

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

Avaliação da Medida da Cistatina C e das Equações do Estudo MDRD para
Estimar a Taxa de Filtração Glomerular em Indivíduos Normais

Dissertação de Mestrado

Aline Bodanese Prates

Porto Alegre, dezembro de 2005

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

Avaliação da Medida da Cistatina C e das Equações do Estudo MDRD para
Estimar a Taxa de Filtração Glomerular em Indivíduos Normais

Aline Bodanese Prates

Orientadora: Prof^a Dra. Sandra Pinho Silveiro

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
como requisito parcial para obtenção do título de Mestre

Porto Alegre, dezembro de 2005.

P912a Prates, Aline Bodanese

Avaliação da medida da cistatina C e das equações do estudo MDRD para estimar a taxa de filtração glomerular em indivíduos normais / Aline Bodanese Prates ; orient. Sandra Pinho Silveiro. – 2005.

103 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia. Porto Alegre, BR-RS, 2005.

1. Taxa de filtração glomerular 2. Cistatinas 3. Testes de função renal 4. Creatinina I. Silveiro, Sandra Pinho II. Título.

NLM: QY 175

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

SUMÁRIO

| | |
|---------------------|---|
| Agradecimentos..... | 4 |
| Resumo | 6 |

Capítulo 1- Artigo de revisão

| | |
|--|-----------|
| Avaliação das Equações do Estudo MDRD e da Medida da Cistatina C para Estimar a Taxa de Filtração Glomerular..... | 10 |
|--|-----------|

Capítulo 2- Artigo original 1

| | |
|--|-----------|
| Comparação entre a Taxa de Filtração Glomerular Medida com ⁵¹Cr-EDTA e Estimada pelas Fórmulas do MDRD em Indivíduos Normais: Influência de Idade, Gênero e Raça | 51 |
|--|-----------|

Capítulo 3- Artigo original 2

| | |
|---|-----------|
| Avaliação da Medida da Cistatina C Sérica para a Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular em Indivíduos Normais..... | 80 |
|---|-----------|

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof^a Dra. Sandra Pinho Silveiro, por seu empenho, vigor, bom humor, apoio, qualidade científica, amizade e incansáveis horas dispensadas para o acompanhamento de todas as etapas desta dissertação. Sem dúvida, pessoa maravilhosa, profissional e orientadora exemplar, a qual dedico esta tese e agradeço por tudo o que pude aprender com ela, ao longo de todos os anos de trabalho em conjunto e por meu desenvolvimento profissional e científico.

Ao professor Dr. Jorge Luiz Gross, Chefe do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), por seu brilhantismo em suas sugestões sempre muito pertinentes e enriquecedoras, sua atenção à elaboração desta tese e a disponibilização de materiais essenciais ao sucesso do trabalho.

À Farmacêutica Bioquímica Dra. Joíza Lins Camargo, chefe do Serviço de Patologia Clínica do HCPA, por todo o fundamental apoio científico na condução da padronização da dosagem da cistatina C, pelo fornecimento de artigos essenciais a este trabalho e por autorizar meus acessos fora dos horários convencionais na Unidade de Bioquímica.

Aos acadêmicos Fernando Barcellos do Amaral e Marina Zerwes Vaccaro, por toda a dedicação e pelo árduo trabalho desempenhado ao longo deste período.

À BIOGEN, pela doação de um dos kits de cistatina C e pelo suporte técnico.

Ao Engenheiro Elton Ferlin, chefe do Serviço de Engenharia Biomédica do HCPA, por todo o suporte científico na elaboração dos programas de cálculo da Taxa de Filtração Glomerular, através do ⁵¹Cr-EDTA e do MDRD, além da difícil tarefa de calibrar o contador gama recebido para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os funcionários da Unidade de Bioquímica, incluindo o sub-setor de Radioimunoensaio, do Serviço de Medicina Nuclear e da Unidade de Coleta, pela ajuda em momentos de apuros... Ao Serviço de Endocrinologia e ao

Pós-Graduação em Ciências Médicas- Endocrinologia, pelo auxílio e pela compreensão.

À bioestatística Vânia Hirakata, por toda a ajuda essencial na análise estatística deste trabalho.

Aos colegas Eduardo Guimarães Camargo, Juliana dos Santos Vaz, Rodrigo Pedroso, Marcia Murussi, Andréia Possatti, Magda Susana Perassolo e Márcia Khaled Puñales, pela troca, por sua amizade, boas risadas e parceria constantes em todos os momentos.

À GSK, em especial às minhas gerentes Silvina Santucho e Amanda Novaes, e à diretora Dra. Maria Del Pilar Rubio Mejia, pela oportunidade, pela compreensão e pela liberação para a conclusão desta tese.

Às minhas amigas e colegas de trabalho, Roberta Musumecchi e Gabriela Del Rio Martinez, por toda a cobertura, por todo o carinho e compreensão nos momentos críticos. Às minhas amigas Anete Santos da Costa, Gabriela Netson, Fabiane Piano, Lucíola Barni, Katiane Teixeira, Cristiana Valar, pela grande parceria e amizade perenes.

Às bancas examinadoras, do meu Exame Geral de Qualificação e desta Dissertação de Mestrado pelo pronto aceite e pela disponibilidade.

Ao meu noivo, Tiago Rey Farina, pela extrema paciência, pelo amor, pelo carinho, pelo companheirismo e pelo auxílio incomensuráveis em todos os momentos da minha vida, incluindo a conclusão deste trabalho.

Aos meus pais, Ely Vassalo Prates e Iolanda Bodanese Prates, e ao meu irmão, Gustavo Bodanese Prates, pela base que são, pelo exemplo de vida na busca do melhor, pela compreensão, pelo monitoramento constante e pelo estímulo infindável, mesmo à distância.

A todos os voluntários, pelo tempo dispensado, sem os quais eu não poderia estar escrevendo esta dissertação...

RESUMO

A avaliação acurada da função renal através da medida da taxa de filtração glomerular (TFG) é fundamental na rotina clínica, pois é parte decisiva do diagnóstico e terapêutica. A recomendação atual da National Kidney Foundation (NKF) é o uso de equações que incluam a creatinina, idade, gênero e raça. No entanto a acurácia dessas equações tem sido questionada. Desta forma, investigadores ainda buscam um marcador ideal para analisar a função renal. Neste contexto, se encaixam os estudos com a cistatina C, uma substância endógena, que tem sido relatada como um indicador confiável e de fácil execução para esse propósito.

A presente dissertação considerou a dosagem de cistatina C e a utilização da equação do MDRD para a avaliação da função renal em indivíduos saudáveis. Foi dividida em um artigo de revisão e dois artigos originais, respectivamente: Capítulo 1) Avaliação da Medida da Cistatina c e das Equações do Estudo MDRD para Estimar a Taxa de Filtração Glomerular; Capítulo 2) Comparação entre a Taxa de Filtração Glomerular Medida com ⁵¹Cr-EDTA e Estimada pelas Fórmulas do MDRD em Indivíduos Normais: Influência de Idade, Gênero e Raça; Capítulo 3) Avaliação da Medida da Cistatina C Sérica para a Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular Considerando Faixa Etária, Gênero e Raça

OBJETIVOS: CAPÍTULO 2 - Comparar o desempenho da TFG medida pelo ⁵¹Cr-EDTA com a estimada através das fórmulas do estudo MDRD em indivíduos normais, levando em conta influência de idade, gênero e raça.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS: CAPÍTULO 2 - Foram avaliados 101 indivíduos normais, com idade de 38±12 anos (18-72 anos), sendo 45 do sexo masculino

(44,6%). Noventa e um indivíduos (90%) eram brancos e dez não-brancos (06 pretos e 04 mulatos). A TFG foi medida através da técnica de injeção única do $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e estimada através da equação 1 do MDRD [TFG (mL/min/1,73m²)= 186 x creatinina sérica^{-1,154} x idade^{-0,203} x 0,742 (se feminino) x 1,210 (se negros)] e equação 5 do MDRD [TFG (mL/min/1,73m²)= exp(1,911 + 5,249/creat – 2,114/creat – 0,00686 x idade – 0,205 (se mulheres)]. A creatinina sérica foi medida através do método de Jaffé.

RESULTADOS: CAPÍTULO 2 - Os valores médios de TFG avaliados pelo $^{51}\text{Cr-EDTA}$, MDRD1 e MDRD5 para o grupo todo foram, respectivamente, de 105±18, 84±14 e 109±12 mL/min/1,73m². Foi evidenciada distribuição gaussiana da TFG quando avaliada através do $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (KS: P=0,121) e da equação MDRD5 (KS: P=0,200), sendo detectada concordância entre estes 2 métodos (P=0,074). No entanto, a equação MDRD1 mostrou distribuição não simétrica (KS: 0,011) e ausência de concordância com o $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (P=0,001). A TFG foi analisada em grupos abaixo e acima de 50 anos, respectivamente, sendo evidenciado um declínio dos valores com o avanço da idade, tanto para homens (108±16 vs. 94±12 mL/min/1,73m², P=0,012) quanto para mulheres (109±21 vs 93±8 mL/min/1,73m², P=0,001). No entanto, no sexo masculino não foi detectada concordância entre a TFG medida e as fórmulas. Quando a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ foi analisada levando em conta a raça dos indivíduos, foi demonstrado que nos indivíduos brancos os valores foram significativamente mais baixos do que no grupo de indivíduos negros e mulatos (respectivamente, 83±14 vs. 109±13 mL/min/1,73m², P=0,015). Além disso, nenhuma das 2 equações apresentou concordância com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ quando a raça foi levada em conta.

CONCLUSÕES: CAPÍTULO 2 - A equação MDRD1 subestima sistematicamente os valores de TFG medidos com $^{51}\text{Cr-EDTA}$. A MDRD5 representa melhor a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$, exceto quando a raça e sexo masculino são levados em conta, sugerindo que novas equações devam contemplar mais adequadamente esses fatores.

OBJETIVO: CAPÍTULO 3 - Padronizar o método de dosagem de cistatina C sérica, propondo valores de referência em uma população saudável.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS: CAPÍTULO 3 - Foram avaliados 101 indivíduos normais, com idade de 38 ± 12 anos (18-72 anos), sendo 45 do sexo masculino (44,6%). Noventa e um indivíduos (90%) eram brancos e dez não-brancos (06 pretos e 04 mulatos). Os indivíduos foram estratificados por faixa etária em 2 grupos: 20 indivíduos ≥ 50 anos (56 ± 6 anos) e 81 $<$ de 50 anos (34 ± 9 anos). A TFG foi medida através da técnica de injeção única do $^{51}\text{Cr-EDTA}$. A dosagem da cistatina C foi feita por imunoturbidimetria. A creatinina foi medida pelo método de Jaffé.

RESULTADOS: CAPÍTULO 3 - Os níveis de cistatina C não apresentaram distribuição gaussiana (KS: $P= 0,005$), sendo, por isso, representados como mediana e variação. Estratificando-se por faixa etária, a mediana foi de 0,62 mg/L, e a variação de 0,45 a 0,83 mg/L em indivíduos acima de 50 anos; nos voluntários abaixo desta faixa etária, a mediana foi de 0,65 mg/L variando de 0,41 a 0,96 mg/L ($P=0,756$). Não houve diferença nos níveis de cistatina C entre gêneros ($P=0,074$) ou raças ($P= 0,169$).

Os coeficientes de variação intra e interensaio obtidos na padronização da cistatina C foram, respectivamente, 2,2 e 5,3%. A linearidade e o limite de detecção foram 7,8 e 0,41 mg/L.

CONCLUSÕES: CAPÍTULO 3 - Os resultados apresentados com relação à cistatina C sugerem que não há diferença em relação a gênero e raça. Estratificando resultados por idade, não foi observada diferença, o que vai contra o esperado, já que ocorre um declínio da função renal com idade.

CAPÍTULO 1

Avaliação da Medida da Cistatina C e das Equações do Estudo MDRD para Estimar a Taxa de Filtração Glomerular

Aline Bodanese Prates¹

Fernando Barcellos do Amaral²

Marina Zerwes Vaccaro²

Jorge Luiz Gross³

Joíza Lins Camargo⁴

Sandra Pinho Silveiro⁵

¹ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Acadêmico de Iniciação Científica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

³ Professor titular do Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Chefe do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

⁴ Farmacêutica Bioquímica. Chefe do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

⁵ Professora adjunta do Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Endereço para correspondência:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

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

Porto Alegre, RS

sandrasilveiro@terra.com.br

Palavras-chave: TFG, taxa de filtração glomerular, *Modification of Diet in Renal Disease*, MDRD, creatinina, cistatina C

Keywords: cystatin C, glomerular filtration rate, renal function, clearance, creatinine.

RESUMO

A avaliação acurada da função renal através da medida da taxa de filtração glomerular (TFG) é fundamental na rotina clínica, pois é parte decisiva do diagnóstico e terapêutica. A dosagem sérica de creatinina é o método mais usado, embora apresente limitações como interferências na dosagem e baixa sensibilidade na detecção de graus menos avançados de perda de função renal. A recomendação atual da National Kidney Foundation (NKF) é o uso de equações que incluam a creatinina, idade, gênero e raça. No entanto a acurácia dessas equações tem sido questionada. Outros métodos, como depuração de inulina, iohexol, ^{125}I -iotalamato e ^{51}Cr -EDTA, também são descritos com o mesmo propósito, mas são complexos e caros. Desta forma, investigadores ainda buscam um marcador ideal para analisar a função renal. Neste contexto, se encaixam os estudos com a cistatina C, uma substância endógena, que tem sido relatada como um indicador confiável e de fácil execução para esse propósito. A cistatina C é um membro da família dos inibidores da cisteína protease e está presente em uma variedade de células nucleadas, sendo produzida de forma constante. Os métodos para sua medida, comparados aos da creatinina, sofrem menos interferência e apresentam boa relação com a taxa de filtração glomerular, especialmente na detecção de reduções incipientes da função renal. Os objetivos desta revisão são abordar aspectos relacionados às diretrizes para o estudo da função renal, avaliar o desempenho das equações do MDRD e propor a medida da cistatina C como uma alternativa confiável, de baixo custo e de fácil execução para avaliar a TFG, em comparação com a creatinina e outros métodos vigentes.

ABSTRACT

An accurate evaluation of renal function through glomerular filtration rate (GFR) measurement is essential to clinical practice because it is decisive to diagnosis and therapeutics. Serum creatinine dosage is the most used method, although it presents limitations such as interferences in dosage and low sensitivity to the detection of less advanced degrees of renal function loss. The recommendation of National Kidney Foundation (NKF) is the using of equations which include creatinine, age, gender and race. However, the accuracy of such equations is questionable. Other methods available, such as inulin clearance, iohexol, ^{125}I -iothalamate and ^{51}Cr -EDTA, have also been employed with the same purpose, but are complex and expensive. Because of these limitations, investigators are still looking for an ideal marker to analyze renal function. Studies with cystatin C, an endogen substance that has been described as a reliable indicator and of easy performance have been carried out for this purpose. Cystatin C is a member of the family of cystein protease inhibitors and is present in several nucleated cells, and is constantly produced. The methods available for its dosage, compared to creatinine ones, suffer less interferences and present a good relation with GFR, especially for the detection of incipient reductions on renal function. The aims of this review are to describe aspects of the guidelines for the study of renal function, to evaluate the performance of MDRD equations and to propose a reliable low-cost alternative of easy performance to the cystatin C measurement to evaluate GFR, when comparing to creatinine and other current methods.

INTRODUÇÃO

A avaliação da função renal é de extrema importância na prática clínica, tanto em termos de diagnóstico e prognóstico, quanto de análise de respostas terapêuticas. Para este propósito, a dosagem dos níveis séricos de creatinina é corriqueiramente usada. Entretanto, esta medida tem limitações significativas no que diz respeito a interferências nos métodos de medida, além de baixa sensibilidade para detectar graus leves de perda de função renal. A recomendação atual da National Kidney Foundation (NKF) é o uso de equações que incluam a creatinina, idade, gênero e raça. No entanto, a acurácia dessas equações tem sido questionada. Vários métodos para determinar a taxa de filtração glomerular têm sido descritos, tais como as depurações de inulina, ¹²⁵I-lotalamato, ⁵¹Cr-EDTA e iohexol, todos laboriosos e complexos e assim não utilizados habitualmente na rotina. Por essas razões, justificam-se tentativas para achar um marcador próximo do ideal e que seja mais prático. Estudos recentes têm referido a cistatina C como um marcador confiável e de rápida execução na análise da função renal em diversas situações clínicas, tais como: diabetes melito, pós-transplante renal, hipertensão essencial, câncer e síndrome hepato-renal. Testes para triagem e diagnóstico de dano renal são de suma importância em pacientes em risco para desenvolver insuficiência renal⁽¹⁾ Além disso, estudos recentes têm demonstrado que a cistatina C parece ser um marcador precoce para predição de insuficiência cardíaca e coronariana.

DOENÇA RENAL CRÔNICA: DEFINIÇÃO E EPIDEMIOLOGIA

Doença renal crônica (DRC) é definida como dano renal ou função renal diminuída por três ou mais meses (recomendação de nível A), sendo um problema de saúde mundial. A medida da taxa de filtração glomerular (TFG) é a melhor forma para a avaliação da função renal⁽²⁾. Para a faixa de 20 a 40 anos, os valores normais são de $116,6 \pm 11,2$ mL/min/1,73m²; para indivíduos com idades entre 40 e 60 anos, os valores de referência encontrados são $104,5 \pm 16,5$ mL/min/1,73m²⁽³⁾. Embora o declínio da TFG relacionado à idade seja associado em parte ao envelhecimento normal, essa redução prediz desfechos, tais como morte e doenças cardiovasculares. Uma redução abaixo de 60 mL/min/1,73m² aumenta a prevalência de complicações da DRC, além de ser imprescindível o ajuste de doses de medicamentos. Considera-se como ponto de corte para definir insuficiência renal uma TFG menor que 15 mL/min/1,73m² ou uma necessidade para começar a terapia de reposição renal, com diálise ou transplante⁽²⁾.

Nos Estados Unidos, a incidência e a prevalência de insuficiência renal estão aumentando, os desfechos são desfavoráveis e o custo é alto⁽²⁾. Espera-se que o número de pessoas com insuficiência renal tratadas com diálise e transplante aumente de 340.000 em 1999 para 651.000 em 2010⁽⁴⁾. No diabetes melito, a nefropatia acomete cerca de 30% dos pacientes⁽⁵⁾. Os principais desfechos de DRC, sem considerar a causa, incluem progressão para insuficiência renal e doença cardiovascular⁽²⁾. As evidências indicam que esses desfechos adversos podem ser prevenidos ou postergados por detecção precoce e tratamento.

Conforme as diretrizes da *National Kidney Foundation (NKF)*⁽²⁾ para doença renal crônica, proteinúria é o principal marcador de dano renal. Excreção

urinária de albumina (EUA) aumentada é um marcador sensível para DRC devida ao diabetes melito, doença glomerular e hipertensão^(2,6). Uma razão albumina-creatinina maior que 30 mg/g em amostras de urina sem tempo marcado é usualmente considerada anormal e pontos de corte específicos propostos são maiores que 17 mg/g em homens e 25 mg/g em mulheres⁽²⁾. Na nefropatia diabética, medidas de albumina em amostra de urina também apresentam desempenho satisfatório, com sensibilidade de 100% e especificidade de 80% para o diagnóstico de microalbuminúria, representadas por valores de 17 mg/L. Valores de EUA de 20-200 µg/min (ou 30-300 mg/24h) indicam a presença de nefropatia incipiente, também denominada de microalbuminúria e valores de EUA > 200 µg/min fazem o diagnóstico de nefropatia clínica ou macroalbuminúria⁽⁷⁾.

A medida da TFG é o método de escolha para classificar o estágio de gravidade da DRC. As recomendações incluem, por todos os motivos já descritos, a avaliação da função renal de indivíduos com risco aumentado de desenvolver DRC, baseando-se em fatores sócio-demográficos, familiares e clínicos. O *Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure* e NKF recomendam que todos os adultos em risco aumentado de desenvolver DRC façam testes laboratoriais de controle: indivíduos com idade acima de 60 anos, afro-americanos, índios americanos e nativos do Alasca, ou com hipertensão arterial, diabetes melito, lúpus eritematoso sistêmico, insuficiência renal aguda, uso de antiinflamatórios não-esteroidais⁽²⁾. A avaliação laboratorial básica sugerida é a medida da albumina urinária e a medida de creatinina sérica a ser utilizada em equação simplificada do NKF (descrita a seguir). Finalmente, os consensos da NKF e do NIDDK recomendam, em termos de pesquisa futura, o desenvolvimento

de novas equações, utilizando melhores marcadores endógenos de filtração glomerular, tais como a cistatina C⁽⁸⁾.

MARCADORES DA TFG

Sob condições adequadas, concentrações plasmáticas de uma determinada substância como indicadora da função renal são completamente dependentes de sua depuração e refletem a TFG de forma acurada. Quando a quantidade de um indicador adicionado ao plasma (tanto endógeno, quanto exógeno) é constante e não há eliminação extra-renal, secreção ou reabsorção tubular, então a TFG é igual à concentração plasmática inversa do indicador multiplicada por uma constante (k), ou seja: $TFG_{constante} = 1/[\text{indicador da função renal}] \times k^{(1)}$.

Essas informações podem ser usadas para definir as características de um marcador ideal para a medida da TFG: produção constante, com pronta difusão no espaço extracelular, livremente filtrado, sem ligação a proteínas, sem reabsorção nem secreção tubular, sem eliminação extra-renal ou degradação, dispondo de ensaio acurado e reprodutível, sem interferência de outros componentes, de baixo custo e sem influência sobre os valores reais de TFG⁽¹⁾.

URÉIA E CREATININA

A uréia e a creatinina são os marcadores endógenos mais extensamente usados e estudados para a avaliação clínica da TFG, mas sofrem a influência de uma série de fatores na sua produção, como por exemplo: massa

muscular e ingestão de proteínas e, para a creatinina, dificuldades no que tange à sua análise⁽⁹⁾.

A uréia é um dos primeiros indicadores da era moderna da avaliação da função renal para a medida da TFG, tendo sido isolada da urina humana em 1773, mas somente introduzida como teste diagnóstico em 1903, por Strauss. Apresenta poucos dos atributos de um marcador ideal. Sua produção é variável, e é amplamente dependente da ingestão de proteínas. Embora 25% da uréia produzida sejam metabolizados no intestino, a amônia produzida é re-convertida a uréia. Assim, a maior parte da uréia é finalmente excretada pelos rins. A uréia é livremente filtrada no glomérulo, pelo seu pequeno peso molecular. Entretanto, pode ser reabsorvida e a quantidade de reabsorção tubular é variável. Além disso, a reabsorção da uréia do ducto coletor é funcionalmente ligada à reabsorção de água. Em estados de diurese e baixos níveis de hormônio antidiurético, o ducto coletor é relativamente impermeável à uréia, contrastando com as situações de volume intravascular efetivo diminuído, fluxo tubular urinário baixo e concentrações aumentadas do hormônio antidiurético, nas quais a reabsorção de uréia pode ser substancial⁽¹⁾.

A creatinina foi descoberta em 1926, tendo sido usada inicialmente por Rehberg para medir a depuração renal como estimativa da TFG. No entanto, apresenta diversas desvantagens na avaliação da função renal: sofre secreção tubular, levando a uma superestimativa da TFG em pacientes com função renal diminuída; quando avaliada através de depuração da creatinina endógena (DCE) é considerada pouco sensível^(6,9), pois não possibilita a detecção de quedas de 50% e nem alterações rápidas na função renal. A coleta de urina de 24 horas é trabalhosa e acarreta erros; sua depuração, apesar de usada para avaliar a TFG,

não é útil para definir o estágio exato da perda de função renal. Muitas drogas, como sulfametoxazol e trimetoprim, e substâncias endógenas, como a cetona, também interferem na sua medida, levando a resultados falsamente altos ou baixos⁽⁶⁾. A análise da creatinina é ainda predominantemente dependente da reação original de Jaffé, a qual envolve um mecanismo de reação que não é completamente compreendido e sofre muitas interferências analíticas, além de ser imprecisa e apresentar viés^(10,11). Outra limitação é a influência da massa muscular sobre os níveis séricos, sendo diretamente proporcional.

Portanto, o consenso da NKF indica que a medida isolada da creatinina não é suficiente e a melhor forma de estimar o nível de função renal é utilizando-se equações que levem em conta a creatinina sérica e algumas ou todas as seguintes variáveis: idade, sexo, raça e índice de massa corporal (IMC). As equações do estudo Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)⁽¹²⁾ (Figura 1) e de Cockcroft-Gault (Figura 2) provêm estimativas úteis da TFG em adultos. A equação do MDRD é superior à segunda para pessoas com TFG menor que 90 mL/min/1,73m², por ser mais acurada e precisa, conforme já previamente determinado através da comparação com a depuração de ¹²⁵I-iotalamato^(2,12). Ela foi desenvolvida em indivíduos com doença renal crônica, não incluindo pessoas saudáveis. Em pessoas normais, a equação do MDRD pode significativamente subestimar a TFG⁽¹⁶⁾ e, desta forma, não ser apropriada para determinar a prevalência da doença renal crônica⁽¹⁷⁾. Além disso, permanecem questões sobre a possibilidade de generalização do uso da equação, porque ela não foi validada na nefropatia diabética, em pacientes com sérias co-morbidades, ou em pessoas acima de 70 anos de idade⁽²⁾. Contudo, devido às limitações desta equação, foi proposto um novo cálculo, o qual foi originado da avaliação de 580 indivíduos

saudáveis e 320 com doença renal crônica (Figura 3). Um estudo envolvendo pacientes DM1 proveu uma equação para estimar a TFG com iohexol, dependente de cistatina C, em indivíduos com níveis de creatinina dentro da faixa de normalidade, mas com função renal de normal a moderadamente diminuída (Figura 4). Tem-se considerado em relação a equações preditoras da TFG o viés referente à falta de padronização na calibração dos ensaios de creatinina entre os laboratórios de análises clínicas. Entretanto, mesmo reconhecendo e eliminando vieses de calibração, este procedimento não retifica o viés de seleção presente no estudo original do MDRD⁽¹⁹⁾. Vieses de calibração têm sido avaliados pelo *Laboratory Working Group do National Kidney Disease Education Program*. Uma nova equação quadrática poderá ser mais acurada que a equação do MDRD para estimar a TFG quando o status de doença renal é desconhecido. Um estudo feito na Clínica Mayo, nos Estados Unidos, buscando eliminar o viés de seleção ocorrido no estudo do MDRD, propôs uma equação quadrática para a TFG, utilizando doadores saudáveis e com doença renal crônica. Entretanto, essa equação (Figura 3) assume que doadores renais podem ser “supersaudáveis”, se comparados com a população geral, não representando, desta forma, a realidade⁽¹⁷⁾. Outro estudo, feito num hospital francês, avaliou a performance preditiva das equações do MDRD e de Cockcroft-Gault, comparando-as com a TFG medida através da injeção única de ⁵¹Cr-EDTA para estimar a função renal. A TFG com ⁵¹Cr-EDTA foi avaliada retrospectivamente. Dos 2095 indivíduos caucasóides que participaram deste estudo, 1933 tinham DRC e 162 eram doadores normais. A creatinina medida no laboratório do hospital francês foi calibrada com aquelas medidas no laboratório do estudo MDRD. Os valores medidos foram distribuídos igualmente acima e abaixo de 60 mL/min/1,73m². Para

análises subseqüentes, foram separados de acordo com gênero e idade (18 a 64 anos versus ≥ 65 anos). Mulheres tiveram valores de TFG mais altos que os homens. O mesmo se deu comparando indivíduos mais jovens com mais idosos. Entretanto, não houve nenhuma interação entre sexo e idade ($P= 0,2880$). O gráfico de Bland Altman demonstrou uma boa concordância global entre as fórmulas do MDRD e de Cockcroft-Gault e a TFG medida através do $^{51}\text{Cr-EDTA}$. Entretanto, a equação do MDRD demonstrou uma melhor performance em relação à de Cockcroft-Gault, em termos de exatidão e precisão. Entretanto, ambas as fórmulas têm baixa precisão e utilizando-se qualquer uma delas para definir o estágio da doença renal conforme as diretrizes da NKF, levaria a uma classificação errônea em aproximadamente 30% dos casos⁽²⁰⁾.

Um estudo feito na Universidade da Califórnia observou 1.120.295 adultos que tinham medido seus níveis de creatinina sérica há, em média, 2,84 anos, e que não tinham sido submetidos a diálise ou transplante⁽²¹⁾. O objetivo foi examinar a associação multivariada entre a TFG estimada e os riscos de morte, eventos cardiovasculares e hospitalização. A idade média do grupo foi de 52 anos, sendo que 55 % eram mulheres. Verificaram uma associação independente e gradativa entre uma TFG reduzida e o risco de morte, eventos cardiovasculares e hospitalização. Os riscos foram evidentes com uma TFG abaixo de 60 mL/min/1,73 m² e substancialmente aumentados com uma TFG estimada de menos de 45 mL/min/1,73 m². Estes achados confirmam a validade do sistema de classificação de estágios de DRC, sugerindo, entretanto, que o mesmo poderia ser mais refinado, uma vez que todos os pacientes com DRC de estágio 3 (TFG de 30 a 59 mL/min/1,73 m²) poderiam não estar em risco igual para cada

desfecho. Além disso, destacam a importância clínica e na saúde pública da DRC que não ainda necessita de diálise⁽²¹⁾.

CISTATINA C

BREVE HISTÓRICO: A cistatina C foi descoberta em 1961, como traço γ numa banda eletroforética de fluido cerebrospinal, sendo também, no mesmo ano, identificada na urina. Recebeu o atual nome em 1984: cistatina C, inibidor da cisteína protease. O primeiro imunoenensaio para sua determinação foi desenvolvido em 1979. Em 1985, foi demonstrada, pela primeira vez, a forte correlação inversa da cistatina C sérica com a TFG⁽¹⁰⁾. Desde então, tem havido um interesse crescente na cistatina C como um marcador da TFG, sendo um forte concorrente da creatinina^(9,22).

CISTATINA C E PROTEÍNAS DE BAIXO PESO MOLECULAR: A cistatina C não é o primeiro substituinte da creatinina a ser proposto para avaliação da TFG⁽¹⁰⁾. Várias proteínas de baixo peso molecular foram consideradas, tais como: α 1-microglobulina, proteína de ligação ao retinol e β 2-microglobulina. Embora existam técnicas de imunoenensaio automatizadas disponíveis para medir essas proteínas, todos esses marcadores foram descartados devido à falha em atingir um ou mais dos critérios requeridos para um marcador ideal da filtração glomerular. Em geral, com os marcadores mencionados, a taxa de produção não é constante e/ou a rota de eliminação não é totalmente renal. Como exemplos de fatores que influenciam a taxa de produção dessas proteínas, destacam-se: infecção, fatores dietéticos e doença hepática⁽⁹⁾. Explorando-se a inter-relação entre proteínas de baixo peso

molecular, conseguiu-se demonstrar a relação entre a cistatina C e o declínio da TFG no ano de 1985⁽¹⁰⁾.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS: A cistatina C é um dos onze membros da superfamília dos inibidores da cisteína protease e é considerada a inibidora fisiologicamente mais importante das proteases endógenas da cisteína^(9,10,11). Acredita-se que seu papel seja o de inibir tais proteases secretadas ou “vazadas” dos lisossomos de células doentes ou rompidas, protegendo o tecido conjuntivo. As catepsinas também são importantes na degradação da matriz celular e a cistatina C também aumenta a proliferação de fibroblastos de ratos e células mesangiais, tipos de células que são envolvidos na produção e separação da matriz extracelular, havendo, também, evidências de inibição da reabsorção do osteoclasto no osso⁽¹⁰⁾.

ESTRUTURA: A cistatina C é uma proteína de 13359 Da, não glicosilada e que contém duas pontes dissulfeto. Consiste de 120 aminoácidos⁽⁹⁾, é sintetizada como uma pré-proteína (indicando uma função extracelular) e é o produto de um gene de 7,3 Kb encontrado no cromossomo 20. A proteína nativa tem pI (ponto isoelétrico, pH no qual a molécula está em equilíbrio) de aproximadamente 9,3, mas uma forma adicional tem sido isolada da urina tendo um pI mais baixo de 7,8⁽¹⁰⁾.

SÍNTESE E EXCREÇÃO: A cistatina C tem sido identificada em uma ampla quantidade de órgãos e tipos celulares e medida em fluidos biológicos (líquido cefalorraquidiano, sêmen, saliva, leite, urina, líquidos amniótico e sinovial, soro e lágrima). Sua taxa de produção é constante e menos variável que a da creatinina⁽¹⁰⁾, além de não ser influenciada pela massa muscular⁽²²⁾, estado nutricional ou febre⁽¹¹⁾. Há evidências de que todas as células nucleadas

expressam cistatina C, pois a região promotora do gene da cistatina C tem várias das características de um gene do tipo “housekeeping”^(9,10). Não parece haver influências de agentes exógenos, infecção ou malignidade nas concentrações séricas circulantes de cistatina C. Como todas as células nucleadas produzem cistatina C, seria de se supor que tumores aumentassem a sua produção. Enquanto alguns estudos mostraram um aumento dessa produção por tumores mais agressivos, tem sido debatido se seriam decorrentes de alterações na TFG subjacente⁽¹⁰⁾.

DEPURAÇÃO: A cistatina C é também metabolizada ou clivada pela papaína protease (ou possivelmente por um contaminador da preparação de papaína, papaia protease IV) e por elastase dos neutrófilos. É estabelecido também que a cistatina C é metabolizada pelas células do túbulo proximal distal, como o são todas as proteínas filtradas pelo glomérulo. Assim, uma vez filtrada, a cistatina C não vai retornar à circulação em uma forma intacta, embora possa retornar após a degradação em peptídeos menores e/ou seus aminoácidos constituintes. Parece que na ausência de dano tubular renal não há passagem de proteínas, tais como cistatina C, da vasculatura renal diretamente no túbulo. Esses dados reforçam que a cistatina C é um candidato plausível para a medida da TFG⁽¹⁰⁾.

MÉTODOS DE MEDIDA: Os métodos de medida para a cistatina C devem ser automatizados e livres de interferências conhecidas. Após diversas tentativas de padronização, foram desenvolvidos, em 1994, dois métodos de imunoturbidimetria⁽¹⁰⁾. Após, veio o método nefelométrico. Uma técnica que se destaca é a PENIA (particle enhanced nephelometric immunoassay), feita no aparelho BNII, da Dade Behring^(10,18). Necessita de 80 µL de amostra, o tempo de

duração do ensaio é de 6 minutos e tem coeficientes de variação intra e interensaio (CV) de 1,8 e 1,1%, respectivamente. Comparando-se as dosagens de cistatina C feitas por dois ensaios, PETIA (particle enhanced turbidimetric immunoassay), da Dako, com o PENIA, obteve-se um coeficiente de correlação de 0,97, embora o primeiro tenha desvantagens com relação ao segundo método (maiores tempo de duração do teste, maior CV intra e interensaio e interferência de, por exemplo, bilirrubina e hemólise)⁽¹⁰⁾.

Finney et al. compararam um método rápido automatizado para determinar as concentrações de cistatina C no soro e no plasma, com base no método PENIA, feito no aparelho BNA "Dade Behring", utilizando diodo de emissão de luz infravermelha de alta performance, em 840 nm, com outros dois de imunoturbidimetria. A leitura foi feita através das mudanças de sinal entre os pontos 10 segundos e 6 minutos. Utilizou-se um reagente para prevenir interações não específicas (por exemplo, fator reumatóide) e um suplemento para aumentar a estabilidade da reação. O calibrador utilizado foi cistatina C purificada de urina humana. Um dos métodos de comparação utilizado foi o PETIA "in-house" (calibradores e cobertura de partículas de látex preparados no próprio laboratório), feito num aparelho Monarch 2000, a 37°C, com lâmpada de tungstênio, com absorbância monitorada em 340 nm, usando partículas de látex cobertas com anti-soro de coelho anti-cistatina C humana (Dako) e, como calibrador, cistatina C recombinante purificada. O segundo método comparado foi um PETIA comercialmente disponível, da Dako, realizado num Cobas[®] Bio, a 37°C, utilizando uma lâmpada de xenônio de alta intensidade, combinada com um monocromador, para medir a mudança na absorbância em 340 nm. O anti-soro usado para cobrir as partículas de látex foi o mesmo do método acima descrito⁽⁹⁾.

Também foi usada cistatina C humana recombinante purificada. O estudo comparou três métodos, analisando limite de detecção, linearidade, precisão intra e interensaio, linearidade, recuperação analítica, estabilidade do analito, interferências e plasma versus soro. Como resultados, obtiveram-se: limites de detecção e linearidade, respectivamente, de 0,23 e 7,25 mg/L; coeficientes de variação intra e interensaio menores que 3,3 e 4,5 %, respectivamente. Quanto à recuperação analítica, para cada concentração adicionada (0,52 e 0,93 mg/L), a recuperação média de cistatina C foi de respectivos 95% e 109%; estabilidade do analito também foi satisfatória, não mostrando diferença significativa entre amostras frescas e aquelas medidas após dois dias em temperatura ambiente, e uma semana a -4° ou -20° C, mostrando interferência significativa apenas após dois meses a -20° C. Na análise de plasma versus soro, não houve diferença significativa entre amostras de plasma com EDTA ou heparina, ou entre soro e plasma com citrato de sódio, mas entre soro e plasma com EDTA ou heparina, sendo que estas diferenças poderiam ser explicadas por efeitos de diluição 1:10 entre soro e anticoagulantes. De uma maneira geral, este estudo mostrou uma excelente correlação entre os três métodos, mesmo havendo diferenças entre as curvas e interceptos, que podem ser explicadas pelas diferenças entre os calibradores⁽⁹⁾.

ESTABILIDADE DA AMOSTRA: de acordo com o fabricante, a estabilidade à temperatura ambiente é de 7 dias; a -20° C, de 1 a 2 meses; -80° C, 6 meses. Além disso, resiste a um mínimo de 07 ciclos congelamento/descongelamento. Pode ser deixada não separada do sangue por até 24 horas sem alteração da quantidade de cistatina C presente na amostra⁽¹⁰⁾.

VALORES DE REFERÊNCIA: Os valores de referência (VR) pelo PENIA são um pouco menores que os do PETIA⁽¹⁰⁾, mas ainda não há um consenso. Por causa dos diferentes métodos analíticos, calibração, anti-soros e distribuições de idades, torna-se difícil fazer comparações entre os resultados de diferentes estudos⁽²²⁾. Uma vantagem do PETIA, da Dako, é que ele pode ser realizado em qualquer espectrofotômetro automatizado, ou analisador clínico, enquanto o PENIA somente foi desenvolvido para os analisadores do seu mesmo fabricante⁽¹⁰⁾.

O estudo de Finney et al. encontrou valores de referência entre 0,60 e 1,45 mg/L, em amostras de soro, com dosagens feitas pelo método PENIA⁽⁹⁾. Dois estudos publicaram os valores de referência de acordo com a IFFC (*International Federation of Clinical Chemistry Guidelines*). (Quadro 1)^(23,24). Muitos estudos mostram uma leve diferença entre homens e mulheres, sendo que, nestas últimas, os VR são um pouco menores⁽¹⁰⁾. Num estudo que utilizou método de imunoturbidimetria para a dosagem de cistatina C observou-se que em pessoas com idade menor de 50 anos, a média entre homens foi 0,92 mg/L e, entre mulheres, 0,87 mg/L, sendo considerados estatisticamente diferentes; em pessoas maiores de 50 anos, a média dos grupos aumentou para 1,11 e 1,10 mg/L, respectivamente⁽¹⁴⁾(quadro 1). No entanto, há uma concordância entre vários autores de que os valores de referência podem ser comuns para homens e mulheres de 01 a 50 anos, sendo independentes de sexo, altura e peso^(10,15). Os valores de referência encontrados no estudo de Finney¹⁵ estão no quadro 1. Entretanto, ainda não há uma definição quanto a esse aspecto.

É sugerida uma diferenciação entre idades, mas ainda também não há um consenso entre ponto de corte (50 ou 65 anos de idade), já que a cistatina

C tem a sua concentração aumentada de acordo com a idade, enquanto a TFG cai, paralelamente^(10,22). Estudos prévios sugerem que o volume renal diminui de 20 a 30% na quarta década e até 40 % na oitava década de vida. O número de glomérulos diminui, acarretando uma diminuição na área de filtração glomerular, na perfusão e, portanto, na TFG^(24,25). Um estudo avaliou 401 idosos saudáveis do programa *National Diet and Nutrition Survey*. A idade dos indivíduos variou de 65 a 101 anos (médias de idades de mulheres de 79.3 anos e, de homens, de 79.4 anos). Enquanto a creatinina sérica demonstrou diferenças significativas entre homens e mulheres ($P < 0,0001$), com valores mais elevados no sexo masculino, a cistatina C não foi significativamente diferente entre os sexos o que se evidenciou em todos os grupos etários (60-69, 70-79, 80-89 e >90 anos). No entanto, os valores de cistatina C foram aumentando por década atingindo um equilíbrio entre 80 e 90 anos de idade em ambos homens e mulheres. Já a creatinina mostrou aumento com a idade em homens somente, com os valores entre mulheres permanecendo constantes. Com relação à TFG calculada pela fórmula de Cockcroft-Gault, não houve diferença significativa entre homens e mulheres, mas foi observado um declínio significativo de 20% por década de vida. Concluíram que o comportamento da cistatina C ao longo das décadas reflete o que é conhecido em relação ao declínio da TFG com o avanço da idade⁽²⁶⁾.

Num outro estudo, em população de idosos (> 65 anos), também não foram encontradas diferenças entre sexos, ao contrário do que se evidenciou com a creatinina e a excreção urinária de albumina (EUA), que apresentaram níveis mais elevados no sexo masculino. Entretanto, a cistatina C, a creatinina e a EUA se correlacionaram significativa e positivamente com a idade, sendo que a correlação entre a cistatina C e a EUA foi maior que entre cistatina C e creatinina,

reforçando a idéia de que a primeira é um marcador útil para leves diminuições na TFG⁽²²⁾. As concentrações de cistatina C em crianças prematuras e até um ano são significativamente mais elevadas, comparando-se com adultos⁽¹⁰⁾.

Wasén et al avaliaram a diminuição da TFG associada com diabetes entre 1073 idosos não diabéticos e 187 com diabetes melito, com idades entre 64 e 100 anos, fazendo uma comparação entre fórmulas baseadas em creatinina (MDRD e Cockcroft-Gault) com a cistatina C sérica. Os objetivos do estudo foram explorar as características da disfunção renal associada com o diabetes melito em idade mais avançada e, especialmente, avaliar possíveis diferenças entre idosos acima e abaixo de 80 anos. A cistatina C e a creatinina foram usadas para estimar a TFG e a razão albumina/creatinina para avaliar a microalbuminúria. A prevalência de diminuição da TFG no diabetes aumentou com a idade, mas não houve diferença significativa entre os grupos divididos por faixa etária. Concluíram que o impacto do diabetes em mudanças na função renal aumenta com a idade, enquanto o impacto da hipertensão foi mais pronunciado no grupo mais jovem (abaixo de 80 anos). Para o grupo sem diabetes abaixo de 80 anos, a média de valores de referência para cistatina C foi $1,02 \pm 0,28$ mg/L, já para o grupo com diabetes, foi de $1,06 \pm 0,28$ mg/L, não havendo diferença entre os dois grupos. No grupo acima de 80 anos, sendo as médias de cistatina C nos grupos sem e com diabetes, respectivamente, $1,31 \pm 0,47$ mg/L e $1,56 \pm 0,65$ mg/L, os valores foram significativamente mais elevados em comparação entre o grupo mais jovem⁽²⁷⁾.

Fricker et al. estudaram nove pacientes com hipotireoidismo e treze com hipertireoidismo, para avaliar o impacto da disfunção da tireóide na cistatina C sérica. Observaram que contrastando com a creatinina, os níveis de cistatina C são mais baixos no hipotireoidismo e mais altos no hipertireoidismo, comparando-

se com o estado eutireoideo. Por isso, sugerem que a função da tireóide deve ser documentada quando a cistatina C for utilizada como índice de avaliação da função renal⁽²⁸⁾.

COMPARAÇÕES COM A MEDIDA DA CREATININA: foram feitas comparações entre os desempenhos de técnicas de dosagem de cistatina C e creatinina⁽¹⁷⁾. Observou-se que a primeira tem maior coeficiente de variação inter e intraensaio⁽¹⁰⁾. Pelo método de imunoturbidimetria realizado no aparelho Cobas Mira[®], da Roche, por exemplo, os CV intra e interensaio para a medida da cistatina C encontrados foram 4,5 e 8,1%⁽²⁹⁾, respectivamente, enquanto que para a creatinina, pelo método de Jaffé no aparelho Monarch[®], foram 1,7 e 2,8%¹⁹, respectivamente. Os métodos de imunoensaio da cistatina C sofrem menos interferências de bilirrubina, glicose, cetonas e drogas, enquanto mostram equivalente interferência de hemólise. A interferência de lipemia tem sido extensamente investigada para os métodos de cistatina C, mas não para creatinina, mas ainda não foi definida de que forma prejudica a análise, uma vez que não houve interferência até níveis de triglicérides de 1000 mg/dL, em estudo realizado. Do ponto de vista analítico, a cistatina C e a creatinina são parecidas em termos de imprecisão. Entretanto, a cistatina C é superior como um potencial marcador de variações na TFG devido à possibilidade de usar uma única faixa de referência, desconsiderando sexo, idade, peso e altura, segundo alguns autores. Entretanto, é a relação entre cistatina C e TFG medida que vai definir a utilidade clínica para essa medida. Foi encontrado um maior grau de correlação entre cistatina C e TFG, do que entre creatinina e TFG⁽¹⁰⁾, embora a avaliação da

correlação entre dois métodos não seja o melhor parâmetro para avaliação de desempenho de acordo com Bland e Altman⁽³⁰⁾.

Estudos sugerem que a cistatina C seja útil para detectar função renal levemente diminuída, ou seja, seria um teste de triagem mais sensível que a creatinina. Em contrapartida, também mostram que as variações intra-individuais e a diferença da média biológica (tamanho de mudança necessário para assegurar uma variação estatística na concentração do analito) são maiores na cistatina C, indicando que esta poderia ser menos apropriada para monitoramento seriado de pacientes. Em contraste, outro estudo maior sugere o contrário com relação ao CV intra-individual, tornando a cistatina C tão útil quanto a creatinina para o monitoramento de pacientes⁽¹⁰⁾.

A superioridade diagnóstica da cistatina C na estimativa da TFG foi demonstrada em 52 pacientes pediátricos em que se encontrou melhor correlação de resultados entre o método do ⁵¹Cr-EDTA e o da cistatina C na determinação da TFG ($r=0,89$ e $P=0,073$) do que frente ao método da creatinina ($r=0,80$). A análise da curva ROC (Receiver Operating Characteristic) mostrou que a estimativa da TFG através da medida da cistatina C foi melhor que através da medida da creatinina tanto em subgrupos com função renal normal quanto com função reduzida⁽³¹⁾.

Um estudo transversal holandês avaliou em 8058 habitantes possíveis fatores que influenciariam os níveis de cistatina C, além da função renal. Observaram que idade mais elevada, sexo masculino, maior peso, maior altura, hábito de fumar e altos níveis de proteína C reativa foram independentemente associados com níveis mais altos de cistatina C após o ajuste para a depuração de creatinina. Embora concluam que o nível de cistatina C

sérica não deveria ser usado para estimar a função renal a menos que se levem em conta fatores que poderiam influenciá-lo, não avaliaram adequadamente a função renal comparando a cistatina C com métodos acurados⁽³²⁾.

USOS NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

Diabete Melito e doença renal: Aproximadamente 40% dos pacientes com insuficiência renal terminal recebendo terapia de substituição renal têm DM⁽⁴⁾. Portanto, a disponibilidade de um marcador sensível e não invasivo para a avaliação acurada da TFG nesses indivíduos é importante. Como existem intervenções preventivas ou renoprotetoras disponíveis, a identificação precoce da nefropatia é crucial e há uma crescente demanda para um marcador clinicamente conveniente e confiável da função renal⁽²²⁾.

Um estudo com 52 pacientes com diabete melito tipo 2 (DM2), feito na Itália, descreve que a correlação entre cistatina C e TFG foi significativamente mais forte ($r=0,84$) que entre creatinina e TFG ($r=0,65$). Esse estudo conclui que a estimativa da TFG usando a cistatina C é uma medida confiável da função renal, detectando sua diminuição na nefropatia diabética⁽⁶⁾.

Outro estudo avaliou 89 pacientes com DM1 (n=30) ou DM2 (n=59) e na análise da população de pacientes como um todo, com um valor de ponto-de-corte de TFG de 80 mL/min, a eficácia da fórmula de Cockcroft-Gault mostrou-se maior que da cistatina C e da creatinina na detecção do envolvimento renal. Nos 36 pacientes com nível de creatinina sérica menor que 1 mg/dL, 27,7% apresentaram TFG <80 mL/min e a fórmula de Cockcroft-Gault e a cistatina C foram marcadores superiores e igualmente eficientes entre os dois para a determinação da TFG, mas a cistatina C foi superior na triagem de uma alteração

inicial da função renal. Com isso, os autores sugerem que a alta sensibilidade da cistatina C a torna um critério mais confiável para a triagem e avaliação da função renal na presença de níveis normais de creatinina sérica⁽³³⁾.

No entanto, um estudo francês com 49 pacientes que tinham diabetes tipo 1 (n=15) ou 2 (n=34) compensado, demonstrou que a cistatina C não é mais sensível que a creatinina ou que a β 2-microglobulina sérica para a detecção da diminuição da função renal em pacientes com DM. Em pacientes com TFG superior a 80 mL/min/1,73m², os níveis de creatinina sérica não seriam bons marcadores da função renal, pois se acredita que começam a aumentar somente quando a TFG cai aproximadamente 50%⁽³⁴⁾.

Em um estudo realizado no Kuwait, com 105 pacientes DM2, embora não houvesse diferença estatisticamente significativa entre as acurácias diagnósticas dos marcadores séricos para detecção de mudanças na TFG, a cistatina C foi o marcador mais sensível em DCE estimada abaixo de 60 mL/min/1.73m² e clinicamente mais útil que a creatinina e a β 2-microglobulina em pacientes com DM2⁽³⁵⁾. Tan et al. estudaram a utilidade clínica de cistatina C para a estimativa da TFG em 29 pacientes com DM1. Foi possível determinar uma equação para estimar a TFG através da cistatina C, em relação com a TFG determinada por iohexol, conforme a figura 3. A cistatina C provou ser mais acurada que a creatinina e a fórmula de Cockcroft-Gault e mais confiável que a DCE medida em pacientes com DM1, embora sejam necessários mais estudos para confirmar esta posição na rotina clínica⁽³⁴⁾. No entanto, em quadros de descompensação aguda, Holmquist et al, avaliando 26 crianças com DM1, concluíram que as depurações de creatinina e iohexol não foram afetadas pela presença de cetonúria, em contraste com índices mais baixos de cistatina C⁽³⁶⁾.

Um estudo de acompanhamento de quatro anos de pacientes com diabetes melito e TFG normal ou elevada foi feito realizando as medidas das concentrações de cistatina C sérica em trinta participantes com DM2 no Diabetic Renal Disease Study. A cistatina C foi transformada em sua recíproca (100/cistatina C). Em comparações pareadas de 100/cistatina C com a depuração de iothalamato, observou-se uma forte correlação entre ambas medidas (Spearman $r = 0,77$). Em virtude dos resultados observados, foi sugerido que medidas seriadas de cistatina C acuradamente podem detectar o curso da função renal e prover meios para estudar o declínio da função no diabetes melito⁽³⁸⁾.

Baseado nessas informações, a cistatina C parece ser uma alternativa promissora e um marcador mais exato que a creatinina em pacientes com DM, embora sejam ainda necessários estudos adicionais para avaliar o desempenho da cistatina C no diabetes melito⁽⁶⁾.

Hipertensão essencial: a hipertensão arterial é um fator de risco para a promoção e progressão de danos cardiovasculares. Um estudo avaliou em 60 pacientes com hipertensão essencial a possível relação da cistatina C sérica com danos em órgãos alvo, além de sua associação com outros marcadores, tais como EUA, índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE) e espessamento da parede da carótida. Observaram que a cistatina C se correlacionou com a depuração da creatinina (negativamente), com a pressão sistólica média medida em 24 horas, com o IMVE e o espessamento das íntimas paredes da carótida⁽³⁸⁾.

Transplante renal: a avaliação da função renal em pacientes que foram submetidos a transplante renal é de crucial importância. Ela permite o reconhecimento precoce de uma rejeição e a acurada dosagem de diferentes drogas simultaneamente usadas que apresentam excreção e/ou toxicidade renais.

A TFG é um marcador que determina a gravidade do dano e acompanha o seu curso. Um estudo feito na Grécia avaliou dezenove pacientes, sendo 9 homens, com faixa etária entre 31 e 67 anos e função renal estável nos últimos 6 meses sem quaisquer mudanças nos agentes imunossupressores nas últimas 4 semanas. Foram medidos cistatina C, creatinina e TFG através da DCE e estimativa através das fórmulas de Cockcroft-Gault e do MDRD. Foram observadas correlações significativas entre a cistatina C e a DCE ($r = -0,768$) e entre a cistatina C e a fórmula de Cockcroft-Gault ($-0,854$), correlação positiva com a creatinina sérica ($r = 0,629$) e negativa com a fórmula do MDRD⁽³⁹⁾. Outro estudo, desenvolvido na Suíça, com trinta pacientes (15 homens) pós-transplante renal em estado de equilíbrio, avaliou o quanto a cistatina C sérica poderia ser um marcador confiável para a estimativa da TFG neste grupo. Também foram medidas a creatinina sérica e a β_2 -microglobulina e comparadas com um padrão-ouro, a TFG com ^{125}I iothalamato. Foi calculada a TFG através de duas equações para permitirem a melhor aproximação da TFG em transplantados renais: a de Walser e a Jellife. Os resultados mostraram que a cistatina C é superior para a avaliação da função renal em um grupo bem definido de pacientes e proporciona um rápido e acurado acesso da função renal. Foi obtida maior correlação com a TFG ($r = 0,83$), do que com a creatinina sérica, a depuração da creatinina e a β_2 -microglobulina ($r = 0,67$, $r = 0,57$ e $r = 0,58$, respectivamente). Os autores sugerem que a maior variabilidade da cistatina C com relação à creatinina pode ser devida à maior capacidade da cistatina C em detectar pequenas mudanças na função renal, especialmente com função levemente diminuída⁽⁴⁰⁾. Leach et al avaliaram 21 pacientes que receberam transplante renal durante cinco anos. O objetivo de seu estudo foi o de investigar o papel de um monitoramento seriado da cistatina C

no período imediatamente pós-transplante, particularmente nos pacientes com complicações, e determinar seu papel na predição de sobrevivência (comparando com a creatinina sérica). Seus achados confirmam os do estudo acima descrito, além de sugerir que a cistatina C incorpora todas as vantagens do outro marcador, incluindo a informação prognóstica, embora mais estudos para esclarecer este papel sejam ainda necessários⁽⁴¹⁾.

Síndrome hepato-renal: a avaliação da função renal em pacientes com cirrose é importante para o prognóstico, a dosagem de drogas potencialmente nefrotóxicas e o reconhecimento de mudanças na TFG. Pacientes com diferentes anormalidades da função hepática podem apresentar alterações na função renal na ausência de outras causas conhecidas de disfunção renal, sendo estas desordens chamadas de síndrome hepato-renal. Um estudo feito na Turquia objetivou determinar se a medida da cistatina C poderia substituir a creatinina na determinação da TFG em pacientes com cirrose, utilizando como padrão-ouro a TFG com ^{99m}Tc-DTPA. O coeficiente de correlação entre a cistatina C e a TFG medida foi superior ao da creatinina com o padrão-ouro ($r=-0,522$ e $r=-0,373$, respectivamente), mostrando, porém, que nenhum destes marcadores foram bons indicadores da função renal. Entretanto, sugeriram que a creatinina pode ser substituída ou pelo menos ser adicionada à medida da creatinina neste grupo de pacientes⁽⁴²⁾.

Câncer: um estudo avaliou setenta e dois pacientes com melanoma maligno, câncer gástrico e câncer ovariano, sendo 35 com metástases. Determinaram creatinina e cistatina C séricas e concluíram que a cistatina C pode substituir a creatinina como um teste de triagem antes da quimioterapia e que

talvez possa ser usada em modificação de dose de quimioterapia combinada com cisplatina em pacientes com TFG reduzida⁽⁴³⁾.

USOS COMO MARCADOR DE DOENÇA CARDÍACA

Doença cardíaca coronariana: Reconhecidamente, a diminuição da função renal é fator de risco independente para doença cardiovascular, insuficiência cardíaca congestiva e mortalidade. Uma coorte de três anos feita na Alemanha com 1033 pacientes com doença cardíaca coronariana foi realizada para avaliar o valor diagnóstico da cistatina C na predição de risco futuro de eventos cardiovasculares secundários e comparar seu valor prognóstico com outros marcadores da TFG, tais como creatinina sérica e depuração da creatinina. Este estudo demonstrou que concentrações elevadas de cistatina C estão forte e independentemente associadas a eventos cardiovasculares futuros. Uma provável explicação se atribui à função da cistatina C, que é de inibir a quimiotaxia de células humanas polimorfonucleares. Em situação de dano vascular, há uma produção aumentada de citocinas inflamatórias, que estimulam a produção de proteases elastolíticas de cisteína. Este processo poderia ser contrabalançado pela atividade da cistatina C, que regula a atividade das proteases, desempenhando um papel importante no remodelamento do tecido, em particular no período pós-infarto. Com isso, se poderia supor a ocorrência de níveis mais elevados de cistatina C pós-infarto e em um futuro evento secundário, para favorecer um restabelecimento do equilíbrio entre a atividade das cisteína proteases com o seu principal inibidor⁽⁴⁴⁾.

Insuficiência cardíaca: Em um estudo recente realizado nos Estados Unidos, 4384 adultos com mais de 65 anos, participantes do Cardiovascular Health Study, um quintil sequencial da concentração de cistatina C

estava associado ao aumento gradual do risco para o desenvolvimento de insuficiência cardíaca com razões de risco de 1,0; 1,30 [95% IC: 0,96 a 1,75]; 1.44 [IC: 1,07 a 1,94]; 1.58 [IC: 1,18 a 2,12] e 2,16 [IC: 1,61 a 2,91], relação essa não presente com os quintis das concentrações de creatinina sérica. Os autores concluem que índices mais baixos de função renal são fatores independentes de risco para o desenvolvimento de insuficiência cardíaca. Comparando-se com a creatinina, a cistatina C fornece uma melhor medida de risco, particularmente na faixa normal da função renal. A Figura 5 demonstra a associação entre cistatina C e creatinina séricas e o risco de desenvolver insuficiência cardíaca, indicando a associação linear entre cistatina C e insuficiência cardíaca⁽⁴⁵⁾. Levin levanta uma indagação interessante para o futuro. Em editorial, questiona por que, se as estimativas da TFG são semelhantes com creatinina e cistatina C, os valores de cistatina C são melhores preditores de insuficiência cardíaca do que os de creatinina⁽⁴⁶⁾.

Eventos cardiovasculares e morte: a presença de disfunção renal em idosos tem sido associada a um risco aumentado de morte entre pessoas saudáveis, e entre aquelas com vários fatores clínicos, incluindo insuficiência cardíaca, hospitalização aguda, cirurgia e infarto agudo do miocárdio. Shlipak et al compararam a cistatina C com a creatinina como preditores de mortalidade de causas cardiovasculares numa coorte envolvendo 4637 participantes. Níveis mais elevados de cistatina C foram diretamente associados a um maior risco de morte de todas as causas. Desta forma, concluiu-se que a cistatina C é um preditor mais forte do risco de morte e eventos cardiovasculares em idosos do que a creatinina⁽⁴⁷⁾.

CONSIDERAÇÕES FINAIS: A cistatina C parece ser superior à creatinina como um índice para avaliar a TFG em diversas situações clínicas, tais como no diabetes melito, hipertensão essencial, transplante renal, síndrome hepato-renal, câncer, além de ser um marcador de risco precoce para doenças cardiovasculares. Entretanto, mais estudos são necessários para estabelecer em que situações clínicas a cistatina C pode sofrer interferências⁽¹⁰⁾. Os valores de referência sugeridos são de 0,55 a 1,15, para indivíduos de a 50 anos e de 0,63 a 1,44 para pessoas acima desta faixa etária, mas ainda há necessidade de se entrar num consenso. O NKF sugere que seja construída uma equação para cálculo da TFG em que seja utilizada a cistatina C. Além disso, são necessários estudos prospectivos em pacientes com diferentes patologias renais, para avaliar a concentração de cistatina C como um marcador mais sensível e específico que a creatinina para avaliação da TFG⁽⁹⁾.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Brenner & Rector's In: The Kidney. Barry Brenner, M.D., A.M. (Hon.), D. Sc. (Hon.), D.M. Sc (Hon.), F.R.C.P. (Lond.,Hon.), editors. Section III: Pathogenesis of Renal Disease- Chapter 26: Laboratory Assessment of Renal Disease: Clearance, Urinalysis, and Renal Biopsy. 6th ed. Boston, Massachusetts: WB Saunders Company; 2000. p: 1129-70.
- 2- Levey AS, MD, Coresh J, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G. National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Ann Intern Med* 2003;139:137-47.
- 3- Gross JL, Friedman R, Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M. Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by ⁵¹Cr-EDTA. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:129-34.
- 4- USRDS 2004. *Am J Kidney Dis* 2005 Jan;45(1Pt2)8-280.
- 5- Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR, UKPDS Group. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* 2003;63(1):225-32.
- 6- Mussap M, Dalla Vestra MD, Fioretto P, Saller A, Varagnolo MC, Nosadini R, Plebani M. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2002;61:1453-61.
- 7- Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveira J, Paggi A, Tatsch M, Azevedo MJ. The receiver operating characteristics curve in the evaluation of a random urine specimen as a screening test for diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1997;20:516-19.

- 8- Eknoyan G, Hostetter T, Bakris GL, Hebert L, Levey AS, Parving H, et al. Proteinuria and Other Markers of Chronic Kidney Disease: A Position Statement of the National Kidney Foundation (NKF) and the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). *Am J Kidney Dis* 2003;42(4):617-22.
- 9- Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 1997;43(6):1016-22.
- 10- Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002;39:89-104.
- 11- Risch L, Blumberg A, Huber A. Rapid and accurate assessment of glomerular filtration rate in patients with renal transplants using serum cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1991-96.
- 12- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A More Accurate Method to Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6):461-70.
- 13- Pierrat A, Gravier E, Saunders C, Caira MV, Ait-Djafer Z, Legras B, et al. Predicting GFR in children and adults: a comparison of the Cockcroft-Gault, Schwartz, and Modification of Diet in Renal Disease formulas. *Kidney Int* 2003;64:1425-36.
- 14- Norlund L, Fex G, Lanke J, Von Schenck H, Nilson JE, Leksele H, et al. Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell-proliferation markers: serum cystatin C and serum beta 2microglobulin/cystatin C ratio. *Scand J Clin Lab Invest* 1997;57:463-70.

- 15-Finney H, Newman DJ, Price CP. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Ann Clin Biochem* 2000, 37:49-59.
- 16-Lin J, Knight EL, Hogan ML, Singh AK. A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in adults without kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2573-80.
- 17-Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Jacobsen S, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004;141:929-37.
- 18-Tan GD, Lewis AV, James TJ, Msc, Altmann P, RP Taylor, Levy JC. Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of Glomerular Filtration Rate in type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 2002;25(11):2004-9.
- 19-Coresh J, Astor BC, MsQuillan G, Kusek J, Greene T, Van Lente F, et al. Calibration and random variation of serum creatinine assay as critical elements of using equations to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 2002;39: 920-9.
- 20-Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:763-773.
- 21-Go AS, Cherron GM, Fan D, Mcculloch CH, Hsu C-Y. Chronic Kidney Disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351:1296-305.

- 22-Wasén E, Suominen P, Isoaho R, Mattila K, Virtanen A, Kivelä SL, Irjala K. Serum cystatin C as a marker of kidney disfunction in an elderly population. Letter to the Editor. Clin Chem 2002;48 n° 7.
- 23- Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie T, White T, Grubb AO, et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. Kidney Int 1995;47:312-8.
- 24-Darmady EM, Offer J, Woodhouse MA. The parameters of ageing kidney. J Pathol 1973;109:195-207.
- 25-Dunnill MS, Halley W. Some observations on the quantitative anatomy of the kidney. J Pathol 1973;110:113-21.
- 26-Finney, Bates CJ, Price CP. Plasma cystatin C in a healthy elderly population. Arch Gerontol Geriatr 1999;29:75-94.
- 27-Wasén E, Isoaho R, Matilla K, Vahlberg T, Kivela SL, Irjala K. Estimation of glomerular filtration rate associated with diabetes in the elderly. Diabetes Care 2004;27(11):2648-2653.
- 28-Fricker M, Wiesli P, Crändle M, Schwegler B. Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. Kidney Int 2003;63:1944-7.
- 29-Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. Clin Chem Lab Med 1998; 36:393-7.
- 30- Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. The Lancet 1986;1:307-10.

- 31-Ylinen EA, Ala-Houhala M, Harmoinen APT. Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol.* 1999; 13:506–509.
- 32- Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, Zeeuw DD, Curhan GC, Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 2004;65:1416-21.
- 33- Perlemoine C, Beauvieux M, Rigalleau V, Baillet L, Barthes N, Derache P, Gin H. Interest of cystatin C in screening diabetic patients for early impairment of renal function. *Metabolism* 2003;52:1258-64.
- 34- Oddoze C, Morange S, Portugal H, Berland Y Dussol B. Cystatin C is not more sensitive than creatinine for detecting early renal impairment in patients with diabetes. *Am J Kidney Dis* 2001;38:310-316.
- 35- Mojiminiyi OA, Abdella N. Evaluation of Cystatin C and β 2-microglobulin as markers of renal function in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2003;17:160-8.
- 36- Holmquist P, Torffvit O, Sjoblad S. Metabolic status in diabetes mellitus affects markers for glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 2003;18:536-40.
- 37-Perkins BA, Nelson RG, Ostrander BE, Blouch KL, Krolewski AS, Myers BD, Warram JH. Detection of renal function in patients with diabetes and normal or elevated GFR by serial measurements of serum cystatin C concentration: results of a 4-year follow-up study. *J Am Soc Nephrol.* 2005 May;16(5): 1404-12. Epub 2005 Mar 23.

- 38- Watanabe S, Okura T, Liu J, Miyoshi K-I, Fukuoka T, Hiwada K, Higaky J. Serum cystatin C is a marker of end-organ damage in patients with essential hypertension. *Hypertens Res* 2003;26:895-9
- 39- Visvardis G, Griveas I, Zilidou R, Papadopoulou D, Mitsopoulos E, Kyriklidou P, et al. Glomerular filtration rate estimation in renal transplant patients based on serum cystatin-C levels: comparison with other markers of glomerular filtration rate. *Transplantation Proceedings* 2004;36:1757-1759.
- 40- Risch L, Blumberg A, Huber A. Rapid and accurate assessment of glomerular filtration rate using serum cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14: 1991-1996.
- 41- Leach TD, Kitiyakara C, Price CP, Stevens JM, Newman DJ. Prognostic significance of serum cystatin C concentrations in renal transplant recipients: 5-year follow-up. *Transplantation Proceedings* 2002;34: 1152-1158.
- 42- Demirtas S, Bozbas A, Akbay A, Yavuz Y, Karaca L. Diagnostic value of serum cystatin C for evaluation of hepato-renal syndrome. *Clinica Chimica Acta* 2001; 311: 81-89.
- 43- Stackbuck B, Vrhovec L, Stabuc-Silih M, Cizej TT. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C: use in cancer patients before and during chemotherapy. *Clinical Chemistry* 2000;46(2): 193-197.
- 44- Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Plasma concentrations of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events: more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 2005;51:321-27 .

- 45- Sarnak MJ, Katz R, Stehman-Breen CO, Fried LF, Jenny NS, Psaty BM, Newmann AB, Siscovick D, Shlipak MG. Cystatin C as a risk factor for heart failure in older adults. *Ann Intern Med.* 2005; 142(7):497-506.
- 46- Levin A. Cystatin C, serum Creatinine, and estimates of kidney function: searching for better measures of kidney function and cardiovascular risk. *Ann Intern Med.* 2005; 142:586-588.
- 47- 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. *NEJM* 2005; 352(20):2049-2060.

| Estudo | Método | Calibrador (cistatina C recombinante) | Valores de referência (mg/L) | |
|-------------------------|--------|--|---------------------------------|-----|
| | | | Média ± DP | n |
| Norlund ⁽¹⁴⁾ | PETIA | Proteína humana recombinante em soro humano normal sem cistatina C | <50 anos: 0,92 ± 0,13: homens | 57 |
| | | | >50 anos: 1,11 ± 0,23: mulheres | 67 |
| | | | <50 anos: 0,87 ± 0,12: homens | 61 |
| | | | >50 anos: 1,10 ± 0,25: mulheres | 64 |
| Finney ⁽¹⁵⁾ | PENIA | Proteína humana urinária purificada | <50 anos: 0,53 a 0,92 | 258 |
| | | | >50 anos: 0,58 a 1,2 | 51 |
| | | | 0,49- 0,94: mulheres | 155 |
| | | | 0,56-0,98: homens | 154 |

Quadro 1 - Valores de referência para cistatina C

$$\text{TFG (mL/min/1,73m}^2\text{)} = 186 \times (\text{creatinina s\u00e9rica})^{-1,154} \times (\text{idade})^{-0,203} \times (0,742 \text{ se mulheres}) \times (1,210 \text{ se afro-americanos})$$

Figura 1 - Equa\u00e7\u00e3o proposta no estudo MDRD - Modification of Diet in Renal Disease⁽¹²⁾

Depuração da creatinina: $(140 - \text{idade}) \times \text{peso} \times 0,85$ se mulheres / creatinina sérica $\times 72$

Figura 2 - Equação de Cockcroft-Gault⁽¹³⁾

$$\text{TFG(mL/min/1,73m}^2\text{)}: \exp \left(1,911 + \frac{5,249}{\text{Scr}} - \frac{2,114}{\text{Scr}^2} - 0,00686 \times \text{idade} - 0,205 \text{ (se mulher)} \right)$$

Se Scr (creatinina sérica) <0,8 mg/dL, usar 0,8 para Scr.

Figura 3 - Equação do MDRD5⁽¹⁷⁾

$$\text{TFG-iohexol} = (87,1/\text{plasma cystatin C}) - 6,87$$

Figura 4 - Equação proposta por G.D. Tan et al⁽¹⁸⁾

CAPÍTULO 2

Comparação entre a Taxa de Filtração Glomerular Medida com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e Estimada pelas Fórmulas do MDRD em Indivíduos Normais: Influência de Idade, Gênero e Raça

Aline Bodanese Prates

Fernando Barcellos do Amaral

Jorge Luiz Gross

Sandra Pinho Silveiro

Endereço para correspondência:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

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

Porto Alegre, RS

sandrasilveiro@terra.com.br

Palavras-chave: TFG, taxa de filtração glomerular, *Modification of Diet in Renal Disease*, MDRD, creatinina

RESUMO

INTRODUÇÃO: Diretrizes americanas e européias recomendam que a função renal seja analisada através da estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) empregando-se a equação do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD1), que emprega a creatinina, idade, gênero e raça na sua formulação. No entanto, várias análises têm reconhecido a limitação desta equação e uma nova proposta, a MDRD5 têm sido avaliada.

OBJETIVO: Comparar o desempenho da TFG medida pelo $^{51}\text{Cr-EDTA}$ com a estimada através das fórmulas do estudo MDRD em indivíduos normais, levando em conta influência de idade, gênero e raça.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS: Foram avaliados 101 indivíduos normais, com idade de 38 ± 12 anos (18-72 anos), sendo 45 do sexo masculino (44,6%). Noventa e um indivíduos (90%) eram brancos e dez não-brancos (06 pretos e 04 mulatos). A TFG foi medida através da técnica de injeção única do $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e estimada através da equação 1 do MDRD $[\text{TFG (mL/min/1,73m}^2) = 186 \times \text{creatinina sérica}^{-1,154} \times \text{idade}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (se feminino)} \times 1,210 \text{ (se negros)}]$ e equação 5 do MDRD $[\text{TFG (mL/min/1,73m}^2) = \exp(1,911 + 5,249/\text{creat} - 2,114/\text{creat} - 0,00686 \times \text{idade} - 0,205 \text{ (se mulheres)})]$. A creatinina sérica foi medida através do método de Jaffé.

RESULTADOS: Os valores médios de TFG avaliados pelo $^{51}\text{Cr-EDTA}$, MDRD1 e MDRD5 para o grupo todo foram, respectivamente, de 105 ± 18 , 84 ± 14 e 109 ± 12 mL/min/1,73m². Foi evidenciada distribuição gaussiana da TFG quando avaliada através do $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (KS: P=0,121) e da equação MDRD5 (KS: P=0,200), sendo

detectada concordância entre estes 2 métodos ($P=0,074$). No entanto, a equação MDRD1 mostrou distribuição não simétrica (KS: 0,011) e ausência de concordância com o $^{51}\text{Cr-EDTA}$ ($P=0,001$). A TFG foi analisada em grupos abaixo e acima de 50 anos, respectivamente, sendo evidenciado um declínio dos valores com o avanço da idade, tanto para homens (108 ± 16 vs. 94 ± 12 mL/min/ $1,73\text{m}^2$, $P=0,012$) quanto para mulheres (109 ± 21 vs 93 ± 8 mL/min/ $1,73\text{m}^2$, $P=0,001$). No entanto, no sexo masculino não foi detectada concordância entre a TFG medida e as fórmulas. Quando a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ foi analisada levando em conta a raça dos indivíduos, foi demonstrado que nos indivíduos brancos os valores foram significativamente mais baixos do que no grupo de indivíduos negros e mulatos (respectivamente, 83 ± 14 vs. 109 ± 13 mL/min/ $1,73\text{m}^2$, $P=0,015$). Além disso, nenhuma das 2 equações apresentou concordância com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ quando a raça foi levada em conta.

CONCLUSÕES: A equação MDRD1 subestima sistematicamente os valores de TFG medidos com $^{51}\text{Cr-EDTA}$. A MDRD5 representa melhor a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$, exceto quando a raça e sexo masculino são levados em conta, sugerindo que novas equações devam contemplar mais adequadamente esses fatores.

ABSTRACT

BACKGROUND: American and European guidelines recommend that renal function should be evaluated through estimation of glomerular filtration rate (GFR) employing the Modification of Diet in Renal Disease study equation (MDRD1), which includes age, gender and race into the analysis. However, several studies have identified the limitations of this equation and a new proposition, MDRD5, has been investigated.

AIM: To compare the performance of GFR measured by ^{51}Cr -EDTA with that estimated by MDRD equations, taking into account the influences of age, gender and ethnicity.

METHODS: A hundred and one normal individuals were examined, aging 38 ± 12 years (18-72 years), 45 (44,6%) were men. Ninety-one individuals (90%) were white and 10 were non-white (06 black e 04 mixed). GFR was measured by ^{51}Cr -EDTA single-injection method and estimated by MDRD equation 1 [$\text{GFR (mL/min/1.73m}^2\text{)} = 186 \times \text{serum creatinine}^{-1,154} \times \text{age}^{-0,203} \times 0.742 \text{ (if female)} \times 1.210 \text{ (if black)}$] and MDRD equation 5 [$\text{GFR (mL/min/1.73m}^2\text{)} = \exp(1.911 + 5.249/\text{creat} - 2.114/\text{creat} - 0.00686 \times \text{age} - 0.205 \text{ (if women)})$]. Serum creatinine was measured by Jaffé's method.

RESULTS: GFR analyzed by ^{51}Cr -EDTA, MDRD1 e MDRD5 in the whole group was, respectively, 105 ± 18 , 84 ± 14 e 109 ± 12 mL/min/1.73m², It was demonstrated a Gaussian pattern for GFR when evaluated by ^{51}Cr -EDTA (KS: P=0.121) and MDRD5 equation (KS: P=0.200), with the presence of agreement between these methods (P=0.074). However, MDRD1 equation showed a non-symmetrical distribution (KS: 0.011) and no agreement with ^{51}Cr -EDTA (P=0.001). GFR was analyzed in groups below and above 50 years, respectively, and a decline with advancing age was shown either for men (108 ± 16 vs. 94 ± 12 mL/min/1.73m², P=0.012) or women (109 ± 21 vs 93 ± 8

mL/min/1.73m², P=0.001). Nonetheless, there was no agreement between measured and estimated GFRs in male sex. When GFR was analyzed according to the race of individuals, it was demonstrated that white people presented significantly lower values than black and mixed ones (respectively, 83±14 vs. 109±13 ml/min/1.73m², P=0.015). Furthermore, no equation disclosed agreement with ⁵¹Cr-EDTA when race was taken into account.

CONCLUSIONS: MDRD1 systematically underestimates GFR values measured with ⁵¹Cr-EDTA. MDRD5 resembles ⁵¹Cr-EDTA GFR more closely, except when race and gender are taken into account, suggesting that new equations should be developed in order to adjust for these variables.

INTRODUÇÃO

A incidência de doença renal avançada vem aumentando progressivamente. Dados do *United States Renal Data System* predizem que o número de pacientes registrados em 1997 com este desfecho duplique em 2010, levando ao acometimento de aproximadamente 700.000 pacientes⁽¹⁾. Uma redução na função renal está associada com risco aumentado de eventos cardiovasculares, hospitalizações e morte⁽²⁾. Em face desses dados alarmantes, várias diretrizes têm sido sugeridas com a finalidade de detectar e otimizar o cuidado dos pacientes com doença renal crônica. As recomendações enfatizam a necessidade de analisar adequadamente a função renal, sendo a avaliação da taxa de filtração glomerular (TFG) o método mais apropriado^(3,4).

A TFG é a melhor forma de avaliar e monitorar a função renal. Pode ser determinada através da depuração de substâncias exógenas, como a inulina e radioisótopos, ou calculada através de fórmulas que empregam a creatinina, levando em conta fatores como idade, gênero, raça e massa corporal^(3,5). Através da determinação da TFG, é possível definir-se o diagnóstico e a classificação da doença renal, determinar o curso clínico e índice de respostas terapêuticas, além de realizar cálculo de dose de drogas e decidir sobre o início de terapia de substituição renal. Embora o declínio relacionado com a idade seja considerado parte do envelhecimento renal, uma TFG diminuída em faixas etárias avançadas é um preditor independente de desfechos adversos, incluindo morte e doença cardiovascular⁽⁶⁾.

A creatinina e sua depuração são os índices mais amplamente utilizados para a estimativa não invasiva de rotina da TFG. Apesar de a creatinina ser relativamente específica, não é sensível, uma vez que seus níveis aumentam significativamente apenas quando mais da metade da TFG está reduzida. Além disso, a

concentração da creatinina pode ser significativamente influenciada por fatores extra-renais (massa muscular, secreção tubular, dieta, imprecisão analítica) ⁽⁷⁾. Constituintes do plasma, quando elevados, tais como glicose, frutose, piruvato, acetoacetato e ácido úrico e drogas como cefalosporinas e ácido ascórbico podem ocasionar resultados falsamente elevados de creatinina por interferir na reação colorimétrica de Jaffé ⁽⁸⁾.

Várias equações para estimar a TFG baseadas na medida da creatinina e incluindo outras variáveis como idade, gênero e raça têm sido desenvolvidas nos últimos anos. As diretrizes da National Kidney Foundation reforçam que tais fórmulas seriam superiores à medida da creatinina isolada para avaliar a função renal ⁽³⁾. As equações do estudo Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) ⁽⁹⁾ e Cockcroft-Gault ⁽¹⁰⁾ (CG): $[(140 - \text{idade}) \times \text{peso} / \text{creatinina} \times 72 \times 0,85 \text{ se mulher}]$ têm sido extensamente avaliadas como uma alternativa para este fim. A equação original do MDRD (MDRD1) é mais precisa do que a de CG, conforme já previamente determinado através da comparação com a depuração de ¹²⁵I-iodalamato ⁽³⁾. Entretanto, essa equação foi inicialmente validada em indivíduos com doença renal, e apenas recentemente foi proposta uma nova equação quadrática, incluindo a análise de indivíduos com função renal normal (MDRD5), o que parece ter melhorado o desempenho da fórmula ⁽¹¹⁾. No entanto, ainda não está completamente definida a magnitude da influência étnica e do gênero na avaliação da TFG analisada por fórmulas.

No presente estudo, foi avaliada a performance das equações 1 e 5 do MDRD para a estimativa da TFG, levando-se em conta a idade, o gênero e a etnia, através da comparação com a TFG medida através da depuração plasmática do ⁵¹Cr-EDTA como padrão ouro.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS

O delineamento empregado foi de estudo transversal.

Indivíduos: Os critérios de inclusão dos indivíduos foram os seguintes: Indivíduos saudáveis entre 18 e 70 anos, de ambos os gêneros, sem diabetes melito, com pressão arterial <140/90 mmHg, índice de massa corporal (IMC) abaixo de 40 kg/m² e sem uso de medicamentos que comprometessem a função renal. Os critérios de exclusão foram: presença de anemia, hepatopatia ou nefropatia de qualquer natureza, TSH >10 µUI/mL, glicemia em jejum >100 mg/dL, gestação, doação de sangue ou cirurgia nos últimos 3 meses, infarto do miocárdio nos últimos 6 meses, história de câncer nos últimos 5 anos. Foram recrutados alunos e professores da graduação e da pós-graduação da faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e funcionários do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), além de pessoas da comunidade em geral, através de publicações na mídia local.

Métodos:

Os procedimentos foram realizados no HCPA. A medida da TFG pelo ⁵¹Cr-EDTA foi realizada no Serviço de Medicina Nuclear. Os exames laboratoriais foram feitos no Serviço de Patologia Clínica.

Todos os indivíduos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, antes do início dos procedimentos. Após, foi aplicado um questionário para coletar dados demográficos, hábito de fumar, histórico de doenças atuais e passadas e de doenças familiares. Foram medidos peso em kg, altura em cm e calculado o IMC pela fórmula $\text{peso}/(\text{altura})^2$ e avaliados cintura e quadril em cm conforme

recomendações OMS⁽¹²⁾. A pressão arterial foi medida duas vezes, na posição sentada, após repouso de 5 minutos (fases I-V)⁽¹³⁾.

Função renal

- Medida da TFG através do método ⁵¹Cr-EDTA

O procedimento foi feito às 08 horas da manhã, após um jejum de 12 horas¹⁴. A TFG foi medida pela técnica utilizada no HCPA. Após coleta de sangue venoso para amostra basal e exames laboratoriais, uma injeção única de 150 µCi de uma solução padrão de ⁵¹Cr-EDTA foi injetada na veia antecubital de um braço e amostras de sangue foram coletadas do braço oposto duas, três e quatro horas após, para a medida da radioatividade em um contador gama (2 mL de plasma, em duplicata). A atividade de cada amostra foi inserida num gráfico contra o tempo marcado de cada coleta pós-injeção e uma linha mono-exponencial foi ajustada por regressão linear.

- Estimativa da TFG através de equação do MDRD

O cálculo foi feito a partir da equação original proposta no estudo Modification of Diet in Renal Disease (equação 1)³. Foi desenvolvido um programa no Serviço de Engenharia Biomédica do HCPA, especialmente para esta fórmula:

$$\text{TFG (mL/min/1,73m}^2\text{)} = 186 \times (\text{creatinina sérica})^{-1,154} \times (\text{idade})^{-0,203} \times (0,742 \text{ se mulheres}) \times (1,210 \text{ se afro-americanos})^{(6)}$$

O cálculo referente à equação quadrática do estudo MDRD (equação 5) foi feito através do programa SPSS. A fórmula utilizada é apresentada a seguir:

$$\text{TFG (mL/min/1,73m}^2\text{)} = \exp(1,911 + \frac{5,249}{\text{Creat}} - \frac{2,114}{\text{Creat}} - 0,00686 \times \text{idade} - 0,205 \text{ (se mulheres)})$$

Se Creatinina < 0,8, usar 0,8

Exames laboratoriais incluíram: dosagens de creatinina, medida pela reação de Jaffé; glicose, medida pelo método enzimático glicose oxidase UV; uréia, colesterol e triglicerídeos foram medidos por métodos enzimáticos; colesterol HDL; TGO; TGP; hemograma; exame qualitativo de urina; creatinina urinária; uréia urinária; excreção urinária de albumina, por imunoturbidimetria (Microalb; Ames-Bayer, Tarrytown, NY, USA) e TSH.

Na análise estatística, utilizou-se o programa SPSS. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão ou mediana e intervalo dos valores. Para checar a presença de distribuição gaussiana, os dados foram preliminarmente avaliados pelo teste Kolgomorov-Smirnov ($P < 0,05$ indica distribuição não gaussiana). Para avaliar a concordância entre a TFG medida com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e calculada através das fórmulas do estudo MDRD, foi feito um teste para concordância entre dois métodos segundo Bland & Altman ($P < 0,05$ indica ausência de concordância)⁽¹⁵⁾. Também foram empregados teste t e teste U para amostras independentes para comparação entre grupos. Regressão linear múltipla foi empregada para avaliar os possíveis determinantes da TFG. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Foram incluídos 101 voluntários, com idade de 38 ± 12 anos (18-72 anos), sendo que 45 eram do sexo masculino (44,6%). Noventa e um indivíduos (90%) eram brancos e dez não-brancos (06 pretos e 04 mulatos). A Tabela 1 apresenta as características clínicas e laboratoriais dos indivíduos.

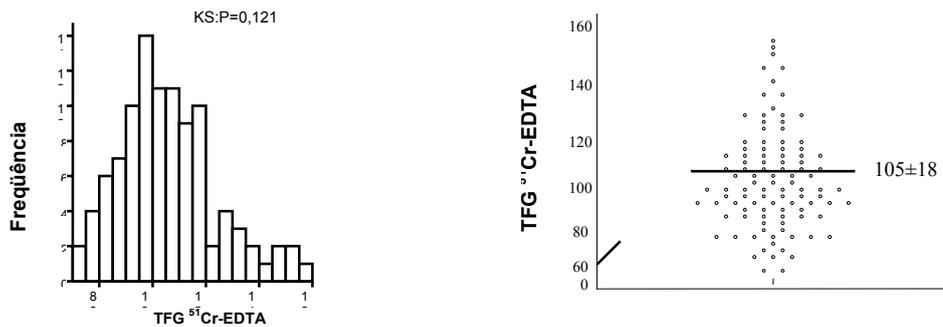
Tabela 1- Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos

| Característica | n= 101 |
|--------------------------|---------------|
| Idade (anos) | 38±12 |
| Sexo (M/F) | 45/56 |
| Raça (B/M/P) | 91/4/6 |
| IMC (kg/m ²) | 25±4 |
| PAS (mmHg) | 114±12 |
| PAD (mmHg) | 72±16 |
| Fumantes (%) | 11 (11) |
| Glicose (mg/dL) | 87±10 |
| Colesterol total (mg/dL) | 189±39 |
| Colesterol HDL (mg/dL) | 54±12 |
| Triglicérides (mg/dL) | 94 (30-418) |

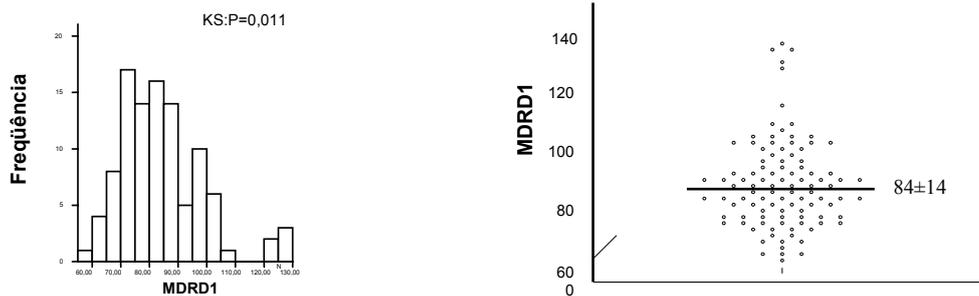
Valores expressos como média±DP ou número de casos (%), ou mediana (variação). B/M/P: branco/mulato/preto; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Foi evidenciada distribuição gaussiana da TFG quando avaliada através do ^{51}Cr -EDTA e da equação MDRD5, mas não quando analisada através da fórmula MDRD1 (Figura 1).

1A



1B



1C

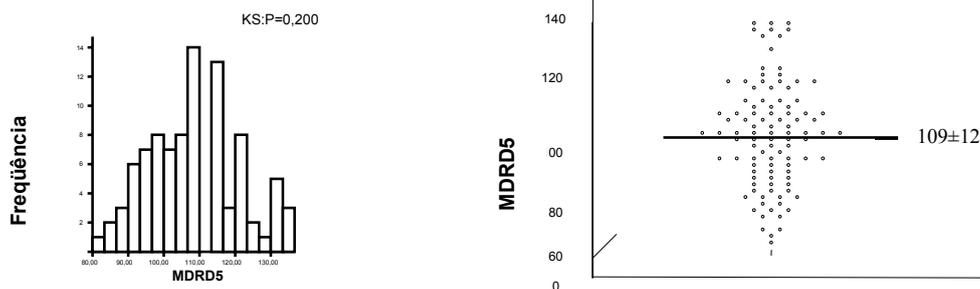


Figura 1- Distribuição da TFG medida através do ^{51}Cr -EDTA (1A) e calculada através das equações MDRD1 (1B) e MDRD5 (1C). Valores expressos em mL/min/1,73 m². Valores expressos como média±DP.

A figura 2 mostra o teste de Bland & Altman, evidenciando que houve concordância entre TFG medida com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e a equação do MDRD5, mas não quando comparado com a equação do MDRD1.

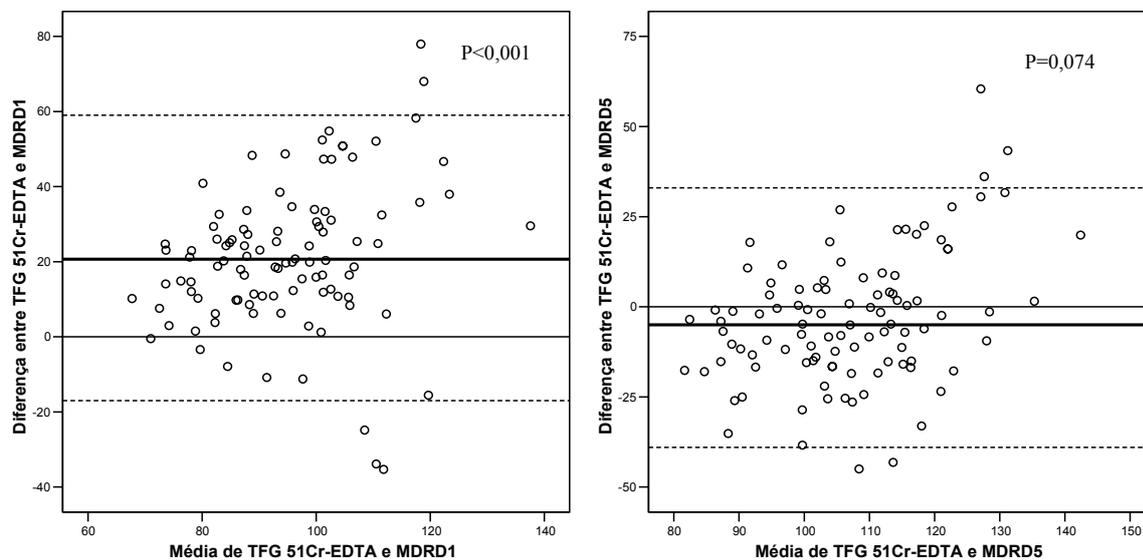


Figura 2- Concordâncias entre TFG medida ($^{51}\text{Cr-EDTA}$) e calculada (MDRD1 e MDRD5). Valores expressos em mL/min/1,73 m².

Gênero vs TFG

Para analisar a influência do gênero sobre a TFG, os indivíduos foram divididos em grupos masculino e feminino e suas características clínicas e laboratoriais estão descritas na Tabela 2. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre homens e mulheres em relação a idade, proporção de raças, IMC, fumo ou níveis de pressão arterial. Também não foram evidenciadas diferenças na glicemia, no colesterol total e nos triglicerídeos, sendo, entretanto, os níveis de HDL significativamente mais baixos nos homens.

Tabela 2- Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos divididos por gênero.

| | Homens (n= 45) | Mulheres (n= 56) | Valor de P |
|--------------------------|-------------------|---------------------|------------|
| Idade (anos) | 39±13 | 38±11 | 0,720 |
| Raça (B/M/P) | 40/1/4 | 52/1/3 | 0,748 |
| IMC (kg/m ²) | 25±4 | 26±4 | 0,790 |
| PAS (mmHg) | 118±11 | 110±13 | 0,124 |
| PAD (mmHg) | 74±21 | 70±9 | 0,056 |
| Fumo (%) | 7 (16) | 4 (7) | 0,879 |
| Glicose (mg/dL) | 87±9 | 87±10 | 0,859 |
| Colesterol total (mg/dL) | 186±40 | 190±39 | 0,628 |
| Colesterol HDL (mg/dL) | 49±10 | 58±12 | <0,001 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | 88 (45–418) | 97 (30-375) | 0,897 |

Valores expressos como média±DP ou número de casos (%), ou mediana (variação). B/M/P: branco/mulato/preto; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Os valores de TFG ⁵¹Cr-EDTA não foram significativamente diferentes quando comparados homens e mulheres: 105±16 vs 106±20 mL/min/1,73 m², respectivamente (P=0,803). A figura 3 demonstra os valores individuais de TFG ⁵¹Cr-EDTA dos dois grupos.

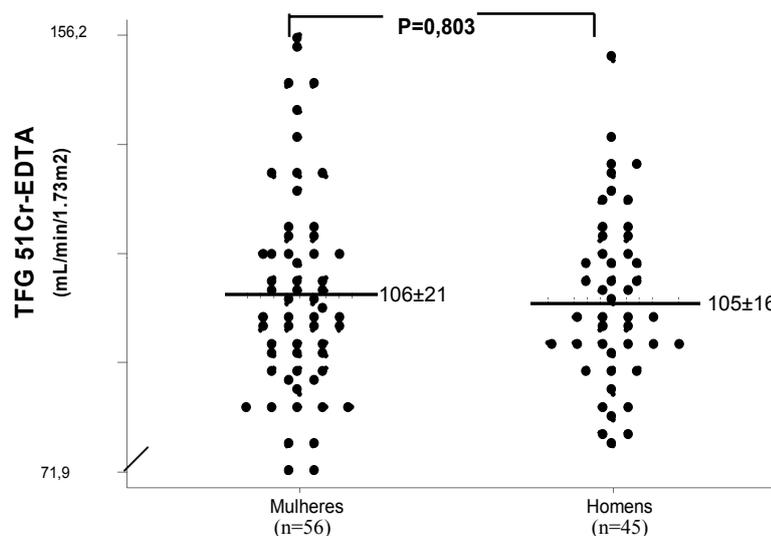


Figura 3- Valores individuais de TFG de acordo com gênero. Valores expressos em mL/min/1,73m²

A TFG calculada pelas equações MDRD 1 e 5, quando avaliada de acordo com o gênero, também não apresentou diferença entre mulheres e homens, com valores respectivamente encontrados de MDRD1: 83±16 e 86±11 mL/min/1,73 m² (P=0,325); MDRD5: 107±10 e 111±15 mL/min/1,73 m². (P=0,87). No sexo feminino, foi encontrada concordância apenas entre TFG ⁵¹Cr-EDTA e a equação MDRD 5 (P= 0,729) e não com a MDRD1. Já no sexo masculino, não houve concordância da TFG ⁵¹Cr-EDTA com as referidas equações (MDRD1: P=0,001 e MDRD5: P=0,005). A figura 4 mostra a comparação de TFG ⁵¹Cr-EDTA entre gêneros divididos por faixas etárias. Quando comparada a TFG entre homens e mulheres acima e abaixo de 40 anos, foi evidenciado um declínio nas mulheres acima de 40 anos, não detectado em homens. Entretanto, este decaimento da TFG com a idade fica nítido tanto para homens quanto mulheres quando se utiliza o ponto de corte de 50 anos.

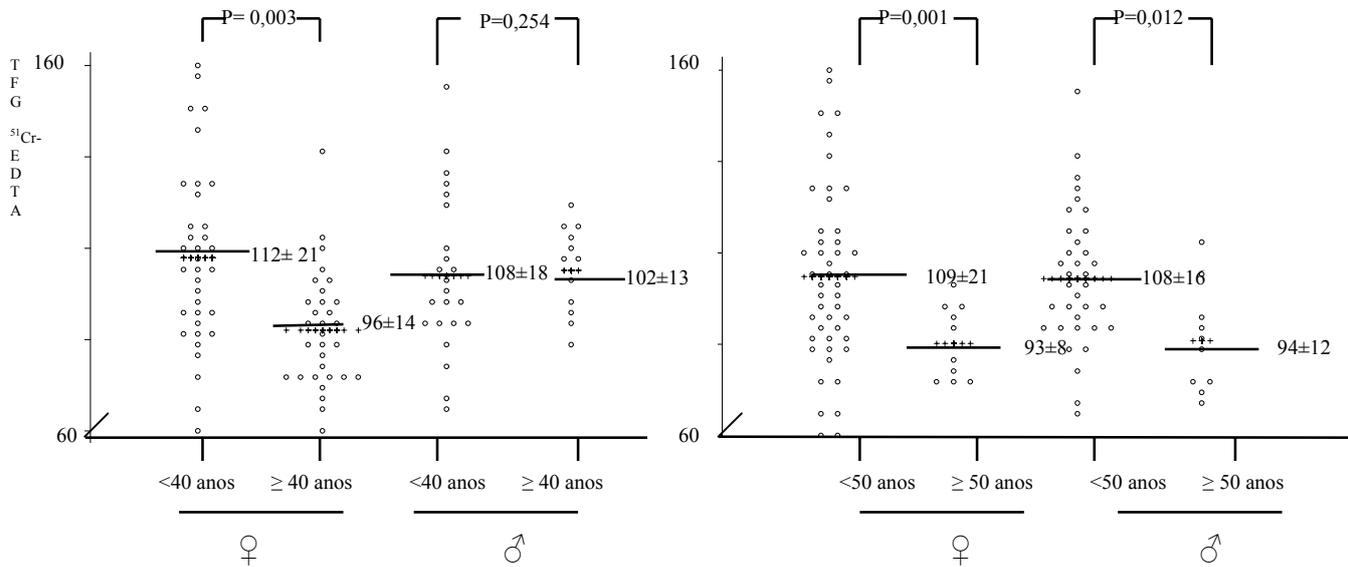


Figura 4: Comparação de TFG $^{51}\text{CrEDTA}$ entre faixas etárias separadas por gênero. Figura 4A- ponto de corte 40 anos. Figura 4B- ponto de corte 50 anos.

Idade vs TFG

Para avaliar a influência da idade sobre a função renal, os indivíduos foram subdivididos por faixas etárias inicialmente considerando como ponto-de-corte idade de 40 anos e após, de 50 anos.

Foram comparados 43 indivíduos com idade maior ou igual a 40 anos (50 ± 7 anos) com 58 abaixo desta faixa etária (29 ± 6 anos) e os valores encontrados foram significativamente sempre mais baixos nos indivíduos mais velhos, independentemente do método usado para avaliar a TFG. Em indivíduos abaixo de 40 anos, não foi encontrada concordância entre TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e MDRD1 ($P < 0,001$), enquanto foi detectada concordância comparando-se a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ com MDRD5 ($P = 0,89$). Os resultados obtidos foram semelhantes nos indivíduos com idades superior ou igual a 40 anos (respectivamente, $P < 0,001$ e $P = 0,729$).

Colocando-se como ponto de corte para faixas etárias o valor de 50 anos, compararam-se 20 indivíduos com idade maior ou igual a 50 anos (56 ± 6 anos) com 81 indivíduos abaixo desta faixa etária (34 ± 9 anos) (Figura 5). Em indivíduos abaixo de 50 anos, não foi encontrada concordância entre TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e MDRD1 ($P < 0,05$), enquanto foi detectada concordância comparando-se a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ com MDRD5 ($P > 0,05$). Os resultados obtidos foram semelhantes nos indivíduos com idades superior ou igual a 50 anos.

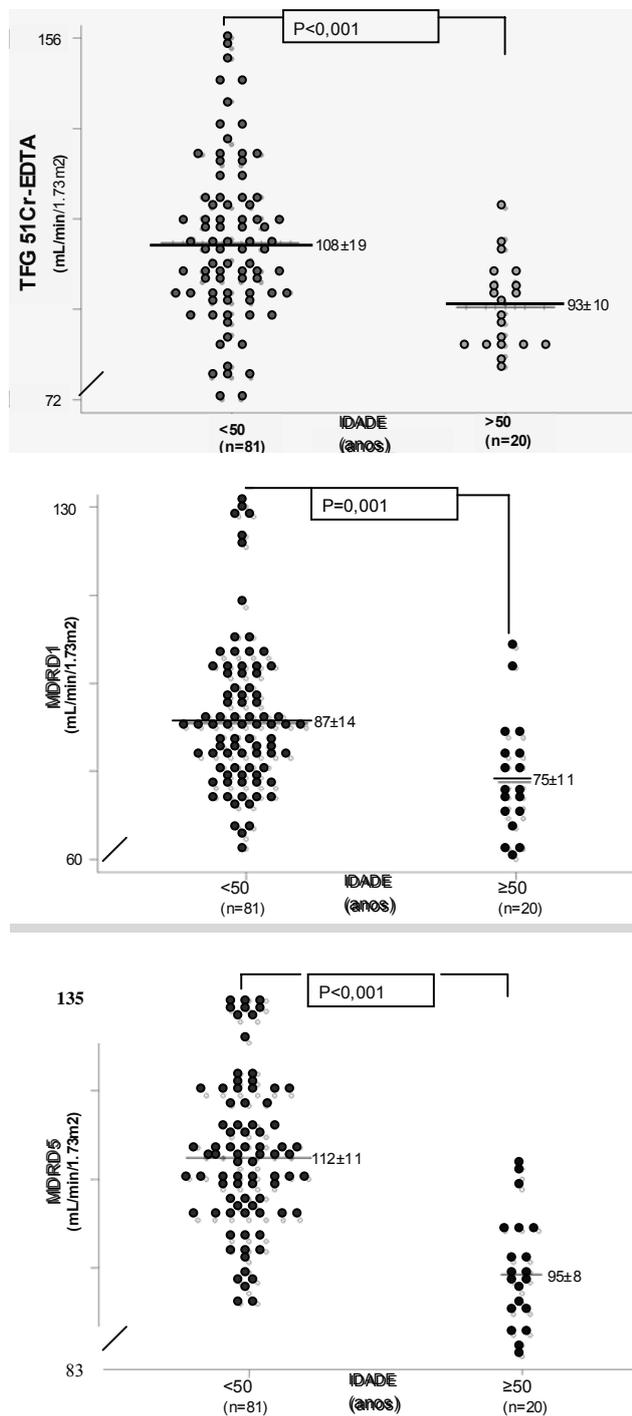


Figura 5- Valores de TFG ⁵¹Cr-EDTA (painel superior), MDRD 1 (painel central) e MDRD 5 (painel inferior) entre os indivíduos com ponto-de-corte de 50 anos de idade.

Raça vs. TFG

A TFG definida pelos 3 métodos também foi comparada entre raças: 91 indivíduos brancos foram comparados com 10 indivíduos pretos e mulatos. As características clínicas e laboratoriais dos indivíduos podem ser avaliadas na Tabela 3. Não foram evidenciadas diferenças entre os grupos em relação a idade, pressão arterial ou perfil metabólico.

Tabela 3- Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos comparados por raça.

| | Branco (n= 91) | Não-branco (n= 10) | P |
|--------------------------|-------------------|-----------------------|-------|
| Idade (anos) | 38±13 | 41±9 | 0,108 |
| IMC (kg/m ²) | 25±4 | 26±4 | 0,555 |
| PAS (mmHg) | 114±12 | 113±14 | 0,604 |
| PAD (mmHg) | 72±9 | 72±11 | 0,881 |
| Fumo (%) | 13 | 10 | 0,582 |
| Glicose (mg/dL) | 87±10 | 85±10 | 0,684 |
| Colesterol total (mg/dL) | 188±39 | 190±42 | 0,531 |
| Colesterol HDL (mg/dL) | 54±12 | 53±10 | 0,193 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | 93 (30-418) | 109 (36-375) | 0,258 |

Valores expressos como média±DP ou número de casos (%), ou mediana (variação). B/M/P: branco/mulato/preto; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

A Figura 6 demonstra os valores individuais de TFG de acordo com o método empregado e em grupos de raça branca vs. pretos e mulatos.

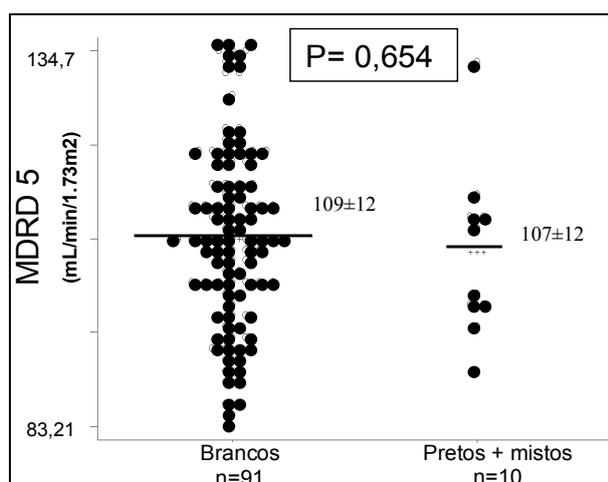
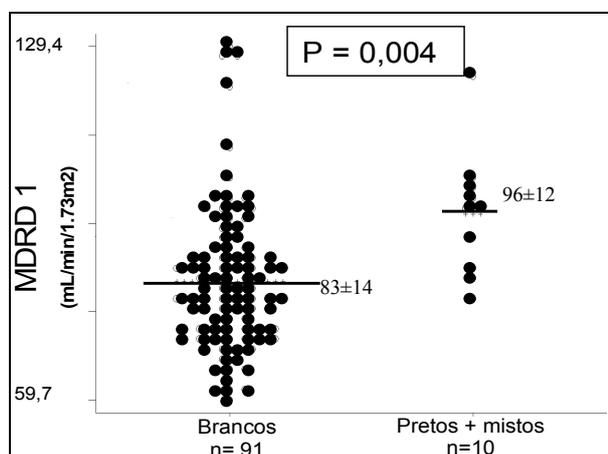
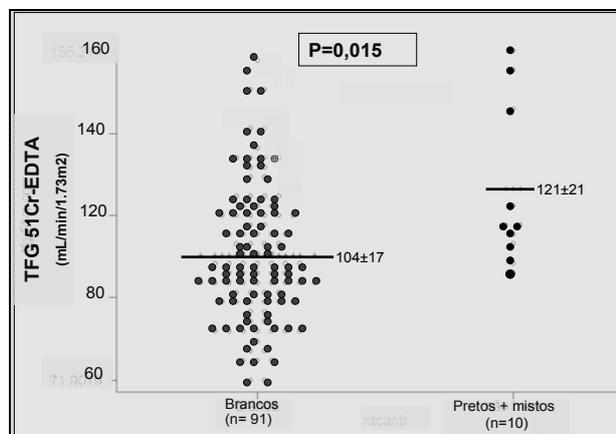


Figura 6: TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (painel superior), MDRD 1 (painel central) e MDRD 5 (painel inferior) vs. Raça.

Como pode ser observado, os valores de TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ foram significativamente mais elevados nos indivíduos negros e mulatos. A equação MDRD1 também identificou essa diferença. Entretanto, de forma contrária, a equação MDRD5 sugere semelhança entre os grupos.

Comparando-se a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ com a equação MDRD1, observou-se que não houve concordância entre os dois métodos empregados para indivíduos brancos e não brancos (respectivamente, $P < 0,001$ e $P = 0,005$). O mesmo foi observado entre a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e a equação do MDRD 5 nos diferentes grupos étnicos, com respectivos valores de P de 0,005 e 0,048.

Regressão linear

Tomando a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ como variável dependente, e considerando como variáveis independentes o sexo, raça e idade dos indivíduos observados, obteve-se o coeficiente de determinação ajustado de 15%, tendo sido constatada influência estatisticamente significativa da idade e raça sobre a TFG ($P = 0,002$).

DISCUSSÃO

A equação MDRD1 preconizada pela NKF para calcular a TFG, subestimou sistematicamente os valores de TFG medidos com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ em indivíduos normais em nosso estudo. Embora a MDRD5 pareça de forma geral representar melhor a TFG, não foi demonstrada concordância desta equação com a TFG medida no sexo masculino e quando a raça foi levada em conta,.

A equação MDRD1 considera em sua análise a idade, gênero (se feminino) e raça (se negra) como variáveis. Quando foi inicialmente concebida, incluiu 1628 indivíduos, todos com algum grau de perda de função renal e mostrou razoável

correlação com a TFG medida com iotalamato ⁽³⁾. No entanto, ao ser aplicada a populações onde inicialmente era desconhecido o status renal, comprovou-se que subestimava a TFG de indivíduos saudáveis, apresentando limitações para ser aplicada a populações com função renal “a priori” não definida^(9,11). Nosso estudo está de acordo com esses resultados, já que os valores médios de TFG estimados por essa equação foram sempre inferiores aos encontrados pelo ⁵¹Cr-EDTA. O mecanismo de subestimativa da TFG tem sido atribuído ao fato de que, nesta fórmula inicial (MDRD1), já que apenas indivíduos com perda de função renal teriam sido incluídos, os níveis séricos de creatinina eram elevados, o que acarretou distorções na aplicabilidade da fórmula quando empregada para valores de creatinina normais. Tendo em vista essas limitações, uma nova equação foi desenvolvida, sendo denominada de MDRD5, a qual incluiu 580 indivíduos com função renal normal e 320 pacientes com doença renal crônica ⁽¹¹⁾. No entanto, essa nova fórmula, ao contrário da inicial, não incluiu o fator raça como variável. No presente estudo, mostrou-se clara a importância de inserir o fator racial, já que os valores de TFG medida foram significativamente mais elevados nos negros e mulatos, apesar do pequeno número de 10 indivíduos analisados. Neste grupo, a equação MDRD1 (que inclui a variável raça) também detectou essa diferença, enquanto a MDRD5 não teve poder de discriminação. Adicionalmente, nenhuma das 2 equações apresentou concordância com ⁵¹Cr-EDTA quando a raça foi levada em conta. A influência da raça negra nos níveis de TFG ainda não está completamente definida. Um estudo francês não encontrou diferença na TFG de caucasianos em relação a um grupo de negros caribenhos ⁽¹⁶⁾. No entanto, níveis séricos de creatinina mais elevados têm sido descritos em negros, ao que parece devido a uma produção mais elevada de creatinina, oriunda de diferenças fisiológicas no metabolismo e na massa muscular, ou

devida a diferenças na secreção tubular renal da creatinina entre brancos e negros ⁽¹⁷⁾. No balanço final, indivíduos de raça negra apresentam níveis mais elevados de TFG, independente do nível de creatinina sérica. Assim sendo, um grande limitador da generalização do uso de equações tais como as do estudo MDRD no Brasil é o fato de que elas não consideram as diferentes influências étnicas aqui existentes. Devido a este fator, são necessários mais estudos locais, a fim de se desenvolver uma equação que atenda às características de nossa população.

Nossos dados não apontaram diferenças significativas na TFG quando se estratificou a amostra por gênero. Embora algumas equações clássicas, tais como a de Cockcroft-Gault ⁽¹⁰⁾ e mesmo as do MDRD1 e 5, preconizem a inclusão do gênero feminino como um fator de correção para redução da TFG, na literatura não está completamente definida de fato a ocorrência de níveis inferiores de TFG em mulheres. Alguns estudos claramente descrevem níveis semelhantes de TFG entre gêneros ^(18,19,20) e, desta forma, torna-se questionável a inserção do fator gênero nas fórmulas empregadas. Um achado relevante foi a não concordância entre as equações MDRD1 e 5 e a TFG ⁵¹Cr-EDTA em homens, de forma oposta ao observado no sexo feminino. Talvez essa discordância possa ser atribuída à interferência do fator de correção erroneamente empregado para o sexo feminino, com distorção final dos dados.

Embora em nossa amostra fosse limitado o número de indivíduos acima de 50 anos, sendo incluídos apenas 20 indivíduos nesta faixa, já foi possível demonstrarmos o clássico fenômeno de declínio da TFG em função da idade. Sabidamente, ocorre um declínio da função renal com o avanço da idade, sendo esse da ordem de 4 mL/min/década abaixo de 50 anos e de 10 mL/min/década acima deste limite ⁽¹⁹⁾. Nossos resultados discriminaram uma queda já a partir dos 40 anos em mulheres,

identificada apenas a partir dos 50 anos nos homens. As mudanças relacionadas à idade têm origem multifatorial: perda de massa renal, glomerulosclerose e esclerose de vasos renais, além de expansão do mesângio ⁽²¹⁾. Em relação ao desempenho das fórmulas, desta vez, apenas a MDRD5 mostrou concordância com a TFG ⁵¹Cr-EDTA.

Além das já detalhadas razões para performance limitada das equações MDRD, que consideraram as influências ainda não resolvidas de gênero e raça, duas importantes questões ainda devem ser analisadas em relação à acurácia das equações, dessa vez considerando as peculiaridades da própria medida da creatinina. Em primeiro lugar, deve ser dada ênfase à influência das diferenças interlaboratoriais de calibração da creatinina, tendo sido já provada a interferência na equação final. O laboratório de referência onde foi gerada a equação registra valores relativamente mais baixos de creatinina sérica⁽²²⁾. Inclusive existe a sugestão de recalibrar os ensaios de acordo com o laboratório de referência para melhorar a acurácia da equação⁽²³⁾. Outro aspecto bastante estudado diz respeito aos diversos fatores que afetam os níveis de creatinina propriamente ditos, como a massa muscular, eliminação extra-renal, proteína da dieta e uso de drogas que diminuem a secreção tubular (cimetidina, trimetoprim). Ainda outra interferência é a de determinadas substâncias que interferem na dosagem laboratorial diminuindo os níveis de creatinina como a hiperbilirrubinemia ou aumentando seus níveis como as cetonas e cefalosporinas ⁽⁷⁾. Face a todas essas limitações a proposta da NKF inclui, para perspectivas futuras, o desenvolvimento de novas equações que empreguem outros marcadores de TFG, como a amplamente estudada cistatina C.

Em conclusão, avaliando-se o grupo como um todo, a equação MDRD1 subestimou a TFG medida com ⁵¹Cr-EDTA. Apesar de observar-se a presença de

concordância entre a TFG medida e a calculada pela fórmula MDRD5, ao analisarem-se subgrupos divididos por gênero e raça, esta última equação também não refletiu satisfatoriamente a TFG medida, estando, portanto, ainda distante do ideal. Grupos mais expressivos de indivíduos, incluindo um amplo espectro de faixa etária e função renal e abrangendo representantes de diferentes etnias deverão ser avaliados para o estabelecimento de futuras equações, que também contemplem a padronização da dosagem da creatinina sérica de acordo com os laboratórios de referência.

AGRADECIMENTOS

Este artigo recebeu apoio financeiro do FIPE- HCPA e Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Agradecemos à Estatística Vânia Naomi Hirakata pelo apoio nas análises estatísticas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. US Renal Data System. Am J Kidney Dis 2005;45:S69-S80.
2. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. New Engl J Med 2004;351:1296-1305.
3. Levey AS, MD, Coresh J, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G. National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. Ann Intern Med 2003; 139:137-147.
4. Levey AS, Eckardt K-U, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G. Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Kidney Int 2005; 67: 2089-2100.
5. Gaspari F, Perico N, Remuzzi G. Measurement of glomerular filtration rate. Kidney Int 1997; 52:S151-S154.
6. Manjunath G, Tighiouart H, Coresh J, Macleod B, Salem DN, Griffith JL, Levey AS; Sarnak MJ. Level of kidney function as a risk factor for cardiovascular outcomes in the elderly. Kidney Int 2003; 63:1121-1129.
7. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. Clin Chem 1992; 38: 1933-1953.
8. Kasiske BL, Keane WF. Laboratory Assessment of Renal Disease: Clearance, Urinalysis and Renal Biopsy. In Brenner 2000: 1137-1174.

9. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol* 2005;16: 763-773.
10. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16:31-41.
11. Rule AD, Larson TS, Bergerstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004; 141:929-937.
12. WHO Technical Report Series, Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva, 28 January-01February, 2002.
13. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206-1252.
14. Gross JL, Friedman R, Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M. Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by ⁵¹Cr-EDTA. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:129-134.
15. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;8:307-310.

16. Mpio I, Laville M, Hadj-Aïssa A, Fauvel J-P. Predicted creatinine clearance to evaluate glomerular filtration rate in black Caribbean subjects. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1307-1310.
17. Hsu C-Y, Chertow GM, Curhan GC. Methodological issues in studying the epidemiology of mild to moderate chronic renal insufficiency. *Kidney Int* 2002;61:1567-1576.
18. Gross JL, Friedman R, Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M. Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by ^{51}Cr -EDTA. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:129-34.
19. Granerus G, Aurell M. Reference values for ^{51}Cr -EDTA clearance as a measure of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1981;41:611-616.
20. Bucht H. Studies on renal function in men with special reference to glomerular filtration and renal plasma flow in pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1951;3(suppl. 3):1-64.
21. Fliser D, Ritz E. Renal haemodynamics in the elderly. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:2-8.
22. Hallan S, Asberg Arne, Lindberg M, Johnsen H. Validation of the Modification of Diet in Renal Disease formula for estimating GFR with special emphasis on calibration of the serum creatinine assay. *Am J Kidney Dis* 2004;44(1): 84-93.
23. Murthy K, Stevens LA, Stark PC, Levey AS. Variation in the serum creatinine assay calibration: a practical application to glomerular filtration rate estimation. *Kidney Int* 2005;68:1884-1887.

CAPÍTULO 3

Avaliação da Medida da Cistatina C Sérica para a Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular em Indivíduos Normais

Aline Bodanese Prates

Fernando Barcellos do Amaral

Marina Zerwes Vaccaro

Jorge Luiz Gross

Joíza Lins Camargo

Sandra Pinho Silveiro

Endereço para correspondência:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

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

Porto Alegre, RS

sandrasilveiro@terra.com.br

Palavras-chave: Cistatina C, taxa de filtração glomerular, TFG, função renal, depuração, creatinina.

Keywords: Cystatin C, glomerular filtration rate, GFR, renal function, clearance, creatinine.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A cistatina C é uma proteína endógena, pertencente à família dos inibidores da cisteína protease. Por ser livremente filtrada e não sofrer secreção tubular, tem sido extensamente investigada como um marcador ideal para analisar a função renal.

OBJETIVO: Padronizar o método de dosagem de cistatina C sérica, propondo valores de referência em uma população saudável.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS: Foram avaliados 101 indivíduos normais, com idade de 38 ± 12 anos (18-72 anos), sendo 45 do sexo masculino (44,6%). Noventa e um indivíduos (90%) eram brancos e dez não-brancos (06 pretos e 04 mulatos). Os indivíduos foram estratificados por faixa etária em 2 grupos: 20 indivíduos ≥ 50 anos (56 ± 6 anos) e 81 < de 50 anos (34 ± 9 anos). A TFG foi medida através da técnica de injeção única do $^{51}\text{Cr-EDTA}$. A dosagem da cistatina C foi feita por imunoturbidimetria. A creatinina foi medida pelo método de Jaffé.

RESULTADOS: Os níveis de cistatina C foram representados como mediana e variação. Estratificando-se por faixa etária, a mediana foi de 0,62 mg/L, e a variação de 0,45 a 0,83 mg/L em indivíduos acima de 50 anos; nos voluntários abaixo desta faixa etária, a mediana foi de 0,65 mg/L variando de 0,41 a 0,96 mg/L ($P=0,756$). Os dados do presente estudo não mostraram diferença nos níveis de cistatina C entre gêneros ($P=0,074$) ou raças ($P=0,169$).

Os coeficientes de variação intra e interensaio obtidos na padronização da cistatina C foram, respectivamente, 2,2 e 5,3%. A linearidade e o limite de detecção foram 7,8 e 0,41 mg/L.

CONCLUSÕES: Os resultados apresentados com relação à cistatina C sugerem que não há diferença em relação a gênero e raça. Estratificando resultados por idade, não foi observada diferença, o que vai contra o esperado, já que ocorre um declínio da função renal com idade.

ABSTRACT

BACKGROUND: Cystatin C is an endogen protein, from the family of cysteine protease inhibitors. Due to the facts that it is freely filtered and not secreted by tubules, it has been extensively studied as an ideal marker to analyze renal function.

AIM: To standardize the method to measure serum cystatin C, suggesting reference ranges in a healthy population.

METHODS: A hundred and one normal individuals were examined, aging 38 ± 12 years (18-72 years), 45 (44.6%) were men. Ninety-one individuals (90%) were white and 10 were non-white (06 black e 04 mixed). Individuals were stratified according to age in two groups: 20 subjects ≥ 50 years old (56 ± 6 years) and 81 < 50 years old (34 ± 9 years). GFR was measured by ^{51}Cr -EDTA single-injection method. Cystatin C measurement was performed by immunoturbidimetry. Serum creatinine was measured by Jaffé's method.

RESULTS: It was demonstrated a non-Gaussian pattern of distribution for cystatin C (KS:P= 0.005) and therefore, the values are presented as median and range. Stratifying according to age, the median was 0.62 mg/L and the range from 0.45 to 0.83 mg/L for subjects above 50 years old; for subjects below this age range, median was 0,65 mg/L, ranging from 0.41 to 0.96 mg/L (P=0.756). There were no differences in cystatin C levels between gender (P=0.074) or race (P= 0.169).

Intra and interassay coefficients of variation were, respectively, 2.2 and 5.3%. Linearity and detection limit were, respectively: 7.8 and 0.41 mg/L.

CONCLUSIONS: The obtained results regarding cystatin C suggest that there are no difference regarding gender and race. Stratifying results by age, it was detected no

difference, which is against the expected, since there is a decline of renal function with age.

INTRODUÇÃO

A dosagem dos níveis séricos de creatinina é a forma mais amplamente utilizada para a avaliação da função renal. Entretanto, esta medida tem algumas limitações que a tornam distante de um marcador ideal da taxa de filtração glomerular (TFG). Substâncias endógenas, como as cetonas e drogas, como trimetoprim, podem interferir nos métodos de medida da creatinina, que apresenta, adicionalmente, reconhecidas limitações tais como a existência de secreção tubular, superestimando a TFG e baixa sensibilidade para detectar graus leves de perda de função renal^{1,2,3}. Portanto, marcadores alternativos têm sido investigados, como, por exemplo, a cistatina C.

A cistatina C, proteína de 13359 Da, é um membro da família dos inibidores da cisteína protease^{4,5,6}, cujo papel é o de inibir as proteases secretadas dos lisossomos de células doentes ou rompidas, protegendo o tecido conjuntivo. Sua taxa de produção é constante e menos variável que a da creatinina⁵, além de não ser influenciada pela massa muscular⁷, estado nutricional ou febre⁶. A cistatina C é metabolizada pelas células do túbulo proximal distal, portanto, uma vez filtrada, não vai retornar à circulação em uma forma intacta⁵. Esses dados reforçam que a cistatina C é um candidato plausível para a medida da TFG.

Estudos recentes têm demonstrado que a cistatina C é um marcador confiável e de rápida execução para a análise da função renal em diversas situações clínicas, tais como: diabete melito^{3,8,9}, pós-transplante renal¹⁰, hipertensão essencial¹¹, síndrome hepato-renal¹² e câncer¹³. Além disso, estudos recentes têm demonstrado

que a cistatina C parece ser um marcador precoce para predição de insuficiência cardíaca e coronariana¹⁴.

O consenso da National Kidney Foundation (NKF)¹⁵ recomenda atualmente o emprego da equação do estudo MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)¹⁶, que inclui a medida da creatinina, para estimar a TFG. No entanto, reconhecendo as deficiências da equação, sugere que, futuramente, marcadores endógenos mais precisos de TFG, tais como a cistatina C substituam a medida da creatinina⁸. Portanto, o objetivo do presente estudo foi padronizar o método de dosagem da cistatina C sérica e propor valores de referência para a cistatina C em uma população de indivíduos saudáveis.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS

Delineamento: Foi empregado um estudo transversal, para avaliar teste diagnóstico.

Indivíduos: Os critérios de inclusão dos indivíduos foram os seguintes: Indivíduos saudáveis entre 18 e 70 anos, ambos os gêneros, sem diabetes melito, pressão arterial <140/90 mmHg, sem anemia, hepatopatia ou nefropatia de qualquer natureza, índice de massa corporal (IMC) abaixo de 40 kg/m², sem uso de medicamentos que comprometessem a função renal. Os critérios de exclusão eram: TSH >10 µUI/mL; glicemia em jejum >100 mg/dL; gestação; doação de sangue ou cirurgia nos últimos 3 meses; infarto do miocárdio nos últimos 6 meses; história de câncer nos últimos 5 anos. Foram recrutados alunos e professores da graduação e da pós-graduação da faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do

Sul e funcionários do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), além de pessoas da comunidade em geral, através de publicações na mídia local.

Métodos: Os voluntários, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, responderam a um questionário, a fim de serem identificados características demográficas e os critérios de inclusão, e foram submetidos a um exame físico simplificado, no qual foram avaliados peso em kg, altura em cm e calculado o IMC pela fórmula $\text{peso}/(\text{altura})^2$ e avaliados cintura e quadril em cm conforme recomendações OMS¹⁷. A pressão arterial foi medida duas vezes, na posição sentada, após repouso de 5 minutos (fases I-V)¹⁸.

A TFG foi medida através do método de injeção única do ⁵¹Cr-EDTA, com posteriores coletas em tempo marcado, no período de uma manhã, conforme descrito previamente¹⁹.

A creatinina foi medida pela reação de Jaffé; a glicose, pelo método enzimático glicose oxidase UV; uréia, colesterol e triglicerídeos foram medidos por métodos enzimáticos; a excreção urinária de albumina, por imunoturbidimetria (Microalb; Ames-Bayer, Tarrytown, NY, USA) e TSH, por radioimunoensaio.

Para a dosagem de cistatina C, a técnica utilizada foi a de imunoturbidimetria, feita num aparelho Cobas Mira®, da Roche. Dez microlitros de soro reagiram com a mesma quantidade de uma solução de micropartículas contendo anticorpos anti-cistatina C. Utilizou-se solução fisiológica como diluente e tampão reagente. Um dos autores fez o controle de qualidade e as dosagens de cistatina C no aparelho Cobas Mira. As amostras foram congeladas em freezer a -60°C por até 10 meses após a coleta, que ao serem retiradas para análise, foram descongeladas a temperatura ambiente, agitadas em vórtex e centrifugadas por 5 minutos, à velocidade

de 3000 rpm e temperatura de 4 °C. O tempo de reação foi de 6 minutos para cada amostra. A unidade de referência foi mg/L. A linearidade esperada era até 7,5 mg/L e, o limite de detecção, até 0,4 mg/L, conforme especificação do kit. A dosagem da cistatina C foi feita em duplicata.

Análise estatística: Na análise estatística, utilizou-se o programa SPSS. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão ou mediana e intervalo dos valores. Para checar a presença de distribuição gaussiana, os dados foram preliminarmente avaliados pelo teste Kolgomorov-Smirnov ($P < 0,05$ indica distribuição não gaussiana). Também foram empregados teste t e teste U para amostras independentes para comparação entre grupos. O nível de significância adotado foi de 5%.

Controle de qualidade: reprodutibilidade foi observada através dos coeficientes de variação intra e interensaio. Para calcular o coeficiente de variação intra-ensaio, foram feitas 10 dosagens do controle baixo em duplicata; para o coeficiente de variação interensaio, foram feitas dosagens do referido controle durante 10 dias distintos. Também foram avaliados a linearidade e o limite de detecção, utilizando, para isso, dosagens de cistatina C em amostra sérica com concentração de creatinina conhecida: 19,3 mg/dL, para a linearidade; com relação ao limite de detecção, foram feitas diluições da mesma amostra até atingi-lo. Os coeficientes de variação intra e interensaio foram, respectivamente, 2,2 e 5,3%. A linearidade e o limite de detecção foram: 7,8 e 0,41 mg/L.

RESULTADOS

Foram avaliados 101 indivíduos no total, com faixa etária de 18 a 72 anos (38 ± 12 anos), sendo 56 mulheres e 45 homens. Desses, noventa e um indivíduos eram brancos e dez não-brancos (06 pretos e 04 mulatos). As características clínicas e laboratoriais dos indivíduos podem ser verificadas através da tabela 1.

Tabela 1- Características clínicas e laboratoriais dos 101 indivíduos.

| Parâmetro | Grupo |
|----------------------------------|---------------|
| Número de indivíduos | 101 |
| Idade (anos) | $38, \pm 12$ |
| Raça (B/M/P) | 91/4/6 |
| IMC (Kg/m^2) | 25 ± 4 |
| PA sistólica (mmHg) | 114 ± 12 |
| PA diastólica (mmHg) | 72 ± 16 |
| Fumo (%) | 11 (12) |
| Glicose (mg/dL) | 87 ± 10 |
| Hematócrito (%) | 42 ± 4 |
| Colesterol total (mg/dL) | 189 ± 39 |
| Colesterol HDL (mg/dL) | 54 ± 12 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | 94 (30-418) |
| TSH ($\mu\text{UI}/\text{mL}$) | $2,5 \pm 2,1$ |

Valores expressos como média \pm DP ou número de casos (%), ou mediana (variação). B/M/P: branco/mulato/preto; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Os parâmetros de função renal estão expressos na tabela 2.

Tabela 2- Parâmetros de função renal dos Indivíduos.

| Parâmetro | Grupo |
|----------------------------------|------------------|
| Cistatina C (mg/L) | 0,64 (0,41-0,96) |
| Creatinina (mg/dL) | 1,0 (0,6-1,3) |
| Uréia (mg/dL) | 31±7 |
| TFG (mL/min/1,73m ²) | 107±22 |

Valores expressos como média±DP ou mediana (variação).

Foi evidenciada distribuição gaussiana da TFG quando avaliada através do ⁵¹Cr-EDTA (K: P=0,121). A cistatina C não apresentou distribuição normal (KS: P=0,005). O mesmo foi observado transformando-se seus valores em logaritmo, raiz quadrada e inverso de cistatina C e avaliando pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (respectivamente, KS:P=0,007, P=0,005 e P=0,002). A creatinina também não apresentou distribuição normal (KS=P<0,001). As distribuições da TFG, da cistatina C e da creatinina podem ser observadas conforme a figura 1.

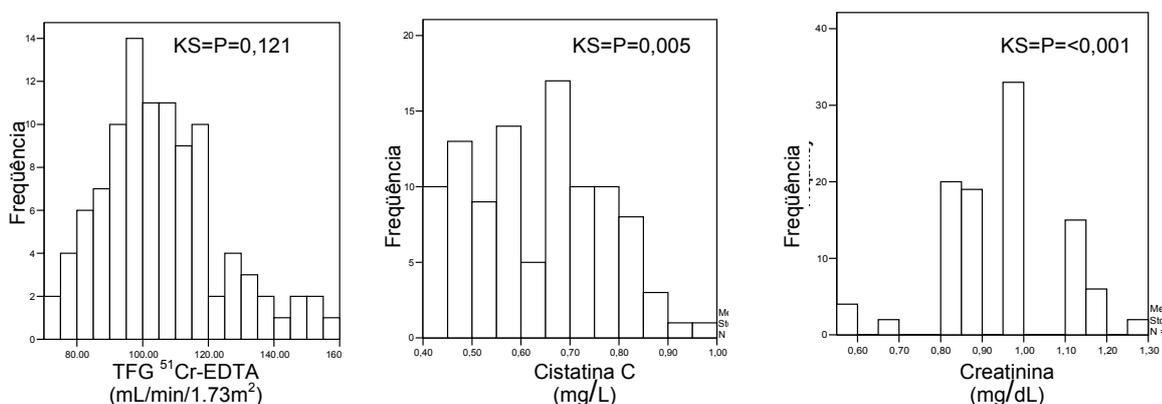


Figura 1- Distribuição da TFG ⁵¹Cr-EDTA, da cistatina C e da creatinina entre os 101 indivíduos.

Os indivíduos foram divididos em grupos masculino e feminino para avaliar a influência do gênero sobre a cistatina C. A comparação entre os indivíduos pode ser observada através da tabela 3.

Tabela 3- Características clínicas dos indivíduos divididos por gênero.

| Parâmetro | Homens (n=45) | Mulheres (n=56) | P |
|---------------------------|------------------|--------------------|-------|
| Idade (anos) | 39±13 | 38 ± 11 | 0,720 |
| Raça (B/M/P) | 40/1/4 | 52/1/3 | 0,748 |
| IMC (kg/ m ²) | 25 ± 4 | 26 ± 4 | 0,790 |
| Fumo (%) | 7 (16) | 4 (7) | 0,879 |

Valores expressos como média±DP ou número de casos (%). B/M/P: branco/mulato/preto; IMC: índice de massa corporal.

A figura 2 mostra as comparações entre gêneros, considerando cistatina C e creatinina séricas, evidenciando os níveis de creatinina são mais elevados nos homens.

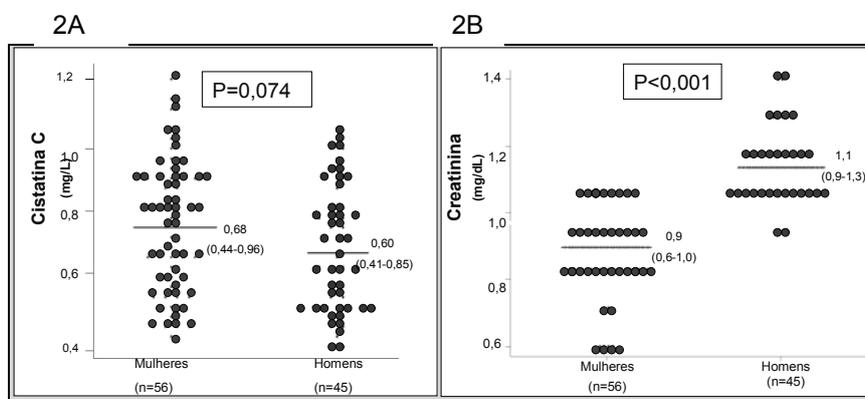


Figura 2- Comparações entre gêneros. 2A- Cistatina C (mg/L). 2B- Creatinina (mg/dL). Valores expressos como mediana e variação.

Para se avaliar a influência da idade, dividiu-se o grupo em dois subgrupos, acima (n=20) e abaixo de 50 anos (n=81) e a tabela 4 mostra a comparação entre eles. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre ambos os

grupos comparando-se níveis de cistatina C e de creatinina (respectivamente, P=0,756 e 0,274). Já com relação à TFG⁵¹Cr-EDTA, foi observado que o grupo acima de 50 anos apresentou TFGs mais baixas (P<0,001).

Tabela 4- Comparação entre indivíduos com ponto-de-corte de 50 anos.

| | Idade ≥50 anos (n=20) | Idade <50 anos (n=81) | Valor de P |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------|
| Idade (anos) | 56±5 | 34±9 | ----- |
| IMC (kg/m ²) | 26±3 | 25±4 | 0,668 |
| PAS (mmHg) | 118±11 | 113±12 | 0,126 |
| PAD (mmHg) | 73±6 | 72±9 | 0,265 |
| TFG (ml/min/1,73m ²) | 108±19 | 93±10 | <0,001 |
| Cistatina C (mg/L) | 0,62 (0,45-0,83) | 0,65 (0,41-0,96) | 0,756 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,9 (0,8-1,2) | 1 (0,6-1,3) | 0,274 |

Valores expressos como média±DP ou número de casos (%). IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

A figura 3 demonstra que não houve diferença entre os indivíduos divididos por faixa etária de 50 anos, comparando-se cistatina e creatinina.

3A

3B

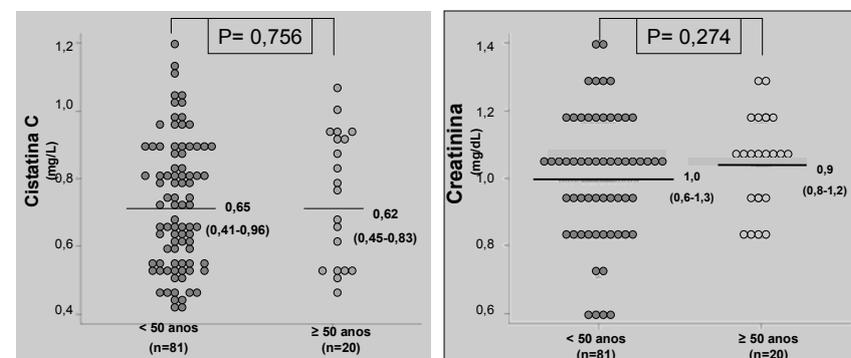


Figura 3- Comparação entre cistatina C e creatinina, considerando faixa etária com ponto de corte de 50 anos. 3A- Cistatina C(mg/L). 3B- Creatinina (mg/dL).

A TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ também foi comparada entre raças: 91 indivíduos brancos foram comparados com 10 indivíduos pretos e mulatos, com médias de TFG medida 104 ± 17 vs. 121 ± 21 mL/min/ $1,73\text{m}^2$ ($P = 0,015$). Entretanto não foi observada diferença significativa entre raças, quando comparados os níveis de cistatina C e de creatinina (Figura 4), A tabela 5 evidencia as características dos indivíduos divididos por raça.

Tabela 5- Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos comparados por raça.

| | Brancos (n= 91) | Não-brancos (n= 10) | P |
|----------------------------------|--------------------|------------------------|-------|
| Idade (anos) | 38±13 | 41±9 | 0,108 |
| IMC (kg/m ²) | 25±4 | 26±4 | 0,555 |
| PAS (mmHg) | 114±12 | 113±14 | 0,604 |
| PAD (mmHg) | 72±9 | 72±11 | 0,881 |
| Fumo (%) | 13 | 10 | 0,582 |
| TFG (mL/min/1,73m ²) | 104±17 | 121±21 | 0,015 |
| Cistatina C (mg/L) | 0,65 (0,42-0,96) | 0,52 (0,41-0,81) | 0,169 |
| Creatinina (mg/dL) | 1,0 (0,6-1,3) | 0,9 (0,8-1,2) | 0,784 |

Valores expressos como média±DP ou número de casos (%). B/M/P: branco/mulato/preto; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

A figura 4 evidencia a comparação entre raças, considerando cistatina C e creatinina e evidenciando a ausência de diferença significativa entre os grupos analisados.

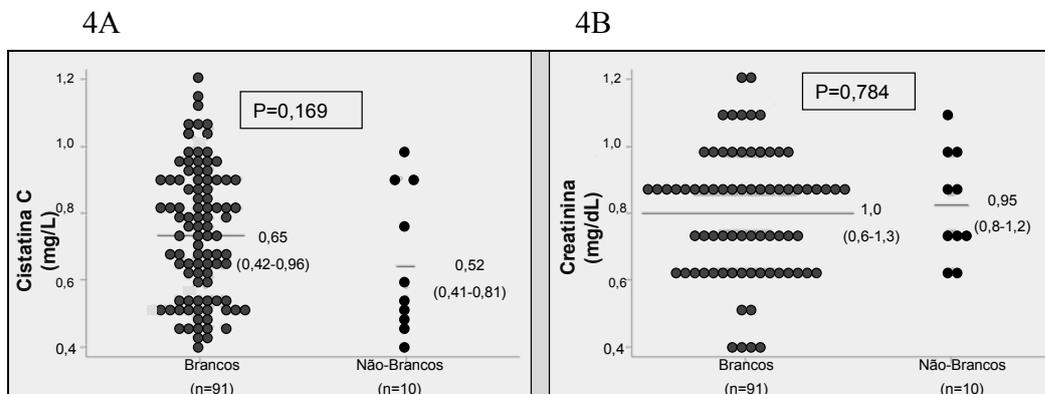


Figura 4. Comparação entre raças (brancos vs negros + mulatos). 4A- Cistatina C (mg/L). 4B- Creatinina (mg/dL).

Entretanto, comparando-se a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ entre raças, pôde-se observar uma diferença estatisticamente significativa, conforme a figura 5.

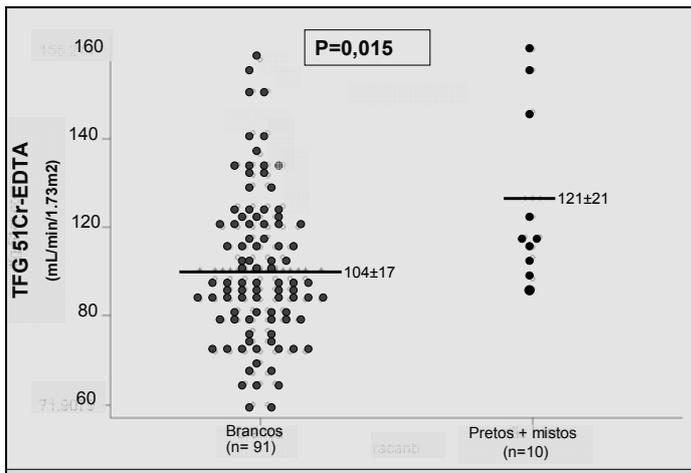


Figura 5- Comparação de TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ entre indivíduos separados por raça. Valores expressos em mL/min/1,73m².

A cistatina C foi comparada entre indivíduos fumantes (n=14) e não fumantes (n=87), não apresentando, entretanto, diferenças entre os dois grupos (P=0,656). O índice de massa corporal (IMC) também foi levado em conta para avaliar a cistatina C, tendo como ponto-de-corte 25 kg/m², mas nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos (P=0,503).

A TFG foi calculada em mL/min/1,73m² a partir da cistatina C em mg/L empregando-se a equação de regressão fornecida pelo estudo de Larsson et al., onde $y=99,43x^{-1,5837}$ ²⁰. Não houve concordância entre a TFG $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e a TFG calculada pela fórmula descrita no referido estudo (P<0,001).

DISCUSSÃO

No presente estudo demonstramos que a cistatina C não apresenta distribuição normal e, portanto, definimos como faixa de referência os valores mínimo e máximo. Dividimos por faixa etária para contemplar a influência da idade reduzindo os níveis de TFG. Assim, abaixo dos 50 anos, a variação foi de 0,41-0,96 mg/L e acima dos 50 anos, de 0,45-0,83 mg/L. Um estudo finlandês sugeriu intervalo de 0,5-1,3 mg/L para idades de 3 a 50 anos e < 1,5 mg/L acima dos 50 anos. Nossos valores são relativamente mais baixos, possivelmente em função dos indivíduos serem mais jovens nas duas faixas etárias estudadas. Esse dado é reforçado pelo fato de que não demonstramos diferença entre as faixas etárias no presente estudo, e existem fortes evidências na literatura de que os valores de cistatina C são mais elevados em indivíduos acima de 50 anos, refletindo a perda de função renal que ocorre com o passar dos anos²¹. Possivelmente nossos resultados difiram nesse sentido devido ao número reduzido de indivíduos com idade mais avançada, já que apenas 20 indivíduos tinham mais de 50 anos e a idade máxima incluída foi de 72 anos, ressaltando a necessidade de ampliar-se a amostra incluindo pessoas mais idosas. Foi possível, no entanto, demonstrarmos o declínio da TFG com idade através da TFG medida com ⁵¹Cr-EDTA, o que corrobora a maior sensibilidade deste método.

Em relação à influência do gênero, não detectamos diferenças entre homens e mulheres. Alguns estudos descrevem níveis mais elevados de cistatina C em homens²². No entanto, também não evidenciamos diferenças entre a TFG ⁵¹Cr-EDTA de homens e mulheres, o que reporta também para a real não diferença de parâmetros

renais entre os gêneros. De forma contrária, os níveis de creatinina sérica foram mais elevados em homens, indicando mais provavelmente uma diferença de massa muscular do que propriamente uma alteração da função renal. Esse achado levanta a questão da limitação da creatinina como índice de função renal devido à interferência da massa muscular, não existente com a dosagem de cistatina C.

Nossos resultados apontam para a presença de níveis mais elevados de TFG quando avaliada através da medida com $^{51}\text{Cr-EDTA}$ na raça negra. Esse achado é controverso, com resultados opostos nos diferentes estudos²³. Relatos de Uhlmann et al descrevem valores mais elevados de creatinina em afro-americanos, devido a maior massa muscular nesses indivíduos, o que não confirmamos com nossos dados, também em relação à cistatina. No entanto, devido ao pequeno número de 10 representantes pretos e mulatos em nosso grupo, não podemos afirmar a real interferência da raça sobre os níveis de cistatina C, creatinina e TFG medida.

Um estudo analisando 8058 holandeses descreve que o sexo masculino, maior IMC e hábito de fumar estão associados com níveis mais elevados de cistatina C. Em nosso estudo, não confirmamos esses achados, embora não tenhamos analisado um número mais expressivo de voluntários fumantes e obesos²².

A presença de hiper e hipotireoidismo também interfere nos níveis séricos da cistatina C. Em contraste com as concentrações de creatinina, os níveis de cistatina C são mais baixos no hipotireoidismo e mais elevados no hipertireoidismo, se comparados com o estado eutireoideo²⁴. Neste estudo, asseguramos que a função tireoidiana estivesse normal, através da constatação de níveis normais de TSH em todos os indivíduos.

Ao tentarmos aplicar a fórmula de um estudo sueco que através da medida da cistatina C em mg/L, obtinha valores de TFG em mL/min, não observamos concordância satisfatória em nosso estudo. É provável que para que essa equação ou outra qualquer venha a desempenhar adequadamente este papel, devam ser incluídos indivíduos com espectro mais amplo de função renal, incluindo indivíduos com TFG reduzida²⁰.

O método de padronização da cistatina C por imunoturbidimetria apresentou-se reprodutível, estável e rápido quanto ao tempo de reação, podendo ser uma ferramenta útil para estimar a TFG. Os inconvenientes apresentados foram o relativo alto custo do exame, quando comparado com a creatinina, e a dificuldade na importação do kit. No entanto, o custo deverá ser reduzido à medida que este teste for sistematizado na rotina clínica. Além disso, suas vantagens com relação aos tradicionais métodos de depuração, como ao TFG medida com o ⁵¹Cr-EDTA e o iohexol são evidentes, devido ao tempo dispensado pelo voluntário para coletar a única amostra de sangue requerida, e ao menor risco oferecido.

Em conclusão, os resultados apresentados com relação à cistatina C comparada por gênero corroboram os apresentados com relação à TFG ⁵¹Cr-EDTA, sugerindo que não há diferença entre homens e mulheres quanto a TFG. Quando a raça foi levada em conta, encontramos TFG mais alta em pretos e mulatos, sem, no entanto, encontrarmos diferenças nos níveis de cistatina C e creatinina. Em nosso país, é especialmente importante levar em conta este fator, devido ao perfil de miscigenação racial de nossa população. Estratificando resultados de cistatina C sérica por idade não foi observado o declínio esperado para a idade. Devido a estes resultados, sugere-se, em termos de

perspectiva futura, o aumento do número de indivíduos mais idosos e pertencentes a outras raças. O aumento do número de indivíduos envolvendo uma faixa mais ampla de TFG, incluindo toda a gama de função renal, se faz igualmente necessário a fim de desenvolver uma equação preditora da TFG a partir da cistatina C.

AGRADECIMENTOS

Este artigo recebeu apoio financeiro do FIPE- HCPA e Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Agradecemos à Estatística Vânia Naomi Hirakata pelo apoio nas análises estatísticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Brenner & Rector's In: The Kidney. Barry Brenner, M.D., A.M. (Hon.), D. Sc. (Hon.), D.M. Sc (Hon.), F.R.C.P. (Lond.,Hon.), editors. Section III: Pathogenesis of Renal Disease- Chapter 26: Laboratory Assessment of Renal Disease: Clearance, Urinalysis, and Renal Biopsy. 6th ed. Boston, Massachusetts: WB Saunders Company; 2000. p: 1129-70.
- 2- Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. Clin Chem 1992; 38: 1933-1953.
- 3- Mussap M, Dalla Vestra MD, Fioretto P, Saller A, Varagnolo MC, Nosadini R, Plebani M. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. Kidney Int 2002;61:1453-61.

- 4- Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 1997;43(6):1016-22.
- 5- Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002;39:89-104.
- 6- Risch L, Blumberg A, Huber A. Rapid and accurate assessment of glomerular filtration rate in patients with renal transplants using serum cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1991-96.
- 7- Wasén E, Suominen P, Isoaho R, Mattila K, Virtanen A, Kivelä SL, Irjala K. Serum cystatin C as a marker of kidney dysfunction in an elderly population. Letter to the Editor. *Clin Chem* 2002;48 n° 7.
- 8- USRDS 2004. *Am J Kidney Dis* 2005 Jan;45(1Pt2)8-280.
- 9- Holmquist P, Torffvit O, Sjoblad S. Metabolic status in diabetes mellitus affects markers for glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 2003;18:536-40.
- 10-Visvardis G, Griveas I, Zilidou R, Papadopoulou D, Mitsopoulos E, KyriklidouP, et al. Glomerular filtration rate estimation in renal transplant patients based on serum cystatin-C levels: comparison with other markers of glomerular filtration rate. *Transplantation Proceedings* 2004;36:1757-1759.
- 11-Watanabe S, Okura T, Liu J, Miyoshi K-I, Fukuoka T, Hiwada K, Higaky J. Serum cystatin C is a marker of end-organ damage in patients with essential hypertension. *Hypertens Res* 2003;26:895-9
- 12-Demirtas S, Bozbas A, Akbay A, Yavuz Y, Karaca L. Diagnostic value of serum cystatin C for evaluation of hepato-renal syndorme. *Clinica Chimica Acta* 2001; 311: 81-89.

- 13-Stackbuck B, Vrhovec L, Stabuc-Silih M, Cizej TT. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C: use in cancer patients before and during chemotherapy. *Clinical Chemistry* 2000;46(2): 193-197.
- 14-Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Plasma concentrations of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events: more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 2005;51:321-27 .
- 15-Levey AS, MD, Coresh J, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G. National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Ann Intern Med* 2003;139:137-47..
- 16-Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A More Accurate Method to Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;6:461-70.
- 17-WHO Technical Report Series, Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva, 28 January-01February, 2002.
- 18-Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206-1252.

- 19- Gross JL, Friedman R, Azevedo MJ, Silveiro SP, Pecis M. Effect of age and sex on glomerular filtration rate measured by ⁵¹Cr-EDTA. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:129-34.
- 20-Larsson A, Malm J, Grubb A, Hansson L-O. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64:25-30.
- 21-Harmoinen A, Lehtimäki T, Korpela M, Turjanmaa V, Saha H. Diagnostic accuracies of plasma creatinine, cystatin C, and glomerular filtration rate calculated by the Cockcroft-Gault and Levey (MDRD) formulas. *Clinical Chemistry* 2003;49:1223-1225.
- 22-Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, Zeeuw DD, Curhan GC, Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 2004;65:1416-21.
- 23-Uhlmann EJ, Hock KG, Issitt C, Sneeringer MR. Reference intervals for plasma cystatin C in healthy volunteers and renal patients, as measured by the Dade Behring BN II System, and correlation with creatinine. *Clinical Chemistry* 2001; 47:2031-2033.
- 24-Fricker M, Wiesli P, Crändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003;63:1944-7.