

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA**

**RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA: ESTUDO  
LONGITUDINAL EM PACIENTES COM GLOMERULOPATIAS PRIMÁRIAS**

**VERÔNICA VERLEINE HÖRBE ANTUNES**

**Porto Alegre  
2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA**

**RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA: ESTUDO  
LONGITUDINAL EM PACIENTES COM GLOMERULOPATIAS PRIMÁRIAS**

**VERÔNICA VERLEINE HÖRBE ANTUNES**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em Ciências  
Médicas: Nefrologia  
Orientador: Prof. Dr. José Vanildo Morales  
Co-orientador: Prof. Dr. Francisco José  
Veríssimo Veronese

**Porto Alegre**

**2006**

**A636r** Antunes, Verônica Verleine Hörbe  
Relação proteína/creatinina em amostra de urina: estudo longitudinal em pacientes com glomerulopatias primárias / Verônica Verleine Hörbe Antunes; orient. José Vanildo Morales; co-orient. Francisco José Veríssimo Veronese. – 2006.  
58 f. ; il. .

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia. Porto Alegre, BR-RS, 2006.

1. Proteinúria 2. Creatinina 3. Glomerulonefrite I. Morales, José Vanildo II. Veronese, Francisco José Veríssimo III. Título.

NLM: WJ 140

## **DEDICATÓRIA**

**Ao meu esposo e companheiro “Junico” e ao meu amado e querido filho Juandres, as duas preciosidades que tenho, pelo estímulo, pela compreensão e pelo bom humor com que levam a vida.**

## AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meus agradecimentos a todos os que contribuíram para a elaboração deste trabalho, em particular,

- Aos pacientes, pela fundamental ajuda para a realização desta pesquisa.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Ao Prof. Dr. José Vanildo Morales, pela orientação e pela contribuição através do seu conhecimento, que foram imprescindíveis para o desenvolvimento deste estudo.
- Ao Prof. Dr. Elvino José Guardão Barros, pelo encorajamento inicial e por ter acreditado na realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Francisco José Veríssimo Veronese, pela ajuda incansável, objetiva, clara e segura na elaboração deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro, pelo incentivo e constante apoio.
- À médica assistente Adriana Reginato Ribeiro, pela ajuda na elaboração do projeto de pesquisa.
- Aos colegas nefrologistas, Ana Lucia Livi, Alessandro Afonso Peres, Marislei Manente e Suzana Comunello Schacher, pelos tantos turnos de trabalho em que me substituíram para poder cursar o Mestrado.
- Ao Prof. Dr. Guilherme Luís Roehe Vaccaro, estatístico, pela ajuda na análise estatística dos dados.
- Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo suporte financeiro.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>µg</b>	-	microgramas
<b>Å</b>	-	Ângstrom
<b>DCE</b>	-	depuração da creatinina endógena
<b>FG</b>	-	filtração glomerular
<b>IgA</b>	-	imunoglobulina A
<b>IgG</b>	-	imunoglobulina G
<b>ml/min</b>	-	mililitros/minuto
<b>Prot 24h</b>	-	proteinúria de 24 horas
<b>r</b>	-	coeficiente de correlação
<b>Relação Pr/Cr</b>	-	relação proteína/creatinina em amostra de urina

## LISTA DE FIGURAS

### FIGURAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 1. Microestrutura da parede glomerular vista na microscopia eletrônica..... 11
- Figura 2. Representação esquemática da alça do capilar glomerular..... 12

### FIGURAS DO ARTIGO EM PORTUGUÊS

- Figura 1. Média e DP das medidas da Prot. 24h e Pr/Cr ao longo dos 6 períodos de coleta. .... 42
- Figura 2. Limites de concordância entre a diferença Prot 24h – Pr/Cr com intervalo de confiança de 95% durante período de avaliação. .... 43

### FIGURAS DO ARTIGO EM INGLÊS

- Figure 1. Mean  $\pm$  SD of 24-hour proteinuria and P/C ratio measurements in the six time points of observation. .... 58
- Figure 2. Limits of agreement between P24 - P/C ratio difference with 95% CI during the six periods of collection..... 59

## LISTA DE TABELAS

### TABELAS DO ARTIGO EM PORTUGUÊS

Tabela 1. Características clínicas e laboratoriais iniciais .....	38
Tabela 2. Valores iniciais da Proteinúria de 24 horas e da relação Pr/Cr de acordo com os níveis de proteinúria.....	39
Tabela 3. Diferença entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr com IC 95% nos 6 períodos do estudo.....	40
Tabela 4. Acurácia da relação Pr/Cr para o diagnóstico de proteinúria patológica e proteinúria nefrótica.....	40

### TABELAS DO ARTIGO EM INGLÊS

Table 1. Demographic and laboratory data at presentation .....	54
Table 2. Initial values of 24-hour proteinuria and of P/C ratio.....	55
Table 3. Difference between 24-hour proteinuria and P/C ratio with 95% CI in the six months of observation.....	56
Table 4. Accuracy of P/C ratio in the diagnosis of pathological proteinuria and nephrotic proteinuria.....	56



## SUMÁRIO

<b>1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>10</b>
1.1 EXCREÇÃO URINÁRIA DE PROTEÍNAS: FISIOPATOLOGIA.....	10
1.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA PROTEINÚRIA.....	13
1.3 MEDIDA DA PROTEINÚRIA.....	15
1.4 FITAS REAGENTES .....	15
1.5 PROTEINÚRIA DE 24 HORAS .....	15
1.6 EXCREÇÃO URINÁRIA DA CREATININA .....	16
1.7 RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA .....	17
1.8 PROTEINÚRIA, LESÃO RENAL E INTERVENÇÕES TERAPÊUTICAS .....	19
1.9 LIMITAÇÕES NA UTILIZAÇÃO DA RELAÇÃO PR/CR NA MEDIDA DA PROTEINÚRIA.....	20
<b>2 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>22</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	27
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO .....	27
<b>4 ARTIGO EM PORTUGÊS: ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DA RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA PARA ESTIMAR A PROTEINÚRIA DE 24 HORAS EM PACIENTES COM GLOMERULOPATIAS PRIMÁRIAS: ESTUDO LONGITUDINAL</b> .....	<b>28</b>
RESUMO.....	29
INTRODUÇÃO .....	30
PACIENTES E MÉTODOS.....	31
RESULTADOS.....	33
DISCUSSÃO .....	34
REFERÊNCIAS .....	36
<b>5 ARTIGO EM INGLÊS: DIAGNOSTIC ACCURACY OF THE PROTEIN/CREATININE RATIO IN URINE SAMPLE TO ESTIMATE 24-HOUR PROTEINURIA IN PATIENTS WITH PRIMARY GLOMERULOPATHIES: A LONGITUDINAL STUDY</b> .....	<b>44</b>
ABSTRACT .....	45
INTRODUCTION.....	46
PATIENTS AND METHODS .....	47
RESULTS.....	48
DISCUSSION.....	49
REFERENCES.....	52

## **1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

A presença de proteínas na urina é um indicador de doença renal e se constitui em um fator de risco independente para progressão da doença renal (1). As alterações nos valores da proteinúria são importantes sinalizadores do prognóstico do comprometimento renal em pacientes com diferentes patologias associadas com o desenvolvimento de proteinúria (1-3). Dessa maneira, a pesquisa de proteinúria se constitui em um fator relevante no diagnóstico e no acompanhamento sistemático dos pacientes com doença renal (1,4).

Se, no passado, a proteinúria era considerada apenas um indicador da gravidade da lesão renal, atualmente, pode-se afirmar que as proteínas filtradas através do capilar glomerular são fatores de agressão, desempenhando papel relevante na progressão das nefropatias (1-3).

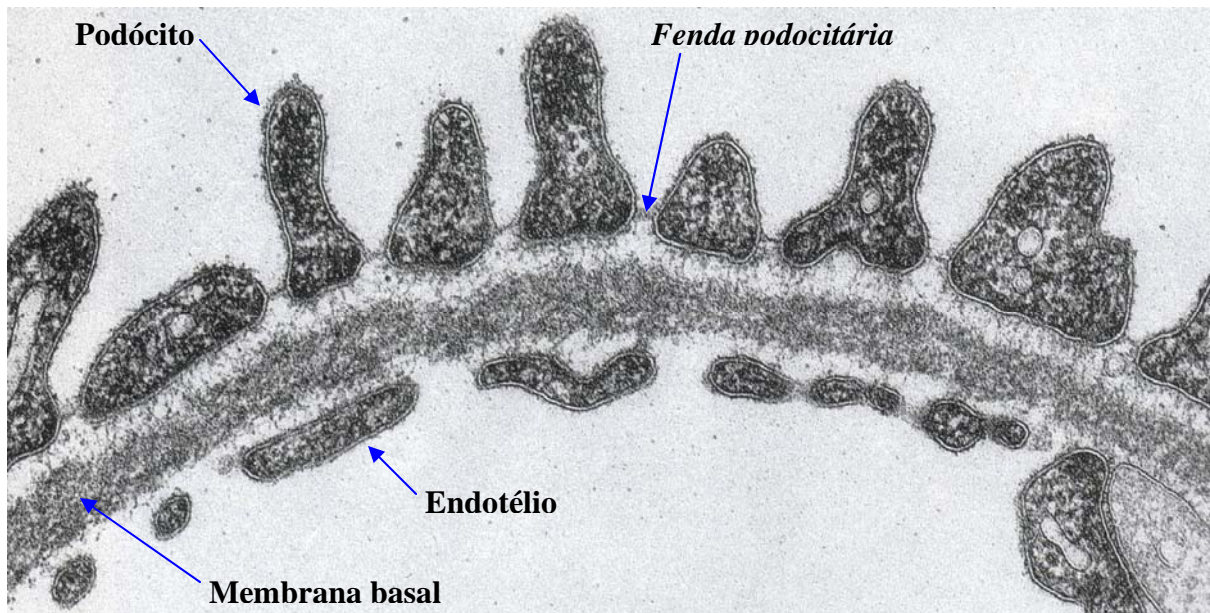
### **1.1 EXCREÇÃO URINÁRIA DE PROTEÍNAS: FISIOPATOLOGIA**

A função dos glomérulos é gerar um ultrafiltrado de plasma. Essa filtração é uma etapa inicial e indispensável do processo de formação de urina. Outra função relevante do capilar glomerular é servir como uma barreira à passagem das proteínas. Essa função é fundamental para que o fluido que passa ao espaço de Bowman seja quase completamente desprovido de proteínas. Portanto, é essencial que os glomérulos funcionem como filtros eficazes na retenção de proteínas, o que é necessário para a regulação da pressão oncótica, da coagulação e de outros processos vitais (4). É o que ocorre em condições normais, isto é, a quantidade de proteínas que atravessam a barreira glomerular é muito pequena (1,4).

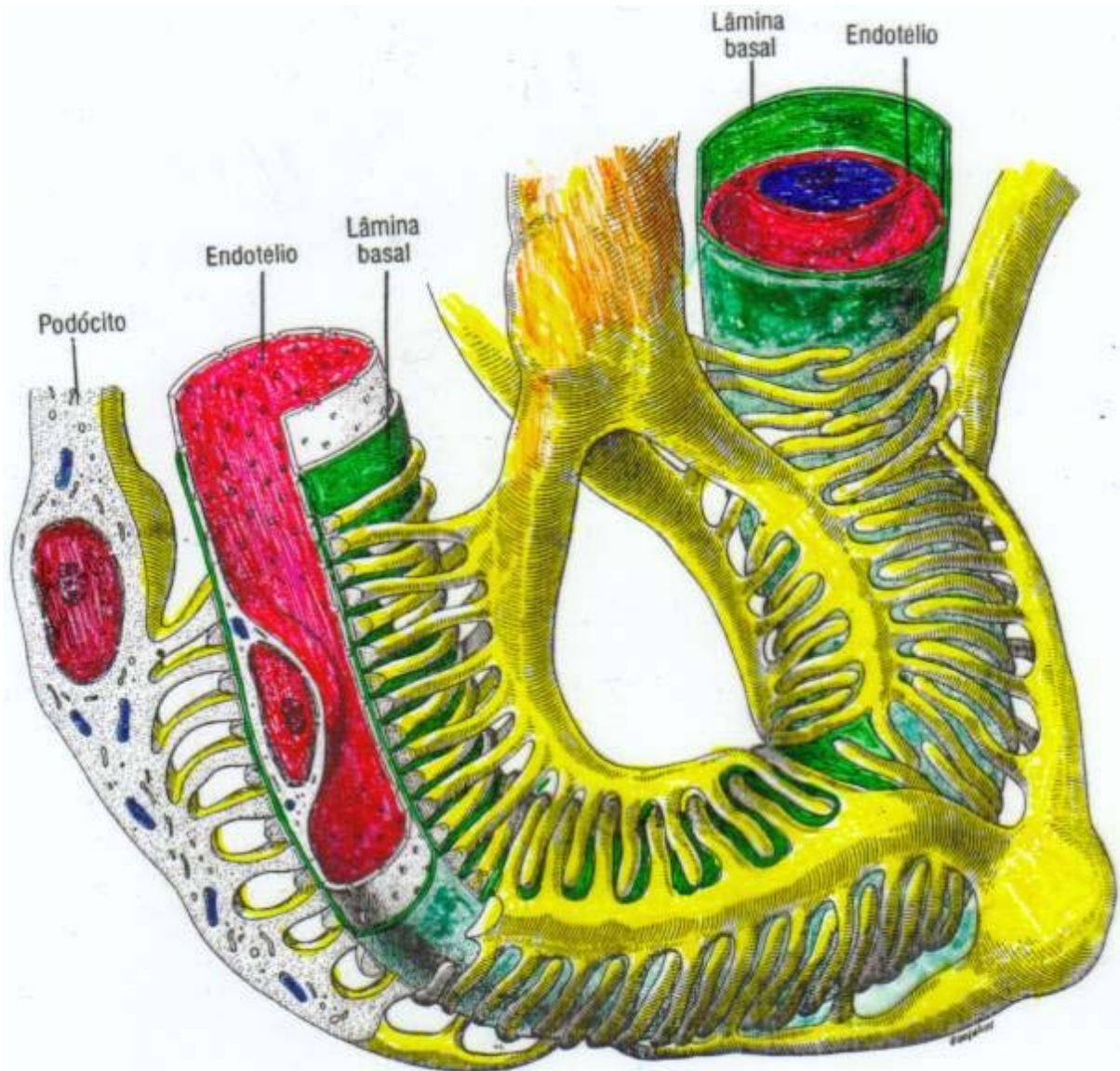
Diariamente são formados 180 litros de ultrafiltrado glomerular. Antes de atravessar o capilar, essa quantidade de fluido contém aproximadamente 11.000 g a 14.000 g de proteínas, enquanto a excreção urinária de proteínas em 24 horas é inferior a 0,2 g - 0,3 g (5-7).

A parede glomerular é composta de três camadas perfeitamente identificadas pela microscopia eletrônica: camada de células endoteliais, membrana basal e camada de células epiteliais (Figuras 1 e 2). A primeira barreira à passagem das proteínas é a camada de células endoteliais. Ao contrário de outros capilares do

organismo, essa apresenta grandes aberturas ou *fenestras*, cujo diâmetro pode chegar a várias centenas de ângstrons (Å), o que a impede de discriminar as macromoléculas pelo seu tamanho (4,6,8). A segunda camada a oferecer resistência à filtração das macromoléculas é a membrana basal glomerular. Essa camada, que não contém elementos celulares, é um arranjo complexo de colágeno, proteoglicanos e outras moléculas. Por fim, a camada de células epiteliais, com os *podócitos* e seus prolongamentos – as *pedicelas* –, não representa obstáculo importante à passagem das macromoléculas. No entanto, os espaços vazios entre as pedicelas são cobertos por uma membrana muito delicada denominada de *slit membrane*, que é a última e mais eficiente barreira à filtração de macromoléculas (4,6).



**Figura 1. Microestrutura da parede glomerular vista na microscopia eletrônica (1000x).**



**Figura 2. Representação esquemática da alça do capilar glomerular**

Desde a década de 1950 têm sido realizados estudos sobre o mecanismo de funcionamento da parede do capilar glomerular, visando verificar a forma como ela retém as macromoléculas. O primeiro fator pesquisado estava relacionado ao tamanho da macromolécula. Hoje se sabe que a maioria das macromoléculas com raio superior a 50 Å não atravessam a barreira capilar normal (4) e que a resistência à passagem de proteínas pelo glomérulo não se deve somente ao tamanho da molécula, mas também às suas cargas elétricas (9). A magnitude de filtração das macromoléculas é reduzida quando a elas são adicionados radicais negativos (5). Além disso, as proteínas circulantes, como a albumina, se comportam como poliânions no pH do organismo. Experiências demonstraram a existência de uma

verdadeira barreira eletrostática na parede glomerular, capaz de repelir substâncias aniônicas como a albumina. As três camadas que compõem o capilar glomerular são intensamente negativas (7). Diversas substâncias existentes nessas três camadas (ácido siálico, heparan sulfato e sialoglicoproteínas) são responsáveis por essa eletronegatividade. Visto que a albumina é carregada negativamente, somente quantidades muito pequenas dessa proteína conseguem atravessar a barreira glomerular normal (5,7).

A albumina tem um peso molecular de aproximadamente 65.000 dáltons. Considerando condições normais, é possível afirmar que apenas uma pequena quantidade dessa proteína é capaz de atravessar a barreira glomerular (4,5). Proteínas com pesos moleculares menores do que 20.000 dáltons atravessam facilmente o capilar glomerular. Porém, a maior parte é eficientemente reabsorvida por endocitose nos túbulos proximais (7). A essas proteínas de origem plasmática é adicionada uma mucoproteína secretada no túbulo distal, a proteína de Tamm-Horsfall (7). Assim, a urina final é composta de aproximadamente 40% de albumina, 40% de proteína de Tamm-Horsfall e 20% de IgA, IgG e cadeias leves  $\kappa$  e  $\lambda$  (4,5).

## 1.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA PROTEINÚRIA

Um aumento na excreção urinária de proteínas pode ser considerado patológico. Dessa forma, a maioria das doenças renais apresenta algum grau de proteinúria. Os valores considerados patológicos na literatura de proteinúria de 24 horas (Prot 24h) variam entre 0,15 g e 0,30 g (5-7,10). Denomina-se *proteinúria maciça* ou *proteinúria nefrótica* a excreção urinária de proteínas superior a 3,50 g/1,73 m<sup>2</sup>/ dia (5-7).

A proteinúria patológica pode ter origem em três mecanismos básicos: a) aumento da permeabilidade glomerular; b) diminuição da reabsorção tubular; c) presença de proteínas anormais na circulação.

O aumento da permeabilidade glomerular é a causa mais comum de proteinúria. Pode ocorrer por disfunção do sistema de poros da parede capilar, por perda de cargas eletronegativas do glomérulo ou pela combinação dos dois fatores. A albumina é predominante nesta alteração. O conhecimento sobre a proteinúria por aumento da permeabilidade glomerular é derivada de estudos tanto em animais

quanto em humanos (9,11). Embora a proteína predominante seja a albumina, é possível observar a presença eventual de macromoléculas.

Michael *et al.* (11), em um estudo experimental, comprovaram que a perda de cargas eletronegativas da parede capilar facilita a passagem de albumina para a urina. Em algumas glomerulopatias, há perda ou redução desse componente eletronegativo, condições em que a albumina atravessa mais facilmente a barreira glomerular. Quando predomina a filtração de albumina, a proteinúria é considerada *seletiva*. Em algumas glomerulopatias, os dois mecanismos podem ocorrer simultaneamente (9,11).

Em relação à diminuição da reabsorção tubular, pode-se afirmar que os túbulos são capazes de reabsorver a maior parte das proteínas normalmente filtradas pelo glomérulo (4). Entretanto, quando ocorre um defeito no sistema de reabsorção, tem-se a proteinúria de origem tubular. Predomina, nesse tipo de proteinúria, a excreção de proteínas de baixo peso molecular, como a  $\beta$ 2-microglobulina, as quais migram na região  $\alpha$  e  $\beta$  da eletroforese (4,5). A  $\beta$ 2-microglobulina pode ser medida por radioimunoensaio. Embora seja um sensível indicador de dano tubular, ela é instável com o pH urinário normal (5,0 a 6,5). Mesmo após aumento do pH para 7,0, pode haver degradação, com resultados falsos negativos (4,5,9). Em condições normais, menos do que 0,4  $\mu$ g/l de  $\beta$ 2-microglobulina é excretada. Porém, na presença de dano tubular ou em glomerulopatias com alterações tubulointersticiais, esse valor pode ser muitas vezes maior (5). A excreção normal é menor do que 10  $\mu$ g/mg de creatinina (12). As proteínas  $\alpha$ 1-microglobulina e a proteína carreadora do retinol têm sido utilizadas como marcadores de dano tubular (5). As proteinúrias tubulares são de intensidade leve ou moderada; geralmente apresentam limites entre 0,2 g e 2,0 g em 24 horas (7).

O terceiro mecanismo de proteinúria patológica está relacionado à presença de proteínas anormais no plasma. O exemplo típico desta proteinúria é o mieloma múltiplo, em que ocorre uma produção anormal de certos tipos de imunoglobulinas. As células tumorais produzem um anticorpo incompleto. Esses fragmentos de anticorpos, conhecidos como proteínas de Bence-Jones, não são retidos pelos glomérulos em função do seu tamanho reduzido. Ocorrerá uma proteinúria patológica quando a quantidade dessas proteínas anormais ultrapassar a capacidade de reabsorção tubular, situação que apresenta um padrão característico

na eletroforese (9). Outros exemplos desse tipo de proteinúria são a hemoglobínúria, a mioglobínúria e fragmentos de imunoglobulina (cadeias leves, monoclonais).

### **1.3 MEDIDA DA PROTEINÚRIA**

A medida da excreção de proteínas na urina é utilizada de forma rotineira no diagnóstico inicial e no acompanhamento de pacientes com patologias renais. Existem três métodos para medir a proteinúria: a) fitas reagentes; b) proteinúria de 24 horas; e c) relação proteína/creatinina em amostra de urina (13-15).

### **1.4 FITAS REAGENTES**

A utilização de fitas reagentes de imersão (*dipsticks*) é a maneira mais simples e rápida de detecção de proteinúria anormal. O teste é semiquantitativo; realizado em uma amostra de urina, ele estima quantidades de albumina superiores a 20 mg/dl (7). Ele é considerado de 3 a 5 vezes mais sensível para detectar albumina do que outros tipos de proteínas presentes na urina. O método não é capaz de identificar proteínas de cadeias leves como a proteína de Bence-Jones (14). Mesmo sendo considerado um bom teste de rastreamento, ele apenas detecta concentrações anormais de proteínas na urina. Portanto, sua utilidade para avaliar os efeitos de intervenções terapêuticas e controlar a progressão das doenças renais é restrita (5). Em determinadas situações, o uso de fitas reagentes pode produzir resultados falsos positivos, como nos casos de urina muito concentrada e alcalina, urina com pigmentos e compostos de amônia e até em urina muito diluída (7,14).

### **1.5 PROTEINÚRIA DE 24 HORAS**

A medida da Prot 24h é o principal teste quantitativo, o padrão ouro. Considerado o teste definitivo para a avaliação de pacientes com vários tipos de nefropatias, o método usa a precipitação das proteínas pelos ácidos tricloroacético ou sulfossalicílico (7). A quantificação das proteínas é feita acrescentando o ácido

sulfossalicílico a uma porção de urina. Realizada a medida da turbidez com um fotômetro (7), faz-se a comparação com teste-padrão. Esse método é mais sensível para medir albumina do que para medir globulinas (7). Os limites da proteinúria anormal encontram-se entre os valores de 0,15 g a 0,3 g em 24 horas (5-9).

A Prot 24h é o teste mais usado como método diagnóstico e prognóstico, bem como para avaliar o resultado de intervenções terapêuticas. Porém, a coleta de urina em 24 horas é inconveniente em crianças, idosos e pacientes ambulatoriais. Ela pode também não ser adequada quando são necessárias coletas freqüentes de urina, como é o caso de pacientes com glomerulopatias, situação que se torna mais difícil quando houver necessidade de realizar várias medições. No caso da coleta de urina de 24 horas, erros de coleta são freqüentes, entre 15% e 30% dos casos (14). Assim, parece evidente a necessidade de se buscarem alternativas mais confiáveis de quantificar a proteinúria nos pacientes.

## **1.6 EXCREÇÃO URINÁRIA DA CREATININA**

A creatina é sintetizada no fígado. Logo após, é transportada aos músculos, onde fica depositada sob a forma de creatina-fosfato. Nesse local, ela sofre uma transformação bioquímica através de uma desidratação não-enzimática, passando a ser chamada de creatinina (5). A massa muscular corporal contribui com 98%, ou 100 g diárias, para o *pool* da creatina. Outra fonte de creatina são as carnes consumidas na dieta, que contribuem com 600 mg a 800 mg nas 24 horas. Cotidianamente, apenas 1,6% delas são transformadas em creatinina (5). Em pacientes que não consomem carne por um longo período, poderá haver uma redução de 10% a 20% na excreção urinária de creatinina (16). A creatinina plasmática é totalmente filtrada, já que não está ligada a proteínas. A excreção urinária da creatinina depende basicamente da filtração glomerular e de uma pequena quantidade secretada pelos túbulos renais (5).

A reabsorção tubular de creatinina não é comum, podendo ocorrer em pacientes com fluxo urinário baixo ou com insuficiência cardíaca congestiva (17-19). Várias drogas estão relacionadas à redução de creatinina na secreção tubular. Na literatura, as mais estudadas são a cimetidina e o trimetoprim (20,21). A quantidade



de creatinina excretada na urina independe do volume urinário. Sabe-se que o exercício físico pode aumentar discretamente a excreção de creatinina.

Existe um relação direta entre a quantidade de creatinina excretada na urina de 24 horas e a massa muscular do paciente. Essa relação é menor em mulheres e pacientes idosos e maior em homens e pacientes mais jovens (22-24). Kampmann (1974) descreve os seguintes valores para a creatininúria de 24 horas, corrigida para idade e sexo: entre 20 e 50 anos, a excreção urinária para homens é de 18,5 - 25 mg/kg/dia e, para mulheres, de 16,5 - 22,4 mg/kg/dia; entre 50 e 70 anos, a excreção em homens é de 15,7 - 20,2 mg/kg/dia e, nas mulheres, de 11,8 - 16,1 mg/kg/dia.

Existem controvérsias a respeito do efeito da proteinúria na excreção renal da creatinina. Há relatos de aumento de até 100% na filtração glomerular e na excreção de creatinina em pacientes com proteinúria maciça (Brod e Sirota, 1948), o que é corroborado por outros estudos (25,26). Os autores sugerem que, em pacientes com glomerulopatia, as substâncias com raio menor do que 20 Å atravessam mais facilmente a barreira do capilar glomerular. Como a creatinina tem um raio de aproximadamente 3 Å, a sua filtração estaria muito aumentada. Outros estudos, no entanto, apontam em direção distinta, não confirmando as observações dos referidos autores (27,28).

## 1.7 RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA

Desde 1983 vem sendo utilizada a relação proteína/creatinina (Pr/Cr) em amostra de urina (13-15) como método alternativo para estimar a proteinúria de 24 horas. Desde então, vários estudos foram feitos em crianças e adultos com síndrome nefrótica, em transplantados renais e em gestantes (29-45).

Em pacientes com função renal normal, a excreção urinária de creatinina é relativamente constante. Assim, a relação entre proteína e creatinina em amostra de urina, expressas em mg/dl, poderia estimar a quantidade de proteína excretada em 24 horas. Na medida em que se dispensa a coleta de 24 horas, a utilização da relação Pr/Cr em amostra de urina é uma solução simples.

Ginsberg *et al.* (1983) e Schwab *et al.* (1987) foram pioneiros no sentido de mostrarem um alto grau de correlação ( $r=0,97$ ) entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr em

amostra matinal de urina (13,46). Esses autores sugeriram que uma relação Pr/Cr maior do que 3,5 (mg/mg) ou menor do que 0,2 (mg/mg) indicariam, respectivamente, uma Prot 24h maior do que 3,5 g ou menor do que 0,2 g.

Vários estudos realizados em pacientes diabéticos demonstraram alta sensibilidade e especificidade da relação Pr/Cr em definir proteinúria anormal ou proteinúria nefrótica (33-36).

Também em pacientes transplantados com função renal normal a relação Pr/Cr mostrou boa correlação com a Prot 24h. Para identificar pacientes com Prot 24h maior do que 0,1 g, o método apresentou sensibilidade e especificidade superiores a 90% (37-39).

Da mesma forma, em gestantes com função renal normal ou discretamente reduzida, diversos estudos realizados entre 1987 e 1997 demonstraram que a relação Pr/Cr apresenta um bom nível de acurácia para estimar diversos níveis de proteinúria de 24 horas (40-44).

Schwab et al. (1987) estudaram 101 pacientes hospitalizados ou ambulatoriais com várias patologias (diabete, hipertensão, glomerulopatia, nefrite intersticial, mieloma múltiplo, uropatia obstrutiva, rins policísticos, rins isquêmicos e vasculites) com Prot 24h entre 0,10 - 9,6 g e creatinina sérica entre 0,4 - 9,6 mg/dl. O estudo mostrou que ocorreu uma boa correlação entre a relação Pr/Cr e a Prot 24h ( $r=0,96$ ) (46).

Ramos e colaboradores (1998) realizaram uma análise da correlação entre a relação Pr/Cr e a Prot 24h em 105 gestantes com hipertensão arterial e função renal normal (creatinina sérica entre 0,4 - 0,9 mg/dl) (45). O valor da correlação foi de 0,94. Morales e colaboradores (2004) também estudaram essa correlação em 172 pacientes. O estudo evidenciou que a relação Pr/Cr possui sensibilidade e especificidade elevadas em diversos níveis de proteinúria, sendo seu desempenho mantido nos distintos níveis de função renal (47).

Os estudos preliminares sobre a relação Pr/Cr utilizaram o coeficiente de correlação linear visando avaliar a concordância entre os testes de Prot 24h e a relação Pr/Cr. Posteriormente, a análise foi enriquecida com a avaliação do desempenho do teste através da utilização da sensibilidade e especificidade. Após 1994, três estudos (42,48,49) utilizaram o método de Bland e Altman (1986,1995) para avaliar a concordância entre os dois métodos, sendo a precisão avaliada pelos

limites da concordância e/ou pelo coeficiente de correlação da concordância (Lin e Torbeck, 1998) (50,51).

A relação Pr/Cr em amostra de urina tem sido utilizada como método alternativo à Prot 24h, eliminando, assim, o inconveniente da coleta de urina de 24 horas e o fator de erro a ela associada. A relação Pr/Cr apresenta um alto índice de correlação com a medida de Prot 24h, particularmente quando é utilizada uma amostra matinal de urina, após a primeira micção (13,14). A relação Pr/Cr tem sido considerada o método recomendado para a investigação diagnóstica e para o acompanhamento dos pacientes com doença renal.

A relação Pr/Cr é um método simples, seguro e eficaz para monitorar a perda de proteínas urinárias. Pode servir também para acompanhar a evolução das glomerulonefrites, o que inclui a análise da resposta aos tratamentos propostos (47).

## **1.8 PROTEINÚRIA, LESÃO RENAL E INTERVENÇÕES TERAPÊUTICAS**

Após uma avaliação clínica, laboratorial e histopatológica inicial, a maioria dos pacientes com síndrome nefrótica utilizam, por períodos prolongados, alguma droga imunossupressora (corticóide, ciclofosfamida, clorambucil, azatioprina e ciclosporina) isolada ou em combinação (52-56). Durante o primeiro ano, a resposta a essas intervenções é avaliada mensalmente. Posteriormente, os intervalos das avaliações clínicas e laboratoriais dependem da resposta clínica e da doença de base do paciente.

Nos pacientes com glomerulopatias, os tratamentos que reduzem a proteinúria são eficientes em prevenir a progressão para insuficiência renal (57). No entanto, as glomerulopatias que se apresentam com proteinúrias maiores do que 3,5 g/24h, e sem tendência a serem reduzidas com o uso de drogas apropriadas, tendem a evoluir para insuficiência renal crônica (58,59).

Vários autores têm descrito a importância do nível de proteinúria na diminuição da função renal. Em 1997, o Grupo Italiano de Estudos Epidemiológicos em Nefrologia estudou 352 pacientes com glomerulopatias. De acordo com o grau de proteinúria que apresentavam, os pacientes foram divididos em dois grupos: (1) pacientes com proteinúria < 3 g/24h e (2) pacientes com proteinúria ≥ 3 g/24h. A

redução mensal na filtração glomerular foi 2,6 vezes menor nos pacientes do primeiro grupo (REIN STUDY, 1997).

Também Ruggenti et al. (1998) observaram uma relação direta entre a redução mensal da filtração glomerular e a magnitude da proteinúria (60). Os pacientes foram distribuídos em quatro grupos de acordo com seu grau de proteinúria (g/24 horas): (1)  $\leq 1,0$ ; (2) 1,0 – 2,5; (3) 2,5 – 4,0; (4)  $\geq 4,0$ . A redução anual da função renal respectiva nesses pacientes seria, aproximadamente, de 2, 4, 7 e 26 ml/min.

### **1.9 LIMITAÇÕES NA UTILIZAÇÃO DA RELAÇÃO PR/CR NA MEDIDA DA PROTEINÚRIA**

A relação Pr/Cr varia em função de fatores como exercício físico, dieta, febre, uso de medicamentos e patologia de base. Estudos transversais não permitem responder de forma afirmativa sobre se é possível substituir a Prot 24h pela relação Pr/Cr. Assim, o presente estudo tem como objetivo validar o uso da relação Pr/Cr para o acompanhamento longitudinal da proteinúria de pacientes com glomerulopatia primária comparando-o com o padrão ouro, que é a Prot 24h. O que se deseja é avaliar se alterações nos níveis de proteinúria provocadas pela evolução da doença de base na vigência de tratamento podem ser também detectadas pela relação Pr/Cr – o que permitiria afirmar com rigor a eficácia da medição da relação Pr/Cr em substituição ao teste de Prot 24h.

Para poder monitorar, controlar e tratar as doenças renais, os médicos nefrologistas necessitam quantificar a perda de proteína na urina, que é o marcador de injúria renal e de progressão da doença renal (61,62). Isso porque o sucesso terapêutico consiste em diminuir o grau da proteinúria, reduzindo assim o dano renal, que está diretamente relacionado à diminuição da taxa de filtração glomerular. Torna-se, portanto, necessário estudar como a proteinúria pode ser medida de forma confiável. Embora haja consenso de que a Prot 24h seja o padrão ouro no que tange à quantificação, ela tende a apresentar problemas práticos relacionados com erros de coleta, custos e outras dificuldades quando repetida com frequência. A adoção da relação Pr/Cr como alternativa ainda gera controvérsias na literatura, especialmente

as relacionadas à confiabilidade do método em relação às medições obtidas pelo padrão ouro (72).

Na literatura existem vários estudos do tipo transversal sugerindo que a Prot 24h pode ser substituída pela relação Pr/Cr (4,5,27,32,33,66,70). No entanto, aparentemente não existem estudos longitudinais que confirmem se esse elevado índice de correlação se mantém ao longo do tempo.

Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar, através da medição seriada ao longo de um dado período de tempo – estudo longitudinal –, o grau de correlação existente entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr em amostra de urina matinal.

## 2 REFERÊNCIAS

1. Remuzzi G, Bertani T. **Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules?** *Kidney Int.* 1990; 38(3):384-94.
2. Eddy AA, Mcculloch L, Liu E, Adams J. **A relationship between proteinuria and acute tubulointerstitial disease in rats with experimental nephritic syndrome.** *Am J Pathol* 1991; 138(5):111-23.
3. Remuzzi G. **Abnormal protein traffic through the glomerular barrier induces proximal tubular cell dysfunction and causes renal injury.** *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1995; 4(4):339-42.
4. Zatz R. **Série Fisiopatologia Clínica. Fisiopatologia Renal (vol. 2)** / Roberto Zatz – São Paulo: Editora Atheneu, 2000.
5. Cameron JS. **The patient with proteinuria and/or haematuria.** In Davison, Cameron, Grünfeld, Kerr, Ritz and Winearls, eds. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology.* Oxford, Oxford Medical Publications, 2<sup>a</sup> ed., 1998, pg. 441-59.
6. Kasiske BL, Keane WF. **Laboratory Assessment of Renal Disease: Clearance, Urinalysis and Renal Biopsy.** In: **Brenner, BM.** *The Kidney.* Philadelphia, W.B. Saunders Co., 6<sup>a</sup> ed., 2000, pg. 1129-70.
7. GLASSOCK RJ. **Proteinuria.** In: **Massry & Glassock's, Textbook of Nephrology.** Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 4<sup>a</sup> ed., 2001, pg. 545-549.
8. Lafayette RA, Perrone RD, Levey AS. **Laboratory Evaluation of Renal Function.** In.: **Schirier RW and Gottschalk CW.** *Diseases of the Kidney.* Boston, Little Brown, 6<sup>a</sup> ed., 1997, pg. 307-54.
9. Chang RL, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. **Permselectivity of the glomerular capillary wall: III. Restricted transport of polyanions.** *Kidney Int.*, 1975; 8(4):212-8.
10. Cattran DC, Appel GB, Hebert LA, Hunsicker LG, Pohl MA, Hoy WE, et al. **A randomized trial of cyclosporine in patients with steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis.** North America Nephrotic Syndrome Study Group. *Kidney Int.*, 1999; 56(6):2220-26.
11. Michael AF, Blau E, Vernier RL. **Glomerular polyanion: Alteration in aminonucleoside nephrosis.** *Lab Invest.*, 1970; 23(6):649-57.
12. Barratt TM. **Proteinuria.** *Br Med J.*, 1983; 287(6404):1489-90.

13. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. **Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria.** N England J Med. 1983; 309:1543-6.
14. Shaw AB, Risdon P, Lewis-Jackson JD. **Protein creatinine index and Albustix in assessment of proteinuria.** Br Med J., 1983; 287(6397):929-32.
15. Sessoms S, Mehta K, Kovarsky J. **Quantitation of proteinuria in systemic lupus erythematosus by use of a random, spot urine collection.** Arthritis Rheum., 1983; 26(7):918-20.
16. Edwards OM, Bayliss RIS, Millen S. **Urinary creatinine excretion as an index of the completeness of 24-hour urine collections.** Lancet, 1969; Nov 29: 1165-6.
17. Brod J, Sirota JH. **Renal clearance of endogenous creatinine in man.** J Clin. Invest., 1948; 27: 645-8.
18. Miller BF, Leaf A, Mamby AR, Miller Z. **Validity of the endogenous creatinine clearance as a measure of glomerular filtration rate in the diseased human kidney.** J Clin. Invest., 1952; 31:309.
19. Levinsky NG, Berliner RW. **Am J Physiol.**, 1959; 196: 549-53.
20. Burgess E, Blair A, Krichman K, Cutler RE. **Inhibition of renal creatinine secretion by cimetidine.** Ren. Physiol., 1982; 5(1): 27-30.
21. Berg KJ. **Renal effects of trimethoprim in ciclosporin and azathioprine-treated kidney allografted patients.** Nephron, 1989; 53: 218-22.
22. Kampmann J, Siersback-Nielsen K, Kristensen M, Hansen JM. **Rapid evaluation of creatinine clearance.** Acta Med Scand., 1974; 196(6): 517-20.
23. Forbes GB, Bruining GJ. **Urinary creatinine excretion and lean body mass.** Am J Clin Nutr., 1976; 29(12): 1359-66.
24. Donadio C, Lucchesi A, Tramonti G, Bianchi C. **Creatinine clearance predicted from body cell mass is a good indicator of renal function.** Kidney Int., 1997; 52(Suppl 63): S-166-S-168.
25. Berlyne GM, Varley H, Nilwarangkur S, Hoerni M. **Endogenous creatinine clearance and the glomerular filtration rate.** Lancet, 1965; ii, 874-6.
26. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. **Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients.** Kidney Int., 1985; 28(5): 830-8.
27. Rapoport A, Husdan H. **Endogenous creatinine clearance and serum creatinine in the clinical assessment of kidney function.** Can Med Assoc J., 1968; 99(4): 149-56.

28. Hilton PJ, Lavender S, Roth Z, Jones NF. **Creatinine clearance in patients with proteinuria.** Lancet, 1969; ii: 1215-6.
29. Houser M. **Assessment of proteinuria using random urine samples.** J Pediatr, 1984; 104(6): 845-8.
30. Yoshimoto M, Tsukahara H, Saito M, Hayashi S, Haruki S, Fujisawa S, et al. **Evaluation of variability of proteinuria indices.** Pediatr Nephrol., 1990; 4(2):136-9.
31. Abitol C, Zilleruelo G, Freundlich M, Strauss J. **Quantification of proteinuria with urinary protein/creatinine ratios and random testing with dipsticks in nephrotic children.** J Pediatr., 1990; 116(2): 243-7.
32. Iyer RS, Shailaja SN, Bhaskaranand N, Baliga M, Venkatesh A. **Quantitation of proteinuria using protein-creatinine ratio in random urine samples.** Indian Pediatr., 1991; 28(5): 463-7.
33. Cohen DL, Close CF, Viberti GC. **The variability of overnight urinary albumin excretion in insulin-dependent diabetic and normal subjects.** Diabetic Med., 1987; 4(5):437-40.
34. Nelson RG, Knowler WC, Pettitt DJ, Saad MF, Charles MA, Bennett PH. **Assessment of risk of over nephropathy in diabetic patients from albumin excretion in untimed urine specimens.** Arch Intern Med., 1991; 151(9): 1761-5.
35. Kruseman AC, Van Den Berg BW, Degenaar CP, Wolfenbuttel BHR. **Screening for micro-albuminuria with Micro-Bumintest tablets and albumin/creatinine ratio.** Horm Metab Res., 1992; Suppl. 26: 71-5.
36. Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveira JR, 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(4):516-9.
37. Krishna KS, Pandey AP, Kirubakarn MG, Kanagasabapathy AS. **Urinary protein/creatinine ratio as an indicator of allograft function following live related donor renal transplantation.** Clin Chim Acta., 1987; 163(1): 51-61.
38. Dyson EE, Will EJ, Davison AM, O'Malley AH, Shepherd HT, Jones RG. **Use of the urinary protein creatinine index to assess proteinuria in renal transplant patients.** Nephrol Dial Transplant 1992; 7(5):450-2.
39. Steinhauslin F, Wauters JP. **Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio.** Clin Nephrol., 1995; 43(2): 110-5.



40. Boler L, Zbella EA, Gleicher N. **Quantitation of proteinuria in pregnancy by the use of single voided urine samples.** *Obstetrics & Gynecology*, 1987; 70: 99-100.
41. Combs CA, Wheeler BC, Kitzmiller JL. **Urinary protein/creatinine ratio before and during pregnancy in women with diabetes mellitus.** *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:920-3.
42. Quadri KHM, Bernardini BSN, Greenberg A, Laifer S, Syed A, Holley JL. **Assessment of renal function during pregnancy using a random urine protein to creatinine ratio and Cockcroft-Gault formula.** *Am J Kidney Dis.*, 1994; 24(3): 416-20.
43. Robert M, Seandj F, Liston RM, Dooley KC. **Random protein-creatinine ratio for the quantitation of proteinuria in pregnancy.** *Obstetrics & Gynecology* 1997; 90(6):893-5.
44. Saudan PJ, Brown MA, Farrell T, Shaw L. **Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy.** *Br J Obstetrics and Gynecology* 1997; 104:1159-64.
45. Ramos JGL, Martis-Costa SH, Mathias MM, Guerin YLS, Barros EG. **Urinary protein/creatinine ratio in hypertensive pregnant women.** *Hypertension in Pregnancy* 1999; 18(3): 209-18.
46. Schwab SJ, Christensen L, Dougherth K, Klahr S. **Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples.** *Arch Intern Med.*, 1987; 147(5): 943-4.
47. Morales JV, Weber R, Wagner MB, Barros EJ. **Is morning urinary protein/creatinine ratio a reliable estimator of 24-hour proteinuria in patients with glomerulonephritis and different levels of renal function?** *J Nephrol*, 2004; Sep-Oct; 17(5): 666-72.
48. Saudan PJ, Brown MA, Farrell T, Shaw L. **Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy.** *Br J Obstet Gynecol.*, 1997; 104(10): 1159-64.
49. Chitalia VC, Kothari J, Wells EJ, Livesey JH, Robson RA, Searle M, et al. **Cost-benefit analysis and prediction of 24-hour proteinuria from the spot urine protein-creatinine ratio.** *Clin Nephrol.*, 2001; 55(6): 436-47.
50. Bland JM, Altman DG. **Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement.** *Lancet*, 1986; 1(8476): 307-10.
51. Bland JM, Altman DG. **Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading.** *Lancet*, 1995; 346 (8982): 1085-7.

52. Bakir AA, Share DS, Levy PS, Arruda JAL, Dunea G. **Focal segmental glomerulosclerosis in adult African American.** Clin Nephrol., 1996; 40(5): 306-11.
53. Ponticelli C, Villa M, Banfi G, Cesana B, Pozzi C, Pani A, et al. **Can Prolonged Treatment Improve The Prognosis in Adults With Focal Segmental Glomerulosclerosis?** Am J Kidney Dis., 1999; 34(4): 618-25.
54. Alexopoulos E, Stangon M, Papagianini A, Pantzaki A, Menelaos P. **Factors influencing the course and the response to treatment in primary focal and segmental glomerulosclerosis.** Nephrol Dial Transplant, 2000; 15(9): 1348-56.
55. Agarwal SK, Dash SC, Tiwari SC, Bhuyan UM. **Idiopathic adult focal segmental glomerulosclerosis: a clinicopathologic response to steroid.** Nephron, 1993; 63(2): 168-71.
56. Burges E. Management of focal segmental glomerulosclerosis: **Evidence-based recommendations.** Kidney Int., 1999; 55(Suppl 70): S-26-32.
57. Aperia AJ, De Zeeuw D, De Jong PE. **Short-term antiproteinuric response to antihypertensive treatment predicts long-term GFR decline in patients with non-diabetic renal disease.** Kidney Int., 1994; 45 (Suppl 45): S174-8.
58. Mallick NP, Short CD, Hunt LP. **How far since Ellis? The Manchester Study of glomerular disease.** Nephron, 1987; 46(2): 113-24.
59. Ibels LS, Gyory AZ. **IgA nephropathy: Analysis of natural history, important factors in the progression of renal disease and a review of the literature.** Medicine (Baltimore), 1994; 73(2): 79-102.
60. Ruggenti P, Perna A, Mosconi L, Pisoni R, Remuzzi G. **Urinary protein excretion rate is the best independent predictor of ESFR in non-diabetic proteinuric chronic nephropathies. "Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia" (GISEN).** Kidney Int., 1998; 53(5): 1209-16.
61. Gaspari F, Perico N, Remuzzi G. **Timed Urine Collections Are Not Needed to Measure Urine Protein Excretion in Clinical Practice.** AJKD, 2006; Vol 47, n° 1(January), pp 1-7.
62. Shidham G, Hebert L.A. **Timed Urine Collections Are Not Needed to Measure Urine Protein Excretion in Clinical Practice.** AJKD, 2006; Vol 47, n° 1 (January), pp 8-14.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o desempenho longitudinal da relação proteína/creatinina em amostra de urina matinal em pacientes adultos com glomerulopatias primárias.

#### **3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Estudar o grau de correlação existente entre a proteinúria de 24 horas e a relação proteína/creatinina em amostra de urina matinal através da medição seriada ao longo de um período de 6 meses em pacientes adultos com glomerulopatias primárias.

#### 4 ARTIGO EM PORTUGÊS: ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DA RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA PARA ESTIMAR A PROTEINÚRIA DE 24 HORAS EM PACIENTES COM GLOMERULOPATIAS PRIMÁRIAS: ESTUDO LONGITUDINAL

Verônica Verleine Hörbe Antunes<sup>1</sup>  
Francisco José Veríssimo Veronese<sup>2</sup>  
José Vanildo Morales<sup>3</sup>

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Serviço de Nefrologia, Ambulatório de Glomerulopatias. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre. RS. Brasil.

O estudo foi financiado pelo Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

#### **Autor para correspondência:**

José Vanildo Morales  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Serviço de Nefrologia  
Rua Ramiro Barcelos, nº 2350, sala 2030  
CEP: 90035-003  
Porto Alegre, RS – Brasil  
Fone: 51 – 21018295  
Fax: 51 – 21018121  
Email: [jvmmorales@terra.com.br](mailto:jvmmorales@terra.com.br)

**Título resumido:** Estudo Longitudinal da Relação Pr/Cr em Pacientes com Glomerulopatias Primárias.

---

<sup>1</sup> Médica nefrologista.

<sup>2</sup> Médico nefrologista, Professor do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica: Nefrologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

<sup>3</sup> Médico nefrologista, Professor Adjunto, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

# ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DA RELAÇÃO PROTEÍNA/CREATININA EM AMOSTRA DE URINA PARA ESTIMAR A PROTEINÚRIA DE 24 HORAS EM PACIENTES COM GLOMERULOPATIAS PRIMÁRIAS: ESTUDO LONGITUDINAL

Verônica Verleine Hörbe Antunes  
Francisco José Veríssimo Veronese  
José Vanildo Morales

## RESUMO

**Introdução:** A relação proteína/creatinina (Pr/Cr) em amostra de urina tem sido utilizada no manejo clínico de pacientes com doenças glomerulares, mas nenhum estudo avaliou ainda o desempenho longitudinal desse método em relação à proteinúria de 24 horas (Prot 24h). Este estudo tem como objetivo avaliar prospectivamente a acurácia da relação Pr/Cr na determinação de níveis críticos de proteinúria em pacientes com glomerulopatias.

**Pacientes e métodos:** Estudo longitudinal com 41 pacientes adultos portadores de glomerulopatias primárias em tratamento com imunossupressores ou inibidores da enzima de conversão da angiotensina, em um seguimento de seis meses. Foram analisados a correlação entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr em amostra de urina e o nível de concordância entre os dois testes, através do método de Bland e Altman. Foi utilizada ANOVA de medidas repetidas (IC 95%) para avaliar as diferenças entre médias dos dois testes nos seis períodos do estudo. A acurácia diagnóstica da relação Pr/Cr foi avaliada pela análise da sensibilidade e especificidade.

**Resultados:** Houve uma correlação significativa entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr nos seis períodos estudados, sendo os valores de  $r$  0,90; 0,92; 0,89; 0,91; 0,93 e 0,94, respectivamente ( $p < 0,001$  em todos os períodos). As diferenças médias entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr do primeiro ao sexto mês foram 1,88; 1,22; 1,07; 0,65; 0,34 e 0,57 ( $p < 0,01$ ). Conseqüentemente, a concordância entre os dois métodos foi maior nos últimos três meses do seguimento, quando o nível de proteinúria era menor. Para o diagnóstico de *proteinúria patológica* a relação Pr/Cr apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 95%. Para o diagnóstico de *proteinúria nefrótica* um valor de Pr/Cr de 3,0 apresentou sensibilidade de 90% e especificidade de 93%.

**Conclusão:** Houve uma excelente correlação e concordância entre a relação Pr/Cr e a Prot 24h, com valores reprodutíveis ao longo do período de acompanhamento. Portanto, essa análise longitudinal corrobora os achados dos estudos transversais, dando suporte ao uso da relação Pr/Cr no manejo clínico de pacientes com doenças glomerulares.

**Palavras-chave:** proteinúria de 24 horas (Prot 24h), relação proteína/creatinina (Pr/Cr) em amostra de urina matinal.

## INTRODUÇÃO

A proteinúria é um marcador precoce e sensível de dano renal, sendo o teste mais importante para a avaliação inicial e seguimento, principalmente nos pacientes com glomerulopatias. Os testes que utilizam fitas reagentes são de pouco valor, pois apresentam baixa especificidade e sensibilidade, tendo assim acurácia reduzida (1). Nesse contexto, a dosagem das proteínas em urina de 24 horas é inconveniente e sujeita a erros de coleta que podem variar de 12% a 35% nas séries descritas (2-4). Desde 1983, diversos estudos têm utilizado a relação proteína/creatinina (Pr/Cr) em amostra de urina em diferentes situações clínicas para estimar a proteinúria de 24h (Prot 24h), tendo sido observada boa correlação e concordância entre os dois métodos (4-18). Entretanto, esses estudos são transversais e não avaliaram a questão crítica da acurácia da relação Pr/Cr em comparação com a Prot 24h em pacientes individuais ao longo do tempo. Ruggenti e cols. correlacionaram a relação Pr/Cr e a Prot 24h na fase inicial do estudo de pacientes com nefropatia não diabética em uso de ramipril, mas no seguimento utilizaram apenas a relação Pr/Cr (19).

Nos pacientes com glomerulopatias, com ou sem síndrome nefrótica (SN), existe a necessidade de acompanhamento regular da proteinúria a longo prazo para avaliar os efeitos das intervenções terapêuticas ou a evolução clínica da doença glomerular para decisão de investigação e tratamento. Nesses pacientes, é necessária a definição de níveis de proteína para o diagnóstico de resposta total, parcial ou ausência de resposta.

Este estudo tem como objetivo a avaliação simultânea e seriada dos dois métodos para validar a utilidade clínica da relação Pr/Cr comparativamente à da Prot 24h, em pacientes com glomerulopatias primárias sob intervenção terapêutica com imunossupressores ou inibidores da enzima de conversão da angiotensina (i-ECA).

## PACIENTES E MÉTODOS

Estudo longitudinal de pacientes com glomerulopatias primárias para avaliar a acurácia da relação Pr/Cr em estimar a Prot 24h ao longo de um período de seis meses.

**Pacientes:** Durante um período de 18 meses, pacientes com glomerulopatias primárias atendidos no ambulatório de glomerulopatias do Hospital de Clínicas de Porto Alegre foram incluídos no estudo, com observação dos seguintes critérios: idade maior de 14 anos, depuração de creatinina  $\geq 15\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ , ausência de doença cardíaca severa, ausência de infecção do trato urinário, não utilização de drogas que interferem na excreção da creatinina urinária, ausência de gravidez. Inicialmente, foram selecionados 45 pacientes, dos quais foram excluídos 4, por não preencherem os critérios descritos. O quadro clínico dos 41 pacientes incluídos era o seguinte: 26 pacientes com síndrome nefrótica (proteinúria de 24h  $\geq 3,5\text{g}/1,73\text{m}^2$ ) em tratamento com imunossupressores (20 com glomeruloesclerose segmentar e focal e 6 com nefropatia membranosa idiopática) e 15 pacientes com *proteinúria não-nefrótica* (Prot 24h  $< 3,5\text{g}/1,73\text{m}^2$ ) em uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (i-ECA), anti-hipertensivos e estatinas, quando necessário. A depuração da creatinina endógena (DCE) foi medida através da fórmula padrão por coleta de urina de 24h. Tanto a depuração da creatinina quanto a Prot 24h foram corrigidas para a superfície corporal de  $1,73\text{ m}^2$ . Foram considerados hipertensos os pacientes com pressão arterial  $\geq 140/90\text{mmHg}$  (20).

*Protocolo de tratamento:* Nos pacientes com GESF, foi utilizada inicialmente a prednisona na dose de  $1\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$ , por até 4-6 meses; naqueles com recidivas freqüentes e nos córtico-dependentes, a ciclofosfamida na dose de  $1,5\text{-}2,5\text{kg}/\text{dia}$ ; e nos resistentes à corticoterapia, a ciclosporina na dose de  $4\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$ . Nos pacientes com GNMI, foi utilizado inicialmente o protocolo de Ponticelli por seis meses e nos não-responsivos a ciclosporina  $4\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$  (21).

Todos os pacientes foram informados dos objetivos do estudo e deram seu consentimento por escrito. O presente estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, credenciado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), vinculada ao Ministério da Saúde, e no Escritório para a Proteção de Humanos na Pesquisa (Office for Human

Research Protections – OHRP) – USDHHS – dos Estados Unidos da América como Comitê Revisor Institucional (Institucional Review Board – IRB 00000921).

**Amostras urinárias:** Os pacientes foram instruídos a coletar a urina de 24 horas observando o tempo total de coleta. Após o término da coleta, uma amostra de sangue e uma de urina foram coletadas separadamente. A relação Pr/Cr foi calculada dividindo a proteína urinária pela creatinina urinária, ambas em mg/dl. A Prot 24h foi medida em gramas e corrigida para uma superfície corporal de 1,73 m<sup>2</sup>. A amostra era rejeitada como provavelmente incompleta se a excreção de creatinina nas 24h (mg/kg) estava abaixo dos limites mínimos para a idade e sexo, ou seja: idade abaixo de 50 anos: homens ≤ 18,5 e mulheres ≤ 16,5; idade acima de 50 anos: homens ≤ 15,7 e mulheres ≤ 11,8.

**Métodos laboratoriais:** As concentrações de creatinina sérica e urinária (mg/dl) foram determinadas utilizando o método de Jaffé modificado, em aparelho automatizado ADVIA 1650/Mega Bayer®. A concentração de proteínas urinárias foi determinada pelo método colorimétrico com vermelho pirogalol utilizando um aparelho automatizado ADVIA 1650/Cobas Mira Plus®. Os coeficientes de variação (CV) para a creatinina sérica, creatinina urinária e proteína urinária foram 3,23%, 3,77% e 4,08%, respectivamente.

**Análise estatística:** As estatísticas descritivas são apresentadas como percentagens para dados qualitativos e como média ± DP para dados quantitativos. A correlação entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr durante cada período foi analisada com o coeficiente de Pearson. A concordância (IC 95%) entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr nos seis períodos de avaliação foi medida pelo método de Bland e Altman (22, 23). A significância entre as diferenças médias (IC 95%) das variáveis, Prot 24h e relação Pr/Cr, medidas em cada momento do estudo, foi obtida através da análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas (GLM). A acurácia diagnóstica da relação Pr/Cr para o diagnóstico de *proteinúria patológica e nefrótica* foi avaliada pela análise da sensibilidade e especificidade. O nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram processados e analisados com o software SPSS para Windows, versão 12.0.



## RESULTADOS

Foram incluídos 26 pacientes com síndrome nefrótica primária em tratamento com imunossupressores e 15 pacientes com proteinúria não-nefrótica tratados com i-ECA e outras drogas. O total de amostras de urina utilizadas para análise foi de 246, seis amostras para cada paciente.

Na Tabela 1 são apresentadas as características demográficas e laboratoriais dos pacientes estudados. As médias ( $\pm$ DP) da Prot 24h e da relação Pr/Cr foram de  $6,7g \pm 5,2g$  e de  $4,8 \pm 3,1$ , respectivamente. Todos os pacientes tinham filtração glomerular  $\geq 30ml/min$  (estágios I a III do K/DOQI). A Tabela 2 mostra os valores iniciais da Prot 24h e da relação Pr/Cr em pacientes com síndrome nefrótica e proteinúria não-nefrótica. Nos pacientes com síndrome nefrótica, os valores da Prot 24h foram  $9,5g \pm 4,7g$  e os da relação Pr/Cr,  $6,7 \pm 2,3$ . Nos pacientes com proteinúria não-nefrótica, os valores da Prot 24h e da relação Pr/Cr foram, respectivamente,  $1,9g \pm 0,7g$  e  $1,6 \pm 0,9$ . Na tabela também são apresentados os valores, mínimos e máximos, da Prot 24h e da relação Pr/Cr nos dois grupos.

A Figura 1 apresenta a média ( $\pm$ DP) da Prot 24h e da relação Pr/Cr ao longo dos seis períodos de coleta. Nos pacientes em tratamento com drogas imunossupressoras ou i-ECA, a redução dos valores da Prot 24h e da relação Pr/Cr ao longo dos seis meses é esperada.

Houve uma correlação significativa entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr. Os valores de  $r$  nos seis períodos de análise foram 0,90; 0,92; 0,89; 0,91; 0,93 e 0,94, respectivamente ( $p < 0,001$ , para todas as correlações).

Na Tabela 3 e na Figura 2 podem ser observadas as médias e os limites de concordância (IC 95%) das diferenças entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr em todos os períodos de análise (método de Bland e Altman). Nos primeiros meses de estudo, quando a excreção urinária de proteínas era muito elevada, a concordância entre os dois métodos foi pequena; a concordância, no entanto, aumentou quando os níveis de proteinúria eram mais baixos. Na avaliação pelo método de Bland e Altman e com análise estatística por ANOVA para medidas repetidas (GLM), encontrou-se significância estatística ( $p=0,01$ ) nos limites de concordância dos métodos (IC 95%).

A Tabela 4 mostra a acurácia da relação Pr/Cr para o diagnóstico de níveis críticos de proteinúria em pacientes com glomerulopatias primárias.

## DISCUSSÃO

Na prática clínica, uma amostra matinal de urina pode ser utilizada para detectar e monitorizar a proteinúria. Embora a relação albumina/creatinina em amostra de urina seja mais confiável, o seu custo e as dificuldades técnicas tornam seu uso rotineiro inviável. A relação Pr/Cr é uma alternativa aceitável, principalmente para monitorização de proteinúria em situação em que haja necessidade de medidas repetidas. As recomendações para o seu uso foram publicadas nas diretrizes do NKF K/DOQI: guideline 5 (24).

As principais limitações para a utilização da relação Pr/Cr, como idade, sexo, massa muscular e nível de função renal, devem ser levadas em consideração para a interpretação correta do método, tanto na avaliação inicial como no seguimento dos pacientes com nefropatias. Como se sabe, a relação Pr/Cr subestima a proteinúria em homens e superestima seu valor em mulheres, em idosos e em indivíduos com massa muscular reduzida. O nível de função renal tem sido considerado importante na interpretação do teste, mas, recentemente, Morales e cols. demonstraram que essa variável não interfere significativamente na interpretação dos resultados (18).

No presente estudo e em outras publicações (7,9,18), verificou-se que a correlação e a concordância entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr são tanto menores quanto maior for o nível da proteinúria. Pacientes com síndrome nefrótica geralmente apresentam valores de Pr/Cr inferiores e não concordantes com a Prot 24h. No tratamento de pacientes com glomerulopatia com ou sem síndrome nefrótica, o objetivo principal é a redução ou a normalização da proteinúria. Por isso, na prática clínica o nível exato da proteinúria é menos importante do que a sua reprodutibilidade e a modificação de seus valores em decorrência das intervenções terapêuticas. Nesse contexto, assumindo que tenha sido verificada a reprodutibilidade da relação Pr/Cr no início do diagnóstico, é possível afirmar que reduções significativas na relação Pr/Cr impliquem reduções na proteinúria mesmo que os valores absolutos não possam ser estimados com a devida acurácia (24).

Nos pacientes com síndrome nefrótica tratados com imunossupressores, a utilização dos protocolos de tratamento requer que se conheçam “níveis críticos” da proteinúria para a tomada de decisões como suspensão, continuidade ou mudança no regime terapêutico. Neste estudo, foram adotados os seguintes valores

para a Prot 24h: *patológica*:  $\geq 0,2\text{g}$ ; *nefrótica*:  $\geq 3,5\text{g}$ ; e *não-nefrótica*:  $> 0,2\text{g}$  e  $< 3,5\text{g}$ . Para detecção desses níveis de proteinúria a relação Pr/Cr mostra uma elevada sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo. Como o valor preditivo positivo é uma medida de acurácia que depende da prevalência da condição, estima-se no contexto de proteinúria que o mesmo seja elevado. Dois estudos prévios (4, 6) utilizaram valores da relação Pr/Cr  $\leq 0,2$  e  $\geq 3,5$  em pacientes com diferentes nefropatias e função renal estável para o diagnóstico de *proteinúria patológica* (Prot 24h  $\geq 0,2\text{g}$ ) e *nefrótica* (Prot 24h  $\geq 3,5\text{g}$ ), respectivamente. Ramos e cols., em estudo com gestantes, observaram que o melhor ponto de corte para a relação Pr/Cr foi de 0,5 para a definição de uma Prot 24h normal  $< 0,3\text{g}$  (10). Dois estudos recentes e com um grande número de pacientes (5, 18) também utilizaram os valores  $\geq 0,2\text{g}$  para definir *proteinúria patológica* e  $\geq 3,5\text{g}$  para definir *proteinúria nefrótica*. Chitália e cols. (5) descreveram valores de Pr/Cr de 0,26 e 3,2 como o melhor ponto de corte para a definição desses níveis críticos de proteinúria.

Morales e cols. (18) relataram que, para o diagnóstico de *proteinúria patológica*, valores de Pr/Cr  $\geq 0,3$  mostraram sensibilidade de 93% e especificidade de 100%. Os mesmos autores mostraram que, na população estudada, o melhor ponto de corte para definir uma *proteinúria nefrótica* foi de 3,0 (sensibilidade de 90% e especificidade de 97%). Utilizando o “likelihood ratio” (LR) para avaliar a acurácia da relação Pr/Cr em níveis elevados de proteinúria, valores inferiores a 2,5 excluem a possibilidade de *proteinúria nefrótica* (LR = 0,0), enquanto valores superiores a que 3,5 confirmam essa hipótese (LR = 53,39). Para valores de Pr/Cr entre 2,51 e 3,5, o LR situou-se entre 1,74 e 4,64, o que sugere que a interpretação desses dados deva basear-se em dados clínicos tais como peso, sexo, raça e superfície corporal (dados não publicados).

Do nosso conhecimento, este é o primeiro estudo longitudinal comparando a Prot 24h e a relação Pr/Cr em pacientes com glomerulopatias primárias. O que se observou, em resumo, foi uma excelente concordância entre os dois métodos, com valores reprodutíveis na evolução desses pacientes durante o período de acompanhamento. Portanto, esta análise longitudinal corrobora os achados dos estudos transversais, dando suporte ao uso da relação Pr/Cr na rotina clínica, por sua simplicidade e baixo custo e, principalmente, por refletir com elevada acurácia as mudanças na proteinúria de pacientes glomerulopatias em tratamento.

## REFERÊNCIAS

1. CARI guideline. Guideline 1. Testing for proteinuria and Guideline 2: Performance characteristics of tests used in the initial evaluation of patients at risk of renal disease. *Nephrology* 2004; 9: S3-S14.
2. Shaw AB, Risdon P, Lewis-Jackson JD. Protein creatinine index and Albustix in assessment of proteinuria. *Br Med J* 1983; 287:929-32.
3. Gaspari F, ChemD, Perico N and Remuzzi G. Timed Urine Collections Are Not Needed to Measure Urine Protein Excretion in Clinical Practice. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(1): 1-7.
4. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 1983; 309(25):1543-6.
5. Chitalia VC, Kothari J, Wells EJ, Livesey JH, Robson RA, Searle M, Lynn KL. Cost-benefit analysis and prediction of 24-hour proteinuria from the spot urine protein-creatinine ratio. *Clin Nephrol* 2001; 55: 436-47.
6. Kristal B, Shasha SM, Labin L, Cohen A. Estimation of quantitative proteinuria by using the protein/creatinine ratio in random urine samples. *Am J Nephrol* 1988; 8: 198-203.
7. Boler L, Zbella EA, Gleicher N. Quantitation of proteinuria in pregnancy by the use of single voided urine samples. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 99-100.
8. Combs CA, Wheeler BC, Kitzmiller JL. Urinary protein/creatinine ratio before and during pregnancy in women with diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 920-3.
9. Saudan PJ, Brown MA, Farrell T, Shaw L. Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104: 1159-64.
10. Ramos JG, Martins-Costa SH, Mathias MM, Guerin YL, Barros EG. Urinary protein/creatinine ratio in hypertensive pregnant women. *Hypertens Pregnancy* 1999; 18: 209-18.
11. Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveira JR, 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: 516-9.
12. Dyson EE, Will EJ, Davison AM, O'Malley AH, Shepherd HT, Jones RG. Use of the urinary protein creatinine index to assess proteinuria in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 450-2.

13. Steinhauslin F, Wauters JP. Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio. *Clin Nephrol* 1995; 43: 110-5.
14. Abitol C, Zilleruelo G, Freundlich M, Strauss J. Quantification of proteinuria with urinary protein/creatinine ratio and random testing with dipstick in nephritic children. *J Pediatr* 1990; 116: 243-7.
15. Iyer RS, Shailaja SN, Bhaskaranand N, Baliga M, Venkatesh A. Quantitation of proteinuria using protein-creatinine ratio in random urine samples. *Indian Pediatr* 1991; 28: 463-7.
16. Sato M, Haizuka H, Asakura H, Suminaga M. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in random urine samples. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1996; 36: 8-12.
17. Schwab SJ, Christensen RL, Dougherty K, Klahr S. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples. *Arch Intern Méd* 1987; 147: 943-4.
18. Morales JV, Weber R, Wagner MB, Barros EJ. Is morning urinary protein/creatinine ratio a reliable estimator of 24-hour proteinuria in patients with glomerulonephritis and different levels of renal function? *J Nephrol* 2004; Sep-Oct; 17 (5): 666-72.
19. Ruggenti P, Gaspari F, Perna A and Remuzzi G. Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24 hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *BMJ* 1998; 316:504-9.
20. The Seventh Report of the Joint National Committee on prevention, evaluation and treatment of high blood pressure. The JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289: 3560-72.
21. Ponticelli C, Zuchelli P, Passerini P, et al. A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy. *Kidney Int* 1995; 48: 1600-04.
22. Bland JM, Altman DG: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-10.
23. Bland JM, Altman DG: Comparing methods of measurement: Why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 1995; 346: 1085-7.
24. National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guideline for chronic disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (2 suppl 1): S1-266.

**Tabela 1. Características clínicas e laboratoriais iniciais**

<b>Variáveis</b>	<b>Valores</b>
Sexo (masc/fem), n°	25/16
Idade, (anos)	38 ± 17
Hipertensão (sim/não), n°	9 /32
Proteinúria de 24hs, g	6,70 ± 5,20
Relação Pr/Cr	4,80 ± 3,10
Creatinina sérica, mg/dl	1,4 ± 0,7
DCE medida, ml/min	77,8 ± 36,2

Os dados são apresentados como número e média ± DP.

**Tabela 2. Valores iniciais da Proteinúria de 24 horas e da relação Pr/Cr de acordo com os níveis de proteinúria**

	Níveis de proteinúria	
	<i>Nefrótica</i> (n = 26)	<i>Não nefrótica</i> (n = 15)
Proteinúria de 24hs, g	9,50 ± 4,70	1,90 ± 0,70
Limites	3,60 – 27,30	0,30 – 3,10
Relação Pr/Cr	6,70 ± 2,30	1,60 ± 0,80
Limites	3,20 – 6,70	0,36 – 2,90

Os dados são apresentados como média ± DP  
Limites mínimo e máximo

**Tabela 3. Diferença entre a Prot 24h e a relação Pr/Cr com IC 95% nos 6 períodos do estudo.**

Limites de concordância (*)		
Mês	Prot 24h – Pr/Cr	IC 95%
1	1,88	- 3,70 a 7,46
2	1,22	- 4,10 a 6,50
3	1,07	- 4,33 a 6,47
4	0,65	- 3,00 a 4,31
5	0,34	- 2,72 a 3,40
6	0,57	- 2,07 a 3,21

(\*) Método de Bland-Altman (22,23).



**Tabela 4. Acurácia da relação Pr/Cr para o diagnóstico de *proteinúria patológica* e *proteinúria nefrótica*.**

Níveis de Pr/Cr →	Prot 24h ≥ 0,2g			Prot 24h ≥ 3,5g		
	0,20	0,25	0,30	2,5	3,0	3,5
Sensibilidade (%)	98,2	97,4	96,0	98,8	95,3	90,6
Especificidade (%)	73,7	94,7	94,7	89,4	95,7	99,4
VPP* (%)	97,8	99,5	99,5	83,2	92,0	98,7
VPN** (%)	77,8	75,0	66,7	99,3	97,5	95,2

Prot 24h: g/1,73m<sup>2</sup>

Pr/Cr : mg/dL / mg/dL

(\*) VPP: Valor preditivo positivo

(\*\*) VPN: Valor preditivo negativo

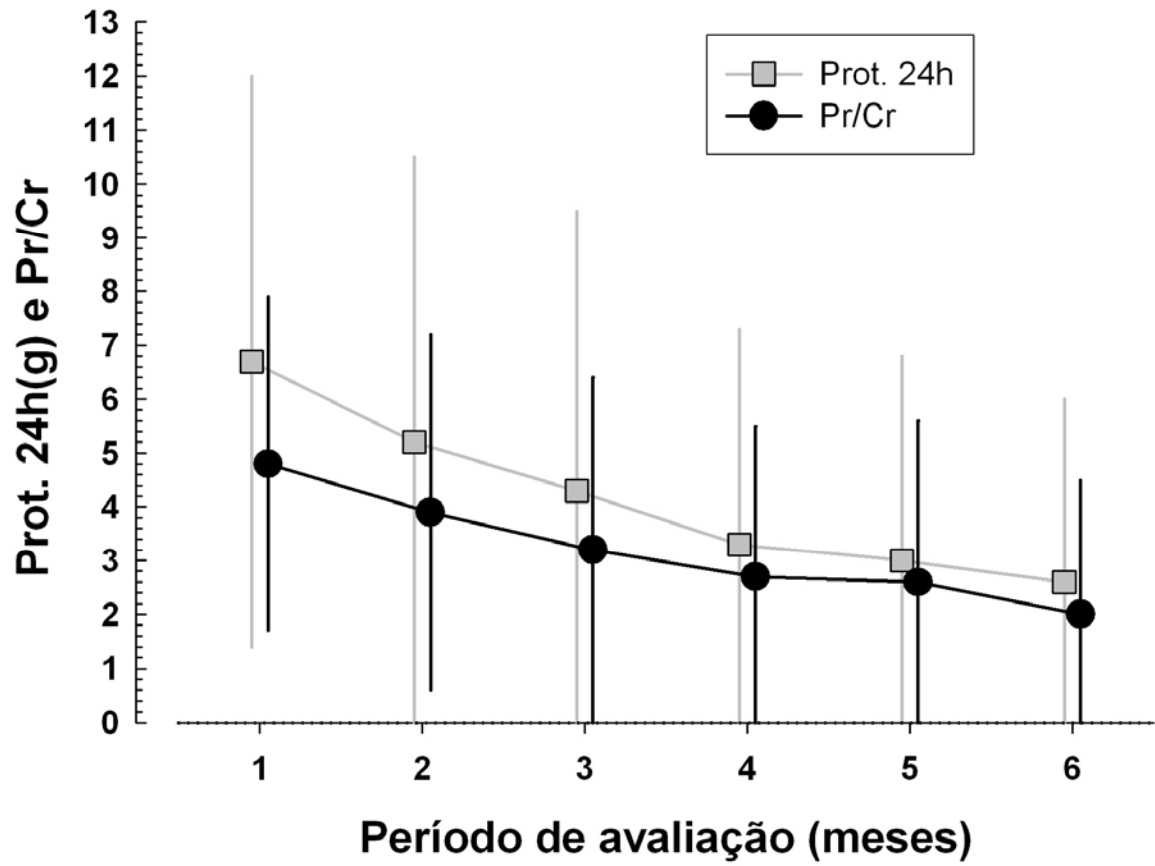


Figura 1. Média e DP das medidas da Prot. 24h e Pr/Cr ao longo dos 6 momentos de coleta.

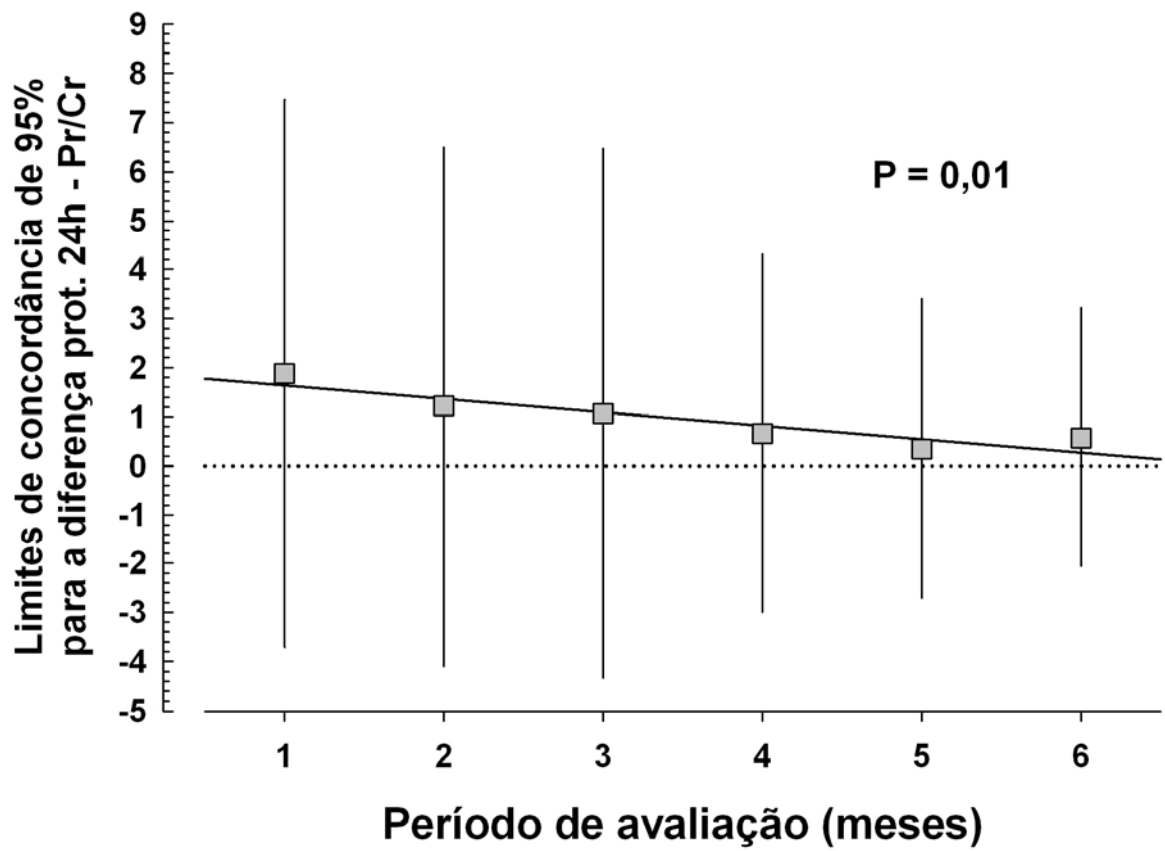


Figura 2. Representação pelo método de Bland e Altman dos limites de concordância entre a diferença Prot 24h – Pr/Cr com intervalo de confiança de 95% durante período de avaliação.

**5 ARTIGO EM INGLÊS: DIAGNOSTIC ACCURACY OF THE PROTEIN/CREATININE RATIO IN URINE SAMPLES TO ESTIMATE 24-HOUR PROTEINURIA IN PATIENTS WITH PRIMARY GLOMERULOPATHIES: A LONGITUDINAL STUDY**

**Verônica Verleine Hörbe Antunes<sup>1</sup>**

**Francisco José Veríssimo Veronese<sup>2</sup>**

**José Vanildo Morales<sup>3</sup>**

Post Graduate Program in Medical Sciences: Nephrology, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Division of Nephrology Glomerulonephritis Clinic. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS. Brazil.

The study was funded by Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) at Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**Corresponding author:**

José Vanildo Morales M.D.  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Division of Nephrology  
Rua Ramiro Barcelos, nº 2350, sala 2030  
CEP: 90035-003  
Porto Alegre, RS – Brazil  
Phone: 51 – 21018295  
Fax: 51 – 21018121  
E-mail: [jmorales@hcpa.ufrgs.br](mailto:jmorales@hcpa.ufrgs.br)

**Short title:** Longitudinal study of P/C ratio in patients with glomerulopathies.

---

<sup>1</sup> Attending Nephrologist.

<sup>2</sup> Attending Nephrologist, Associate Professor, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>3</sup> Attending Nephrologist, Associate Professor, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

**DIAGNOSTIC ACCURACY OF THE PROTEIN/CREATININE RATIO IN URINE  
SAMPLES TO ESTIMATE 24-HOUR PROTEINURIA IN PATIENTS WITH  
PRIMARY GLOMERULOPATHIES: A LONGITUDINAL STUDY**

**ABSTRACT**

**Introduction:** Protein/creatinine ratio (P/C) in urine samples has been used for the clinical management of patients with glomerular diseases, but no study has evaluated yet the longitudinal performance of this method in correlation 24-hour proteinuria (P24). The aim of this study is to perform a prospective evaluation of the accuracy of P/C ratio to determine critical levels of proteinuria in patients with glomerulopathies.

**Patients and methods:** This is a longitudinal study of 41 adult patients with primary glomerulopathies treated with immunosuppressive drugs or angiotensin-converting enzyme inhibitors in a six-month follow up. The correlation between 24-hour proteinuria and the P/C ratio in urine samples and the level of agreement between the two tests were analyzed using the Bland and Altman method. ANOVA for repeated measures was employed to evaluate the differences between the means of the two tests in the six month period. Diagnostic accuracy of the P/C ratio was evaluated by analyzing its sensitivity and specificity.

**Results:** There was a significant correlation between 24-hour proteinuria and the P/C ratio during the six month period, and the  $r$  values were 0.90; 0.92; 0.89; 0.91; 0.93 and 0.94, respectively ( $p < 0.001$  in all period). The mean differences between 24-hour proteinuria and the P/C ratio from the first to the sixth month were 1.88; 1.22; 1.07; 0.65; 0.34 0.57 ( $p < 0.01$ ). Consequently, the agreement between the two methods was greater during the last three months of observation, when the proteinuria was in lower levels. P/C ratio presented a sensitivity of 100% and a specificity of 95% to diagnose *pathological proteinuria*. A P/C value of 3.0 showed 90% sensitivity and 93% specificity to diagnose *nephrotic proteinuria*.

**Conclusion:** There was an excellent correlation and agreement between the P/C ratio and 24-hour proteinuria with reproducible values throughout the follow up period. Therefore, this longitudinal analysis corroborates the findings of previous cross-sectional studies, supporting the use of P/C ratio in the clinical management of patients with glomerular disease.

**Key words:** protein/creatinine ratio, 24-hour proteinuria, nephrotic proteinuria, primary glomerulopathies.

## INTRODUCTION

Proteinuria is an early sensitive marker of renal damage, and it is the most important test for both the initial evaluation and follow-up of patients with glomerulopathies. Dipstick tests are not clinically useful, since they present low specificity and sensitivity for detection and quantification of proteinuria (1). Moreover, measurement of protein in 24-hour urine is not convenient and is subject to collection errors, which may range from 12% to 35% in previous series (2-4). Since 1983, several studies have used the protein/creatinine ratio (P/C) in urine samples in different clinical settings to estimate 24-hour proteinuria (P24), with a good correlation and agreement of these two methods (4-18). However, these studies are cross-sectional and did not address the critical issue of P/C ratio accuracy compared with P24 in individual patients prospectively. Ruggenti et al. (19) correlated the P/C ratio and P24 only in baseline urine measurements of non-diabetic nephropathies, but these authors evaluated only the P/C ratio in the longitudinal study.

In patients with glomerulopathies with or without nephrotic syndrome, repeated measures of proteinuria are needed to evaluate the effects of therapeutic interventions and to determine the outcome of the glomerular disease, in order to achieve an appropriate clinical management. Furthermore, in these patients, it is necessary to define a precise level of proteinuria to identify a total or partial response, or resistance to treatment.

The purpose of this study is to evaluate P/C ratio and P24, concurrently and sequentially, in order to validate the clinical usefulness of the P/C ratio compared with 24-hour proteinuria, in patients with primary glomerulopathies under therapeutic intervention with immunosuppressants or angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI).

## PATIENTS AND METHODS

**Study design:** This is a longitudinal study in patients with primary glomerulopathies followed over a six-month period.

**Patients:** During a 18-month period, patients with primary glomerulopathies followed at the outpatient clinic in Hospital de Clínicas de Porto Alegre were included in the study, according to the following criteria: over 14 years of age, creatinine clearance  $\geq 15\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ , absence of severe cardiac disease, absence of urinary tract infection, no drugs that interfere in urinary creatinine excretion, and absence of pregnancy. Forty-five patients were initially selected, but 4 were excluded because they did not fulfill the inclusion criteria. Clinical characteristics of these 41 remaining patients were: 26 patients with nephrotic syndrome ( $\text{P}_{24} \geq 3.5\text{g}/1.73\text{m}^2$ ) treated with immunosuppressants (20 with segmental and focal glomerulosclerosis (FSGS) and 6 with idiopathic membranous nephropathy (GIMN)); and 15 patients with *non-nephrotic proteinuria* ( $\text{P}_{24} < 3.5\text{g}/1.73\text{m}^2$ ) using ACEI, other anti-hypertensives and statins as needed. Endogenous creatinine clearance was measured by the standard formula with collected 24-hour urine. Both creatinine clearance and 24-hour proteinuria were corrected for body surface area of  $1.73\text{ m}^2$ . Patients with blood pressure  $\geq 140/90\text{mmHg}$  were considered hypertensive (20).

*Treatment protocol:* In patients with FSGS, prednisone was used initially at a dose of  $1\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ , for up to 4-6 months; in patients who had frequent relapses and in those who were steroid-dependent, cyclophosphamide was included at a dose of  $1.5\text{-}2.5\text{kg}/\text{day}$ ; in the steroid-resistant group, cyclosporine was introduced at a dose of  $4\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ . In patients with GIMN, the Italian protocol was initially used for six months, followed by cyclosporine in non-responsive cases ( $4\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ ) (21).

All patients were informed about the study purposes and gave their written consent. The present study was approved by the Committee of Ethics in Research at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, accredited by the National Committee of Ethics in Research, connected to the Ministry of Health and to the Office for Human Research Protection – OHRP) – USDHHS – of the United States of America as the Institutional Review Board-IRB 00000921).

**Urine samples:** Patients were instructed to collect urine during 24 hours observing total collection time, followed by a blood sample and another urine sample

wich were collected separately. P/C ratio was calculated dividing urinary protein by urinary creatinine, both in mg/dL. Twenty-four hours proteinuria was measured in grams and adjusted for a body surface area of 1.73 m<sup>2</sup>. The specimen was rejected as probably incomplete if creatinine excretion in 24-hour (mg/kg) was below the minimum limits for age and sex, as follows: age under or equal to 50 (males  $\leq$  18.5 and females  $\leq$  16.5) and age above 50 (males  $\leq$  15.7 and females  $\leq$  11.8).

**Laboratory methods:** Serum creatinine and urinary creatinine (mg/dl) concentrations were determined using the modified Jaffé method, in an automated ADVIA 1650/Mega Bayer® apparatus. The urinary protein concentration was determined using the colorimetric method with pyrogallol red using an automated ADVIA 1650/Cobas Mira Plus® apparatus. Coefficients of variation (CV) for serum creatinine, urinary creatinine and urinary protein were 3.23%, 3.77% and 4.08%, respectively.

**Statistical analysis:** Descriptive statistics are presented as percentages for qualitative data and as mean  $\pm$  SD for quantitative data. The correlation between 24-hour proteinuria and the P/C ratio during each period was analyzed by the Pearson coefficient. Agreement (CI 95%) between P24 and the P/C ratio during the six evaluation periods was measured by the Bland and Altman method (22, 23). Analysis of variance (ANOVA) for repeated measures (GLM) was employed to evaluate the mean differences (CI 95%) between P24 and P/C ratio measured in six time points. Accuracy of the P/C ratio for the diagnosis of *pathological non-nephrotic and nephritic range proteinuria* was calculated by sensitivity and specificity analysis. *p* values  $<$  0.05 were considered statistically significant. Data were processed and analyzed in SPSS for Windows software, version 12.0.

## RESULTS

Twenty-six patients with primary nephrotic syndrome under immunosuppressive therapy and 15 patients with non-nephrotic proteinuria treated with ACEI and other drugs were included. Two hundred and forty-six urine samples were used for analysis, being six samples per patient.

Table 1 shows demographic and laboratory characteristics of the patients. Mean  $\pm$ SD of P24 and the P/C ratio were 6.7g  $\pm$  5.2g and 4.8  $\pm$  3.1, respectively. All



patients had a creatinine clearance  $\geq 30$ ml/min (K-DOQI stages I to III). In Table 2 initial values of P24 and P/C ratio are presented according to the presence of nephrotic syndrome or non-nephrotic proteinuria. In patients with nephrotic syndrome, 24-hour proteinuria was  $9.5\text{g} \pm 4.7\text{g}$  and P/C ratio was  $6.7 \pm 2.3$ . In patients with non-nephrotic proteinuria, values of P24 and P/C ratio were  $1.9\text{g} \pm 0.7\text{g}$  and  $1.6 \pm 0.9$ , respectively. Minimum and maximum values for P24 and P/C ratio in both groups are also shown (Table 2).

Figure 1 presents the mean $\pm$ SD of 24-hour proteinuria and P/C ratio in the six collection periods. A reduction in 24-hour proteinuria levels and P/C ratio over the six months is expected in patients treated with immunosuppression or ACEI.

There was a significant correlation between P24 and P/C ratio, with the following  $r$  values for the six periods analyzed: 0.90; 0.92; 0.89; 0.91; 0.93 and 0.94, respectively ( $p < 0.001$ , for all correlations).

In Table 3 and Figure 2 the means and limits of agreement (CI 95%) of the differences between P24 and P/C ratio during all periods (Bland and Altman method) are presented. During the first three months of the observation, when urinary protein excretion was very high, the agreement between the two methods was poor; however, a good agreement was found in lower levels of proteinuria. When analysis was performed by Bland and Altman method, with statistical analysis by ANOVA for repeated measures (GLM), statistical significance was found in the limits of agreement of the two methods (CI 95%) ( $p = 0.01$ ).

Table 4 shows the accuracy of P/C ratio (sensitivity and specificity) for the diagnosis of critical levels of proteinuria in patients with primary glomerulopathy, with 24-hour proteinuria as the reference standard.

## DISCUSSION

In clinical practice, a morning urine sample can be used to detect and monitor urinary protein excretion. Although the albumin/creatinine ratio in urine samples is more reliable, limitations due to cost and technical difficulties make its routine use impractical. P/C ratio is an acceptable alternative, especially to monitor protein excretion in conditions where repeated measurements are mandatory for a

successful clinical management. The recommendations for its use were published in the NKF K/DOQI: guideline 5 (24).

The main limitations of P/C ratio, such as age, sex, muscle mass and level of renal function, must be taken into account when following patients with nephropathies. It is well known that P/C ratio underestimates proteinuria in men and overestimates its values in women, in the elderly, and in individuals with tiny muscle mass. The level of renal function has been considered another important issue that can influence interpretation of P/C ratio. However, Morales et al (18) in a recent study demonstrated that this variable does not interfere significantly in the results.

In the present study and in other publications (7,9,18), it was found that the higher the level of proteinuria, the smaller the correlation and agreement between 24-hour proteinuria and P/C ratio. Patients with nephrotic syndrome generally present lower P/C values that do not correlate with P24. When treating patients with glomerulopathies, with or without nephrotic syndrome, the clinical goal is to normalize or at least to reduce proteinuria. Therefore, in clinical practice the absolute level of proteinuria in individual measurements is less important than its modification and reproducibility over time as a result of therapeutic interventions. In this context, assuming that reproducibility of the P/C ratio since initial diagnosis is adequate, it can be said that significant reduction in the P/C ratio means reduction in protein excretion, even if absolute values cannot be estimated with optimal accuracy (24).

For patients with nephrotic syndrome under immunosuppressive protocols, the decision to change, maintain or withdraw the drug regimen depends on critical levels of proteinuria. In this study, the following values of 24-hour proteinuria were categorized as *pathologic*  $\geq 0.2\text{g}$ , *nephrotic*  $\geq 3.5\text{g}$ , and *non-nephrotic*  $> 0.2\text{g}$  and  $< 3.5\text{g}$ . For detection of these levels of proteinuria, the P/C ratio presented a high sensitivity, specificity and positive predictive value. As the positive predictive value is a measure of accuracy that depends on the prevalence of the condition, we can estimate that it must be very high in the context of proteinuria. Two previous studies (4, 6) used values of the P/C ratio  $\leq 0.2$  and  $\geq 3.5$  in patients with various nephropathies and stable renal function for the diagnosis of *pathologic proteinuria* ( $P_{24} \geq 0.2\text{g}$ ) and *nephrotic range proteinuria* ( $P_{24} \geq 3.5\text{g}$ ), respectively. In a study with pregnant women, Ramos et al (10) reported that the best cut off to define normal protein excretion ( $< 0.3\text{g}$ ) was a P/C ratio of 0.5. Two other recent studies (5,18) with a large number of patients also adopted a value  $\geq 0.2\text{g}$  in the definition of *pathologic*

*proteinuria*, and  $\geq 3.5$ g for *nephrotic range proteinuria*. Chitalia et al (5) described P/C values of 0.26 and 3.2 as the best cut off points to establish critical levels of proteinuria.

Morales et al (18) reported in patients with primary glomerular diseases a sensitivity of 93% and a specificity of 100% for P/C values equal or greater than 0.3, in relation to 24-hour proteinuria as the reference standard. In this study, the best cut off to define *nephrotic range proteinuria* was 3.0 (90% sensitivity and 97% specificity). Using the likelihood ratio (LR) to evaluate the accuracy of the P/C ratio in higher levels of proteinuria, values below 2.5 exclude the possibility of *nephrotic range proteinuria* (LR = 0.0), while values higher than 3.5 confirm this condition (LR = 53.39). For P/C values from 2.51 to 3.5, LR ranged between 1.74 and 4.64, suggesting that interpretation of P/C ratio should be based on clinical data, such as weight, gender, race and body surface area for individual patients (data not published).

To our knowledge, this is the first longitudinal study comparing 24-hour proteinuria and P/C ratio in patients with primary glomerulopathies. In summary, an excellent agreement was found between the two methods, with reproducible values during the follow-up period. Therefore, this longitudinal analysis corroborates the findings of previous cross-sectional studies, supporting the use of P/C ratio in the clinical setting by its simplicity and low cost. Most important, P/C ratio reflects, with high accuracy, the changes in proteinuria over time in patients with primary glomerular diseases under treatment.

## REFERENCES

1. CARI guideline. Guideline 1: Testing for proteinuria and Guideline 2: Performance characteristics of tests used in the initial evaluation of patients at risk of renal disease. *Nephrology* 2004; 9: S3-S14.
2. Shaw AB, Risdon P, Lewis-Jackson JD. Protein creatinine index and Albustix in assessment of proteinuria. *Br Med J* 1983; 287:929-32.
3. Gaspari F, ChemD, Perico N and Remuzzi G. Timed Urine Collections Are Not Needed to Measure Urine Protein Excretion in Clinical Practice. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(1): 1-7.
4. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 1983; 309(25):1543-46.
5. Chitalia VC, Kothari J, Wells EJ, Livesey JH, Robson RA, Searle M, Lynn KL. Cost-benefit analysis and prediction of 24-hour proteinuria from the spot urine protein-creatinine ratio. *Clin Nephrol* 2001; 55: 436-47.
6. Kristal B, Shasha SM, Labin L, Cohen A. Estimation of quantitative proteinuria by using the protein/creatinine ratio in random urine samples. *Am J Nephrol* 1988; 8: 198-203.
7. Boler L, Zbella EA, Gleicher N. Quantitation of proteinuria in pregnancy by the use of single voided urine samples. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 99-100.
8. Combs CA, Wheeler BC, Kitzmiller JL. Urinary protein/creatinine ratio before and during pregnancy in women with diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 920-3.
9. Saudan PJ, Brown MA, Farrell T, Shaw L. Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104: 1159-64.
10. Ramos JG, Martins-Costa SH, Mathias MM, Guerin YL, Barros EG. Urinary protein/creatinine ratio in hypertensive pregnant women. *Hypertens Pregnancy* 1999; 18: 209-18.
11. Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveira JR, 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: 516-9.
12. Dyson EE, Will EJ, Davison AM, O'Malley AH, Shepherd HT, Jones RG. Use of the urinary protein creatinine index to assess proteinuria in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 450-2.
13. Steinhauslin F, Wauters JP. Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio. *Clin Nephrol* 1995; 43: 110-5.

14. Abitol C, Zilleruelo G, Freundlich M, Strauss J. Quantification of proteinuria with urinary protein/creatinine ratio and random testing with dipstick in nephritic children. *J Pediatr* 1990; 116: 243-7.
15. Iyer RS, Shailaja SN, Bhaskaranand N, Baliga M, Venkatesh A. Quantitation of proteinuria using protein-creatinine ratio in random urine samples. *Indian Pediatr* 1991; 28: 463-7.
16. Sato M, Haizuka H, Asakura H, Suminaga M. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in random urine samples. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1996; 36: 8-12.
17. Schwab SJ, Christensen RL, Dougherty K, Klahr S. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples. *Arch Intern Méd* 1987; 147: 943-4.
18. Morales JV, Weber R, Wagner MB, Barros EJ. Is morning urinary protein/creatinine ratio a reliable estimator of 24-hour proteinuria in patients with glomerulonephritis and different levels of renal function? *J Nephrol* 2004; Sep-Oct; 17 (5): 666-72.
19. Ruggenti P, Gaspari F, Perna A and Remuzzi G. Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24 hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *BMJ* 1998; 316:504-9.
20. The Seventh Report of the Joint National Committee on prevention, evaluation and treatment of high blood pressure. The JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289: 3560-72.
21. Ponticelli C, Zucchelli P, Passerini P, et al. A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy. *Kidney Int* 1995; 48: 1600-4.
22. Bland JM, Altman DG: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-10.
23. Bland JM, Altman DG: Comparing methods of measurement: Why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 1995; 346: 1085-7.
24. National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guideline for chronic disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (2 suppl 1): S1-266.

**Table 1. Demographic and laboratory data at presentation**

<b>Variables</b>	<b>Values</b>
Male, n (%)	25 (61%)
Age (years)	38 ± 17
Hypertension, n (%)	9 (22%)
24-hour proteinuria, (g)	6.7 ± 5.3
P/C ratio	4.8 ± 3.1
Serum creatinine, (mg/dL)	1.4 ± 0.7
Creatinine clearance, (mL/min)	77.8 ± 36.2

Data are presented as numbers (percentage) or mean ± SD.

**Table 2. Initial values of 24-hour proteinuria and of P/C ratio**

	Proteinuria levels	
	<i>Nephrotic</i> (n = 26)	<i>Non-nephrotic</i> (n = 15)
24-hour proteinuria, (g)	9.50 ± 4.70	1.90 ± 0.70
Limits	3.60 – 27.30	0.30 – 3.10
P/C ratio	6.70 ± 2.30	1.60 ± 0.80
Limits	3.20 – 6.70	0.36 – 2.90

The data are presented as mean ± SD.  
Minimum and maximum values.

**Table 3. Difference between 24-hour proteinuria and P/C ratio with 95% CI in the six months of observation**

<b>Limits of agreement (*)</b>		
<b>Month</b>	<b>P24 – P/C ratio</b>	<b>CI 95%</b>
1	1.88	- 3.70 to 7.46
2	1.22	- 4.10 to 6.50
3	1.07	- 4.33 to 6.47
4	0.65	- 3.00 to 4.31
5	0.34	- 2.72 to 3.40
6	0.57	- 2.07 to 3.21

(\*) Bland-Altman Method (22,23).



**Table 4. Accuracy of P/C ratio in the diagnosis of *pathologic proteinuria* and nephrotic range proteinuria**

P/C levels →	P24 ≥ 0.2g			P24 ≥ 3.5g		
	0.20	0.25	0,30	2.5	3.0	3.5
Sensitivity (%)	98.2	97.4	96.0	98.8	95.3	90.6
Specificity (%)	73.7	94.7	94.7	89.4	95.7	99.4
PPV* (%)	97.8	99.5	99.5	83.2	92.0	98.7
NPV** (%)	77.8	75.0	66.7	99.3	97.5	95.2

P24: g/1.73m<sup>2</sup>

P/C : mg/dL / mg/dL

(\*) PPV: Positive predictive value

(\*\*) NPV: Negative predictive value

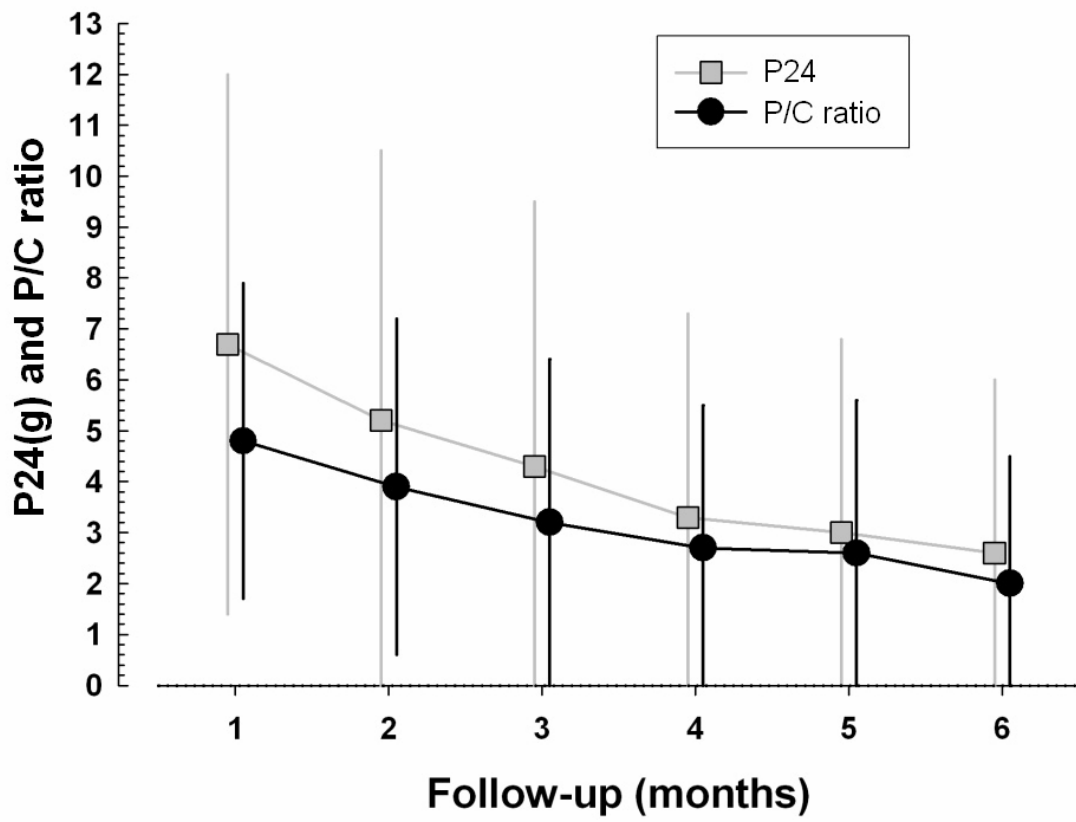


Figure 1. Mean  $\pm$ SD of 24-hour proteinuria and P/C ratio measurements in the six time points of observation.

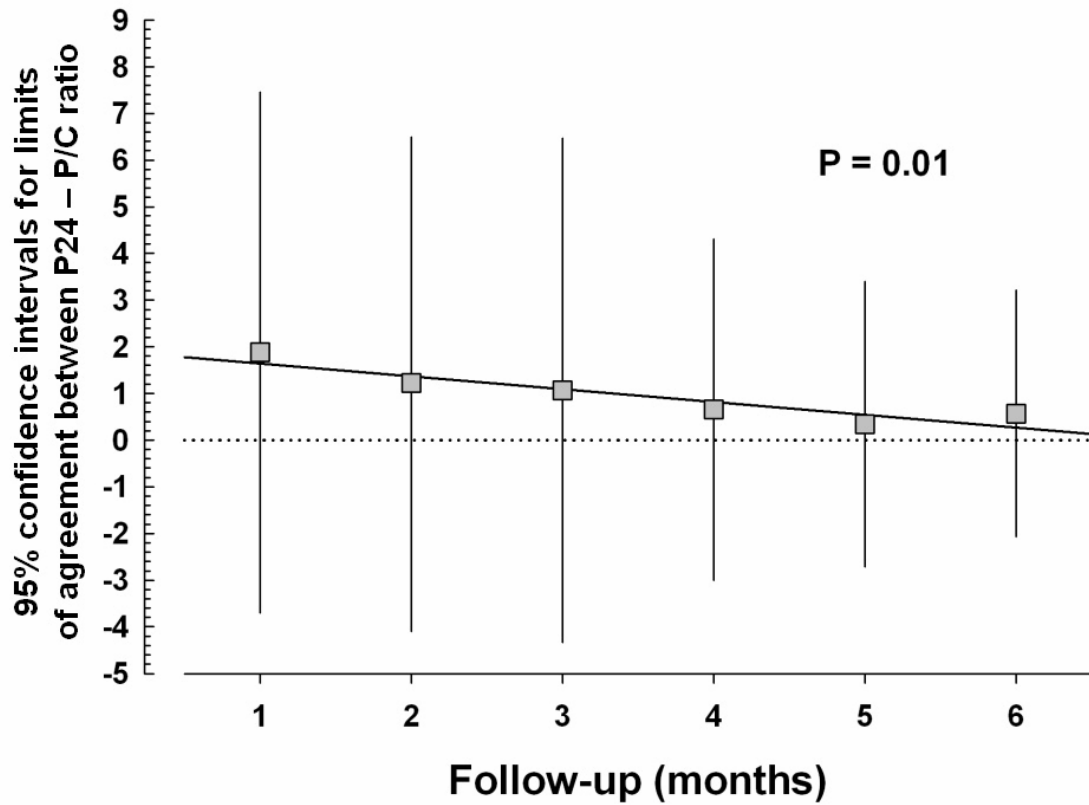


Figure 2. Bland and Altman representation of the limits of agreement between P24 - P/C ratio difference with 95% CI during the six time points of collection.