

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: ENDOCRINOLOGIA

**FERRAMENTAS PARA DETECÇÃO DA DOENÇA RENAL:  
VALORES DE REFERÊNCIA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR E  
DESEMPENHO DAS EQUAÇÕES DE ESTIMATIVA COM CREATININA E CISTATINA C  
SÉRICAS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

Tese de Doutorado

ARIANA AGUIAR SOARES

Porto Alegre, setembro de 2013.

### CIP - Catalogação na Publicação

Soares, Ariana Aguiar

FERRAMENTAS PARA DETECÇÃO DA DOENÇA RENAL:  
VALORES DE REFERÊNCIA DA TAXA DE FILTRAÇÃO  
GLOMERULAR E DESEMPENHO DAS EQUAÇÕES DE ESTIMATIVA  
COM CREATININA E CISTATINA C SÉRICAS EM INDIVÍDUOS  
SAUDÁVEIS / Ariana Aguiar Soares. -- 2013.  
85 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, 2013.

1. 51Cr-EDTA. 2. Taxa de Filtração Glomerular. 3.  
Creatinina. 4. Cistatina C. 5. CKD-EPI. I. Silveiro,  
Sandra Pinho, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
ENDOCRINOLOGIA

**FERRAMENTAS PARA DETECÇÃO DA DOENÇA RENAL:  
VALORES DE REFERÊNCIA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR E  
DESEMPENHO DAS EQUAÇÕES DE ESTIMATIVA COM CREATININA E CISTATINA C  
SÉRICAS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

Tese de Doutorado

Ariana Aguiar Soares

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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 Doutora em Endocrinologia.

Porto Alegre, setembro de 2013.

## AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Pinho Silveiro, por seu carinho, atenção e compreensão em todos os momentos, dedicação ao ensino, persistência com a pesquisa e sua capacidade de apaixonar-se pela ciência da forma mais pura e bela. Meu muito obrigada por todos esses anos de convívio partilhado, de risos e também de lágrimas. Foram muitos aprendizados, crescimento profissional e pessoal consequência da sua dedicação, amizade, compreensão e determinação.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Józia Lins Camargo que participou de todas as etapas para a conclusão desta tese, sempre com muita dedicação e disponibilidade para a execução dos métodos de análise para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada por sua atenção, amizade, carinho e pela maneira de transmitir seus conhecimentos que muito contribuíram para o meu crescimento.

Aos acadêmicos Alexandre Sauer da Silva, Larissa Petermann Jung e Maria Júlia de Almeida Rostirolla pela colaboração no desenvolvimento das tarefas e pelo tempo dispensado à pesquisa. Em especial agradeço à acadêmica Amanda Veiga Cheuiche por sua dedicação, seu empenho e sua colaboração durante os quatro anos de envolvimento e trabalho desta pesquisa com dedicação e afinco.

À amiga e mestranda Roberta Boff por sua disponibilidade no auxílio da execução de exames fundamentais para esta pesquisa, sua amizade e carinho.

Aos voluntários que participaram da pesquisa, pelo tempo dispensado, que são os responsáveis por todos os resultados obtidos.

Aos estatísticos Luciano Guimarães e Vânia Naomi Hirakata por sua disponibilidade, gentileza e boa vontade no decorrer das análises estatísticas.

Ao Serviço de Medicina Nuclear pela tolerância com os alunos durante a realização dos exames necessários para desenvolver esse trabalho, em especial ao Prof Dr Osmar Luiz Magalhães de Oliveira pelos seus ensinamentos para a correta execução do exame de taxa de filtração glomerular.

Ao Serviço de Endocrinologia e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia pela compreensão e apoio.

À secretária do Serviço de Endocrinologia Rosangela Fernandes Rodrigues por sua atenção, carinho e auxílio em todos os momentos.

Às amigas Alessandra Zucatti e Denise Alves Sortica por não medirem esforços na busca incansável por voluntários para a conclusão desta pesquisa.

Em especial à amiga Claudia Fertsch que desde o meu mestrado não mede esforços como voluntária na busca e confirmação de dados em prol da ciência.

Agradeço o carinho, o incentivo e a compreensão de todos os meus amigos, especialmente àqueles que além de palavras e apoio também doaram seu sangue para a conclusão deste projeto.

Ao meu marido, amigo, companheiro e parceiro de todas as horas, Robson Mano, agradeço toda a sua atenção, incentivo, compreensão, amor e carinho que foram essenciais para o meu crescimento e para o êxito desta tese.

Aos meus pais, Antonio Carlos e Maria das Graças, meu muito obrigada pelo amor e pela confiança.

## SUMÁRIO

Resumo .....	06
<b>Introdução .....</b>	<b>07</b>
 <u>Capítulo 1</u>	
<b>Reference values for glomerular filtration rate in healthy Brazilian adults .....</b>	<b>27</b>
 <u>Capítulo 2</u>	
<b>Desempenho das equações de estimativa da taxa de filtração glomerular empregando creatinina e cistatina C séricas em indivíduos saudáveis .....</b>	<b>45</b>
 <u>Capítulo 3</u>	
<b>Low rates of automatic reporting of estimated glomerular filtration rate in Southern Brazilian laboratories .....</b>	<b>70</b>
Considerações Finais .....	84

## Resumo

De acordo com os dados do *Global Burden of Disease* de 2010, a doença renal crônica (DRC) é a 18ª causa de morte no mundo e nos Estados Unidos, as doenças renais em geral representam a 9ª causa de morte. Dessa forma constitui-se em um problema de saúde pública mundial. O diabetes e a hipertensão são as principais causas de DRC e de ingressos em diálise.

A DRC é definida como a presença de anormalidades de estrutura ou função renal durante três meses ou mais, com implicação à saúde. São marcadores de dano renal: albuminúria (índice albumina/creatinina  $\geq 30$  mg/g) ou concentração de albumina  $\geq 17$  mg/L ou anormalidades do sedimento urinário, indicativas de doença tubular, alterações detectadas por histologia, por imagem e ainda, história de transplante renal ou presença de redução da função renal (taxa de filtração glomerular  $< 60$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>). A taxa de filtração glomerular (TFG) é aceita globalmente como o melhor indicador de função renal.

As diretrizes atuais recomendam que a classificação da doença renal crônica deva levar em conta o diagnóstico clínico, os níveis da taxa de filtração glomerular (TFG) – estimada com equações que incluem creatinina e/ou cistatina C e relatadas automaticamente nos laudos de creatinina - e o estágio de albuminúria do paciente.

Com o propósito de validar ferramentas para detecção da doença renal, a presente tese foi dividida em 4 seções: na introdução foram revisados os aspectos epidemiológicos da doença renal crônica, sua definição e classificação além da descrição dos principais métodos relacionados à sua detecção, no capítulo 1 o objetivo foi de definir valores de referência da TFG em adultos saudáveis, estratificando por faixa etária, levando em consideração o gênero e a etnia; no capítulo 2, o objetivo foi de avaliar a acurácia das equações CKD-EPI creatinina, CKD-EPI cistatina C e CKD-EPI combinada de creatinina-cistatina C para estimar a TFG em comparação com a TFG medida com <sup>51</sup>Cr-EDTA em uma população de adultos saudáveis e, por fim, no capítulo 3, realizar uma avaliação para identificar os métodos utilizados para a medida da creatinina sérica nos laboratórios do estado do Rio Grande do Sul, avaliando a proporção de laboratórios que relatam a TFG estimada a partir da solicitação da dosagem da creatinina.

Como resultados, os valores de referência da TFG foram definidos de acordo com a faixa etária, sendo a média $\pm$ 2DP de 76 a 148 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> para indivíduos abaixo de 45 anos e de 68 a 128 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> para indivíduos acima de 45 anos. As equações de estimativa da filtração glomerular tenderam a subestimar a filtração medida sendo o pior desempenho observado com as equações que incluem cistatina C nos indivíduos com mais de 45 anos. O relato automático da estimativa da TFG pelos laboratórios de análises clínicas do Rio Grande do Sul foi apenas de 9,8% do total dos laboratórios cadastrados no Conselho Regional de Farmácia.

Em conclusão, a idade, mas não o gênero, deve ser levada em conta para calcular valores de referência da TFG. Em indivíduos saudáveis, a equação de estimativa da TFG baseada na creatinina mostrou-se superior às equações que empregam cistatina C, sendo necessários estudos adicionais para avaliar a performance das equações de estimativa da TFG. Finalmente, o relato automático da estimativa da TFG no laudo da creatinina sérica não é uma prática usual nos laboratórios sul-brasileiros.

## Introdução

A doença renal crônica (DRC) é um problema de saúde pública mundial que afeta cerca de 10% (20 milhões) da população americana adulta e estima-se que a maioria seja não identificada (1). De acordo com os dados do *Global Burden of Disease* de 2010, a DRC foi a 18ª causa de morte no mundo (2) e nos Estados Unidos, as doenças renais em geral representam a 9ª causa de morte (1).

O espectro da DRC vai desde alterações na excreção urinária de albumina (EUA) até a falência renal, necessitando de diálise, ou transplante. Se não tratada, a doença renal pode progredir para doença renal terminal (DRT) e morte cardiovascular prematura. No Brasil, o número estimado de pacientes em tratamento dialítico vem crescendo – em 2000 eram 42.695, sendo que esse número aumentou para 97.586 em 2012 (3). Em 2012, 64% dos pacientes que realizaram diálise no Brasil tinham entre 19 e 64 anos, portanto em plena fase produtiva em termos profissionais (3).

Nos Estados Unidos assim como no Brasil, o diabetes e a hipertensão são as principais causas de doença renal terminal e ingressos em diálise (1,3). Em 2012, hipertensão era o diagnóstico de base de 34% dos pacientes em diálise no nosso país, enquanto que diabetes era a doença de base de 28,5% (3). A DRC, além de atingir uma grande parcela da população em geral, é especialmente prevalente entre a população diabética. Em um estudo recente, enquanto somente 9,4% dos indivíduos não-diabéticos apresentavam algum grau de DRC, esta estava presente em 42,3% dos pacientes diabéticos (4). Dados do relatório anual americano corroboram os achados, apontando presença de DRC em 14% da população geral e em 40% dos diabéticos (1).

As diretrizes elaboradas pela *National Kidney Foundation* (NKF) americana geraram modificações em diversos níveis da atenção em saúde voltada aos doentes renais, chamando atenção à importância da detecção da DRC e sugerindo o desenvolvimento de estratégias para seu controle.

As primeiras diretrizes de prática clínica para a avaliação e classificação da DRC foram introduzidas em 2002 pela *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (KDOQI). Em 2004, o *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) adotou, com pequenas modificações, as recomendações do KDOQI em suas diretrizes. As atuais diretrizes do KDIGO, resultantes do processo de revisão, foram publicadas em janeiro de 2013 e trouxeram modificações importantes em relação às diretrizes anteriores (5).



## DEFINIÇÃO DE DOENÇA RENAL CRÔNICA

A DRC é definida como a presença de anormalidades de estrutura ou função renal durante três meses ou mais, com implicação à saúde. São marcadores de dano renal: albuminúria (índice albumina/creatinina  $\geq 30$  mg/g) (5) ou concentração de albumina  $\geq 17$  mg/L (6) ou anormalidades do sedimento urinário, indicativas de doença tubular, detectadas por histologia, por imagem e ainda, história de transplante renal ou presença de redução da função renal (taxa de filtração glomerular  $< 60$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) (5).


A taxa de filtração glomerular (TFG) é aceita globalmente como o melhor indicador de função renal. Já o dano renal se refere a uma ampla gama de anormalidades observadas no decorrer da avaliação clínica que podem preceder alterações na TFG.

Recentemente a classificação de DRC foi atualizada (Tabela 1), com base em uma meta-análise que incluiu 45 estudos com um total de 1.555.332 participantes e avaliou o valor preditivo da TFG e da excreção urinária de albumina (EUA) para desfechos renais e mortalidade (7). Dessa forma, a nova proposta reúne os valores de TFG da classificação anterior, incluindo mais um estágio de faixa de TFG (estágio 1:  $\geq 90$ , 2: 60-89, 3a: 45-59, 3b: 30-44, 4: 15-29 e 5:  $< 15$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) e também agrega as já definidas categorias de EUA ( $< 30$ , 30-300 e  $> 300$  mg/g) (Figura 1). Além disto, passa a enfatizar o diagnóstico clínico relacionado à etiologia da DRC (diabetes, hipertensão arterial, doença glomerular, outras causas, transplante e causa desconhecida). Assim, deve ser lembrado que na avaliação da DRC é necessário sempre considerar as combinações considerando a TFG, o valor da EUA e diagnóstico da doença renal, o que pode ter implicações clínicas relevantes no manejo dos pacientes (5).

**Tabela 1. Classificação da doença renal crônica (DRC) levando em conta o diagnóstico da doença de base, o valor da taxa de filtração glomerular e da excreção urinária de albumina.**

Diagnóstico Clínico	Estágios TFG (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	Estágios de Albuminúria (mg/g)
Diabetes	1. $> 90$	1. $< 30$
Hipertensão arterial	2. 60-90	2. 30-299
Doença glomerular	3a. 45-59	3. $> 300$
Outras causas	3b. 30-44	
Transplante	4. 15-29	
Desconhecida	5. $< 15$	

Adaptada de Kidney Int Suppl 2013. (5)

 <b>Prognóstico da DRC por TFG e</b> <b>Categorias Albuminúria: KDIGO</b> <b>2012</b>				Categorias de Albuminúria Persistente		
				Descrição e faixas		
				A1	A2	A3
				Normal, levemente aumentada	Moderadamente aumentada	Severamente aumentada
<30 mg/g < 3mg/mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	>300 mg/g >30 mg/mmol				
Categorias TFG (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) Descrição e faixa	G1	Normal ou alta	≥90			
	G2	Levemente diminuída	60-89			
	G3a	Levemente e moderadamente diminuída	45-59			
	G3b	Moderada e severamente diminuída	30-44			
	G4	Severamente diminuída	15-29			
	G5	Insuficiência Renal	<15			

Adaptada de Kidney Int Suppl 2013. (5)

**Figura 1. Classificação da doença renal crônica de acordo com valores de taxa de filtração glomerular (TFG) e albuminúria estratificadas conforme o risco de mortalidade (cores de alerta).**

## DETECÇÃO DA DOENÇA RENAL CRÔNICA

### Taxa de Filtração Glomerular

O melhor índice para avaliação da função renal é a TFG, fundamental para realizar o diagnóstico, estadiamento e avaliação de resposta das nefropatias ao tratamento.

#### **Avaliação da TFG (TFG medida VS. TFG estimada)**

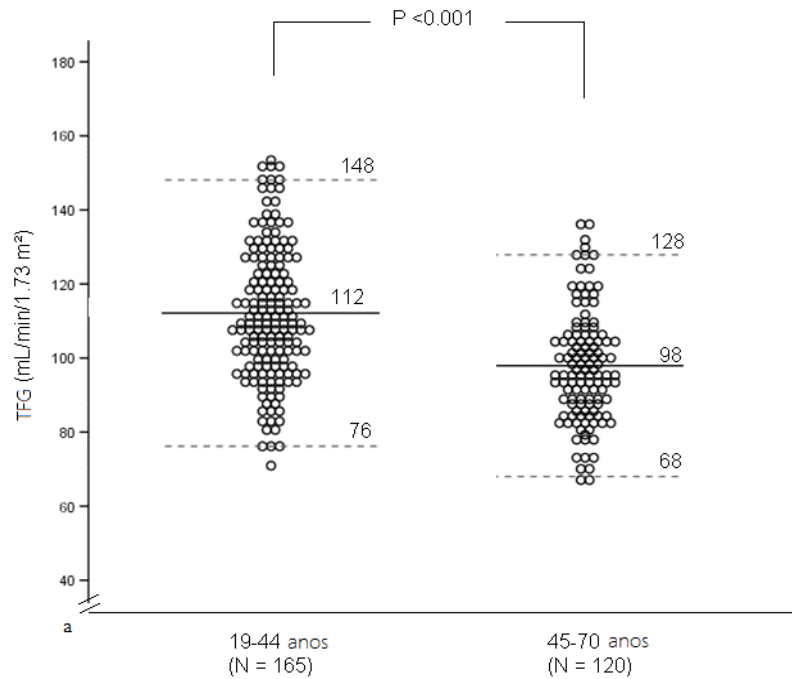
A melhor maneira de medir a TFG é usar um marcador que tenha uma taxa de produção constante, que seja livremente filtrado, não reabsorvido e nem secretado pelos túbulos renais e nem metabolizado ou eliminado por vias extrarrenais (8). Esta avaliação mais precisa da TFG é possível pela determinação da depuração de substâncias exógenas como a inulina, iotalamato-<sup>125</sup>I, <sup>51</sup>Cr-EDTA, <sup>99</sup>Tc-DTPA ou ioexol. A inulina, um polímero de frutose, é fisiologicamente inerte, não se liga a proteínas plasmáticas e preenche todos os critérios para um marcador ideal da TFG. Outro marcador, o iohexol, um contraste

radiológico, apresenta alta correlação com inulina. O iotalamato, também um contraste radiológico, tende a superestimar a depuração em comparação com inulina. O  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  é um método amplamente utilizado, sendo sua radiação inferior a de uma radiografia torácica, mostrando correlação de cerca de 97% com a inulina. No entanto, esses métodos possuem um custo não desprezível e requerem tempo considerável para sua execução (cerca de 4 h), necessitam condições especiais de descarte se radioativos e, portanto, têm sido utilizados em condições restritas, como apresentado na Tabela 2 (9). Deve ser sempre levado em conta que sabidamente os valores de TFG declinam com a idade (Figura 2) (10,11).

**Tabela 2. Situações clínicas onde deve ser realizada a medida da taxa de filtração glomerular (TFG) com marcadores exógenos.**

<b>Indicações para medida de TFG</b>
Extremos de idade e tamanho corporal
Desnutrição grave ou obesidade
Paraplegia ou quadriplegia
Avaliação pré-doação de rim
Dieta Vegetariana
Antes de uso prolongado de medicamentos nefrotóxicos

Adaptado de Stevens et al. J Am Soc Nephrol 2009. (9)



Adaptado de Soares et al. BMC Nephrology 2013. (10)

**Figura 2. Valores de referência da taxa de filtração glomerular (TFG) por faixa etária.**

Face às restrições para os métodos de TFG medida com marcadores exógenos, os métodos mais comumente utilizados para estimar a TFG são a medida da concentração da creatinina sérica ou estimativa da TFG com equações baseadas na creatinina sérica.

A creatinina é livremente filtrada pelo glomérulo e não reabsorvida nem metabolizada pelo rim e é fisicamente inerte. Entretanto, aproximadamente 10% a 40% da creatinina urinária é derivada da secreção no túbulo proximal, sendo mais significativa quanto mais baixa a TFG (12). Outra limitação importante é que a creatinina não é um método sensível para a detecção de pequenos e/ou rápidos decréscimos na TFG. Além disso, como é produzida a partir da desidratação não-enzimática da creatina e fosfocreatina do músculo, sua geração é diretamente proporcional à massa muscular, que varia de acordo com a idade, sexo e etnia, ainda sendo afetada por condições que causam perda muscular. Adicionalmente apresenta a desvantagem de que a concentração de creatinina pode aumentar até 20%, devido à influência de outras substâncias, tais como glicose, cetoácidos, proteína ou drogas (Tabela 3) (8,12).

**Tabela 3. Fatores que interferem na medida da creatinina sérica.**

<p><b>Aumentam a concentração da creatinina sérica</b></p> <p>Sexo masculino</p> <p>Aumento de massa muscular</p> <p>Hiperglicemia</p> <p>Cetose</p> <p>Drogas (cimetidina, trimetropim)</p> <p><b>Reduzem a concentração de creatinina sérica</b></p> <p>Idade avançada</p> <p>Cirrose</p> <p>Doença neuromuscular</p> <p>Amputação</p> <p>Desnutrição</p> <p>Hiperbilirrubinemia</p>
--

Adaptado de Soares et al. Clin Chem Lab Med 2009. (7)

Um fator importante na dosagem da creatinina é a variabilidade decorrente da calibração do método. Este fator pode introduzir erros sistemáticos na estimativa da TFG com fórmulas, especialmente para os indivíduos com função renal normal. Diretrizes internacionais têm enfatizado a importância do uso de métodos rastreáveis de creatinina, ou seja, métodos equiparados pelo fabricante a padrões de referência internacionais (informação disponível na bula do kit). A maioria dos métodos de medida da creatinina são variações não específicas da reação de Jaffe. Em uso há mais de 80 anos, sua principal vantagem é a sua simplicidade, mas os fatores descritos acima devem ser considerados. O método enzimático tem surgido como proposta alternativa ao uso do método de Jaffe, tendo sido demonstrada menor interferência analítica com esse método (13). No entanto, nenhum método está completamente isento de interferências e em algumas circunstâncias, como no DM, ambos os métodos parecem sofrer influência da hiperglicemia (14,15).

Atualmente existem forças-tarefa para promover a harmonização da creatinina entre laboratórios, sempre em comparação a padrões internacionais de referência (rastreadabilidade).

### **Fórmulas para estimar TFG**

A equação de Cockcroft-Gault (CG) estima a função renal utilizando creatinina sérica, idade, sexo e peso (Tabela 4). Foi desenvolvida em 1976, em 249 pacientes hospitalizados (4% mulheres), com o ajuste para mulheres baseado teoricamente em massa muscular 15% menor (16). Por causa da inclusão do peso na fórmula, a equação superestima a depuração da creatinina em pacientes obesos. Além disso, como se correlaciona com a depuração da creatinina endógena, normalmente superestima a TFG, devido à ocorrência de secreção tubular de creatinina (17).

No final dos anos 90, o grupo MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) desenvolveu uma fórmula baseada em dados de 1628 pacientes com DRC. A fórmula utiliza os dados: idade, sexo, etnia e creatinina para estimar TFG em mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (Tabela 4). Vários estudos têm demonstrado que a equação MDRD tem melhor desempenho do que a equação de CG (8,18,19).

A falta de padronização na medida de creatinina é uma questão importante na validação de fórmulas. A variabilidade dos métodos de creatinina entre laboratórios pode resultar em erros de até 20% na TFG estimada com o erro mais pronunciado em indivíduos com níveis de creatinina normais (12). A equação MDRD foi modificada para empregar métodos de creatinina rastreáveis. No entanto, apesar das melhorias na calibração, a equação MDRD ainda parece subestimar TFG >90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (20,21) Uma nova proposta de equação – a CKD-EPI (*Chronic Kidney disease Epidemiology*) - analisou 8.254 indivíduos para o desenvolvimento da equação, e 3.896 participantes para validar os dados, incluindo todo o espectro da função renal (22). Uma regressão linear foi gerada para estimar a TFG levando em conta concentrações de creatinina, gênero, etnia e idade. A equação CKD-EPI desempenhou melhor do que a equação de estudo MDRD, especialmente em TFGs na faixa de normalidade, com menos viés (diferença média entre os valores de TFG medida e estimada), e maior acurácia (percentagem de TFG estimada dentro de 30% da TFG medida). Essa nova equação deverá substituir a MDRD em uso clínico de rotina, embora tenhamos observado limitações como a subestimativa dos valores de TFG em pacientes com DM (21).

A recomendação atual é de que todos os laboratórios ao receberem solicitação para dosagem de creatinina sérica devam calcular e liberar a TFG estimada pelas equações MDRD e CKD-EPI (5,9). Se não for liberado nos laudos, o cálculo da TFG pode ser obtido em sites de calculadoras ([www.kidney.org](http://www.kidney.org)).

**Tabela 4. Equações empregadas para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG).**

<b>Estimativa da TFG: equações</b>
<p><b>Cockcroft-Gault</b></p> <p>TFG (mL/min) = (140 – idade) x peso/(72 x creatinina) x 0,85(mulher)</p>
<p><b>MDRD (<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>)</b></p> <p>TFG (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) = 186 x (Cr)<sup>-1,154</sup> x (idade)<sup>-0,203</sup> x 1,212(negro) x 0,742(mulher)</p>
<p><b>MDRD re-expressa (creatinina calibrada)</b></p> <p>TFG (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) = 175 x (Cr)<sup>-1,154</sup> x (idade)<sup>-0,203</sup> x 1,212(negro) x 0,742(mulher)</p>
<p><b>CKD-EPI (<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>)</b></p> <p>TFG (mL/min/1,73m<sup>2</sup>) = 141 x min(Cr/k, 1)<sup>α</sup>x max(Cr/k, 1)<sup>-1,209</sup> x 0,993<sup>idade</sup> x 1,018(mulher) x 1,159(negro)</p>

Adaptado de Soares et al. Clin Chem Lab Med 2009. (8)

### **Cistatina C**

Face às limitações das fórmulas que empregam a creatinina sérica (especialmente subestimativa), recentemente outro composto endógeno, a cistatina C, tem sido investigado e se mostrado promissor como marcador da TFG.

A cistatina C, proteína de baixo peso molecular, é produzida por todas as células nucleadas e seu ritmo de produção é constante. A cistatina C é livremente filtrada pelo glomérulo e primariamente catabolizada pelos túbulos, de tal forma que como molécula intacta não é reabsorvida nem secretada pelos túbulos. Os níveis plasmáticos da cistatina C aumentam mais precocemente do que a creatinina quando há queda da TFG, sugerindo que a sua medida da pode ser importante na prática clínica para se detectar a insuficiência renal inicial que acontece em uma série de doenças para as quais um tratamento precoce é crítico.

A cistatina C pode ser medida por métodos turbidimétricos ou nefelométricos. Em comparação com a creatinina sérica, são métodos de maior custo e que ainda necessitam

de padronização. No entanto, a implementação de calibradores para padronização de medida da cistatina C está em curso, sendo recomendado o uso de um padrão de referência internacional que permita harmonização plena (23). Os valores de referência são de 0,5-1,0 mg/L, e tendem a ser mais baixos na presença de hipotireoidismo e mais elevados no hipertireoidismo (24).

Uma meta-análise recente concluiu que a cistatina C sérica é mais sensível do que a creatinina sérica para detectar perda de função renal, porém é menos específica (25).

A cistatina C está sendo considerada como um substituto potencial para a creatinina no soro, pois não sofre influência da massa muscular. Logo, parece ser um marcador útil para a função renal em idosos. Nesse sentido, uma vantagem adicional da cistatina C é de que ela também não é afetada pela diferença de massa muscular gerada pelo gênero, como ocorre com a creatinina, e não sofre, portanto, influência do sexo (24,26).

Um estudo recente demonstrou uma forte associação da cistatina C e mortalidade, fortalecendo a utilidade de novos marcadores de taxa de filtração glomerular, que, além de aperfeiçoar a detecção precoce e sensível na redução da TFG, também são preditores de eventos cardiovasculares e mortalidade (27). Especificamente no DM, a cistatina C parece ser um preditor mais acurado de insuficiência renal terminal (28) e de eventos cardiovasculares (29).

Várias equações que utilizam cistatina C para estimar a TFG têm sido desenvolvidas (24). Estas geralmente apresentam uma acurácia melhor para estimar a TFG, com menor viés e maior habilidade para identificar pacientes com  $TFG < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ , quando comparadas com as equações que usam a creatinina sérica (30).

A cistatina C sofre menor influência da variação étnica quando comparada à creatinina (31). Portanto, nenhum fator de correção para etnia foi incorporado às equações que utilizam esse marcador, mas o desempenho dessas fórmulas ainda precisa ser avaliado em estudos com diferentes populações.

É sabido que a TFG reduz com o avanço da idade (10,11,32). Em um estudo recente, a taxa de declínio anual relacionada à idade da TFG estimada pela creatinina sérica usando a equação MDRD foi de  $0,76 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ , com a CKD-EPI de  $0,99 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  e com uma fórmula usando cistatina C foi  $1,24 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  (33). O declínio foi mais acentuado com a fórmula usando cistatina C em comparação às equações com creatinina, em parte devido à redução da massa muscular com o aumento da idade, mascarando o declínio da TFG relacionado ao envelhecimento, resultando em uma menor concentração plasmática de creatinina e, conseqüentemente, TFG estimada maior.



Duas novas equações para a estimativa da TFG – uma usando cistatina C isolada e outra usando cistatina C combinada com creatinina – foram recentemente propostas, apresentando resultados promissores (Tabela 5) (34). Essa equação combinada ainda não foi avaliada em indivíduos com DM especificamente.

Uma metanálise recente que avaliou mais de 90.000 indivíduos mostrou que o uso de cistatina C na estimativa da TFG fortaleceu as associações entre as categorias de TFG estimada e o risco de morte e de doença renal terminal (30). O risco de morte era maior quando os resultados das fórmulas usando cistatina C e a combinação de cistatina C e creatinina eram menores que um valor ao redor de 85 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Esse mesmo estudo analisou também cinco coortes de pacientes com doença renal crônica (2960 participantes), encontrando associações mais lineares com o risco de morte quando foram usadas fórmulas combinadas ou com cistatina C em comparação às equações com creatinina (30).

**Tabela 5. Equações de estimativa da taxa de filtração glomerular baseadas simultaneamente na creatinina e cistatina séricas.**

<b>CKD-EPI Equação Combinada Creatinina-Cistatina C</b>		
<b>Creatinina</b>	<b>Cistatina C</b>	<b>Equação CKDEPI creatinina-cistatina (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>)</b>
<b>Mulher</b> ≤0,7	≤0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,248} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
	>0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,248} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
<b>Mulher</b> >0,7	≤0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,601} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
	>0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,601} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
<b>Homem</b> ≤0,9	≤0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,207} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
	>0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,207} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
<b>Homem</b> >0,9	≤0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,601} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
	>0,8	$130 \times (\text{Scr}/0,7)^{-0,601} \times (\text{Scis}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x1,08 negro)
(Scr=creatinina sérica / Scis=cistatina C sérica)		

Adaptado de Inker et al. N Engl J Med 2012. (34)

## **Albuminúria**

A albumina é a principal proteína plasmática eliminada na urina em algumas nefropatias, como na doença renal do diabetes e hipertensão arterial. Dentre os diversos motivos que embasam a recomendação do uso da EUA em detrimento da proteinúria, possibilitando uma avaliação com maior sensibilidade e especificidade, é que existe elevação da excreção urinária de albumina (EUA) antes de haver aumento na proteinúria total (35). Ainda, aumentos leves da EUA já são marcadores de risco para presença de doença cardiovascular. Por outro lado, a albuminúria não é um preditor absoluto de progressão da ND, já que muitos pacientes com EUA elevada não evoluem inexoravelmente para perda de função renal, limitando sua especificidade como marcador evolutivo. Ainda, alguns pacientes apresentam diminuição da TFG na presença de EUA normal, sinalizando possivelmente a presença de subtipos de nefropatia (36). Finalmente, algumas modalidades terapêuticas que reduzem a EUA não são acompanhadas de proteção renal em termos de preservação da TFG, o que questiona o valor da EUA como indicador de lesão renal. De qualquer forma, embora se busquem marcadores mais sensíveis de ND, a EUA ainda é o marcador disponível mais empregado. Em futuro próximo, análises de proteoma urinário (perfil de todos os peptídeos urinários presentes na urina) poderão revelar de forma mais precoce os pacientes candidatos à progressão mais desfavorável da doença renal (37).

### **Classificação**

A classificação da DRC proposta nas atuais diretrizes do KDIGO define três estágios de albuminúria: normal (A1), alta (A2) e muito alta (A3) (5). Os estágios A1, A2 e A3 correspondem, respectivamente, às definições prévias de normoalbuminúria, microalbuminúria e macroalbuminúria (proteinúria), cuja nomenclatura não é mais recomendada. Os valores referentes às categorias encontram-se na Tabela 6.

**Tabela 6. Valores de albumina utilizados para o diagnóstico e classificação da nefropatia diabética.**

Estágio	Urina de 24 horas	Amostra casual de urina	
		Concentração de albumina	Índice albumina/creatinina
A1	<30 mg/24h	<17 mg/L	<30 mg/g
A2	30 a 299 mg/24h	17 a 173 mg/L	30 a 299 mg/g
A3	≥300 mg/24h	≥174 mg/L	≥300 mg/g

Adaptado de Kidney International Supplements (2013) (5) e Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2013 (38).

A recente adição do estadiamento da albuminúria à classificação da DRC baseada na TFG é reflexo do acúmulo de evidências observado nos últimos anos indicando sua importância como preditor de desfechos cardiovasculares e marcador prognóstico (39-41). Numerosos estudos identificaram associações entre níveis elevados de albuminúria e maiores taxas de mortalidade, progressão da DRC e desenvolvimento de DRC terminal, independentemente do nível de função renal apontado pela TFG. A compreensão da albuminúria e da TFG como fatores de risco independentes e complementares para mortalidade tem sido reforçada ao longo dos anos (4,42).

O risco associado à albuminúria está presente em todas as categorias de TFG e é contínuo: aumenta gradualmente à medida que aumenta a albuminúria, mesmo em níveis classificados como normais (43). Apesar da impossibilidade de definir valores limiares de albuminúria para a estratificação do risco, o uso de categorias foi escolhido com o objetivo de simplificar seu emprego na prática clínica.

### **Avaliação da albuminúria**

O procedimento recomendado para a avaliação de rotina da EUA é a medida da albumina em amostra isolada de urina (6). Diversos motivos embasam essa recomendação, sendo os principais a facilidade de seu uso, o custo acessível e a acurácia diagnóstica satisfatória. É preferível que a amostra de urina coletada seja a primeira urina da manhã, pois apresenta menor variabilidade intraindividual e boa correlação à excreção proteica em 24h; entretanto, se tal amostra não estiver disponível, uma amostra casual de urina é também aceita para a medida da albuminúria (6)

Há duas formas preconizadas para a expressão da medida da albumina em amostra de urina: concentração de albumina e índice albumina/creatinina. Ambas formas apresentam

vantagens e desvantagens que devem ser analisadas e contrabalançadas levando-se em conta o contexto clínico de cada paciente e a estrutura dos serviços de saúde implicados em seu cuidado.

O índice albumina/creatinina considera as medidas de albumina e creatinina urinárias no intuito de corrigir possíveis efeitos da hidratação (concentração da urina) na avaliação da EUA. Como a quantidade de creatinina excretada ao longo de um dia é praticamente constante, sua concentração se altera em proporção a alterações na densidade da urina, podendo ser usada como parâmetro para o ajuste da albuminúria ao grau de hidratação da urina coletada. O emprego do índice reduz a variabilidade intraindividual nas medidas de EUA em relação à concentração de albumina (44).

No entanto, sabe-se que a produção e a consequente excreção de creatinina são proporcionais à massa muscular do paciente, que varia de acordo com idade, sexo, etnia e outros diversos fatores. Assim, embora compense alterações na albuminúria que se devam à hidratação, a inclusão da creatinina urinária no índice adiciona variabilidade relacionada à composição corporal individual, podendo mascarar ou induzir a presença de DRC. Apesar das limitações que apresenta, o índice albumina-creatinina é importante para pacientes com albuminúria muito alta e TFG baixa, pois parece ter mais acurácia que a concentração de albumina nesses casos (45).

A concentração de albumina é um exame de menor custo e que não apresenta redução de acurácia diagnóstica em relação ao índice albumina/creatinina, mesmo sofrendo influência da concentração da amostra de urina (6). Tem boa sensibilidade e especificidade para a identificação de níveis baixos de albuminúria e pode ser facilmente solicitado, constituindo a indicação atual para a avaliação de rotina da EUA nas diretrizes nacionais (38).

A albuminúria sofre variações diárias e mostra alta variabilidade mesmo em indivíduos saudáveis. Na presença de valores alterados de EUA, é importante que seja feita a confirmação do teste em pelo menos 2 de 3 coletas de urina em um período de 3 a 6 meses (6, 8, 38). Nos casos de rastreamento negativo, recomenda-se repetir a investigação anualmente. Se identificada a presença de ND, é recomendado que o acompanhamento seja realizado com maior frequência, proporcionalmente à categoria de DRC em que o paciente se encontra, tendo como objetivo monitorizar a resposta ao tratamento e a progressão da ND.

Dentre os métodos laboratoriais disponíveis para a medida da EUA, os mais amplamente utilizados são a imunonefelometria, a imunoturbidimetria e o radioimunoensaio,

que têm como mecanismo a detecção da albumina imunorreativa. Os métodos apresentam excelente correlação entre si e são bem estabelecidos na literatura. Estudos mais recentes têm mostrado que o método HPLC (*high performance liquid chromatography*) é capaz de detectar a fração não-imunorreativa da albumina, uma porção que não é detectada pelos métodos convencionais e que poderia estar relacionada ao risco renal e cardiovascular presente mesmo em baixos níveis de EUA; entretanto, é importante ressaltar a ausência de estudos que forneçam evidência da veracidade das hipóteses levantadas ou da importância clínica da fração não-imunorreativa da albumina.

Condições que aumentam a EUA incluem hematúria, menstruação, febre, exercício vigoroso nas 24h anteriores, mau controle glicêmico ou pressórico e insuficiência cardíaca descompensada. Infecção urinária não é mais considerada interferente. Nas outras situações é recomendado que se evite o rastreamento da albuminúria.

Em conclusão, de acordo com as atuais recomendações do KDIGO, a classificação da DRC deve ser baseada na causa da alteração renal, na categoria da TFG e na categoria da albuminúria. O propósito do estadiamento inclui determinar o prognóstico e guiar o manejo dos pacientes portadores de DRC. A nova classificação, que abrange causa e severidade do dano renal, permite a descrição mais completa da DRC e dos riscos associados; pode ser utilizada com diversas finalidades, como a identificação da necessidade de encaminhamento a um nefrologista, a indicação de intervenções terapêuticas específicas ao caso em questão ou a escolha da frequência com que deve ser realizado o monitoramento da função renal ao longo do tempo. Além disso, a classificação constitui uma ferramenta importante a ser empregada no estudo da epidemiologia, da história natural e do prognóstico da DRC.

### **Comentários finais**

A doença renal crônica (DRC) é definida como a presença de anormalidades de estrutura ou função renal durante três meses ou mais, com implicação à saúde. São marcadores de dano renal: albuminúria (índice albumina/creatinina  $\geq 30$  mg/g) ou concentração de albumina  $\geq 17$  mg/L ou anormalidades do sedimento urinário, indicativas de doença tubular, detectadas por histologia, por imagem e ainda, história de transplante renal ou presença de redução da função renal (taxa de filtração glomerular [TFG]  $< 60$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>).

De acordo com as atuais recomendações do KDIGO, a classificação da DRC deve ser baseada na causa da alteração renal, na categoria da TFG e na categoria da albuminúria. Dessa forma, a nova proposta reúne os valores de TFG da classificação anterior, incluindo

mais um estágio de faixa de TFG (estágio 1:  $\geq 90$ , 2: 60-89, 3a: 45-59, 3b: 30-44, 4: 15-29 e 5:  $< 15$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) e também agrega as já definidas categorias de EUA ( $< 30$ , 30-300 e  $> 300$  mg/g). Além disto, passa a enfatizar o diagnóstico clínico relacionado à etiologia da DRC (diabetes, hipertensão arterial, doença glomerular, outras causas, transplante e causa desconhecida). Assim, deve ser lembrado que na avaliação da DRC é necessário sempre considerar as combinações considerando a TFG, o valor da EUA e diagnóstico da doença renal, o que pode ter implicações clínicas relevantes no manejo dos pacientes. Além disso, a classificação constitui uma ferramenta importante a ser empregada no estudo da epidemiologia, da história natural e do prognóstico da DRC.

Os métodos mais comumente utilizados para estimar a TFG são a medida da concentração da creatinina sérica inserida em equações que também levam em conta a idade, gênero e etnia do indivíduo, tal como a equação CKD-EPI e MDRD.

Esforços crescentes têm sido empregados para difundir a importância do rastreamento da DRC e para validar métodos e implementar as melhores estratégias para alcançar esse objetivo.

## Referências

1. U.S. Renal Data System, USRDS 2012 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, 2012.
2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2013; 380: 2095–128.
3. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Censo 2012 <http://www.sbn.org.br/pdf/publico2012.pdf> (Acessado em agosto de 2013.)
4. Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, Hirsch IB, Tuttle KR, Himmelfarb J, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2013;24:302-308.
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2013;Suppl:S1-S150.
6. Incerti J, Zelmanovitz T, Camargo JL, Gross JL, de Azevedo MJ. Evaluation of tests for microalbuminuria screening in patients with diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:2402-2407.
7. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Gansevoort RT. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010;375(9731):2073-2081.
8. 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.
9. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:2305-2313.
10. Soares AA, Prates AB, Weinert LS, Veronese FV, Azevedo MJ, Silveiro SP. Reference values for glomerular filtration rate in healthy Brazilian adults. *BMC Nephrol* 2013;14:54.
11. Grewal GS, Blake GM. Reference data for <sup>51</sup>Cr-EDTA measurements of the glomerular filtration rate derived from live kidney donors. *Nucl Med Commun* 2005;26: 61–65.

12. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992;38:1933-53.
13. Greenberg N, Roberts WL, Bachmann LM, Wright EC, Dalton RN, Zakowski JJ, et al. Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by enzymatic and Jaffe method principles. *Clin Chem* 2012;58:391–401.
14. Camargo EG, Soares AA, Detanico AB, Weinert LS, Veronese FV, Gomes EC, et al. 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;28:90-95.
15. Cheuiche AV, Soares AA, Camargo EG, Weinert LS, Camargo JL, Silveiro SP. Comparison between IDMS-traceable Jaffe and enzymatic creatinine assays for estimation of glomerular filtration rate by the CKD-EPI equation in healthy and diabetic subjects. *Clin Biochem* 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.05.067>
16. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.
17. Gross JL, Silveiro SP, de Azevedo MJ, Pecis M, Friedman R. Estimated creatinine clearance is not an accurate index of glomerular filtration rate in normoalbuminuric diabetic patients. *Diabetes Care* 1993;16:407-408.
18. Flamant, M, Haymann JP, Vidal-Petiot E, Letavernier E, Clerici C, Boffa JJ, et al. GFR estimation using the Cockcroft-Gault, MDRD Study, and CKD-EPI equations in the elderly. *Am. J. Kidney Dis* 2012;60:847–849.
19. Poggio, E. D., Wang, X., Greene, T., Van Lente, F. & Hall, P. M. Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:459–466.
20. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, et al. 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;55:1162-1163.
21. Silveiro SP, Araujo GN, Ferreira MN, Souza FD, Yamaguchi HM, Camargo EG. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:2353-2355.



22. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-612.
23. Grubb A, Nyman U, Björk J. Improved estimation of glomerular filtration rate (GFR) by comparison of eGFRcystatin C and eGFRcreatinine. *Scand J Clin Lab Invest* 2012;72:73-7.
24. Weinert LS, Camargo EG, Soares AA, Silveiro SP. Glomerular filtration rate estimation: performance of serum cystatin C-based prediction equations. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1761-1771.
25. Zhang M, Cao X, Cai G, Wu D, Wei R, Yuan X, et al. Clinical evaluation of sérum cystatin C and creatinine in patients with chronic kidney disease: a meta-analysis. *J Int Med Res* 2013;14:944-955.
26. 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;48:405-408.
27. Foster MC, Inker LA, Levey AS, Selvin E, Eckfeldt J, Juraschek SP, et al. Novel Filtration Markers as Predictors of All-Cause and Cardiovascular Mortality in US Adults. *Am J Kidney Dis* 2013;62:42-51.
28. Krolewski AS, Warram JH, Forsblom C, Smiles AM, Thorn L, Skupien J et al. Serum concentration of cystatin C and risk of end-stage renal disease in diabetes. *Diabetes Care* 2012;35:2311-2316.
29. Schöttker B, Herder C, Müller H, Brenner H, Rothenbacher D. Clinical utility of creatinine- and cystatin C-based definition of renal function for risk prediction of primary cardiovascular events in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2012;35:879-886.
30. Shlipak MG, Matsushita K, Ärnlöv J, Inker LA, Katz R, Polkinghorne KR, et al. Cystatin C versus creatinine in determining risk based on kidney function. *N Engl J Med* 2013;369:932-943.
31. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int* 2009;75:652–660.
32. Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc* 1985; 33: 278–285.
33. Helmersson-Karlqvist J, Flodin M, Hansson LO, Larsson A. The age related association is more pronounced for cystatin C estimated GFR than for creatinine estimated GFR in

primary care patients. Clin Biochem 2013,  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.07.007>

34. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 2012;367:20-29.
35. Lamb EJ, MacKenzie F, Stevens PE. How should proteinuria be detected and measured? *Ann Clin Biochem* 2009;46:205-217.
36. 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.
37. Moresco RN, Sangoi MB, De Carvalho JA, Tatsch E, Bochi GV. Diabetic nephropathy: traditional to proteomic markers. *Clin Chim Acta* 2013;421:17-30.
38. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. Ed Grupo Editorial Nacional, Rio de Janeiro, RJ. 2013. ISBN: 9788581141176.
39. Eckardt KU, Coresh J, Devuyst O, Johnson RJ, Kottgen A, Levey AS, et al. Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden. *Lancet* 2013;382:158-69.
40. Nitsch D, Grams M, Sang Y, Black C, Cirillo M, Djurdjev O, et al. Associations of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with mortality and renal failure by sex: a meta-analysis. *BMJ* 2013;346:324.
41. Lamb EJ, Levey AS, Stevens PE. The Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guideline update for chronic kidney disease: evolution not revolution. *Clinical Chemistry* 2013;59:462-465.
42. Rossing P, Hougaard P, Parving HH. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: a 10-year prospective observational study. *Diabetes Care* 2002;25:859-864.
43. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, Rahman M, Deysher AE, Zhang YL, Schmid CH, Levey AS. Evaluation of the Modification of Diet in Renal Disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2749-57.
44. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39:S1-266.

45. 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;80:17-28.

**REFERENCE VALUES FOR GLOMERULAR  
FILTRATION RATE IN HEALTHY BRAZILIAN ADULTS**

**Glomerular filtration rate reference values**

**Ariana Aguiar Soares**<sup>1</sup> [ariana.aguiar.soares@gmail.com](mailto:ariana.aguiar.soares@gmail.com)

**Aline Bodanese Prates**<sup>1</sup> [alinebprates@hotmail.com](mailto:alinebprates@hotmail.com)

**Letícia Schwerz Weinert**<sup>1</sup> [leticiasweinert@yahoo.com.br](mailto:leticiasweinert@yahoo.com.br)

**Francisco Veríssimo Veronese**<sup>2</sup> [fjvveronese@gmail.com](mailto:fjvveronese@gmail.com)

**Mirela Jobim de Azevedo**<sup>1,3</sup> [mirelaazevedo@terra.com.br](mailto:mirelaazevedo@terra.com.br)

**Sandra Pinho Silveiro**<sup>1,3</sup> [silveirosandra@gmail.com](mailto:silveirosandra@gmail.com)

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil

<sup>2</sup> Nephrology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brazil

<sup>3</sup> Endocrinology Division, HCPA, Brazil

Corresponding author:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

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

Porto Alegre, RS

55.51.33599255 (fax) 55.51.33598127 (phone)

E-mail: [silveirosandra@gmail.com](mailto:silveirosandra@gmail.com)

Financial support: Fundo de Incentivo à Pesquisa – FIPE, HCPA

**Artigo publicado na revista BMC Nephrology**

(Soares AA, Prates AB, Weinert LS, Veronese FV, de Azevedo MJ, Silveiro SP.

BMC Nephrol 2013;14:54.)

## **Abstract**

**Background:** Glomerular filtration rate (GFR) is the best index of renal function, but age, gender and ethnicity can putatively affect its values. The aim of this study was to establish reference values for GFR in healthy Brazilian subjects while taking these factors into account.

**Methods:** In this cross-sectional study, GFR was measured by the  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA single-injection method. GFR reference values were developed according to CLSI Guidelines for Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory (CLSI C28 protocol).

**Results:** The age range of the 285 healthy individuals was 19 to 70 years, 57% were females, and GFR was  $106 \pm 18$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. There was no difference between male and female GFRs ( $108 \pm 18$  vs.  $104 \pm 18$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> respectively,  $P = 0.134$ ), and reference values were therefore developed from the pooled sample. GFR values were lower in subjects aged  $\geq 45$  years as compared with those younger than 45 years ( $98 \pm 15$  vs.  $112 \pm 18$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>,  $P < 0.001$ ). Based on mean  $\pm 2$  SD, GFR reference values were 76 to 148 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> for subjects younger than 45 years and 68 to 128 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> for individuals older than 45 years, irrespective of gender.

**Conclusion:** The age-adjusted reference intervals reported may be reliably adopted to evaluate kidney function, since they are based on recommended standards.

**Keywords:** Aging,  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA, Gender, Glomerular filtration rate, Reference values, Renal function

## **Background**

The National Kidney Foundation (NKF) recommends estimating glomerular filtration rate (GFR) with creatinine based equations, such as the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equation or the recently developed, and more accurate, Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) collaboration group equation ([www.kidney.org](http://www.kidney.org), retrieved January 2013) [1-4]. However, some clinical situations require a more precise evaluation of GFR, such as before kidney transplantation, extremes of age and body size, severe malnutrition or obesity, diseases of the skeletal muscle, paraplegia or quadriplegia, vegetarian diet, and before administration of prolonged courses of toxic medications [5,6]. In this scenario, GFR should ideally be measured by conventional clearance methods, such as inulin, iothexol, iothalamate, or <sup>51</sup>Cr-EDTA clearance.

GFR decline with aging is a well-known phenomenon, and reference values should take it into account [7,8]. However, some studies have suggested that GFR may also be affected by sex, with women exhibiting either higher [9], lower [7] or similar [10] GFR values as compared to men. An even more controversial issue, which remains unsettled, is the potential influence of ethnicity on GFR. Therefore, the aim of this study was to establish reference range values for GFR in healthy Brazilian individuals while taking these factors into account.

## **Methods**

### **Study participants**

This cross-sectional study was conducted in healthy Southern Brazilian volunteers recruited from the community and hospital staff. Two hundred and eighty-five volunteers (aged 19–70 years) were included, and their health status was checked by a medical interview, a complete physical examination, and basic laboratory tests (fasting plasma glucose, lipids, liver function tests and urinalysis). Exclusion criteria were the presence of kidney disease (as detected by urinary albumin excretion >30 mg/g creatinine in a spot urine sample and sediment analysis), impaired glucose tolerance (fasting plasma glucose >100 mg/dL), arterial hypertension (blood pressure levels higher than 140/90

mmHg), cardiovascular disease (history and previous medical records) or presence of any other active disease, body mass index (BMI) >35 kg/m<sup>2</sup>, history of cancer in the last 5 years and use of drugs (except for oral contraceptives and thyroid hormones).

Subjects were classified as white, black, or other as self-reported, pursuant to current recommendations. The body weight and height of subjects (not wearing shoes or coats) were measured using an anthropometric scale, with measurements recorded to the nearest 100 g for weight and the nearest 0.1 cm for height. BMI was calculated using the formula kg/m<sup>2</sup>. Blood pressure was measured in the sitting position after a 5-min rest.

## **Laboratory measurements**

### ***Procedure for GFR measurement***

GFR was measured by the <sup>51</sup>Cr-EDTA single-injection method, and the procedure is described below [11]. 1) Patient preparation: caffeine drinks and exercise were avoided. A low-protein meal and adequate hydration during the test were prescribed. Body surface area (BSA) was calculated according to the Gehan and George formula:  $0.0235 \times ([100 \times \text{height}]^{0.42246}) \times (\text{weight})^{0.51456}$  [12]. 2) Syringe preparation: a 5.55 MBq dose of <sup>51</sup>Cr-EDTA was measured by volume, and the syringe was filled completely up to the tip of the needle. 3) Injection technique: the entire dose was injected into the bloodstream without extravasation. 4) Blood sampling: samples were collected from the contralateral arm, 2, 3 and 4 h post-injection. The specimens were centrifuged at 1000 g for 10 min and 2 mL of plasma were pipetted into counting tubes in duplicate. 5) Preparation of the standard: a predetermined volume of tracer (2 mL) was drawn up using a pipette, and the activity was emptied into the volumetric flask filled with water to the mark. 6) Counting: plasma samples were counted using appropriate standards and blanks for background in a well counter. 7) GFR calculation: the logarithm of the plasma activity was plotted as a function of time and the apparent zero-time plasma activity determined by extrapolation of the linear part of the curve. A constant correction factor of 0.87 was used for the missing AUC due to the fast exponential; therefore, the GFR was calculated as volume of distribution  $\times 0.693 \times 0.87 \times$

1000/t<sup>1/2</sup> (according to Chantler), and expressed as mL/min/1.73 m<sup>2</sup> [13]. The mean intra-individual coefficient of variation of GFR at our laboratory is 12% [7].

Fasting plasma glucose was measured by the glucose oxidase method, and albuminuria, by immunoturbidimetry.

### **Statistical analysis**

Results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation or median (range or interquartile range), unless otherwise stated. The Kolmogorov–Smirnov (K-S) test was employed to assess the distribution of variables, and reference values were defined as mean  $\pm$  2 standard deviations. The minimum number of subjects to be included in each partition was 120, based on the recommendations of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C28 protocol for determining reference intervals [14]. Reed's criterion was used to identify outliers, as recommended by Fraser [15], as were stem-and-leaf plots and histograms. Correlation between variables was evaluated by Pearson's correlation test. The unpaired Student's t-test and chi-square tests were used as appropriate. Simple and multivariate regression analyses were employed to evaluate the influence of age and gender on GFR (dependent variable). The statistical package used was PASW Statistics 19, and the level of significance adopted was 5%.

### **Ethics**

The Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research Ethics Committee approved the study protocol, and all subjects provided written informed consent.

### **Results**

Two hundred and eighty-five healthy adults, 162 (57%) women, 266 (93%) white, 19 (7%) black, aged  $41 \pm 13$  - years (range, 19–70 years), BMI  $25 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup>, were evaluated (Table 1). Overall, the GFR measured by <sup>51</sup>Cr-EDTA clearance (<sup>51</sup>Cr-GFR) was  $106 \pm 18$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (range, 67 to 153 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>), with a Gaussian distribution.

There was a significant inverse correlation between age and GFR ( $r = -0.33$ ,



P <0.001). Simple linear regression analysis confirmed the influence of age on GFR ( $r^2 = 0.11$ ,  $P <0.001$ ). After stratifying data by age decades, we found that GFR starts to decline significantly after 45 years of age (Figure 1). We compared the slope of the GFR regression equation ( $y = a + bx$ ) in subjects younger than 45 ( $GFR = 103.4 + 0.26 \times \text{age}$ ) vs. older than 45 years of age ( $GFR = 136.4 - 0.72 \times \text{age}$ ). The slope of younger subjects was not different from zero (one sample t test,  $P = 0.169$ ), whereas the slope of the older group was consistent with a significant decrease in GFR ( $P = 0.003$ ). Reference GFR values (mean  $\pm$  2 SD) were calculated, ranging from 76 to 148 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> for individuals aged <45 years and 68 to 128 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> for subjects older than 45 years. These values are depicted in Figure 2.

**Table 1.** Clinical characteristics of the sample (285 healthy volunteers).

	<b>Overall sample</b> (n =285)
Age (years)	41 $\pm$ 13
Skin color (white/black)*	266/19
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	25 $\pm$ 3 (16–34)
Body surface area (m <sup>2</sup> )	1.80 $\pm$ 0.19 (1.32-2.33)

Data expressed as mean  $\pm$  SD.

\*Self-reported.

To assess the potential relation between GFR and gender, the 123 male subjects were compared to the 162 female participants. Men and women were matched by age (40  $\pm$  14 vs. 41  $\pm$  13 years,  $P = 0.66$ ); BMI (25  $\pm$  3 vs. 25  $\pm$  4 kg/m<sup>2</sup>,  $P = 0.13$ ), and ethnicity (93% vs. 94% white,  $P = 0.81$ ), respectively. As expected, BSA was greater in men (1.9  $\pm$  0.16 vs. 1.7  $\pm$  0.15 m<sup>2</sup>,  $P < 0.001$ ). After adjusting for BSA, the mean GFR was similar in men and women (108  $\pm$  18 vs. 104  $\pm$  18 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> respectively,  $P = 0.13$ ). The inverse correlation observed between GFR and age was similar for men and women ( $r = -0.45$  and  $-0.33$  respectively,  $P = 0.243$ ). Simple linear regression analysis confirmed that gender did not influence GFR ( $r^2 = -0.002$ ;  $P = 0.47$ ). Accordingly, multiple linear regression

was performed with GFR as the dependent variable, and age and gender simultaneously as independent variables, yielding an  $r^2$  of 0.15,  $P < 0.001$  for age only. On comparison between the 93 women and 72 men aged  $<45$  years, there was no significant difference between GFRs ( $111 \pm 18$  vs.  $113 \pm 18$  respectively,  $P = 0.51$ ). Comparison between the 69 women and 51 men aged  $>45$  years, however, showed a trend toward lower GFRs in the female group ( $96 \pm 14$  vs.  $101 \pm 16$ ,  $P = 0.08$ ).

To analyze the influence of skin color on GFR, we compared the 19 black individuals with the 266 white subjects. These groups were similar regarding age ( $38 \pm 10$  vs  $41 \pm 14$  years respectively,  $P = 0.375$ ), but GFR was higher in the black subjects ( $116 \pm 19$  vs  $105 \pm 18$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>,  $P = 0.01$ ), as was BMI ( $28 \pm 3$  vs  $24 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup>,  $P < 0.001$ ). However, final GFR results were similar when analyzed with ( $106$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) or without ( $105$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) the black subjects.

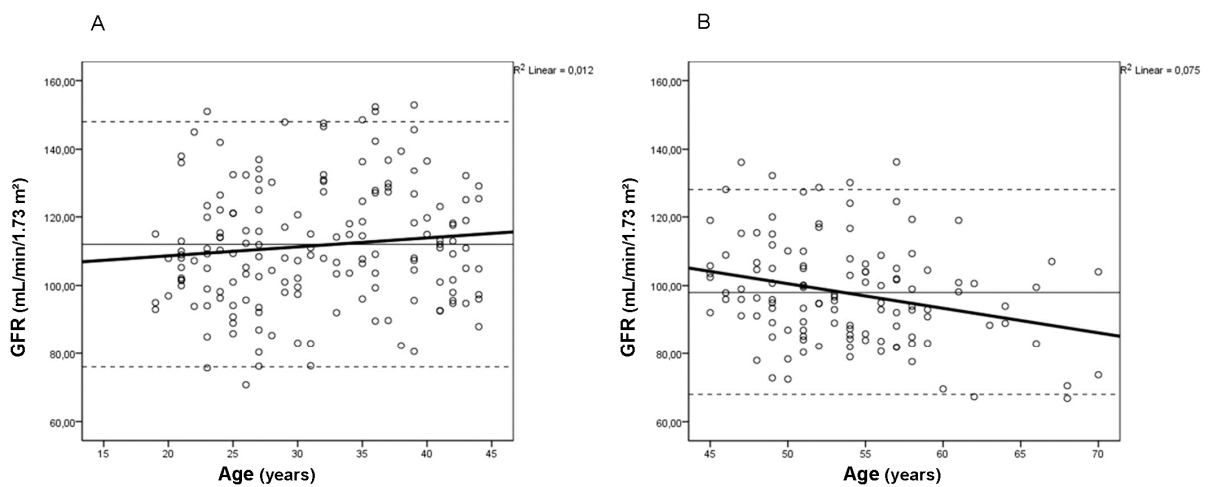
The influence of BMI on GFR was also evaluated. Twenty-one of the 285 subjects had a BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. The adjusted BSA-GFR was similar in obese and non-obese subjects ( $106 \pm 18$  vs.  $106 \pm 18$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> respectively,  $P = 0.951$ ). Conversely, non-adjusted GFR was significantly higher in obese subjects ( $123 \pm 24$  vs.  $109 \pm 22$  mL/min respectively,  $P = 0.006$ ). Likewise, there was a significant positive correlation between BMI and unadjusted-BSA GFR ( $r = 0.29$ ,  $P < 0.001$ ), but no correlation between BMI and adjusted GFR ( $r = -0.05$ ,  $P = 0.359$ ).

## **Discussion**

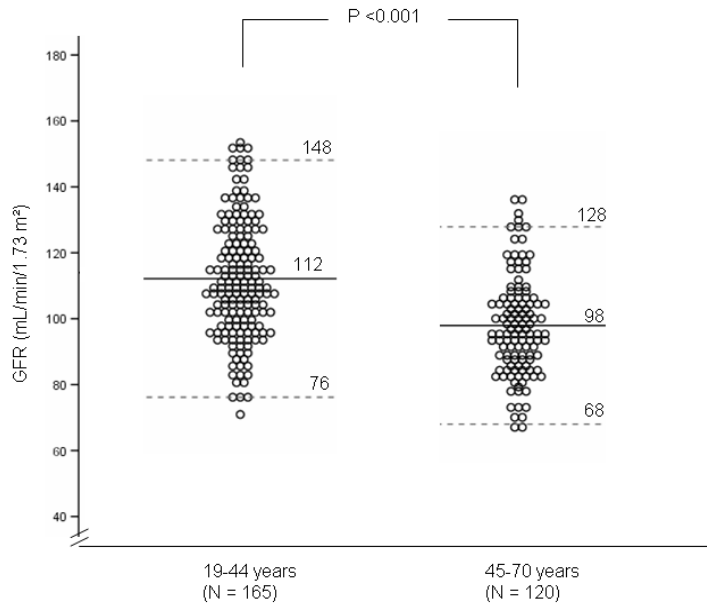
The present study confirms that age must be taken into account when establishing GFR reference values, since a decline in kidney function with age is a well-known phenomenon [10,16-18]. For the 20-to-45-year age group, GFR (mean  $\pm$  2 SD) ranged from 76 to 148 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, without distinction between men and women, versus 68 to 128 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> in subjects older than 45 years, with a trend toward lower GFRs in older women.

Compared to previous studies, our data showed slightly higher GFRs for

younger individuals, probably because the participants of these studies were potential kidney donors [8-10,16,17], whereas the volunteers in our study were picked from a healthy population. This approach tends to minimize selection bias, since donors are mostly relatives of kidney recipients and may have a greater proportion of unrecognized renal disease [17]. Therefore, the results of the current study, which used a sample composed entirely of healthy individuals, are suitable to provide reference values.



**Figure 1** Glomerular filtration rate (GFR) values presented as mean (continuous line)  $\pm$  2SD (dashed lines) and GFR regression equation (bold line) by age range. **Panel A:** ages 20–45 years, regression:  $GFR = 103.4 + 0.26 \times \text{age}$ ; **Panel B:** ages 45–70 years, regression:  $GFR = 136.4 - 0.72 \times \text{age}$ .



**Figure 2 Individual glomerular filtration rate (GFR) values, expressed as mean  $\pm$  2SD (dashed lines), in healthy individuals aged <45 years vs.  $\geq$ 45 years.**

Studies conducted several decades ago have clearly established that GFR declines with ageing. However, the vast majority of these studies were carried out on kidney donors. The seminal studies from the 1950s demonstrated that GFR decreases linearly with aging, with an increase in the rate of decline after the age of 50 years [10,18]. Granerus and Aurell [10] compiled the datasets of eight studies from the 1950s to 1980s and described a GFR decline of up to 4 mL/min/decade for ages <50 years and of 10 mL/min/decade for ages above this cutoff value. This pattern was confirmed by Slack and Wilson [19]. More recently, Poggio et al. [9] found that GFR declines at a rate of approximately 4 mL/min/decade in subjects younger than 45 years of age, similar to what has been previously reported. Grewal and Blake [16] report that GFR remains constant until the age of 40 years and then starts to decline; this is consistent with our results, which showed no GFR decline before the age of 45 years but a noticeable decrease in older subjects. This decrease is related to the normal physiological process of organ senescence and is associated with structural changes in the kidneys [20]. The mean number of nephrons in adults is around 900,000, ranging from 200,000 to 2,000,000 [21]. Studies of living kidney donors have shown that older donors

exhibit a 30-45% reduction in the number of functioning glomeruli and a significantly lower GFR before donation as compared with their younger counterparts [22]. A remarkable study evaluated the renal function of 1203 living kidney donors and demonstrated that, although up to 70% of subjects over the age of 70 years had nephrosclerosis, the decline in kidney function with aging was not fully explained by this finding [8]. Further studies are still required to assess whether these age-related histologic abnormalities are predictive of adverse outcomes.

In our study, we found no significant difference in GFR values between men and women. Some studies corroborate this similarity [8,10,16,17]. A recent study reported higher GFR values for men, but the difference did not hold when GFR was normalized for BSA [8]. This is consistent with our findings, as we reported <sup>51</sup>Cr-GFR corrected for BSA and no gender differences in GFR were demonstrated. A previous analysis of a small sample of healthy subjects described GFR values around 8% higher in men than in women, especially after the age of 30 years, but this difference disappeared when each age range was analyzed individually [7]. Only one study reported higher GFR values in women (3% higher as compared with men), but the authors maintain that this difference is unlikely to be clinically relevant [9]. Therefore, the vast majority of the studies reveals no difference between male and female GFR reference values. Our results suggest a trend toward lower GFRs in older women. A very recent study of 1878 healthy potential donors described interesting new findings, such as higher GFR/ECV (extracellular volume) values in women, reinforcing the notion that GFR should be corrected for ECV [23]. Expressing renal function as the GFR/ECV (mL/min/L) has a direct physiological interpretation, and can be an important adjunct to the usual adjustment of GFR for BSA [24].

Another aspect that has been questioned is the rate of age-related decline in renal function in men and women. Some authors have described a faster rate of GFR decrease in males [25]. Berg, analyzing a group of young (age 20–50 years) Swedish potential kidney donors, found a significant GFR decline only in men, ascribing a protective role to estrogens in pre-menopausal women [26], but this seems to be an isolated finding. In

contrast, Ma et al. [27] reported a more marked decline in GFR values with age in Chinese women, but this also seems to constitute an atypical phenomenon. The majority of studies have failed to confirm any gender differences in age-related GFR decline [10,16,28], which is consistent with our findings.

The influence of ethnicity on GFR values has been assessed by some research groups. A Chinese study described lower GFR reference values [27] as compared with those of healthy Western populations [17], but higher than those reported for Indian adults [29]. These differences might be explained by peculiarities in dietary intake among distinct populations, by differences in GFR measurement methods, or, perhaps, by ethnicity itself. Therefore, due to this possible variation, the development of reference values of GFR for each specific population is important. To the best of our knowledge, ours is the first paper to report guideline-based GFR reference values for Brazilian individuals. It bears mentioning that the Brazilian population itself is composed of a massive “mix” of different ethnic groups. Indeed, subjects who declare themselves “white” actually represent different degrees of miscegenation between several black and white ethnicities, and the same applies to the subjects who report their skin color as “black”. Therefore, we chose not to stratify subjects by skin color for final analysis, since GFR values were not different when the black subjects were removed from the sample. Even though GFR was higher among black subjects, body weight was also greater in this group, which could represent a confounding factor, as obesity has been associated with hyperfiltration [30]. Furthermore, the number of self-reported black subjects was very small ( $n = 19$ ). The potential role of ethnicity in GFR values still warrants further investigation.

Regarding the influence of elevated BMI on GFR, we found that the crude GFR (unadjusted for BSA) was significantly higher in obese subjects. As the current NKDEP recommendation is that measured GFR should be adjusted for BSA (to address symmorphosis in kidney function), we chose to merge the final results of obese and non-obese subjects, but also presented the results of each group of BMI separately [31]. It has been noted that indexing GFR for BSA has limited effects on GFR results in a population of

“normal” body size, although the consequences of adjustment can be substantial in extremes of body weight [32]. The absence of associations between BMI categories and BSA-adjusted GFR in our and other studies raises questions regarding the appropriateness of indexing GFR for BSA in overweight populations. In fact, recent papers have demonstrated that obesity is associated with increased GFR, ERPF, and filtration fraction in non-diabetic individuals [4,30,33,34].

We chose to use the Gehan and George formula for BSA estimation, since the Pearson correlation coefficient between this equation and the guideline-recommended Haycock equation was  $r = 1.0$  ( $P < 0.001$ ), with excellent Bland-Altman agreement between the two formulae. This is consistent with previous studies in which the performance of these two equations was very similar. Conversely, in obese patients, the DuBois and DuBois equation underestimated BSA by 3% in males and 5% in females [34].

When measuring GFR from  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  clearance through slope-intercept techniques, sampling is restricted to the second phase of clearance, and systematic errors introduced into the GFR values thus derived must be corrected. Most commonly, correction of the slope-intercept value for the approximation has been done through use of the Bröchner-Mortensen [35] or Chantler [13] equations. The linear Chantler equation uses a constant multiplicative correction factor to adjust GFR values, whereas the Bröchner-Mortensen equation uses a quadratic correction and is dependent on the subject's BSA [11]. Fleming has compared the two equations and pointed out their limitations: the Bröchner-Mortensen equation underestimated GFR at higher values, with a 10% underestimation at 180 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, while the Chantler equation gave a systematic overestimate of GFR, with the error increasing with GFR, for a 30% overestimate at 180 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> [36]. In short, the difference between the two equations is negligible and the Chantler correction can be used accurately.

One strength of the present study was the sample composed entirely of healthy individuals. This stands in contrast to the majority of previous studies, which mostly included potential kidney donors, who are often related by blood to patients with chronic

kidney disease. Furthermore, our methods strictly followed the recommendations of the CLSI Guidelines for determining reference intervals.

## **Conclusion**

We conclude that age, but not sex, must be taken into account in the determination of reference values for glomerular filtration rate. The age-adjusted reference intervals reported in the present study may be reliably adopted to evaluate kidney function.

## **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

## **Authors' contributions**

AAS – participated in conception and design, data collection, analysis and interpretation, and drafting of the manuscript. ABP - participated in data collection. LSW, FVV, MJA - participated in data collection and revision of the manuscript. SPS - participated in data collection, conception and design, analysis and interpretation of data, drafting and revision of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## **Acknowledgements**

The authors would like to thank the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research and Events Incentive Fund (FIPE) and Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX) for their financial support. The authors thank Vania Hirakata for statistical assistance.

## **Funding**

Fundo de Incentivo à Pesquisa – FIPE, HCPA.

## **Author details**

1 Postgraduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Universidade Federal do Rio



Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS 90040-060, Brazil.

2 Nephrology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS 90035-903, Brazil.

3Endocrinology Division, HCPA, Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Prédio 12, 4º andar Porto Alegre, RS, Brazil.

**Received:** 18 July 2012 **Accepted:** 19 February 2013

**Published:** 28 February 2013

## References

1. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF III, Feldman HI, et al: **A new equation to estimate glomerular filtration rate.** *Ann Intern Med* 2009, **150**:604–612.
2. 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* 2001, **71**:129–138.
3. Miller WG: **Estimating glomerular filtration rate.** *Clin Chem Lab Med* 2009, **47**:1017–1019.
4. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, et al: **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**:1162–1163.
5. Stevens LA, Levey AS: **Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR.** *J Am Soc Nephrol* 2009, **20**:2305–2313.
6. 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.
7. Gross JL, Friedman R, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M: **Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by <sup>51</sup>Cr-EDTA.** *Brazilian J Med Biol Res* 1992, **25**:129–134.
8. Rule AD, Amer H, Cornell LD, Taler SJ, Cosio FG, Kremers WK, et al: **The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults.** *Ann Intern Med* 2010, **152**:561–567.
9. Poggio ED, Rule AD, Tanchanco R, Arrigain S, Butler RS, Srinivas T, et al: **Demographic and clinical characteristics associated with glomerular filtration rates in living kidney donors.** *Kidney Int* 2009, **75**:1079–1087.
10. 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**:611–616.

11. Fleming JS, Zivanovic MA, Blake GM, Burniston M, Cosgriff PS: **Guidelines for the measurement of glomerular filtration rate using plasma sampling.** *Nucl Med Commun* 2004, **25**:759–769.
12. Gehan EA, George S: **Estimation of human body surface.** *Cancer Chemother Rep* 1970, **54**:225–235.
13. Chantler C, Barrat TM: **Estimation of glomerular filtration rate from plasma clearance of <sup>51</sup>-Chromium Edetic Acid.** *Arch Dis Child* 1972, **47**:613–617.
14. CLSI: *Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline* - third edition. CLSI document C28-A3. Wayne (PA): CLSI; 2008.
15. Fraser CG: **The nature of biological variation.** In *Biological Variation: From Principles to Practice*. Volume 1. 1st edition. Washington, DC: AACC Press. Inc; 2001:1–27.
16. Grewal GS, Blake GM: **Reference data for <sup>51</sup>Cr-EDTA measurements of the glomerular filtration rate derived from live kidney donors.** *Nuclear Med Comm* 2005, **26**:61–65.
17. Rule AD, Gussak HM, Pond GR, Bergstralh EJ, Stegall MD, Cosio FG, et al: **Measured and estimated GFR in healthy potential kidney donors.** *Am J Kidney Dis* 2004, **43**:112–119.
18. 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.
19. Slack TK, Wilson DM: **Normal renal function: CIN and CPAH in healthy donors before and after nephrectomy.** *Mayo Clin Proc* 1976, **51**:296–300.
20. McLachlan MSF: **The aging kidney.** *Lancet* 1978, **2**:143–145.
21. Walker AK, Bertram JF: **Kidney development: core curriculum 2011.** *Am J Kidney Dis* 2011, **57**:948–958.
22. Tan JC, Busque S, Workeneh B, Ho B, Derby G, Blouch KL, et al: **Effects of aging on glomerular function and number in living kidney donors.** *Kidney Int* 2010, **78**:686–692.
23. Peters AM, Perry L, Hooker CA, Howard B, Neilly MDJ, Seshadri N, et al: **Extracellular**

- fluid volume and glomerular filtration rate in 1878 healthy potential renal transplant donors: effects of age, gender, obesity and scaling. *Nephrol Dial Transplant* 2012, **27**:1429–1437.
24. Jödal L, Bröchner-Mortensen B: **Simplified methods for assessment of renal function as the ratio of glomerular filtration rate to extracellular fluid volume.** *Nucl Med Commun* 2012, **33**:1243–1253.
25. Fliser D, Zeier M, Nowack R, Ritz E: **Renal function reserve in healthy elderly people.** *J Am Soc Nephrol* 1993, **3**:1371–1377.
26. Berg UB: **Differences in decline in GFR with age between males and females. Reference data on clearances of inulin and PAH in potential kidney donors.** *Nephrol Dial Transplant* 2006, **21**:2577–2582.
27. Ma YC, Zuo L, Chen L, Su ZM, Meng S, Li JJ, et al: **Distribution of measured GFR in apparently healthy Chinese adults.** *Am J Kidney Dis* 2010, **56**:420–421.
28. Larsson M, Jagenburg R, Landahl S: **Renal function in an elderly population. A study of S-creatinine, <sup>51</sup>Cr-EDTA clearance, endogenous creatinine clearance and maximal tubular water reabsorption.** *Scand J Clin Lab Invest* 1986, **46**:593–598.
29. Barai S, Bandopadhyaya GP, Patel CD, Rathi M, Kumar R, Bhowmik D, et al: **Do healthy potential kidney donors in India have an average glomerular filtration rate of 81.4 ml/min?** *Nephron Physiol* 2005, **101**:21–26.
30. Wuerzner G, Pruijm M, Maillard M, Bovet P, Renaud C, Burnier M, et al: **Marked association between obesity and glomerular hyperfiltration: a cross-sectional study in an African population.** *Am J Kidney Dis* 2010, **56**:303–312.
31. Levey AS, Kramer H: **Obesity, glomerular hyperfiltration, and the surface area correction.** *Am J Kidney Dis* 2010, **56**:255–258.
32. Delanaye P, Krzesinski JM: **Indexing of renal function parameters by body surface area: intelligence or folly?** *Nephron Clin Pract* 2011, **119**:289–292.
33. Chagnac A, Herman M, Zingerman B, Erman A, Rozen-Zvi B, Hirsh J, et al: **Obesity-induced glomerular hyperfiltration: its involvement in the pathogenesis of tubular**

**sodium reabsorption.** *Nephrol Dial Transplant* 2008, **23**:3946–3952.

34. Verbraecken J, Van de Heyning P, De Backer W, Van Gaal L: **Body surface area in normal-weight, overweight, and obese adults. A comparison study.** *Metabol Clin Exp* 2006, **55**:515–524.

35. Bröchner-Mortensen J: **A simple method for the determination of glomerular filtration rate.** *Scand J Clin Lab Invest* 1972, **30**:271–274.

36. Fleming JS: **An improved equation for correcting slope-intercept measurements of glomerular filtration rate for the single exponential approximation.** *Nucl Med Commun* 2007, **28**:315–320.

**doi:10.1186/1471-2369-14-54**

**Cite this article as: Soares et al.: Reference values for glomerular filtration rate in healthy Brazilian adults. BMC Nephrology 2013 14:54**

## Capítulo 2

### **Desempenho das equações de estimativa da taxa de filtração glomerular empregando creatinina e cistatina C séricas em indivíduos saudáveis**

Ariana Aguiar Soares<sup>1</sup>

Roberta Boff<sup>1</sup>

Amanda Veiga Cheuiche<sup>1</sup>

Joíza Lins Camargo<sup>1,2</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 (UFRGS)

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

<sup>3</sup> Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina da UFRGS

Endereço para correspondência:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

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

55 51.33598127

Porto Alegre, RS

Brasil

[silveirosandra@gmail.com](mailto:silveirosandra@gmail.com)

Palavras-chave: taxa de filtração glomerular, CKD-EPI, creatinina, cistatina C, <sup>51</sup>Cr-EDTA

**Artigo será enviado para a revista Nephrology Dialysis Transplantation**

## ABSTRACT

**Background:** The last guideline of the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) recommends screening for chronic kidney disease (CKD) by estimating the glomerular filtration rate (GFR) based on serum creatinine and urinary albumin excretion (UAE) in urine sample. Recently it was suggested the inclusion of cystatin C-based equations for assessment of estimated GFR.

**Aim:** To evaluate the accuracy of the equations GFR CKD-EPI creatinine (CKDEPIcreat), GFR CKD-EPI cystatin C (CKD-EPIcystC) and GFR CKD-EPI creatinine-cystatin C (CKDEPI-CC) to estimate the GFR in comparison with measured GFR by reference method <sup>51</sup>Cr-EDTA in a healthy adult population.

**Method:** Cross-sectional study in 100 healthy adults whose measured GFR by <sup>51</sup>Cr-EDTA was greater than 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. GFR was estimated by CKD-EPI equations based on creatinine and/or cystatin C. Serum creatinine was measured by Jaffe traceable method (Advia 1800, Siemens Healthcare) and cystatin C was evaluate by imunoturbidimetric method (Dako, Cytomation). Accuracy, bias, precision and root mean square error of the equations were assessed and the agreement was measured by Bland&Altman.

**Results:** One hundred healthy adult subjects were evaluated, with 38±14 (19-86) years of age, 67% women, 81% white. Measured <sup>51</sup>Cr-EDTA GFR was 112±19 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, range of 64-160 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, with Gaussian distribution. The estimated GFR with the equations CKDEPIcreat, CKDEPIcystC and CKDEPI-CC were respectively 108±17, 97±16 and 102±15 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. The lowest bias was found with the equation CKDEPIcreat, however it significantly underestimated GFR in the group aged ≥ 45 years (P <0.001). Accuracy P15 was significantly lower in the equations with cystatin C, especially in the older group.

**Conclusion:** In healthy subjects, the equation for estimating GFR based on serum creatinine was superior to equations that use cystatin C; in the elderly, all the equations have demonstrated to be unsatisfactory, especially those that used cystatin C.

## Resumo

**Introdução:** As últimas diretrizes da *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) recomendam que seja realizado o rastreamento da doença renal crônica (DRC) por meio da estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) baseada na creatinina sérica e medida da excreção urinária de albumina (EUA) em amostra de urina. Recentemente foi sugerido adicionar à avaliação da TFG equações que empregam também a cistatina C, para estimar a TFG.

**Objetivo:** Avaliar a acurácia das equações TFG CKD-EPI creatinina (CKDEPIcreat), CKD-EPI cistatina C (CKDEPIcistC) e CKD-EPI creatinina-cistatina (CKDEPI-CC) para estimar a TFG em comparação com a TFG medida pelo método de referência do  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA em uma população de adultos saudáveis.

**Método:** Em estudo transversal, foram incluídos 100 adultos saudáveis, com medida da TFG  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA  $>60$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. A TFG foi estimada com as equações CKD-EPI que empregam creatinina e/ou cistatina C. A creatinina sérica foi medida pelo método Jaffe rastreável (Advia 1800, Siemens, Healthcare) e a cistatina C foi dosada pelo método de imunoturbidimetria (Dako, Cytomation). Foram avaliadas a acurácia, viés, precisão e raiz quadrada do erro médio das equações e concordância por Bland&Altman.

**Resultados:** No total 100 indivíduos adultos saudáveis foram avaliados, com idade de  $38\pm 14$  (19-86) anos, 67% do sexo feminino, 81% brancos. A TFG medida por  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA foi de  $112\pm 19$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, variando de 64-160 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, com distribuição Gaussiana. A estimativa da TFG com as equações CKDEPIcreat, CKDEPIcistC e CKDEPI-CC foram respectivamente  $108\pm 17$ ,  $97\pm 16$  e  $102\pm 15$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. O menor viés encontrado foi com a equação CKDEPIcreat, que porém subestimou significativamente a TFG no grupo com idade  $\geq 45$  anos ( $P < 0,001$ ). A acurácia P15 foi significativamente mais baixa nas equações com cistatina C, especialmente no grupo mais velho.

**Conclusão:** Em indivíduos saudáveis, a equação de estimativa da TFG baseada na creatinina mostrou-se superior às equações que empregam cistatina C; nos idosos, todas as equações mostraram-se insatisfatórias, especialmente as que empregam cistatina C.



As últimas diretrizes *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) recomendam que seja realizado rastreamento da doença renal crônica (DRC) por meio da estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) e medida da excreção urinária de albumina (EUA) em amostra de urina (1). Extensa avaliação colaborativa, delineada pela KDIGO e *National Kidney Foundation* (NKF), incluindo 1.234.182 indivíduos da América do Norte, Europa, Austrália e Ásia, evidenciou que esses dois parâmetros possuem a capacidade de prever mortalidade e definir prognóstico cardíaco e renal (2). Dessa forma, as atuais recomendações indicam o uso desses dois indicadores renais para definição, estadiamento e estabelecimento do prognóstico e terapêutica da DRC.

A avaliação inicial da TFG deve ser conduzida com a medida da creatinina sérica e o uso de equações de estimativa da TFG (3). Usar uma equação de estimativa é preferencial a utilizar a creatinina isolada, já que situações clínicas com reduções extremas de massa muscular como na doença hepática, idade avançada e doença neuromuscular podem falsamente superestimar a função renal, pois ocorre uma redução na produção de creatinina sérica. Uma limitação adicional é que a creatinina é pouco sensível para detectar mudanças leves e rápidas da função renal. Além disso, a creatinina também possui algumas limitações analíticas como interferência de drogas e de cromógenos endógenos como glicemia e bilirrubinemia (4,5). Nesse sentido, um teste adicional, tal como a dosagem da cistatina C sérica, é sugerido nessas circunstâncias específicas em que a TFG baseada na creatinina seria menos acurada (1,6).

A cistatina C é uma proteína endógena produzida por todas as células nucleadas, livremente filtrada pelo glomérulo e catabolizada pelos túbulos, de tal forma que como molécula intacta não é reabsorvida nem secretada (7). Algumas evidências indicam que a cistatina C sérica apresentaria maior sensibilidade diagnóstica para DRC do que a creatinina, no entanto, com menor especificidade (8). Uma vantagem seria de que, ao contrário da creatinina, não sofreria influência da massa muscular (9,10). Além disso, a cistatina tem se mostrado um preditor de eventos cardiovasculares e de mortalidade. (11). Em indivíduos com diabetes melito (DM), foi demonstrado que a cistatina C prediz eventos cardiovasculares, doença renal terminal e retinopatia (12-14).

A recomendação atual da KDIGO é de usar-se a equação do grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI), desenvolvida em 2009, empregando a creatinina, idade, gênero e etnia, com a finalidade de obter valores mais acurados na estimativa da TFG, especialmente nas faixas de filtração glomerular acima de 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (15). Devido à imprecisão da creatinina e à presença de interferentes não relacionados com a TFG, recentemente esse mesmo grupo desenvolveu e validou 2 novas equações – uma baseada na concentração da cistatina C (equação CKD-EPI cistatina C) e

outra equação utilizando cistatina C combinada com creatinina (equação CKD-EPI creatinina-cistatina) (16). Tem havido, portanto, um crescente interesse no desempenho dessas equações para detecção mais precisa de alterações na TFG (17). Alguns estudos têm sugerido que o desempenho das equações pode ser influenciado pela idade dos indivíduos avaliados (18,19,20), o que, no entanto, não é confirmado em todas análises (21,22).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a acurácia das equações CKD-EPI creatinina (CKDEPIcreat), CKD-EPI cistatina C (CKDEPIcistC) e CKD-EPI creatinina-cistatina (CKDEPI-CC) para estimar a TFG em comparação com a TFG medida pelo método de referência do <sup>51</sup>Cr-EDTA em uma população de adultos saudáveis.

## **Indivíduos e Métodos**

### **Indivíduos**

O delineamento empregado foi de estudo transversal, sendo incluídos indivíduos saudáveis acima de 18 anos, de ambos os gêneros, que concordaram a participar do estudo.

Os critérios de exclusão adotados foram obesidade (índice de massa corporal >35 kg/m<sup>2</sup>), história de câncer nos últimos 5 anos e uso de medicamentos (exceto anticoncepcional oral e hormônio tireoidiano). Foram recrutados indivíduos da comunidade, através de publicações na mídia, e também alunos e professores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), sob o número 100129. Este estudo está de acordo com a Declaração de Helsinki e todos os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

### **Métodos**

Foi aplicado um questionário para a obtenção de dados clínicos (hábito de fumar, histórico de doenças familiares, de doenças atuais e passadas). Foram realizadas medidas de peso em kg, altura em cm, sendo realizado o cálculo do índice de massa corporal (IMC) pela fórmula peso/altura<sup>2</sup>. A pressão arterial foi medida após 5 minutos de repouso na posição sentada, com aparelho de pressão digital da marca OMRON, certificado pelos padrões internacionais.

## **Avaliação laboratorial**

A glicose foi medida pelo método enzimático glicose oxidase UV (Advia 1800, Siemes Healthcare).

A creatinina sérica foi determinada pelo método de Jaffe compensado calibrado (Advia 1800, Siemens Healthcare), rastreável para espectrometria de massa por diluição isotópica (ID-MS), com leitura cinética para minimizar a interferência por bilirrubina. O coeficiente de variação foi de 2,3% e de 4,0% para níveis de creatinina de 0,8 mg/dL e 3,0 mg/dL, respectivamente.

A dosagem da cistatina C foi realizada pelo método de imunoturbidimetria (Dako Cytomation Denmark A/S, Glostrup, Denmark) no analisador Advia 1800, Siemens Diagnostics, Munich, Germany. Os coeficientes de variação intra e interensaio são de 2,2% e 5,3%, respectivamente.

A TFG foi estimada conforme o recomendado pela NKF e KDIGO com equações desenvolvidas pelo grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) utilizando creatinina e cistatina C séricas isoladas e em combinação: CKD-EPI creatinina, CKD-EPI cistatina C e equação CKD-EPI creatinina-cistatina (ver Tabela A Material Complementar).

A TFG foi medida por meio do método de injeção única do  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  (23, 24), o qual já está bem descrito na literatura. **Procedimento:** 1) Preparo do paciente: evitar bebidas com cafeína e exercício, estimular refeição com baixa quantidade de proteínas e hidratação. 2) Preparo da seringa: dose de 5,55 MBq de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  foi medida por volume 3) Técnica da injeção: a dose completa foi injetada intravenosa sem extravasamento 4) Amostras sanguíneas: coletadas no braço oposto ao da injeção 2, 3 e 4 horas após a injeção, sendo pipetados 2 mL de soro em duplicata 5) Preparo do padrão: volume do radiotraçador (2 mL) preenchido com água até completar o volume de 500 mL 6) Contagem: contador gama 7) Cálculo da TFG: a atividade plasmática do tempo zero foi determinada pela extrapolação da parte linear da curva. Um fator de correção de 0,87 foi utilizado para ajustar a área sob a curva; a TFG foi calculada como volume de distribuição x 0,693 x 0,87 x 1000/ $t_{1/2}$  (de acordo com Chantler), e expresso em mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (25). A superfície corporal foi calculada conforme a fórmula de Gehan e George:  $0,0235 \times ([100 \times \text{altura}]^{0,42246}) \times (\text{peso})^{0,51456}$  (26) A média do coeficiente de variação intraindividual da TFG do nosso laboratório é 12% (27).

## **Análise Estatística**

Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão ou mediana (variação). Para avaliar a concordância entre a medida da TFG  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  com a TFG estimada com as fórmulas do estudo CKD-EPI, foi realizada análise de Bland&Altman, com cálculo de limites de concordância (média $\pm$ 2DP) (28). De acordo com esses autores, 100 indivíduos são adequados para estimar limites de concordância com um intervalo de confiança de 95% de cerca de 34% do desvio padrão (29). Disponível em <http://www-users.york.ac.uk/~mb55/meas/sizemeth.htm>.

O viés foi calculado como a diferença entre TFG medida menos TFG estimada. A precisão foi calculada como um desvio padrão. A acurácia foi calculada como a proporção de casos onde os valores de TFG estimada não desviam em mais de 15% (P15) e 30% (P30) dos valores de TFG medida. Foi calculada a raiz quadrada do erro médio, que compreende a raiz quadrada da [(média da diferença entre a TFG medida e estimada) $^2$  + (desvio padrão da diferença) $^2$ ] (30). ANOVA de Friedman e teste Q de Cochran foram utilizados para avaliar a concordância e a acurácia entre os métodos. O nível de significância adotado foi de 5%.

## Resultados

Foram incluídos 100 indivíduos saudáveis, com idade de 38 $\pm$ 14 anos (18-86 anos), sendo que 67 (67%) eram do sexo feminino. Oitenta e um indivíduos (81%) eram brancos e dezoito (19%) negros (Tabela 1).

Tabela 1 – Características clínicas e laboratoriais dos 100 indivíduos saudáveis.

Característica	
Idade (anos)	38 $\pm$ 14 (18-86)
Gênero (M/H)	67/33
Etnia (B/N)	81/19
Fumo (%)	18 (18%)
PAS (mmHg)	114 $\pm$ 12 (80-140)
PAD (mmHg)	72 $\pm$ 8 (60-90)
IMC (kg/m $^2$ )	26 $\pm$ 4 (18-35)
Superfície corporal (kg/m $^2$ )	1,83 $\pm$ 0,21 (1,42-2,52)
Glicose (mg/dL)	88 $\pm$ 7 (70-100)
Creatinina (mg/dL)	0,77 $\pm$ 0,15 (0,52-1,16)
Cistatina C (mg/L)	0,87 $\pm$ 0,11 (0,62-1,17)

Dados expressos como número de casos (%) ou média $\pm$ DP (variação).

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

A TFG medida por  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  foi de  $112 \pm 19 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ , variando de 64-160  $\text{mL/min/1,73 m}^2$ , com distribuição Gaussiana. Os valores de estimativa da TFG com as equações CKDEPIcreat, CKDEPIcistC e CKDEPI-CC foram respectivamente  $108 \pm 17$ ,  $97 \pm 16$  e  $102 \pm 15 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  (Figura 1). Os valores de TFG  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  foram semelhantes aos da CKDEPIcreat, porém a CKDEPI-CC e CKDEPIcistC foram significativamente mais baixas do que a TFG  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  (Figura 1).

A Figura 2 mostra a representação do viés e da concordância entre os métodos, sendo o menor viés demonstrado entre a TFG  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  e a TFG CKDEPIcreat. A acurácia P30 foi semelhante entre os três grupos ( $P=0,101$ ), porém a acurácia P15 foi significativamente mais baixa nas equações com cistatina ( $P=0,046$ ) (Tabela 2).

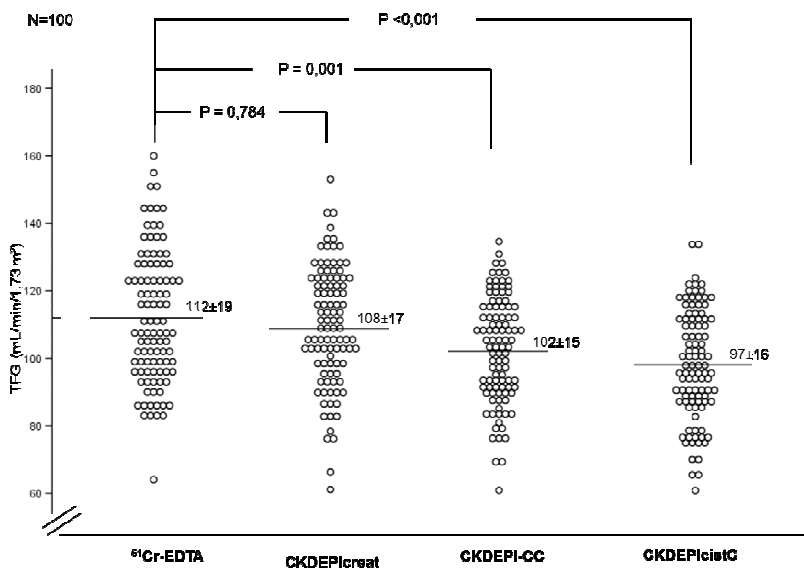


Figura 1 – Taxa de filtração glomerular medida por  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  e estimada pelas equações CKDEPIcreat, CKDEPI-CC e CKDEPIcistC nos 100 indivíduos saudáveis.

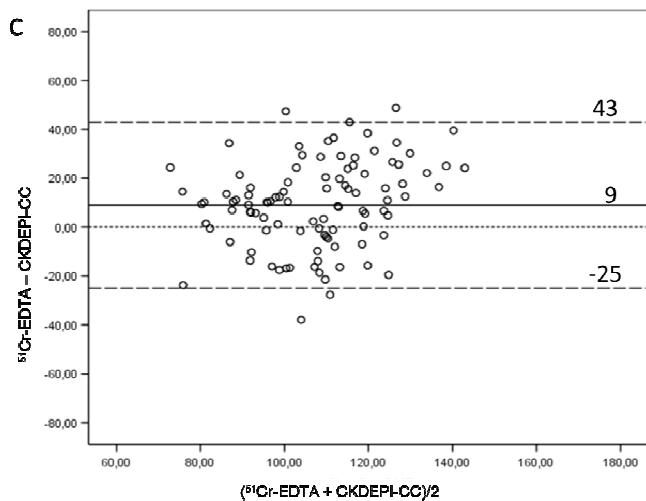
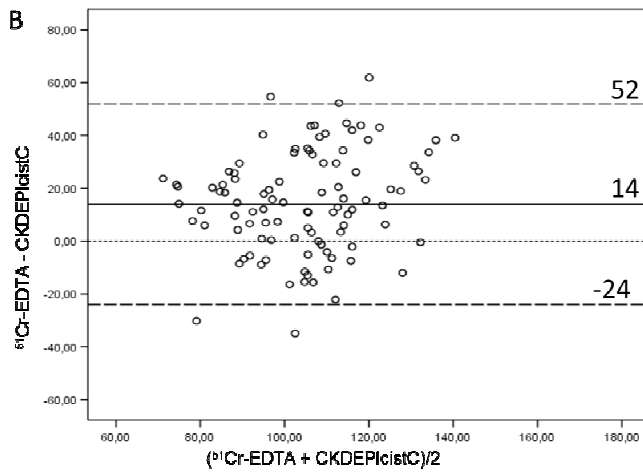
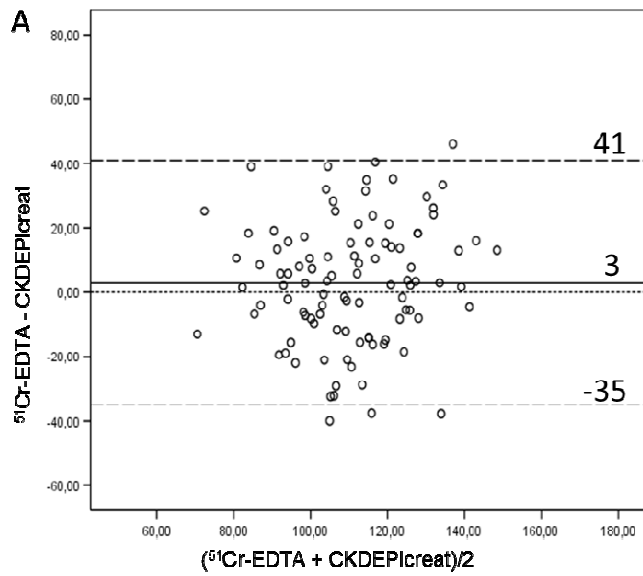


Figura 2 – Comparação da taxa de filtração glomerular medida por  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  versus filtração estimada pelas equações CKDEPIcreat (painel A), CKDEPIcistC (painel B) e CKDEPI-CC (painel C). A linha sólida representa o viés. As linhas pontilhadas demonstram os limites de concordância, calculados como viés  $\pm$  2 DP.

Tabela 2 – Desempenho preditivo das equações de estimativa da taxa de filtração glomerular nos indivíduos saudáveis (N=100).

	<b>Viés</b>	<b>Precisão</b>	<b>P30</b>	<b>P15</b>	<b>RQEM</b>
	(mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	(mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	(%)	(%)	
CKDEPIcreat	3	19	92	61	19
CKDEPI-CC	9	17	94	55	19
CKDEPIcistC	14	19	87	47	24

Foi encontrada uma correlação inversa e significativa entre idade e TFG <sup>51</sup>Cr-EDTA ( $r=-0,394$ ,  $P<0,001$ ), como esperado, e a regressão linear simples confirmou a influência da idade na TFG ( $r^2=0,16$ ,  $P<0,001$ ). Os dados foram então analisados também por faixas etárias. Foram comparados os dados de função renal do grupo <45 anos (N=66) vs. ≥45 anos (N=34) (Tabela 3).

Tabela 3 - Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos saudáveis de acordo com a faixa etária.

Característica	<45 anos (N=66)	≥45 anos (N=34)	P
Idade (anos)	30±7	56±8	<0,001
Gênero (M/H)	45/21	22/12	0,726
Etnia (B/N)	49/17	32/2	0,016
Fumo (%)	11(17%)	7 (21%)	0,629
PAS (mmHg)	114±12	116±12	0,404
PAD (mmHg)	72±9	73±7	0,838
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25±5	27±4	0,123
Creatinina (mg/dL)	0,76±0,14	0,79±0,16	0,278
Cistatina C (mg/L)	0,83±0,10	0,94±0,11	<0,001
TFG <sup>51</sup> Cr-EDTA (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	118±19	101±15	<0,001

Dados expressos como número de casos (%) ou média±DP.

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

Foi comparada a TFG estimada com as três equações de acordo com a faixa etária (<45 vs. ≥45 anos), que mostraram valores sempre mais baixos no grupo mais velho: CKDEPIcreat (117±13 vs 92±13), CKDEPIcistC (104±12 vs 83±12 ) e CKDEPI-CC (110±11 vs. 87±11 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) respectivamente. No grupo de jovens, houve concordância entre TFG <sup>51</sup>Cr-EDTA e as filtrações estimadas pelas equações CKDEPIcreat e CKDEPI-CC, porém a TFG CKDEPIcistC foi significativamente mais baixa (Figura 3). Já no grupo mais velho, não houve concordância da TFG medida com nenhuma equação. Ao analisar a acurácia por faixa etária, comparou-se o P15 e o P30 de cada equação entre os grupos de idade e não foi observada diferença estatisticamente significativa entre eles (Tabela 4). Quando foi comparada a acurácia das 3 equações dentro de cada faixa etária, encontramos diferença estatisticamente significativa para o P15 no grupo mais jovem, sendo a TFG CKDEPI-CC a equação com menor acurácia (P=0,024). A acurácia P15 do grupo com idade mais avançada foi semelhante para as três equações (P=0,150). Também foram semelhantes a acurácia P30 das equações de estimativa da TFG tanto para os mais jovens (P=0,247) quanto para os mais velhos (P=0,205).



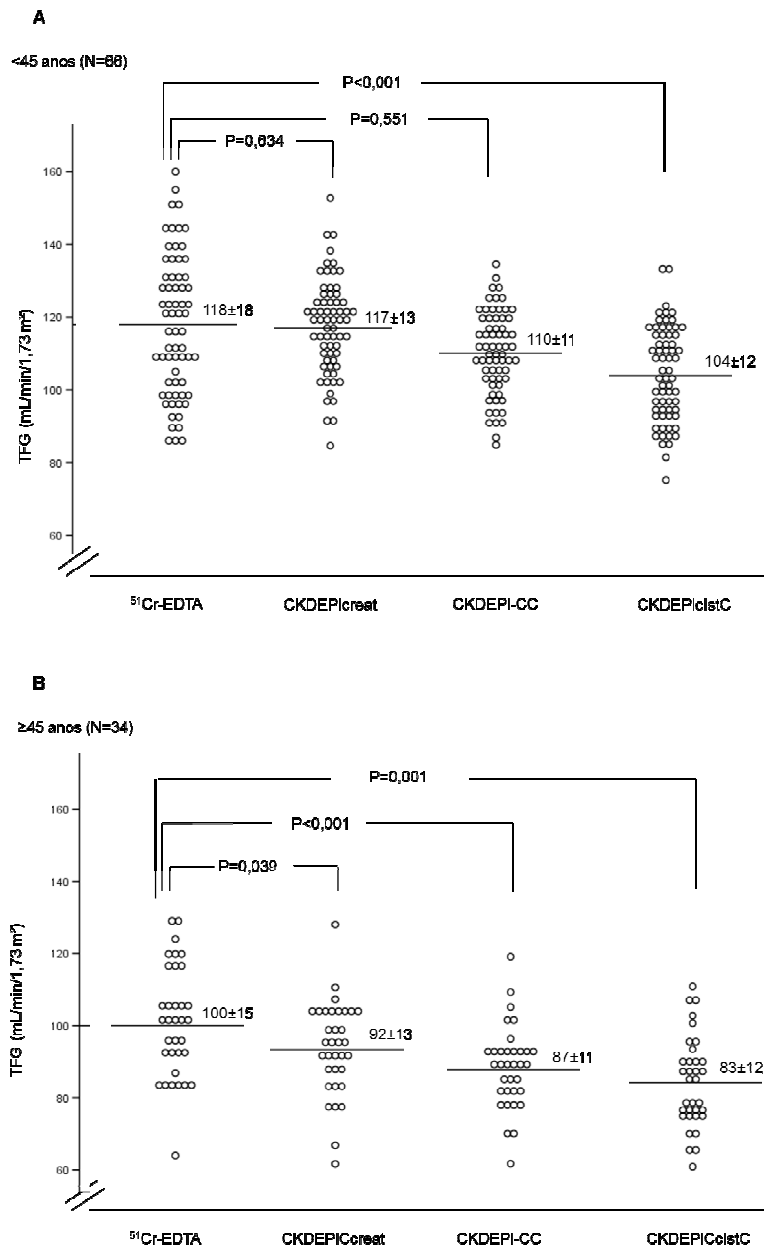


Figura 3. Valores de taxa de filtração glomerular medida com <sup>51</sup>Cr-EDTA e estimada pelas três equações CKDEPIcrea , CKDEPI-CC e CKDEPIcistC de acordo com a faixa etária. Painel A (<45 anos); painel B (≥45 anos).

Tabela 4 – Desempenho da acurácias (P15 e P30) das equações de estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) de acordo com a faixa etária.

Acurácia	<45 anos (N=66)	≥45 anos (N=34)	P
P15 TFG CKDEPIcreat	62%	59%	0,749
P15 TFG CKDEPIcistC	52%	38%	0,208
P15 TFG CKDEPI-CC	50%*	65%	0,161
P30 TFG CKDEPIcreat	91%	94%	0,713
P30 TFG CKDEPIcistC	88%	85%	0,759
P30 TFG CKDEPI-CC	96%	91%	0,661

Casos expressos em percentual (%). \* P=0,024 quando comparada a acurácia P15 entre as três equações do grupo <45 anos.

## Discussão

O desempenho da equação CKDEPIcreat para estimar a TFG foi superior ao da equação CKDEPIcistC, a qual subestimou significativamente a TFG medida pelo método de referência, enquanto a CKDEPI-CC apresentou um desempenho intermediário. Nos indivíduos mais jovens, esse padrão se manteve, mas em contraste, nos indivíduos acima de 45 anos, também a equação CKDEPIcreat subestimou marcadamente a TFG medida. As equações que empregam a cistatina C, independente da faixa etária, subestimaram inaceitavelmente a TFG medida.

Embora a CKDEPIcreat tenha sido a equação com maior concordância, houve uma dispersão muito grande e acurácia (P15) baixa, sempre subestimando o método de referência. O P30 encontrado no nosso estudo foi de 92%, considerado adequado pelas diretrizes, que recomendam que 90% dos casos tenham valor de TFG estimada que não se desvie mais do que 30% do valor medido (P30). No entanto, esse critério tem uma aceitação questionável, já que aceita uma margem de erro muito grande (31). Dessa forma, quando analisado o P15, que informa com maior exatidão, encontramos acurácia extremamente baixa, sendo que apenas cerca de metade dos indivíduos apresentavam diferença inferior a 15% entre a medida e a estimativa da TFG. Portanto, apesar da CKDEPIcreat apresentar nos nossos casos a melhor performance, ainda subestima a TFG real. Em estudo prévio, já demonstramos esse achado tanto em indivíduos saudáveis (32) e de forma ainda mais

acentuada em indivíduos com diabetes tipo 2 (33, 34). De qualquer forma, diversos estudos têm evidenciado que, em comparação com a antiga equação MDRD, que subestimava a TFG de forma pronunciada nas faixas de normalidade, a equação CKD-EPI apresenta maior acurácia (15) permitindo uma melhor classificação da TFG. Adicionalmente, estudos demonstram que a CKD-EPI prediz de forma mais precisa eventos cardiovasculares e mortalidade (35-37). Por outro lado, alguns autores colocam que a superioridade da CKD-EPI pode ser aceita em estudos epidemiológicos, mas certamente é mais questionável quando se pensa em termos de cada paciente (31).

Um fator crítico a ser levado em conta no desempenho das equações é a necessidade de dispor-se de uma dosagem de creatinina sérica confiável, com método que seja equiparado a padrões internacionais de referência (*isotopic dilution mass spectrometry* – IDMS) (1). No nosso estudo, foi utilizado um método de medida de creatinina sérica rastreável. Todavia, além disso, diversos interferentes afetam a dosagem da creatinina sérica. Nas situações onde há mudanças na produção de creatinina, como nos casos de redução de massa muscular ou doença hepática, pode haver uma superestimativa da TFG de acordo com a característica específica do indivíduo (3-5). Dessa forma examinamos apenas indivíduos adultos saudáveis sem modificações extremas da massa muscular.

Na prática clínica, nos deparamos com situações que de fato afetam os níveis de creatinina, de forma independente da TFG. No indivíduo com diabetes, por exemplo, tem sido observada uma performance inadequada da equação CKD-EPI, possivelmente devido a interferências da hiperglicemia sobre a creatinina (33, 38). Nesse sentido, marcadores alternativos para estimar a TFG têm sido buscados. A cistatina C tem sido sugerida como marcador mais sensível da TFG, conforme demonstrado em uma meta-análise recente (8). A cistatina C é uma proteína endógena do grupo da família dos inibidores da cisteína proteinase, inicialmente identificada no liquor (39). Como vantagem adicional, a cistatina C não sofre influência da massa muscular, tal como ocorre com a creatinina (9), o que seria interessante para avaliar a TFG em idosos (39). Uma coorte de idosos mexicanos demonstrou que a cistatina C é capaz de classificar a DRC mais acuradamente nesta população, além de identificar risco de morte e DCV em idosos com DRC (40). No nosso estudo, os níveis isolados de cistatina C, ao apresentarem-se mais elevados nos indivíduos mais idosos, pareceriam refletir o esperado declínio da TFG com a idade. Porém, o desempenho das equações com cistatina C foi desapontador no grupo mais velho. Alguns estudos, pelo contrário, indicam que as equações com cistatina C seriam mais eficazes para evidenciar o declínio da TFG com o envelhecimento, favorecendo seu uso na população de idosos (41).

De uma forma geral, no nosso estudo, a dosagem da cistatina C inserida em fórmulas não acrescentou ao desempenho da fórmula baseada na creatinina. Pelo contrário, a acurácia e a concordância com a TFG foram significativamente menores, especialmente no grupo com idade mais avançada como mencionado. A justificativa para esse comportamento desapontador pode ser baseada em erros sistemáticos da dosagem de cistatina C. Nesse sentido, como limitação, nosso estudo não dispunha da avaliação por meio de substância padrão de referência da cistatina C, que é o ideal em termos de controle de qualidade. No entanto, os valores de cistatina C encontrados no nosso estudo foram semelhantes ao que vem sendo descrito em indivíduos hígidos. O primeiro material de referência certificado da cistatina C sérica em humanos foi desenvolvido na Suécia em 2010, oferecendo a possibilidade de uma padronização internacional da dosagem da cistatina C (42). Atualmente, a meta é realizar uma força tarefa para a harmonização da dosagem da cistatina C e implementação de rastreabilidade deste analito, de forma análoga ao que ocorreu de maneira bem sucedida com as dosagens de creatinina (43).

Uma explicação alternativa para o resultado insatisfatório das fórmulas de cistatina C no nosso estudo, poderia simplesmente residir no fato de que as equações de fato ainda não podem ser universalizadas. No momento, inúmeras equações têm sido desenvolvidas, o que reflete, na verdade, a falta de consenso nessa área (6,9,16). As equações mais testadas e validadas, em certa medida, para diferentes populações e situações têm sido as do grupo CKD-EPI. Uma publicação dos investigadores do CKD-EPI no *New England Journal of Medicine* (NEJM) na metade de 2012 norteou as novas diretrizes da KDIGO, que recomendam atualmente estimar a TFG com a equação CKD-EPI creatinina e usar equações de estimativa com cistatina C como teste confirmatório. As equações de cistatina C testadas foram a CKD-EPI com cistatina C isolada ou combinada com creatinina (CKD-EPI creatinina-cistatina C) (16). Atualmente, é sugerido utilizar uma das equações com cistatina C para confirmar o diagnóstico de DRC quando a TFG CKDEPIcreat se encontrar na faixa de 45-59 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> quando não estão presentes outros marcadores de dano renal (1). A inclusão da equação combinada para esclarecer essa situação de dúvida, baseou-se na publicação mencionada do NEJM, que evidenciou que essa equação melhoraria a reclassificação da filtração medida (16). Reforçando esses achados, uma meta-análise recente que avaliou 11 estudos envolvendo a população em geral e mais 5 estudos com pacientes com DRC, constatou que a utilização de equações empregando a cistatina C isolada ou combinada com a creatinina fortaleceria a associação entre a estimativa da TFG e risco de morte por qualquer causa e doença renal terminal em distintas populações (44). Por outro lado, outro estudo comparou três equações desenvolvidas na Suécia para estimar a TFG, sendo uma equação com creatinina e cistatina C combinadas, e duas empregando

esses marcadores de forma isolada e concluiu que a equação combinada não deveria ser utilizada se a TFG<sub>creat</sub> e TFG<sub>cistC</sub> diferirem mais de 40% (6). Assim sendo, embora recentemente tenha sido acrescentada a medida da cistatina C para estimar a TFG na calculadora que era previamente disponível no site do National Kidney *Foundation* (NKF) e que calculava a TFG apenas com creatinina sérica ([www.kidney.org](http://www.kidney.org)), ainda existem controvérsias a respeito do desempenho das equações que empregam cistatina C (45). Na verdade, para que seja universalizada essa prática, é ainda necessário concretizar-se a padronização da dosagem da cistatina C sérica e o desenvolvimento e testagem de uma equação aplicável às diferentes populações.

Finalmente, a inacurácia das equações com cistatina C no nosso estudo pode dever-se a peculiaridades étnicas. No entanto, ao contrário da creatinina sérica, cujos níveis podem ser influenciados pelas diferentes massas musculares das diferentes populações, a cistatina C sérica seria possivelmente menos afetada, embora ainda haja controvérsia (46). Por exemplo, estudos em populações europeias têm relatado uma performance razoavelmente adequada em termos populacionais, embora em termos do paciente individual sejam inaccuradas (18). Já na população japonesa, foi demonstrado que as equações CKD-EPI possuem uma boa precisão e acurácia, embora tenha sido modificado o fator de correção das três equações para adequar-se à população japonesa (47). Por outro lado, um estudo Chinês demonstrou que a equação Crockoft-Gault possui melhor performance para estimar a TFG na população idosa do que a equação CKD-EPI (48). Esses dados demonstram a necessidade de adicional avaliação da influência da etnia sobre a medida da cistatina C e sobre as equações de estimativa da TFG que venham a usar esse marcador.

Um último aspecto a ser analisado é a influência direta da idade do indivíduo sobre o biomarcador avaliado e o efeito sobre o cálculo da equação propriamente dita. No nosso estudo, observamos que todas as equações subestimam a TFG, fenômeno observado especialmente a partir dos 45 anos de idade. Em contraste, de acordo com Murata e colaboradores, a equação CKDEPI<sub>creat</sub> superestima a TFG em sujeitos com mais de 70 anos de idade e subestima a TFG em jovens saudáveis (49). Esse achado ainda é controverso na literatura. Alguns estudos descrevem uma performance semelhante das equações em idades avançadas, enquanto outros relatam uma acurácia pior em populações mais idosas. Um recente estudo Francês demonstrou que a equação CKD-EPI apresentava maior acurácia entre idosos com DRC (50), mas a equação BIS-1 (Berlin Initiative Study) – uma equação desenvolvida especificamente para idosos acima de 70 anos – era a mais confiável para avaliar a função renal nos estágios 1 a 3 (50). Outras coortes significativas de pacientes com idade avançada e DRC sugerem que as equações desempenham de forma

semelhante em idosos, com estimativas que não são perfeitas, mas satisfatórias (51). Da mesma forma, um estudo com objetivo específico de analisar essa questão avaliou indivíduos com mais de 70 anos e concluiu que a equação CKD-EPI foi a mais acurada e foi tão satisfatória quanto o relatado em jovens (20). Por outro lado, um recente estudo Europeu relata que na doença renal avançada (TFG <30), acurácias similares foram encontradas para as equações MDRD e CKD-EPI, mas os autores salientam que essa acurácia foi pior nos pacientes com mais de 65 anos e naqueles com nefropatia diabética (18). Também em uma população idosa da China nenhuma das equações que utilizam a creatinina sérica apresentam bom desempenho para diagnosticar DRC (52). Tal divergência de achados evoca a necessidade de estudos adicionais, que levem em conta a faixa etária e o grau de função renal simultaneamente.

No sentido de melhorar esse quadro em idosos, um estudo que avaliou o desempenho da creatinina e cistatina C para estimar a TFG em uma população mais velha, concluiu que a equação que combina esses dois marcadores possuía a capacidade de estimar a TFG de forma mais acurada que a creatinina (53). Também Shlipak demonstrou que a cistatina C representaria melhor o declínio da função renal em idosos que a creatinina, sugerindo que as diferenças entre os marcadores seriam causados pela insensibilidade da creatinina em detectar pequenas mudanças da função renal em pessoas com idade mais avançada (41). Um recente estudo sueco que avaliou a mudança da TFG relacionada à idade por meio da estimativa da TFG com equações com creatinina ou cistatina C concluiu que há uma clara diferença no declínio relacionado à idade entre as equações. A equação com cistatina C teria revelado uma taxa de declínio da TFG (19) mais próxima à observada com o método de referência da TFG para estimar essa variação relacionada à idade (54).

Uma das limitações do presente estudo é o tamanho da amostra relativamente pequeno; no entanto, de acordo com Bland & Altman, o número de 100 indivíduos é adequado para avaliar concordância entre métodos (29). Após estratificação por idade o número de idosos ficou restrito, requerendo estudos adicionais para confirmar os achados relacionados à idade. Outra limitação, conforme já mencionado, é a não utilização da substância de referência para medida da cistatina C no nosso estudo. Porém, a maioria dos estudos existentes até o momento também ainda não vinha empregando essa substância, o que será estimulado e viabilizado nos estudos vindouros e, apesar disso, nossos resultados apresentaram valores semelhantes aos descritos em outros estudos envolvendo indivíduos normais.

Como as equações de estimativa de TFG com biomarcadores são usadas tanto para determinar prognóstico e progressão de DRC como para definir estratégias de tratamento, é

fundamental que sejam validados métodos confiáveis e rastreáveis para avaliar esses biomarcadores.

Em conclusão, em indivíduos saudáveis, demonstramos que a equação de estimativa da TFG baseada na creatinina mostrou-se superior às equações que empregam cistatina C; em idosos, todas as equações mostraram-se insatisfatórias. Deste modo, são ainda necessários ajustes adicionais nas fórmulas disponíveis para estimar a TFG de forma mais acurada.

## Referências

1. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease; *Kidney International*. 2013; vol 3, issue 1; Suppl:S1-S163.
2. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Gansevoort RT. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9731):2073-81.
3. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:2305-2313.
4. 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.
5. 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(9):1023–32.
6. Grubb A, Nyman U, Björk J. Improved estimation of glomerular filtration rate (GFR) by comparison of eGFRcystatin C and eGFRcreatinine. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 2012;72:73-77.
7. Ferguson MA, Waikar SS. Established and emerging markers of kidney function. *Clin Chem* 2012;58(4):680-9.
8. Zhang M, Cao X, Cai G, Wu D, Wei R, Yuan X, et al. Clinical evaluation of serum cystatin C and creatinine in patients with chronic kidney disease: a meta-analysis. *J Int Med Res*. 2013;41(4):944-55.
9. Weinert LS, Prates AB, Amaral FB, Vaccaro MZ, Camargo JL, Silveiro SP. Gender does not influence cystatin C concentrations in healthy volunteers. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:405-408.
10. Segarra A, de la Torre J, Ramos N, Quiroz A, Garjau M, Torres I, et al. Assessing glomerular filtration rate in hospitalized patients: a comparison between CKD-EPI and four cystatin C-based equations. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(10):2411-20.
11. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, et al. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med* 2005;352:2049–60.



12. Krolewski AS, Warram JH, Forsblom C, Smiles AM, Thorn L, Skupien J, et al. Serum concentration of cystatin C and risk of end-stage renal disease in diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35(11):2311-2316.
13. Schöttker B, Herder C, Müller H, Brenner H, Rothenbacher D. Clinical utility of creatinine- and cystatin C-based definition of renal function for risk prediction of primary cardiovascular events in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35(4):879-886.
14. He R, Shen J, Zhao J, Zeng H, Li L, Zhao J, Liu F, Jia W. High cystatin C levels predict severe retinopathy in type 2 diabetes patients. *Eur J Epidemiol*. 2013. [Epub ahead of print]
15. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-612.
16. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 2012;376(1):20-29.
17. Obiols J, Bargnoux AS, Kuster N, Fesler P, Piéroni L, Badiou S, et al. Validation of a new standardized cystatin C turbidimetric assay: evaluation of the three novel CKD-EPI equations in hypertensive patients. *Clin Biochem* 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.05.056>
18. Evans M, Stralen KJ, Schön S, Prütz KG, Stendahl M, Rippe B, et al. Glomerular filtration rate-estimating equations for patients with advanced chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2013;0:1-9. doi: 10.1093/ndt/gft226
19. Karlqvist JH, Flodin M, Hansson LO, Larsson A. The age related association is more pronounced for cystatin C estimated GFR than for creatinine estimated GFR in primary care patients. *Clin Biochem* 2013 <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.07.007>
20. Kilbride HS, Stevens PE, Eaglestone G, Knight S, Carter JL, Delaney MP, et al. Accuracy of the MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) study and CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) equations for estimation of GFR in the elderly. *Am J Kidney Dis* 2013;61(1):57-66.
21. González BS, Latre LMR, Miró RG, Funes VA, Ródenas HS, Morán FJT, et al. Estimation of glomerular filtration rate by MDRD-4 IDMS and CKD-EPI in individuals of 60 years of age or older in primary care. *Nefrologia* 2013;33(4):552-563.

22. Pattaro C, Riegler P, Stifter G, Modenese M, Minelli C, Pramstaller PP. Estimating the glomerular filtration rate in the general population using different equations: effects on classification and association. *Nephron Clin Pract* 2013;123:102-111.
23. Brochner-Mortensen J. Routine methods and their reliability for assessment of glomerular filtration rate in adults. *Danish Medical Bulletin*. 1978;25(5):181-201.
24. Fleming JS, Zivanovic MA, Blake GM, Burniston M, Cosgriff PS: Guidelines for the measurement of glomerular filtration rate using plasma sampling. *Nucl Med Commun* 2004, 25:759–769.
25. Chantler C, Barrat TM: Estimation of glomerular filtration rate from plasma clearance of 51-Chromium Edetic Acid. *Arch Dis Child* 1972, 47:613–617.
26. Gehan EA, George S: Estimation of human body surface. *Cancer Chemother Rep* 1970, 54:225–235.
27. Gross JL, Friedman R, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M: Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by <sup>51</sup>Cr-EDTA. *Brazilian J Med Biol Res* 1992, 25:129–134.
28. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research* 1999;8:135-60.
29. Bland M. Sample size for a study of agreement between two methods of measurement [Internet]. Disponível em <http://www-users.york.ac.uk/~mb55/meas/sizemeth.htm>. Acessado em Agosto 2013.
30. 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(3):763-773.
31. Delanaye P, Pottel H, Botev R. Con: Should we abandon the use of the MDRD equation in favour of the CKD-EPI equation? *Nephrol Dial Transplant* 2013;28(6):1396-1403.
32. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, et al. 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.
33. Camargo EG, Soares AA, Detanico AB, Weinert LS, Veronese FV, Gomes EC, et al. 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.

34. Silveiro SP, Araújo GN, Ferreira MN, Souza FD, Yamaguchi HM, Camargo EG. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34(11):2353-2355.

35. Matsushita K, Mahmoodi BK, Woodward M, Emberson JR, Jafar TH, Jee SH, et al. Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2012;307(18):1941-1951.

36. Plischke M, Neuhold S, Kohl M, Heinze G, Sunder-Plassmann G, Pacher R, et al. Renal function in heart failure: a disparity between estimating function and predicting mortality risk. *Eur J Heart Fail.* 2013;15(7):763-770.

37. Hui X, Matsushita K, Sang Y, Ballew SH, Fülöp T, Coresh J. CKD and Cardiovascular Disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: Interactions With Age, Sex, and Race. *Am J Kidney Dis* 2013 doi: 10.1053/j.ajkd.2013.04.010.

38. Rognant N, Lemoine S, Laville M, Hadj-Aïssa A, Dubourg L. Performance of the chronic kidney disease epidemiology collaboration equation to estimate glomerular filtration rate in diabetic patients. *Diabetes Care* 2011;34(6):1320-1322.

39. Shlipak MG, Mattes MD, Peralta CA. Update on cystatin C: incorporation into clinical practice. *Am J Kidney Dis.* 2013;62(3):595-603.

40. Peralta CA, Lee A, Odden MC, Lopez L, Zeki Al Hazzouri A, Neuhaus J, et al. Association between chronic kidney disease detected using creatinine and cystatin C and death and cardiovascular events in elderly Mexican Americans: the Sacramento Area Latino Study on Aging. *J Am Geriatr Soc* 2013;61(1):90-95.

41. Shlipak MG, Katz R, Kestenbaum B, Fried LF, Newman AB, Siscovick DS, et al. Rate of kidney function decline in older adults: a comparison using creatinine and cystatin C. *Am J Nephrol* 2009;30:171:178.

42. Grubb A, Blirup-Jensen S, Lindström V, Schmidt C, Althaus H, Zegers I, et al. First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(11):1619-1621.

43. Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, et al. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53(4):766-772.
44. Shlipak MG, Matsushita K, Ärnlöv J, Inker LA, Katz R, Polkinghorne KR, et al. Cystatin C versus creatinine in determining risk based on kidney function. *N Engl J Med* 2013;369(10):932-943.
45. Delanaye P, Cavalier E. Staging chronic kidney disease and estimating glomerular filtration rate: an opinion paper about the new international recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2013;24:1-7.
46. Macdonald J, Marcora S, Jibani M, Roberts G, Kumwenda M, Glover R, et al. GFR estimation using cystatin C is not independent of body composition. *Am J Kidney Dis* 2006;48(5):712-719.
47. Horio M, Imai E, Yasuda Y, Watanabe T, Matsuo S. Performance of GFR equations in Japanese subjects. *Clin Exp Nephrol* 2013;17(3):352-358.
48. Liu X, Cheng MH, Shi CG, Wang C, Cheng CL, Chen JX, et al. Variability of glomerular filtration rate estimation equations in elderly Chinese patients with chronic kidney disease. *Clin Interv Aging* 2012;7:409-15.
49. Murata K, Baumann NA, Saenger AK, Larson TS, Rule AD, Lieske JC. Relative performance of the MDRD and CKD-EPI equations for estimating glomerular filtration rate among patients with varied clinical presentations. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(8):1963-1972.
50. Koppe L, Klich A, Dubourg L, Ecochard R, Hadj-Aissa A. Performance of creatinine-based equations compared in older patients. *J Nephrol* 2013;26(4):716-23.
51. Flamant M, Haymann JP, Vidal-Petiot E, Letavernier E, Clerici C, Boffa JJ, et al. GFR estimation using the Cockcroft-Gault, MDRD study, and CKD-EPI equations in the elderly. *Am J Kidney Dis*. 2012;60(5):847-849.
52. Liu X, Cheng MH, Shi CG, Wang C, Cheng CL, Chen JX, et al. Variability of glomerular filtration rate estimation equations in elderly Chinese patients with chronic kidney disease. *Clin Interv Aging* 2012;7:409-415.

53. Schaeffner ES, Ebert N, Delanaye P, Frei U, Gaedeke J, Jakob O, et al. Two novel equations to estimate kidney function in persons aged 70 years or older. *Ann Intern Med* 2012;157(7):471-481.

54. 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(4):210-215.

Material complementar

Tabela A – Equações utilizadas para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) empregando creatinina e cistatina C séricas.

Equação e Sexo	Creatinina sérica (mg/dL)	Cistatina C (mg/L)	Equação para estimar TFG (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )
<b>CKD-EPI creatinina</b>			
Mulher	≤0,7		$144 \times (Cr/0,7)^{-0,729} \times 0,993^{\text{idade}}$ (x1,159 se negro)
Mulher	>0,7		$144 \times (Cr/0,7)^{-1,209} \times 0,993^{\text{idade}}$ (x1,159 se negro)
Homem	≤0,9		$141 \times (Cr/0,9)^{-0,411} \times 0,993^{\text{idade}}$ (x1,159 se negro)
Homem	>0,9		$141 \times (Cr/0,9)^{-1,209} \times 0,993^{\text{idade}}$ (x1,159 se negro)
<b>CKD-EPI cistatina C</b>			
Mulher ou Homem		≤0,8	$133 \times (CistC/0,8)^{-0,492} \times 0,996^{\text{idade}}$ (x0,932 se mulher)
Mulher ou Homem		>0,8	$133 \times (CistC/0,8)^{-1,128} \times 0,996^{\text{idade}}$ (x0,932 se mulher)
<b>CKD-EPI creatinina-cistatina C</b>			
Mulher	≤0,7	≤0,8	$130 \times (Cr/0,7)^{-0,248} \times (CistC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
		>0,8	$130 \times (Cr/0,7)^{-0,248} \times (CistC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
Mulher	>0,7	≤0,8	$130 \times (Cr/0,7)^{-0,541} \times (CistC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
		>0,8	$130 \times (Cr/0,7)^{-0,541} \times (CistC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
Homem	≤0,9	≤0,8	$135 \times (Cr/0,9)^{-0,207} \times (CistC/0,8)^{-0,176} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
		>0,8	$135 \times (Cr/0,9)^{-0,207} \times (CistC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
Homem	>0,9	≤0,8	$135 \times (Cr/0,9)^{-0,661} \times (CistC/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)
		>0,8	$135 \times (Cr/0,9)^{-0,661} \times (CistC/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{idade}}$ (x 1,08 se negro)

Adaptado de Inker LA et al. *JAMA* 2012; 307(15):2673-80.

## Capítulo 3

### **Low rates of automatic reporting of estimated glomerular filtration rate in Southern Brazilian laboratories**

Running head: Automatic reporting of glomerular filtration rate

Ariana Aguiar Soares<sup>1</sup>

Amanda Veiga Cheuiche<sup>1</sup>

Alexandre Sauer da Silva<sup>1</sup>

Maria Júlia Almeida Rostirolla<sup>1</sup>

Larissa Petermann Jung<sup>1</sup>

Bernardo Lessa Horta<sup>2</sup>

Joíza Lins Camargo<sup>3</sup>

Sandra Pinho Silveiro<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Postgraduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Epidemiology Graduate Program, Universidade Federal de Pelotas (UFPEl), Pelotas, RS, Brazil

<sup>3</sup>Clinical Pathology Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>4</sup>Endocrinology Unit, HCPA, Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding author:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

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

Porto Alegre, RS, Brazil

+55.51.33599255 (fax) +55.51.33598127 (phone)

E-mail: [silveirosandra@gmail.com](mailto:silveirosandra@gmail.com)

**Artigo publicado na revista Clinical Biochemistry 2013**

(Soares AA, Cheuiche AV, da Silva AS, Rostirolla MJ, Jung LP, Horta BL, Camargo JL,

Silveiro SP. Clin Biochem 2013.)

**Abbreviations**

eGFR: estimated glomerular filtration rate

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

MDRD: Modification of Diet in Renal Disease



## **Abstract**

**Objectives:** The aim of this study was to evaluate the rate of eGFR reporting in Southern Brazilian laboratories.

**Design and methods:** The eGFR automatic reporting, as assessed by Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) and/or Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) creatinine-based equations, was evaluated in a representative cross-sectional sample. A standardized questionnaire to obtain this information was given out by mail or email.

**Results:** Five-hundred fifty laboratories, evenly distributed in the different state regions, completed the questionnaire. The eGFR was automatically reported by 54 (9.8%) laboratories, and the MDRD was the most commonly used equation (94.5%). The Jaffe methods were the most employed technique (94%) to measure serum creatinine.

**Conclusion:** The automatic eGFR reporting rate was unacceptably low, emphasizing the crucial role of educating medical teams and laboratories on the importance of having these tools available to optimize detection of renal disease and proper treatment.

**Keywords:** automatic report, CKD-EPI equation, creatinine, estimated glomerular filtration rate, MDRD equation, renal function.

## **Introduction**

Chronic kidney disease (CKD) is defined as a glomerular filtration rate (GFR) <60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> and/or presence of kidney damage – such as increased urinary albumin excretion (UAE) – for 3 months or more [1]. CKD is an overwhelming public health problem. A recent international systematic review reported a rate of up to 14% of impaired kidney function worldwide [2].

In clinical practice, CKD can be easily identified by simple and readily available laboratory tests, such as creatinine-based estimated GFR (eGFR) and UAE measured in a spot urine sample. International guidelines recommend the automatic reporting of eGFR whenever serum creatinine is measured, using the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) or Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equations [1,3]. Although the performance of these equations is not optimal, it is well established that they can predict renal and cardiovascular outcomes [4].

Recent studies have demonstrated that automatically reporting eGFR enables earlier referral to the nephrologist and delays progression to advanced renal failure and dialysis [5,6]. It has been estimated that from 70 to 90% of the laboratories in Australia, North America, and Canada report eGFR [7-9], but European studies have described lower figures in Italy and Spain [10,11].

This study aimed at assessing the proportion of laboratories that routinely report eGFR in Southern Brazil.

## **Methods**

### **Subjects and Methods**

A cross-sectional survey was conducted from July 2010 to July 2012 and investigated clinical laboratories located in the state of Rio Grande do Sul (RS), in the southern region of Brazil. The country is divided in five regions, and our region (encompassing 3 states: Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul) contributes to 16.5% of the Brazilian Gross Domestic

Product (GDP). According to the National Institute of Geography and Statistic (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE) last cense, carried out in 2010, the population of the state is 10,693,929 inhabitants [12]. The state area is divided socially and geographically in north and south regions [12,13]. The study was approved by the Research Ethics Committee of the institution (protocol no. 10-0129), and each laboratory agreed to participate in the survey.

An invitation letter was sent to all 880 clinical pathology laboratories duly registered in the Regional Pharmacy Council. Technical specification survey included the following questions: 1) What method was used to measure serum creatinine (manufacturer's name), 2) Is this method IDMS-traceable? (This information is in the specifications of the kit), and 3) Does your laboratory report estimate equation based glomerular filtration rate (MDRD, CKD-EPI, or Cockcroft & Gault) whenever serum creatinine is requested?. Half of the responding laboratories were randomly selected to answer about the number of daily serum creatinine measurements, and about the creatinine method employed.

Contact to obtain data was made by mail, e-mail, telephone, or interview.

### Statistical analysis

The estimated sample size was 384 laboratories, based on a fixed proportion of 0.5 (50%), with an absolute precision of 5% and a confidence level of 95% [14]. Statistical analyses were performed in the Predictive Analytics Software (PASW) version 20.0 (Statistical Package for Social Sciences-Professional Statistics™, Chicago, IL, USA).

### Results

Five-hundred fifty (63 % response rate) laboratories completed the questionnaire, as follows: 402 out of 648 (62%) laboratories located in the northern region, and 148 out of 232 (64%) in the southern region of the state (Figure 1), ensuring geographic representativeness of the data collected.

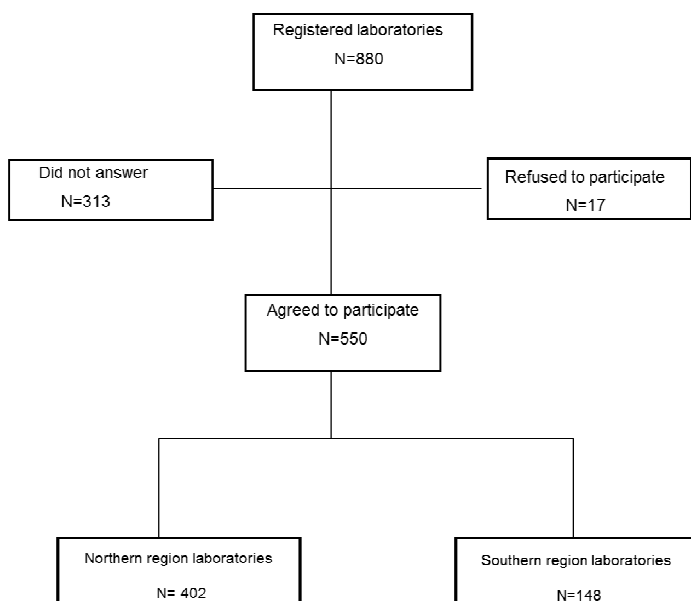


Figure 1 – Flowchart of the regional laboratory survey.

Of the 550 responding laboratories, 54 (9.8%) routinely reported eGFR when serum creatinine measurement was requested; of these, 44 (11%) were located in the northern region and 10 (7%), in the southern region ( $P=0.139$ ), ensuring a balanced representation of the state. Table 1 shows the number of eGFR reports according to each equation. MDRD was the most commonly used equation. No laboratory employed the “6 variable” MDRD equation, which requires the measurement of serum albumin and blood urea nitrogen.

Table 1 – Equations used by 54 laboratories that automatically reported estimated glomerular filtration rate (eGFR), out of 550 responding laboratories.

eGFR reporting equation	Number of laboratories
MDRD	51 (94.5%)
CG	2 (3.7%)
CKD-EPI	1 (1.8%)
Total reports	54 (100%)

CG = Cockcroft-Gault; CKD-EPI = Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; MDRD = Modification of Diet in Renal Disease.

In a random subgroup analysis, 243 laboratories also answered about the number of serum creatinine measurements performed daily, ranging from 1 to 860 per day (median of 15/day). The Jaffe methods were used by 229 (94%) laboratories, followed by enzymatic measurement in 9 (4%), and dry chemistry in 5 (2%). This subgroup also informed about the traceability of creatinine assay, and 101 (42%) laboratories were using traceable methods.

## **Discussion**

The rate of automatic eGFR reporting when serum creatinine measurement is requested was about 10%. This figure is much lower than the reported rates of 70-90% in Australia, United States, and Canada [7-9]. In Europe, a regional Italian survey described a 35% rate of automatic reporting [10], and a Spanish study reported a proportion of 42.5% [11]. These numbers reflect the results of task forces that started in these countries years ago [7,15].

The implementation of routine eGFR reporting was initiated in 2002 in the United States [15] and in 2004 in Australia [7], with the assistance of the Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) guidelines. It was recommended that all clinical laboratories should report eGFR whenever serum creatinine measurement was requested. Simultaneously, the introduction of IDMS-aligned assays was encouraged, improving the performance of eGFR equations [16].

Therefore, areas with higher uptake rates have been the product of collaboration between laboratory organizations and nephrology organizations, formal position statements and active campaigns to promote laboratory uptake and facilitate correct interpretation.

Our low rates of eGFR reporting clearly indicate a need to develop education programs to allow large-scale implementation of this recommendation in our country. In line with this, the government in India is taking steps to improve standardization of creatinine laboratory testing and implement eGFR reporting [17].

A recent systematic review evaluated high-quality studies and described a noteworthy prevalence rate of impaired kidney function of about 8%, similar to that of diabetes mellitus, indicating a substantial worldwide health care challenge [2]. The ultimate goal of guidelines is to promote optimal use of laboratory results, allowing earlier CKD detection and timely management. Implementation of automated eGFR reporting side-by-side with serum creatinine values at clinical laboratories will certainly improve CKD recognition. A recent North American study demonstrated that differences in coding of CKD by age and gender were reduced after the introduction of automated eGFR reporting [18]. Previous studies conducted in the United States [19], United Kingdom [20], Australia [7], and Canada [6,21,22] have shown that automated eGFR reporting increased nephrology referral rates, leading to more timely expertise care. Indeed, a recent literature review showed that nephrology referrals increased between 13 to 270% after the institution of automated eGFR reporting [23]. Similarly, in a cohort of pre-dialysis patients, co-management of CKD by primary care providers and nephrologists resulted in significantly better care [24]. Moreover, eGFR reporting was associated with an increase in guideline-based care of older patients with CKD [25], and with a decline in otherwise inappropriate creatinine clearance tests performed [26].

In this study, statewide sampling representativeness was ensured on a geographical basis by including a proportional number of laboratories from each region (north vs. south). Since the northern region encompasses about 75% of the entire state population, with a GDP of about 40% higher than that in the southern region, we had to ensure a proportional data collection in order to avoid bias in the results. A limitation of our survey is that this sample cannot be regarded as representative of the whole country because it includes only the southernmost state of Brazil. However, RS is the first in contribution to the region, which corresponds to 40.6% of GDP locally, and is the 4<sup>th</sup> most important state in this regard in Brazil. Therefore, given the lack of data from other regions of the country, we could speculate that only the southeast region (São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais and Espírito Santo) could perhaps perform better, since it contributes with 55% of GDP. In the poorer regions, an even worst scenario would be found.

In our state, most laboratories (94%) used the MDRD equation, and only 2% used the CKD-EPI equation. Similarly, in Lombardy, Italy, eGFR was calculated using the MDRD equation in 88% of cases, and the CKD-EPI equation in no more than 12% of laboratories [12]. In Australia and New Zealand, 90% of laboratories report MDRD eGFR, as recommended in their consensus statement [7]. A similar situation occurs in Spain, where 93.5% of laboratories that report eGFR use the MDRD equation [11]. Most laboratories probably employ MDRD because it was the first recommended equation, but a remarkable survey has shown that the CKD-EPI equation can more accurately categorize the risk of advanced kidney disease and mortality than the MDRD equation [27,28]. Therefore, new guidelines have recommended the use of the CKD-EPI equation [29,30]. Even though creatinine-based equations are not flawless, underestimating normal range GFR [30-32], they are still the most feasible way to evaluate renal function, and are certainly better than measuring isolated serum creatinine, which is markedly influenced by muscle mass.

In our subgroup analysis, less than half of laboratories used traceable assays to measure serum creatinine. Furthermore, the information about IDMS-traceability is usually not clearly stated by the manufacturers in the package insert in the kits. All these findings clearly indicate the necessity to develop a task force to change this problematic situation. The Jaffe methods were the most commonly used technique (94% of laboratories) to measure serum creatinine. Likewise, Jaffe methods were used in 88% of laboratories in Spain [11], in 66% in Italy [10], and in 63% in Holland [34]. This method was developed more than 100 years ago, and is still vastly used due to its simplicity and low cost [35]. However, significant interference is quite common with a number of substances, which are known to produce Jaffe-like chromogens, including protein, glucose, ascorbic acid, ketone bodies, pyruvate, and cephalosporins [34-36]. Therefore, several groups advocate the end of Jaffe techniques, and favor the use of enzymatic methods [34,36]. Notwithstanding, the enzymatic method is also not completely specific to creatinine [37] and is subject to interferences of its own, especially from bilirubin and diabetes [38,39]. Due to economic reasons, the enzymatic method was used in only 4% of our laboratories. Similar rates were reported in Spain, where

only 8% of laboratories used this method [11], with better figures in Italy, where 30% of laboratories used it [10]. A more spread use of enzymatic methods in a near future will probably lower its cost, allowing a more systematic use of this superior method.

## **Conclusions**

The routine reporting of eGFR side-by-side with serum creatinine measurement requests is not a widespread practice in Southern Brazilian laboratories, although formally recommended by international guidelines. Strategies must be developed by the government and health institutions in order to achieve these recommendations, since it has been clearly shown that they improve recognition and quality of care of individuals with kidney disease.

## **Acknowledgements**

The authors would like to thank the Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre for its financial support. AVC and AAS are supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) grants. We thank Vania Naomi Hirakata for statistical analyses supervision.

## **Conflict of interest statement**

The authors stated that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.



## References

1. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, et al. The definition, classification and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int* 2011;80:17-28.
  2. McCullough K, Sharma P, Ali T, et al. Measuring the population burden of chronic kidney disease: a systematic literature review of the estimated prevalence of impaired kidney function. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 1812–21.
  3. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-12.
  4. van der Velde M, Matsushita K, Coresh J. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int* 2011;79:1341–52.
  5. Black C, Sharma P, Scotland G, et al. Early referral strategies for management of people with markers of renal disease: a systematic review of the evidence of clinical effectiveness, cost-effectiveness and economic analysis. *Health Technol Assess* 2010;14:1-184.
  6. Akbari A, Grimshaw J, Stacy D, et al. Change in appropriate referrals to nephrologists after the introduction of automatic reporting of the estimated glomerular filtration rate. *CMAJ* 2012;184:E269-76.
  7. Jones GR, Mathew T, Johnson D, Peake M. Implementation of the routine reporting of eGFR in Australia and New Zealand. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;241(Suppl):23-29.
  8. Miller WG. Reporting estimated GFR: a laboratory perspective. *Am J Kidney Dis* 2008;52:645-48.
  9. Collier C. Estimating glomerular filtration rate (eGFR). *Canadian Society of Clinical Chemistry Newsletter* 2005.
- Available at: [http://www.clinicalchemistry.on.ca/eGFR\\_Comment.htm](http://www.clinicalchemistry.on.ca/eGFR_Comment.htm) . Accessed August 30, 2012.

10. Imbasciati E, Falbo R, Mariani P, Signorelli S, Stella A, Brambilla P. A regional survey of serum creatinine measurement methods and estimated glomerular filtration rate reporting. *J Nephrol* 2013;26(2):396-402.
11. Garcia SG, Bermúdez RM, García LJM, et al. Current use of equations for estimating glomerular filtration rate in Spanish laboratories. *Nefrologia* 2012;32:508-16.
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/home/> Accessed April 04, 2013.
13. Ministério da Integração Nacional <http://www.mi.gov.br/programas/programasregionais/metadesul/abrangencia.asp> Accessed April 04, 2013.
14. Lwanga SK, Leweshow S. Determinación del tamaño de las muestras en los estudios sanitarios – Manual práctico. Organización Mundial de la Salud – Ginebra, 1991.
15. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39(Suppl 1):S1-266.
16. Levey AS, Coresh J, Greene T, et al. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease study for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53:766-72.
17. Jha V. A decade after the KDOQI CKD guidelines: a perspective from India. *Am J Kidney Dis* 2012;60:734-35.
18. Plantinga LC, Tuot D, Grubbs V, Hsu CY, Powe NR. Chronic kidney disease identification in a high-risk urban population: does automated eGFR reporting make a difference? *Journal of Urban Health: Bulletin of the New York Academy of Medicine* 2012;89:965-76.
19. Greer RC, Powe NR, Jaar BG, Troll MU, Boulware LE. Effect of primary care physicians' use of estimated glomerular filtration rate on the timing of their subspecialty referral decisions. *BMC Nephrol* 2011. doi: 10.1186/1471-2369-12-1.

20. Richards N, Harris K, Whitfield M, et al. Primary care-based disease management of chronic kidney disease (CKD), based on estimated glomerular filtration rate (eGFR) reporting, improves patient outcomes. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:549–55.
21. Jain A, Hemmelgarn BR. Impact of estimated glomerular filtration rate reporting on nephrology referrals: a review of the literature. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011;20:218-23.
22. Hemmelgarn BR, Zhang J, Manns BJ, et al. Nephrology visits and health care resource use before and after reporting estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2010;303:1151–58.
23. Kagoma YK, Weir MA, Iansavichus AV, et al. Impact of estimated GFR reporting on patients, clinicians, and health-care systems: a systematic review. *Am J Kidney Dis* 2011;57:592–601.
24. Abdel-Kader K, Fischer GS, Johnston JR, Gu C, Moore CG, Unruh ML. Characterizing pre-dialysis care in the era of eGFR reporting: a cohort study. *BMC Nephrology* 2011;12:1-9.
25. Jain A, Cuerden MS, McLeod I, et al. Reporting of the estimated glomerular filtration rate was associated with increased use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin-II receptor blockers in CKD. *Kidney Int* 2012;81:1248-53.
26. Kagoma YK, Garg AX, Li L, Jain AK. Reporting of the estimated glomerular filtration rate decreased creatinine clearance testing. *Kidney Int* 2012;81:1245-47.
27. Matsushita K, Mahmoodi BK, Woodward M, et al. Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2012;307:1941-51.
28. Shafi T, Matsushita K, Selvin E, et al. Comparing the association of GFR estimated by the CKD-EPI and MDRD study equations and mortality: the third national health and nutrition examination survey (NHANES III). *BMC Nephrol* 2012. doi: 10.1186/1471-2369-13-42.
29. Johnson DW, Jones GR, Mathew TH, et al. Chronic kidney disease and automatic reporting of estimated glomerular filtration rate: new developments and revised recommendations. *Med J Aust* 2012;197:224-5.

30. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter., Suppl.* 2013; 3: 1–150.
31. Soares AA, Eyff T, Campani R, et al. 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;55:1162-63.
32. Silveiro SP, Araújo GN, Ferreira MN, Souza FDS, Yamaguchi HM, Camargo EG. Chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:2353-55.
33. Earley A, Miskulin D, Lamb EJ, Levey AS, Uhlig K. Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization: a systematic review. *Ann Intern Med* 2012;156:785-95.
34. Drion I, Cobbaert C, Groenier KH, et al. Clinical evaluation of analytical variations in serum creatinine measurements: why laboratories should abandon Jaffe techniques. *BMC Nephrology* 2012;13:133. doi: 10.1186/1471-2369-13-133.
35. Delanghe JR, Speeckaert MM. Creatinine determination according to Jaffe – what does it stand for? *Nephrol Dial Transp Plus* 2011;4:83-86.
36. Greenberg N, Roberts WL, Bachmann LM, et al. Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by enzymatic and Jaffe method principles. *Clin Chem* 2012;58:391-401.
37. Peake M, Whiting M. Measurement of serum creatinine – current status and future goals. *Clin Biochem Rev* 2006;27:173-84.
38. Owen LJ, Keevil BG. Does bilirubin cause interference in Roche creatinine methods? *Clin Chem* 2007;53:370-71.
39. Cheuiche AV, Soares AA, Camargo EG, Weinert LS, Camargo JL, Silveiro SP. Comparison between IDMS-traceable jaffe and enzymatic creatinine assays for estimation of glomerular filtration rate by the ckd-epi equation in healthy and diabetic subjects. *Clinical Biochemistry*. 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.05.067>

## Considerações Finais

A doença renal crônica (DRC) é definida como a presença de anormalidades de estrutura ou função renal durante três meses ou mais, com implicação à saúde. São marcadores de dano renal: albuminúria (índice albumina/creatinina  $\geq 30$  mg/g) ou concentração de albumina  $\geq 17$  mg/L ou anormalidades do sedimento urinário, indicativas de doença tubular, alterações detectadas por histologia, por imagem e ainda, história de transplante renal ou presença de redução da função renal (taxa de filtração glomerular  $< 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). A taxa de filtração glomerular (TFG) é aceita globalmente como o melhor indicador de função renal.

As diretrizes atuais recomendam que a classificação da doença renal crônica deva levar em conta o diagnóstico clínico, os níveis da taxa de filtração glomerular (TFG) – estimada com equações que incluem creatinina e/ou cistatina C e relatadas automaticamente nos laudos de creatinina - e o estágio de albuminúria do paciente.

Nessa tese, definimos os valores de referência da TFG de acordo com a faixa etária, sendo a média  $\pm 2$ DP de 76 a 148 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> para indivíduos abaixo de 45 anos e de 68 a 128 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> para indivíduos acima de 45 anos. As equações de estimativa da filtração glomerular tenderam a subestimar a filtração medida sendo o pior desempenho observado com as equações que incluem cistatina C nos indivíduos com mais de 45 anos. O relato automático da estimativa da TFG pelos laboratórios de análises clínicas do Rio Grande do Sul foi apenas de 9,8% do total dos laboratórios cadastrados no Conselho Regional de Farmácia.

Em conclusão, a idade, mas não o gênero, deve ser levada em consideração para calcular valores de referência da TFG. Em indivíduos saudáveis, a equação de estimativa da TFG baseada na creatinina mostrou-se superior às equações que empregam cistatina C, sendo necessários estudos adicionais para avaliar a performance das equações de estimativa da TFG. Finalmente, o relato automático da estimativa da TFG no laudo da creatinina sérica não é uma prática usual nos laboratórios sul-brasileiros.

