsa de doutorado do CNPq. À estatística Vânia Hirakata pelo apoio na análise estatística.

## Referências bibliográficas

1. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA*. 2007;298:2038-47.
2. Atkins RC, Zimmet P. World Kidney Day 2010: diabetic kidney disease--act now or pay later. *Am J Kidney Dis*. 2010;55:205-8.
3. US Renal Data System. *USRDS 2009 Annual Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End- Stage Renal Disease in the United States*. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases: Bethesda, MD, 2009.
4. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Nahas ME, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt KU. The definition, classification and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int*. 2010; [Epub ahead of print].
5. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG et al. Evaluation of the Modification of Diet in Renal Disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18:2749-2757.
6. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3<sup>rd</sup>, Feldman HI et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009; 150:604-612.
7. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Mar;16(3):763-73.
8. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Jun;5(6):1003-9.
9. Fontseré N, Salinas I, Bonal J, Bayés B, Riba J, Torres F, Rios J, Sanmartí A, Romero R. Are prediction equations for glomerular filtration rate useful for the long-term monitoring of type 2 diabetic patients? *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Aug;21(8):2152-8.

10. Camargo EG, Soares AA, Detanico AB, Weinert LS, Veronese FV, Gomes EC, Silveiro SP. The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation is less accurate in patients with Type 2 diabetes when compared with healthy individuals. *Diabet Med.* 2011;28(1):90-5.
11. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006 Jun 8;354(23):2473-83.
12. Rosner MH, Bolton WK. Renal function testing. *Am J Kidney Dis.* 2006; 1: 174-183.
13. Laterza OF, Price CP, Scott MG: Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem* 48: 699-707, 2002.
14. Dhamidharka VR, Kwon C, Stevens G: Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 40: 221- 226, 2002.
15. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martinez-Brú C, Grubb A: Cystatin C as a marker of GFR – history, indications, and future research. *Clin Biochem* 38: 1-8, 2005.
16. Wasén E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivelä SL, Irjala K. Estimation of glomerular filtration rate in the elderly: a comparison of creatinine-based formulae with serum cystatin C. *J Intern Med.* 2004 Jul;256(1):70-8.
17. Weinert LS, Camargo EG, Soares AA, Silveiro SP. Glomerular filtration rate estimation: review of cystatin C-based prediction equations. Artigo aceito para publicação em maio de 2011.
18. Chantler C, Barrat TM. Estimation of glomerular filtration rate from plasma clearance of 51-Chromium Edetic Acid. *Arch Dis Child* 1972;47:613-617
19. van Deventer HE, Paiker JE, Katz IJ, George JA. A comparison of cystatin C- and creatinine-based prediction equations for the estimation of glomerular filtration rate in black South Africans. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(5):1553-8.



20. Tidman M, Sjöström P and Jones I. A comparison of GFR estimating formulae based upon s-cystatin C and s-creatinine and a combination of the two. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:154-160.
21. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G and Christensson A. Simple Cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 2005;51(8):1420-1431.
22. Sjöström P, Tidman M and Jones I. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 2005;65:111-124.
23. Tan GD, Lewis AV, James TJ, Altmann P, Taylor RP and Levy JC. Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in type 1 diabetes. *Diab Care* 2002;25:2004-2009.
24. Larsson A, Malm J, Grubb A, Hansson LO Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest*. 2004; 64(1):25-30.
25. Dubois D, Dubois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med* 1916; 17: 863–871.
26. Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveira JR, et al. The receiver operating characteristics curve in the evaluation of a random urine specimen as a screening test for diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1997;20:516-519
27. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Definition and classification of stages of chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2002;39:S46-75.
28. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research* 1999;8:135-160
29. Sample size for a study of agreement between two methods of measurement [Internet]. [2010 Jan 7]; Available from: [www.users.york.ac.uk/~mb55/meas/sizemeth.htm](http://www.users.york.ac.uk/~mb55/meas/sizemeth.htm)

30. Silveiro SP, Friedman R, Gross JL. Glomerular hyperfiltration in NIDDM patients without overt proteinuria. *Diabetes Care*. 1993; 16:115-9.
31. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L. Serum cystatin C-based formulas for prediction of glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract*. 2010;114:c118-26.
32. Maclsaac RJ, Tsalamandris C, Thomas MC, Premaratne E, Panagiotopoulos S, Smith TJ, et al. Estimating glomerular filtration rate in diabetes: a comparison of cystatin C- and creatinine-based methods. *Diabetologia* 2006;1686-1689.
33. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang YL, Beck GJ, Froissart M, Hamm LL, Lewis JB, Mauer M, Navis GJ, Steffes MW, Eggers PW, Coresh J, Levey AS. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. *Am J Kidney Dis*. 2010 Sep;56(3):486-95.
34. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Nahas ME, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt KU. The definition, classification and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int*. 2010 Dec 8. [Epub ahead of print]
35. Matsushita K, Selvin E, Bash LD, Astor BC, Coresh J. Risk implications of the new CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation compared with the MDRD Study equation for estimated GFR: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Kidney Dis*. 2010;55:648-59.
36. White SL, Polkinghorne KR, Atkins RC, Chadban SJ. Comparison of the prevalence and mortality risk of CKD in Australia using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study GFR estimating equations: the AusDiab (Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle) Study. *Am J Kidney Dis*. 2010;55:660-70.
37. Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 39: 89-104, 2002.
38. Chew JS, Saleem M, Florkowski CM, George PM. Cystatin C--a paradigm of evidence based laboratory medicine. *Clin Biochem Rev*. 2008 May;29(2):47-62.

39. Weinert LS, Prates AB, do Amaral FB, Vaccaro MZ, Camargo JL, Silveiro SP. Gender does not influence cystatin C concentrations in healthy volunteers. *Clin Chem Lab Med*. 2010 Mar;48(3):405-8.
40. Vinge E, Lindergård B, Nilsson-Ehle P, Grubb A. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999 Dec;59(8):587-92.
41. Grubb A. Non-invasive estimation of glomerular filtration rate(GFR). The Lund-model: Simultaneous use of cystatin C- and creatinine-based GFR-prediction equations, clinical data and internal quality check. *Scand J Clin Lab Invest*2010;70(2):65-70.
42. Delanaye P, Pieroni L, Abshoff C, Lutteri L, Chapelle JP, Krzesinski JM, Hainque B, and Cavalier E. Analytical study of three cystatin C assays and their impact on cystatin C-based GFR-prediction equations. *Clin Chim Acta* 2008;398:118-124.
43. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, Silveiro SP. Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations in healthy South Brazilians. *Am J Kidney Dis*. 2010 Jun;55(6):1162-3
44. Wiesli P, Schwegler B, Spinass GA, Schmid C. Serum cystatin C is sensitive to small changes in thyroid function. *Clin Chim Acta*. 2003 Dec;338(1-2):87-90.
45. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int*. 2003 May;63(5):1944-7.
46. Groesbeck D, Köttgen A, Parekh R, Selvin E, Schwartz GJ, Coresh J, Furth S. Age, gender, and race effects on cystatin C levels in US adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Nov;3(6):1777-85.
47. Li HX, Xu GB, Wang XJ, Zhang XC, Yang JM. Diagnostic accuracy of various glomerular filtration rates estimating equations in patients with chronic kidney disease and diabetes. *Chin Med J (Engl)* 2010;123(6):745-51.

48. Grubb A, Blirup-Jensen S, Lindström V, Schmidt C, Althaus H, Zegers I; IFCC Working Group on Standardisation of Cystatin C (WG-SCC). First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med*. 2010; 48(11):1619-21.
49. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, Froissart M, Kusek JW, Zhang YL, Coresh J, Levey AS. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int*. 2009 Mar;75(6):652-60.
50. Grubb A, Björk J, Nyman U, Pollak J, Bengzon J, Ostner G, Lindström V. Cystatin C, a marker for successful aging and glomerular filtration rate, is not influenced by inflammation. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011; 71(2):145-9.
51. Okura T, Jotoku M, Irita J, Enomoto D, Nagao T, Desilva VR, Yamane S, Pei Z, Kojima S, Hamano Y, Mashiba S, Kurata M, Miyoshi K, Higaki J. Association between cystatin C and inflammation in patients with essential hypertension. *Clin Exp Nephrol*. 2010; 14(6):584-8.
52. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int*. 2004 Apr;65(4):1416-21.

Tabela 1. Características clínicas dos 205 indivíduos.

---

Idade (anos)	46±15
Mulheres	108 (53)
Branco	175 (85)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27±4
Superfície corporal (m <sup>2</sup> )	1,8±0,15
PAS (mmHg)	120±16
PAD (mmHg)	75±11
Fumo	27 (14)

---

Dados expressos como média ± desvio-padrão ou número de casos (%).

IMC= índice de massa corporal; PAS= pressão arterial sistólica; PAD= pressão arterial diastólica

Tabela 2 – Viés, precisão, acurácia 30% (P30) das equações para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG).

	Viés	P30	Precisão
van Deventer	-38	36%	26
Tidman	-21	51%	50
Sjöstrom	-39	47%	52
Grubb	-40	43%	75
Tan	-4*	58%†	39
Larsson	-69	40%	89

Viés (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>): diferença entre a TFG medida e estimada; precisão: 1 desvio-padrão do viés; acurácia: percentagem de estimativa da TFG dentro de 30% (P30) do valor medido.

\* P<0,001 para Tan vs. as demais equações. †P<0,001 para Tan vs. as demais equações.

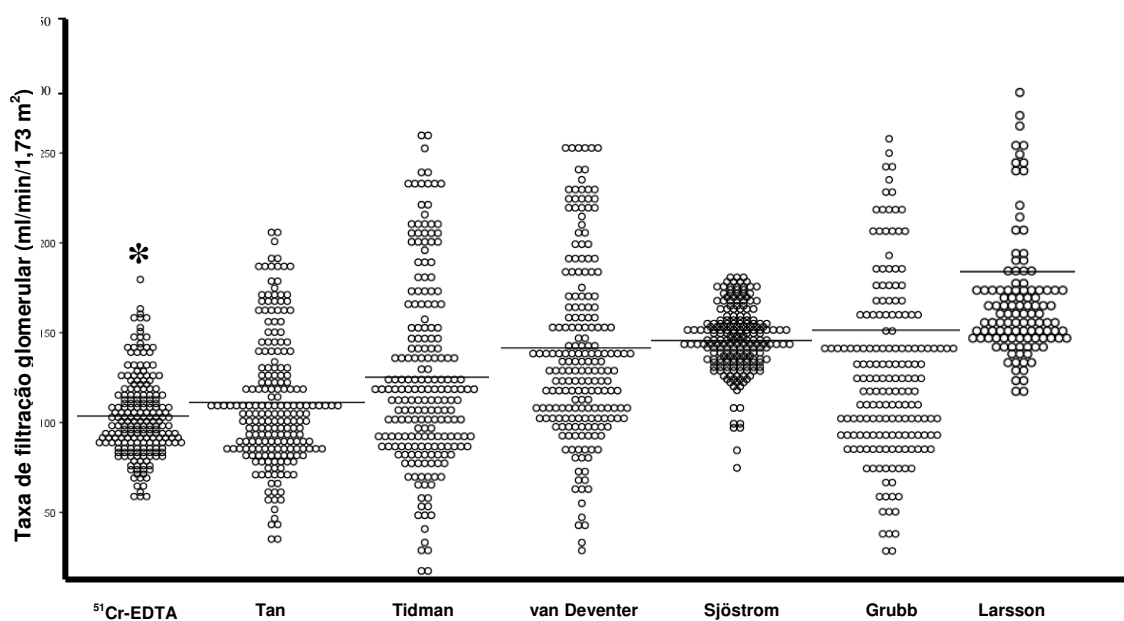


Figura 1 – Valores de taxa de filtração glomerular (TFG) em ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. TFG medida (<sup>51</sup>Cr-EDTA): 107±23; TFG estimada com equações: Tan 111±16, Tidman 128±49, Van Deventer 144±17, Sjöstrom 145±51, Grubb 146±76 e Larsson 176±88. \* P<0,001 para todas as comparações, exceto vs. Tan (P=0,129).

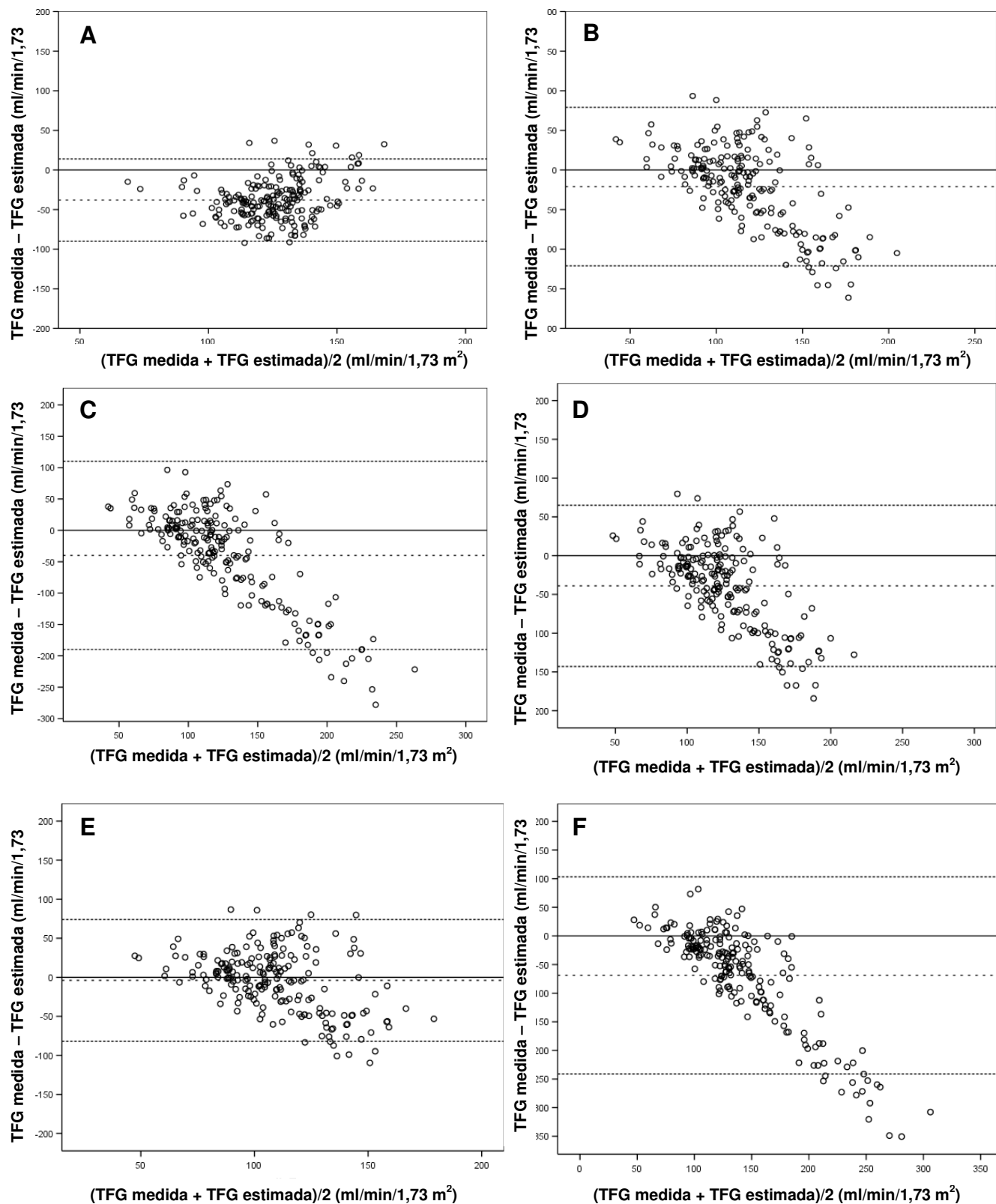


Figura 2 – Concordância de Bland-Altman em 205 indivíduos. (A) equação de van Deventer, (B) equação de Tidmanl, (C) equação de Grubb (D) equação de Sjöströml, (E) equação de Tan e (F) equação de Larssonl. Limites de concordância (intervalo de confiança de 95%): Van Deventer -38 (-44 a -31) a 14 (7 a 20); Tidman -120 (-131 a -108) a 77 (65 a 89); Sjöström -14 (-153 a -128) a 63 (51 a 76), Grubb -188 (-205 a -170) a 108 (90 a 126), Tan -80 (-90 a -71) a 72 (63 a 81) e Larsson -239 (-260 a -218) a 101 (80 a 122).



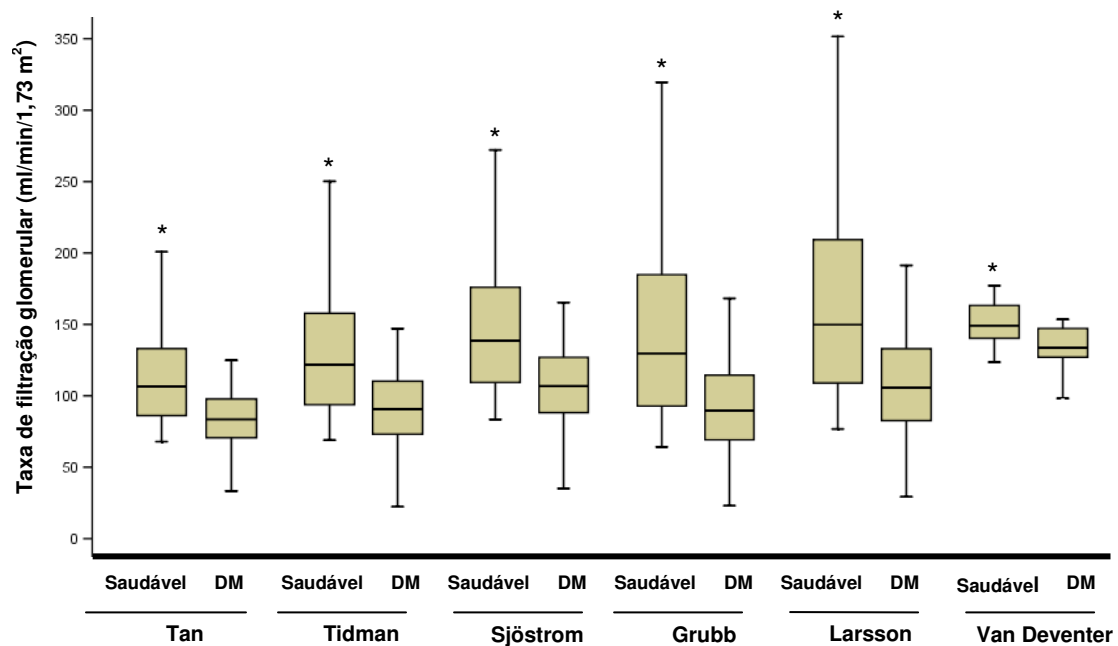


Figura 3 – Taxa de filtração glomerular estimada com equações baseadas na cistatina C nos indivíduos saudáveis (N=56) e nos pacientes com diabetes melito (N=55). \*P <0,001

CIP - Catalogação na Publicação

Guimarães Camargo, Eduardo

Estimativa da TFG com equações baseadas na creatinina e cistatina C séricas em pacientes com DM2 com e sem doença renal crônica. / Eduardo Guimarães Camargo. -- 2011.

89 f.

Orientadora: Sandra Pinho Silveiro.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. taxa de filtração glomerular. 2. diabetes. 3. CKD-EPI. 4. MDRD. 5. cistatina C. I. Pinho Silveiro, Sandra, orient. II. Título.