

Avaliação da taxa de filtração glomerular estimada com base na cistatina C em nefropatia diabética

Assessment of estimated glomerular filtration rate based on cystatin C in diabetic nephropathy

Autores

Kadriye Akpınar¹ 

Diler Aslan¹

Semin Melahat Fenççi²

¹Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Denizli, Turkey.

²Pamukkale University, Faculty of Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, Denizli, Turkey.

RESUMO

Introdução: A TFG é estimada usando creatinina e cistatina C para determinar a disfunção renal. Nosso objetivo foi avaliar a TFG estimada (TFGe) com base na cistatina C em pacientes com diabetes do tipo 2 com nefropatia diabética (ND). **Métodos:** O grupo de estudo incluiu 52 controles (46% homens, idade: 54,5±12,4) e 101 pacientes diabéticos (46,5% homens, idade: 58,2±11). Os diabéticos foram divididos em três subgrupos de acordo com a albumina na urina de 24 horas: albuminúria normal a levemente aumentada (A1) (n=51), moderadamente aumentada (A2) (n=25) e severamente aumentada (A3) (n=25). Foi determinado o clearance de creatinina (Clcr). As correlações entre Clcr e TFGe calculadas de acordo com as fórmulas CKD-EPI, MDRD, e Cockcroft-Gault (CG), e as curvas ROC foram avaliadas. Os dados foram analisados usando o SPSS 22.0. **Resultados:** Somente a TFGe CKD-EPI-cis foi significativamente menor no grupo A1 do que nos controles (p=0,021). Todas as TFGs foram mais baixas no grupo A3 do que no grupo controle (CKD-EPI-cr, MDRD, CKD-EPI-cis, CKD-EPI-cr-cis: p=0,0001, CG e Clcr: p=0,001) e no grupo A1 (para todas as TFGs p=0,0001). As TFGe CKD-EPI-cr (p=0,004), MDRD (p=0,01), CG (p=0,037), CKD-EPI-cis (p=0,033), e CKD-EPI-cr-cis (p=0,016) no grupo A2 foram significativamente diferentes do grupo A1. Todas as TFGe mostraram uma correlação moderada com Clcr no grupo A1 (CKD-EPI-cr e CKD-EPI-cr-cis: r=0,49, p=0,0001, MDRD: r=0,44, p=0,001, CG r=0,48, p=0,0001; CKD-EPI-cis r=0,40, p=0,004). A área sob a curva ROC CKD-EPI-cis foi a mais alta e foi considerada 0,847 (95%IC 0,763-0,931, p=0,0001). **Conclusões:** Nossos resultados mostraram que a TFGe CKD-EPI-cis pode ser útil na detecção do estágio inicial de ND e com maior valor de predição do que as outras para a predição da ND.

ABSTRACT

Introduction: GFR is estimated by using creatinine and cystatin C to determine renal dysfunction. Our aim was to evaluate estimated GFR (eGFR) based on cystatin C in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy (DN). **Methods:** Study group included 52 controls (46% male, age: 54.5±12.4) and 101 diabetic patients (46.5% male, age: 58.2±11). The diabetics were divided into three subgroups according to 24-hour urine albumin: normal to mildly increased (A1) (n=51), moderately increased (A2) (n=25), severely increased (A3) (n=25) albuminuria. Creatinine clearance (CrCl) was determined. Correlations between CrCl and eGFRs estimated according to the CKD-EPI, MDRD, and Cockcroft-Gault (CG) formulas, and ROC curves were evaluated. Data were analyzed using SPSS 22.0. **Results:** Only CKD-EPI-cys eGFR was significantly lower in the A1 group than the controls (p=0.021). All GFRs were lower in the A3 group than the control (CKD-EPI-cr, MDRD, CKD-EPI-cys, CKD-EPI-cr-cis: p=0.0001, CG and CrCl: p=0.001) and A1 (for all GFRs p=0.0001) groups. CKD-EPI-cr (p=0.004), MDRD (p=0.01), CG (p=0.037), CKD-EPI-cys (p=0.033), and CKD-EPI-cr-cis (p=0.016) eGFRs in the A2 group were significantly different from the A1 group. All eGFRs showed a moderate correlation with CrCl in the A1 group (CKD-EPI-cr and CKD-EPI-cr-cis: r=0.49, p=0.0001, MDRD: r=0.44, p=0.001, CG r=0.48, p=0.0001; CKD-EPI-cys r=0.40, p=0.004). The area under the CKD-EPI-cys ROC curve was the highest and found to be 0.847 (95%CI 0.763-0.931, p=0.0001). **Conclusions:** Our results showed that the CKD-EPI-cys eGFR can be useful in detecting the early stage of DN and more predictive than the others for prediction of DN.

Data de submissão: 08/08/2020.

Data de aprovação: 07/12/2020.

Correspondência para:

Kadriye Akpınar.

E-mail: dr.akpinar.kadriye@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2020-0145>



Descritores: Diabetes Mellitus Tipo 2; Nefropatias Diabéticas; Taxa de Filtração Glomerular; Cistatina C.

Keywords: Diabetes Mellitus, Type 2; Diabetic Nephropathies; Glomerular Filtration Rate; Cystatin C.

INTRODUÇÃO

Taxa de filtração glomerular (TFG) é a taxa de fluxo em mililitros por minuto do plasma em que substâncias são filtradas livremente pelas membranas de glomérulos renais¹. A TFG é considerada o melhor indicador da função renal. O método padrão-ouro para avaliar a TFG é a depuração renal da inulina. No entanto, como uma substância exógena, a inulina não é adequada para a prática diária². Creatinina e cistatina C são marcadores endógenos utilizados na estimativa da TFG³. A creatinina é um marcador conveniente e barato para a TFG, mas é afetada pela idade, sexo, exercício, massa muscular e dieta⁴. Um dos métodos de avaliação mais amplamente utilizados para a TFG é o clearance de creatinina de 24 horas (Clcr). Entretanto, por ser demorado e a coleta da urina de 24 horas não ser precisa, algumas fórmulas úteis foram produzidas para a estimativa da TFG (TFGe) por meio dos níveis séricos de creatinina e/ou cistatina C. Estas fórmulas são mostradas na Quadro 1^{5,6,7}.

A nefropatia diabética (ND) é uma síndrome clínica patológica caracterizada pela excreção urinária de albumina em pacientes diabéticos, associada a lesões glomerulares e perda da TFG.

A incidência de ND aumenta com o tempo e leva à doença renal crônica (DRC) (12-55%)^{8,9}.

Pacientes com DRC têm albuminúria persistente (>300 mg/24 horas ou >20 µg/dk), e geralmente suas TFGe estão abaixo de <60 mL/min/1,73m². Os níveis de albumina na urina e as TFGe devem ser avaliados pelo menos uma vez por ano em pacientes com diabetes tipo 2 com hipertensão comórbida, e naqueles com diabetes tipo 1 por mais de 5 anos⁶. De acordo com a Associação Americana de Diabetes (AAD), a TFGe com base na creatinina calculada pelas fórmulas Modificação de Dieta em Doença Renal (MDRD - do inglês Modification of Diet in Renal Disease) ou Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) pode ser usada para a avaliação da TFG em pacientes com ND¹⁰.

A cistatina C é uma proteína de baixo peso molecular que é um inibidor endógeno da cisteína proteínase e tem uma alta correlação com a TFG. Esta correlação é independente de condições inflamatórias, massa muscular, sexo, composição corporal e idade (após 12 meses). Ao contrário da creatinina, não possui uma secreção tubular. Os níveis séricos e de urina da cistatina C são mais altos na ND tipo 2.

QUADRO 1 EQUAÇÕES COM BASE EM CREATININA E CISTATINA C PARA TFGE^{5,6,7}

$$\text{Clcr (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = [\text{CrU/CrS}] \times [\text{Volume de urina de 24 horas (mL)/1440}] \times [1,73/\text{ASC}]$$

CrU é creatinina da urina (mg/dL), CrS é creatinina sérica (mg/dL). ASC (área de superfície corporal) é calculada usando a fórmula de DuBois: $\text{ASC} = (\text{P}^{0,425} \times \text{A}^{0,725}) \times 0,007184$

$$\text{TFGe-MDRD (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{CrS})^{-1,154} \times (\text{Idade})^{-0,203} \times (0,742 \text{ se mulher}) \times (1,212 \text{ se preto})$$

CrS é creatinina sérica (mg/dL).

$$\text{2009 TFGe CKD-EPI-cr (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 141 \times \min(\text{CrS}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(\text{CrS}/\kappa, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Idade}} \times 1,018 [\text{se mulher}] \times 1,159 [\text{se preto}]$$

CrS é creatinina sérica (mg/dL), κ é 0,7 para mulheres e 0,9 para homens, α é -0,329 para mulheres e -0,411 para homens, min indica o mínimo de CrS/ κ ou 1, e max indica o máximo de CrS/ κ ou 1.

$$\text{2012 TFGe CKD-EPI cis C (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 133 \times \min(\text{CisS}/0,8, 1)^{-0,499} \times \max(\text{CisS}/0,8, 1)^{-1,328} \times 0,996^{\text{Idade}} \times 0,932 [\text{se mulher}]$$

CisS é cistatina sérica C (mg/dL), min indica o mínimo de CisS/0,8 ou 1, e max indica o máximo de CisS/0,8 ou 1.

$$\text{2012 TFGe CKD-EPI cr-cis C (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 135 \times \min(\text{CrS}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(\text{CrS}/\kappa, 1)^{-0,601} \times \min(\text{CisS}/0,8, 1)^{-0,375} \times \max(\text{CisS}/0,8, 1)^{-0,71} \times 0,995^{\text{Idade}} \times 0,969 [\text{se mulher}] \times 1,08 [\text{se preto}]$$

CrS é creatinina sérica (mg/dL), κ é 0,7 para mulheres e 0,9 para homens, α é -0,248 para mulheres e -0,207 para homens, min(CrS/ κ , 1) indica o mínimo de CrS/ κ ou 1, e max(CrS/ κ , 1) indica o máximo de CrS/ κ ou 1, min(CisS/0,8; 1) indica o mínimo de CisS/0,8 ou 1, e max(CisS/0,8; 1) indica o máximo de CisS/0,8 ou 1.

$$\text{TFGe Cockcroft-Gault (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = [140 - \text{Idade} \times \text{Peso corporal (kg)}] \times 0,85 (\text{se mulher}) / \text{CrS} \times 72$$

CrS é creatinina sérica (mg/dL).

*Para converter os valores de CrS em µmol/L para mg/dL, divida por 88,4.

Há vários estudos mostrando que a cistatina C tem melhor desempenho do que a creatinina como um indicador de TFG na doença renal crônica, e é superior a outros marcadores, especialmente em pacientes com TFGe <60 mL/min/1,73m², alterações na massa muscular, doenças hepáticas, nas crianças diabéticas e nos idosos^{11,12,13}.

Neste estudo, nosso objetivo foi avaliar a TFGe CKD-EPI-cis em pacientes com ND tipo 2, comparando com o clearance de creatinina, fórmulas CKD-EPI-cr, MDRD, CG, e TFGE CKD-EPI-cr-cis.

MATERIAIS E MÉTODOS

SUJEITOS DE PESQUISA

Cinquenta e dois controles saudáveis com idade ≥18 anos [n= 52, idade: 54,5 (DP: 12,4)] e 101 pacientes com diabetes tipo 2 admitidos no ambulatório de Endocrinologia e Metabolismo da Faculdade de Medicina da Universidade de Pamukkale, entre Dezembro de 2017 e Maio de 2018 [n= 101, idade: 58,2 (DP: 11)] foram incluídos em nosso estudo. Os critérios de exclusão incluíram o uso crônico de corticosteroides, obesidade significativa (IMC > 35 kg/m²), gravidez, doenças renais que não a ND, malignidade, infecção e distúrbios da tireoide para todos os sujeitos de pesquisa, e uso de medicamentos para voluntários saudáveis.

Foram registrados altura, peso, índice de massa corporal (IMC= peso (kg)/altura (m)²), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e histórico médico incluindo duração do diabetes, tabagismo e uso de álcool pelos pacientes e controles. A área de superfície corporal (ASC) foi calculada usando a fórmula DuBois¹⁴. Os diabéticos foram divididos em três subgrupos de acordo com a albumina na urina de 24 horas: albuminúria normal a levemente aumentada (A1) (n= 51); moderadamente aumentada (A2) (n= 25); e severamente aumentada (A3) (n= 25). O diagnóstico de ND foi feito pelo médico de acordo com as categorias de TFG e albuminúria, outros fatores de risco e condições comórbidas⁶. Todos os procedimentos envolvendo participantes e dados estavam de acordo com a Declaração de Helsinque de 2000 revisada e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica da Universidade Pamukkale (No. 13, Data: 10.03.2017).

MÉTODOS

Amostras de sangue venoso foram coletadas com os pacientes sentados, pela manhã, após 8-12 horas de jejum, em tubos gel a vácuo para bioquímica (Vacusera, Turquia) com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) (Vacusera, Turquia). Foram coletadas amostras de urina de 24 horas dos participantes após as instruções essenciais. As medições foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Medicina, Hospital de Pesquisa e Aplicação da Universidade de Pamukkale. Foram medidos os níveis séricos de proteínas totais (PsT), albumina (Albs), creatinina (Crs) e cistatina C (Cis Cs), hemoglobina glicada (HbA1c) e hematócrito (Htc), e também os níveis de proteína total (PTu), albumina (Albu) e creatinina (CRu) na urina de 24 horas.

Os níveis séricos de ureia e creatinina foram medidos pelo método cinético-colorimétrico (o método Jaffé “compensado” para creatinina foi padronizado contra os valores rastreáveis de espectrometria de massa de diluição isotópica (IDMS - do inglês isotope dilution mass spectrometry)) e a cistatina C sérica foi medida pelo método imunoturbidimétrico de partículas aprimoradas (PETIA - do inglês particle enhanced immunoturbidimetric assay) em analisador automático (Cobas 8000, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha). A proteína e a albumina da urina foram analisadas por ensaio imunoturbidimétrico, e a creatinina da urina foi analisada pelo método cinético-colorimétrico em analisador automático (Cobas 8000, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha). A HbA1c foi estudada por HPLC, método de troca iônica (Tosoh G8 Bioscience, EUA). O hematócrito foi medido pelo analisador de hematologia (Mindray BC 6800, China). Para o controle de qualidade interno, dois níveis de materiais de controle de qualidade avaliados foram testados uma vez por dia. Dois níveis de controles de qualidade internos fornecidos pelos fabricantes de kits (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) foram analisados rotineiramente uma vez ao dia, e o material do programa de controle de qualidade externo (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) foi analisado mensalmente. Todos os resultados foram aceitáveis durante o estudo.

As TFGs foram estimadas utilizando o clearance de creatinina, pelas fórmulas CKD-EPI com base na creatinina e/ou cistatina C, MDRD e Cockcroft-Gault (CG) vistas na Quadro 1^{5,6,7}.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A população do estudo foi determinada utilizando o programa G*Power 3.1 (Foul, Erdfelder, Lang e Bucher, 2007). De acordo com os resultados do estudo de referência¹⁵, as variáveis tiveram um grande tamanho de efeito ($F=0,725$). Assumindo que podemos atingir um nível de tamanho de efeito menor ($F=0,5$), o poder do estudo foi calculado antes do seu início. Assim, a inclusão de pelo menos 76 sujeitos de pesquisa (19 para cada grupo) no estudo resultaria em um poder de 95% com nível de confiança também de 95%. Considerando a possível perda de indivíduos, 30% a mais de sujeitos de pesquisa foram incluídos em cada grupo e o estudo foi concluído com 25 pessoas nos subgrupos de ND.

As informações dos pacientes (idade, sexo, raça, altura, peso, pressão arterial, histórico médico) e os resultados dos testes bioquímicos/hematológicos foram avaliados após todos os pacientes diabéticos serem divididos em três subgrupos de acordo com os níveis de albumina na urina de 24 horas: albuminúria normal a levemente aumentada (A1) (<30 mg/24 h), moderadamente aumentada (A2) (30-300 mg/24 h), e severamente aumentada (A3) (>300mg/24 h), e os resultados foram comparados entre esses subgrupos e indivíduos saudáveis. As variáveis contínuas foram expressas como média \pm desvio padrão (DP) ou medianas e quartis, e as variáveis categóricas como frequências e porcentagens. Os dados foram testados para detectar desvios da distribuição gaussiana usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando as suposições do teste paramétrico foram atendidas, foi usado o teste anova unilateral para comparação de diferenças de grupos independentes. Caso contrário, utilizou-se o teste Kruskal Wallis para comparar diferenças de grupos independentes. As diferenças entre grupos foram consideradas significativas se o valor de p fosse inferior a 0,05 (bicaudal). As correlações entre o Clcr e as TFGes foram avaliadas de acordo com o coeficiente de correlação r de Spearman (valor r: 0,00-0,49 baixo, 0,50-0,69 moderado, $\geq 0,70$ alto). As TFGs foram comparadas usando a análise da curva de Característica de Operação do Receptor (ROC - do inglês Receiver Operating Characteristic). Todos os dados foram analisados usando o programa SPSS 22.0 (SPSS, Chicago, EUA).

RESULTADOS

A idade média dos controles (n= 52) foi de $54,5 \pm 12,4$ e a idade média dos pacientes diabéticos (n= 101) foi de $58,2 \pm 11$. Quarenta e seis por cento dos controles e 46,5% dos diabéticos eram homens. Não houve diferença entre pacientes e grupos de controle em idade e sexo.

Os pacientes foram subdivididos de acordo com seu status de albuminúria. As características dos participantes do estudo e os resultados das medições bioquímicas são mostrados na Tabela 1.

Não houve diferença significativa entre os grupos em termos de sexo (p= 0,064), idade (p= 0,114), peso (p= 0,051), ASC (p= 0,25), duração da ND (para A2 versus A3 p=0,178), PAD (p= 0,621), e Htc (p= 0,247). Em todos os grupos as porcentagens de não fumantes estavam entre 84 e 100% e os não usuários de álcool estavam entre 88 e 100%. A duração média do diabetes em pacientes diabéticos foi de $12,8 \pm 8,9$ anos. Não houve diferença significativa entre os grupos de diabéticos no que diz respeito à duração do DM. Os IMCs foram significativamente mais altos nos grupos A1 (p= 0,0001), A2 (p= 0,0001), e A3 (p= 0,043), em comparação com o grupo controle. As pressões arteriais sistólicas foram significativamente mais altas nos grupos A1 (p= 0,003), A2 (p= 0,002), e A3 (p= 0,0001) em comparação com o grupo controle. Enquanto os níveis de HbA1c foram significativamente mais elevados no grupo diabético (A1: p= 0,0001, A2: p= 0,0001 e A3: p= 0,0001) do que no grupo controle, a diferença entre os grupos diabéticos não foi estatisticamente significativa. Os níveis séricos de proteína total foram mais baixos no grupo A3 do que nos grupos controle (p= 0,0001) e A1 (p= 0,01). O nível sérico de albumina foi significativamente mais baixo no grupo A3 do que nos grupos controle (p= 0,0001), A1 (p= 0,0001), e A2 (p= 0,009). Os níveis séricos de creatinina foram significativamente maiores no grupo A3 do que em todos os grupos (Controle: p= 0,0001, A1: p= 0,0001, A2: p= 0,006). Os níveis séricos de ureia foram mais altos no grupo A3 em comparação com os grupos controle (p= 0,0001) e A1 (p= 0,0001). Os níveis séricos de cistatina C foram mais altos em pacientes diabéticos (A1: p= 0,024, A2: p= 0,0001, A3: p= 0,0001) do que nos controles, e em pacientes com ND (A2: p= 0,028, A3: p= 0,0001) do que no grupo A1.

TABELA 1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E BIOQUÍMICAS DE CONTROLES E PACIENTES COM DIABETES TIPO 2 COM ALBUMINÚRIA NORMAL A LEVEMENTE AUMENTADA (A1), MODERADAMENTE AUMENTADA (A2) E SEVERAMENTE AUMENTADA (A3)

	Controle (n=52)	A1 (n=51)	A2 (n=25)	A3 (n=25)	Valor de P
Idade (anos)	54 (12)	57 (10)	61 (12)	56 (11)	0,114
Homem (n, %)	24, 46	18, 35	12, 48	17, 68	0,064
Raça-Branca (%)	100	100	100	100	
Peso corporal (kg)	75 (64-84)	80 (72-89)	82 (70-92)	82 (70-98)	0,051
IMC (kg/m²)	25 (23-27)	31 (28-34)	31 (28-35)	29 (26-33)	0,0001
ASC (m²)**	1,85 (0,18)	1,83 (0,17)	1,88 (0,19)	1,92 (0,20)	0,25
PAS (mmHg)	120 (110-120)	125 (120-140)	130 (120-142)	130 (120-150)	0,0001
PAD (mmHg)	80 (70-80)	75 (65-80)	80 (70-80)	75 (70-80)	0,621
Fumante Atual (n, %)	0, 0	5, 9	4, 16	3, 12	0,055
Uso de álcool (n, %)	0, 0	4, 8	2, 8	3, 12	0,139
Duração do DM (anos)	0	10 (5-15)	20 (7-20)	12 (7-19)	0,0001
Duração da ND (anos)	0	0	2 (1-6)	4 (1,5-8)	0,178
Htc (%)	42(4)	40 (4)	40 (4)	40 (7)	0,247
HbA1c (mmol/mol)***	38 (36-40,7)	61 (50-74)	58 (50-84)	68 (52-98,5)	0,0001
PTs (g/L)	72 (3)	73 (4)	70 (5)	67 (7)	0,0001
AlbS (g/L)	46 (2)	45 (3)	43 (3)	40 (5)	0,0001
UréiaS (mmol/L)	9 (7,5-11)	9,6 (8,2-12,8)	12,8 (8,9-16,2)	21,8 (12,5-31)	0,0001
CrS (μmol/L)	70 (58-80)	65 (56-77)	88 (71-119,5)	140 (94,5-204,5)	0,0001
Cis Cs (mg/L)	0,86 (0,79-0,95)	0,98 (0,86-1,16)	1,42 (1-1,84)	2,12 (1,47-3,43)	0,0001
PTu (mg/24 h)	192 (144-269)	123 (80-171)	185 (143-272)	1606 (853-2017)	0,0001
AlbU (mg/24 h)	4 (3-6)	5 (3-9)	77 (46-162)	1031 (530-1696)	0,0001
CrU (mg/24 h)	989 (710-1167)	1018 (844-1246)	893 (741-1302)	1047 (768-1351)	0,703
Clcr (mL/min/1,73 m²)	79 (58-107)	90 (72-105)	53 (43-92)	37 (18-75)	0,0001
CKD-EPI-cr (mL/min/1,73 m²)	93 (87-101)	97 (84-103)	71 (47-90)	44 (24-78)	0,0001
MDRD (mL/min/1,73 m²)	88 (78-99)	90 (78-101)	70 (47-85)	44 (24-71,6)	0,0001
CG (mL/min/1,73 m²)	84 (72-96)	90 (80-108)	64 (44-102)	48 (25-75)	0,0001
CKD-EPI-cis (mL/min/1,73 m²)	92 (82-101)	77 (61-89)	48 (33-76)	27 (14-27)	0,0001
CKD-EPI-cr-cis (mL/min/1,73 m²)	85 (93-104)	86 (70-100)	57 (38-79,5)	34 (20,5-56)	0,0001

* Os dados são reportados como frequências (%) para variáveis categóricas e média (desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil) para variáveis contínuas.

** ASC (área de superfície corporal) foi calculada usando a fórmula de DuBois.

*** A relação da HbA1c com o NGSP (%HbA1c) e o IFCC (mmol/mol) é: NGSP = [0,09148 * IFCC] + 2,152.

Os níveis de proteína total e albumina da urina foram significativamente mais altos no grupo A3 do que nos controles (PTu: p= 0,0001, AlbU: p= 0,0001). Quando comparadas todas as TFGs, apenas as CKD-EPI-cis foram significativamente mais baixas no grupo A1 do que nos controles (p= 0,021). Todas as TFGs no grupo A3 foram mais baixas que nos grupos controle (CKD-EPI-cr, MDRD, CKD-EPI-cis, e CKD-EPI-cr-cis: p= 0,0001, CG: e CrCl: p= 0,001) e A1 (para todas as TFGs p= 0,0001). As TFGs CKD-EPI-cr (p= 0,004), MDRD (p= 0,01), CG (p= 0,037), CKD-EPI-cis (p= 0,033), e CKD-EPI-cr-cis (p= 0,016) no grupo A2 foram significativamente diferentes do grupo A1.

As diferenças estatisticamente significativas existentes nas TFGs entre os subgrupos são mostradas na Tabela 2.

Pacientes com DRC foram diagnosticados quando a TFGe era inferior a 60 mL/min/1,73m² 6. De acordo com as equações CKD-EPI-cr, MDRD, CG, CKD-EPI-cis e CKD-EPI-cr-cis, as frequências dos pacientes com DRC foram 31 (20,3%), 32 (21%), 38 (24,8%), 53 (34%) e 39 (25%), respectivamente. As TFGs médias de pacientes com DRC foram 40,4 ± 15,3, 39,5 ± 14,7, 41,6 ± 13,8, 32,2 ± 15,2, 37,1 ± 15,2 de acordo com as fórmulas CKD-EPI-cr, MDRD, CG, CKD-EPI-cis e CKD-EPI-cr-cis, respectivamente.

As correlações e os valores de p entre o clearance de creatinina (Clcr) e as TFGs no controle e em todos os subgrupos diabéticos são mostrados na Tabela 3.

Os valores AUC de Clcr, CKD-EPI-cr, MDRD, CG, CKD-EPI-cis e CKD-EPI-cr-cis foram calculados usando a análise da curva ROC entre pacientes com ND (A2+A3) e albuminúria normal a levemente aumentada (A1): $AUC_{Clcr} = 0,755$ (95%IC: 0,654-0,855, $p = 0,0001$), $AUC_{CKD-EPI-cr} = 0,799$ (95%IC: 0,706-0,891, $p = 0,0001$), $AUC_{MDRD} = 0,795$ (95%IC: 0,701-0,889, $p = 0,0001$), $AUC_{CG} = 0,734$ (95%IC: 0,631-0,837, $p = 0,0001$), $AUC_{CKD-EPI-cis} = 0,847$ (95%IC: 0,763-0,931, $p = 0,0001$), $AUC_{CKD-EPI-cr-cis} = 0,835$ (95%IC: 0,749-0,921, $p = 0,0001$). As curvas ROC são mostradas na Figura 1.

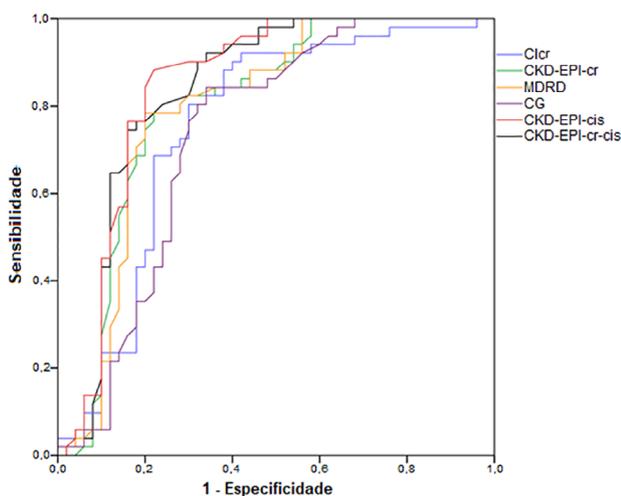


Figura 1. Curvas ROC para a previsão de nefropatia diabética usando Clcr e TFGs.

DISCUSSÃO

A ND é uma das mais importantes complicações microvasculares do diabetes mellitus, e causa alta morbidade e mortalidade. Portanto, a detecção precoce de disfunção renal é muito importante¹⁶. Os níveis de albumina sérica e da urina podem ser usados para avaliar as funções renais. No entanto, o Grupo de Estudo de Epidemiologia de Intervenções e Complicações do Diabetes sugeriu que há pacientes que progridem para ND mesmo sem albuminúria¹⁷. A TFG medida (TFGm) é outro bom indicador para a avaliação das funções renais. No entanto, atualmente, fórmulas de TFG mais práticas são amplamente utilizadas, porque o uso de substâncias exógenas, como inulina ou marcadores radioativos para medir a TFG são métodos invasivos e caros que, além do alto custo, podem levar a sérias complicações². Em nosso estudo, escolhemos as fórmulas CKD-EPI-cr, MDRD, CG, CKD-EPI-cis e CKD-EPI-cr-cis, frequentemente encontradas na literatura, recomendadas e utilizadas na prática^{5,6,7}. Então, todas as TFGs calculadas usando essas fórmulas foram comparadas ao clearance de creatinina em vez da TFGm.

Neste estudo, todas as TFGs em pacientes com ND tipo 2 (A2, A3) foram encontradas abaixo dos controles (ver Tabela 1), de acordo com a literatura^{18,19,20}. Os desempenhos das equações CKD-EPI-cr e MDRD foram semelhantes entre si, como o estudo de Rognant et al.²¹, embora haja alguns estudos que sugeriram que o desempenho da CKD EPI-cr é melhor que o da MDRD em pacientes diabéticos^{22,23}.

TABELA 2 COMPARAÇÕES DAS TFGS ENTRE OS SUBGRUPOS

Valores de P	Clcr	CKD-EPI-cr	MDRD	CG	CKD-EPI-cis	CKD-EPI-cr-cis
Controle-A1	1,000	1,000	1,000	1,000	0,021*	0,243
Controle-A2	0,265	0,007*	0,012*	0,367	0,0001*	0,0001*
Controle-A3	0,001*	0,0001*	0,0001*	0,001*	0,0001*	0,0001*
A1-A2	0,026*	0,004*	0,010*	0,037*	0,033*	0,016*
A1-A3	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
A2-A3	0,672	0,327	0,196	0,544	0,131	0,145

* $p < 0,05$.

TABELA 3 CORRELAÇÕES ENTRE CLCR E TFGS

Clcr	CKD-EPI-cr		MDRD		CG		CKD-EPI-cis		CKD-EPI-cr-cis	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Controle	0,32	0,02*	0,44	0,001*	0,01	0,935	0,12	0,377	0,30	0,032*
A1	0,49	0,0001*	0,44	0,001*	0,48	0,0001*	0,40	0,004*	0,49	0,0001*
A2	0,84	0,0001*	0,83	0,0001*	0,84	0,0001*	0,70	0,0001*	0,82	0,0001*
A3	0,93	0,0001*	0,93	0,0001*	0,85	0,0001*	0,90	0,0001*	0,94	0,0001*

* $p < 0,05$.

A razão para essas discrepâncias pode ter sido as características clínicas, incluindo idade, IMC e raça^{22,23}. Enquanto os valores de Clcr e TFGe CG foram menores no grupo A2 do que no controle, estes não foram estatisticamente significativos, enquanto os outros valores foram (ver Tabela 2). Embora os pacientes tenham sido informados antes do estudo, podem ter ocorrido erros durante a coleta da urina de 24 horas. Portanto, esses erros podem ter afetado negativamente os resultados com o Clcr²⁴. Ao contrário de outras fórmulas, considerar o peso corporal no cálculo da CG pode ter feito com que os valores da TFGe fossem mais baixos nos controles em comparação com os pacientes diabéticos, devido ao peso e aos valores de IMC mais baixos nos controles (ver Tabela 1)²³. Também descobrimos que todas as TFGes, exceto a CKD-EPI-cis no grupo de controle, foram inferiores às do grupo A1. Embora todas as fórmulas de TFG que utilizamos tenham sido indexadas de acordo com a ASC de 1,73 m², as mesmas podem ter falhado em refletir a função renal real em pacientes com sobrepeso e obesos. Também deve ser observado que indivíduos menores podem ter uma TFG normal mais baixa e indivíduos maiores podem ter uma TFG normal mais alta^{25,26}. Além disso, os pacientes no estágio inicial de hiperfiltração glomerular de nefropatia diabética podem ter causado altos valores de TFG no grupo A1. A hiperfiltração geralmente precede as mudanças na albuminúria em pacientes com diabetes recém-diagnosticado.²⁷ Portanto, são necessárias mais melhorias nas fórmulas que discriminem entre o normal e a hiperfiltração.

Apenas os níveis de CKD-EPI-cis nos controles foram significativamente mais baixos ($p=0,021$) do que no grupo A1. Muitos estudos sugerem que a cistatina C é comparável²⁸ ou superior^{15,29} às fórmulas com base na creatinina em pacientes com diabetes tipo 2. Jeon et al.³⁰ investigaram os níveis de MDRD, CKD-EPI-cr e cistatina C em pacientes com diabetes tipo 2 normoalbuminúricos ($n=332$), microalbuminúricos ($n=83$) e macroalbuminúricos ($n=42$). Semelhante ao nosso estudo, as TFGes MDRD e CKD-EPI foram encontradas significativamente mais baixas nos macroalbuminúricos e microalbuminúricos do que nos normoalbuminúricos ($p<0,001$). Os níveis séricos e de urina da cistatina C aumentaram com o crescimento do grau de albuminúria. Além disso, de acordo com a albuminúria, o valor AUC da cistatina C foi de 0,906.

Os autores sugeriram brevemente que os níveis séricos e de urina da cistatina C são marcadores úteis para disfunção renal em pacientes com diabetes tipo 2 normoalbuminúricos. El-eshmawy et al.¹⁵ pesquisaram TFGs em 75 pacientes com diabetes tipo 2 e 15 controles. Comparando macroalbuminúricos ($n=25$) com microalbuminúricos ($n=25$), eles descobriram que o CKD-EPI-cis foi significativo ($p>0,0001$) enquanto o CKD-EPI não foi. Também relataram que o valor AUC de creatinina (0,57) foi mais baixo que o AUC de cistatina C (0,79). Nossos achados foram consistentes com esses estudos e nos fizeram pensar que a cistatina C poderia ser mais preditiva no diagnóstico de disfunção renal em estágios iniciais.

No estudo de Kedam et al.,¹⁸ 239 pacientes com diabetes tipo 2 (normoalbuminúricos: 110, microalbuminúricos: 81, macroalbuminúricos: 48) foram avaliados. Os níveis séricos de cistatina C foram encontrados negativamente correlacionados com a TFGe MDRD ($r=-0,364$, $p<0,0001$), e significativamente mais altos no grupo macroalbuminúricos do que nos grupos normoalbuminúrico e microalbuminúrico (ambos $p<0,001$), embora não fossem significativamente diferentes entre os grupos normoalbuminúrico e microalbuminúrico. A razão para estes resultados pode ser o fato de a duração do DM nos grupos normoalbuminúrico e microalbuminúrico ter sido curta e próxima uma da outra (5,0-7,5 anos), uma vez que uma duração longa do diabetes mellitus é um dos fatores que aumentam o nível de cistatina C, levando a danos renais³¹.

Bevc et al.²⁸ usaram Cr-EDTA para medição padrão-ouro da TFG em pacientes diabéticos tipo 2 com sobrepeso ($n=113$, IMC= $31,3\pm 4,8$ kg/m²) e compararam o clearance de Cr-EDTA com as TFGes CG, MDRD, CKD-EPI-cr, e CKD-EPI-cis. Todas as TFGes mostraram uma correlação significativa com o clearance de Cr-EDTA. Na análise ROC, o valor AUC foi encontrado mais alto em CKD-EPI-cis (AUC= 0,966). Em nosso estudo, embora o Clcr tenha sido utilizado ao invés do método padrão-ouro (TFGm) devido a seu custo e complicações, as TFGes de todos os pacientes diabéticos apresentaram correlação semelhante com o Clcr. CKD-EPI-cis teve o valor AUC mais alto (0,847) para previsão de ND. Ao contrário da creatinina, isto pode explicar que a cistatina C não é afetada por idade, raça, sexo, massa muscular e inflamação³². Infelizmente, os preços dos testes de cistatina C ainda

são mais altos que os testes de creatinina e este fator limita o uso da cistatina C em laboratórios de rotina.

Enquanto alguns pesquisadores sugerem o uso de cistatina C para a nefropatia diabética, outros afirmam que isso não é significativo. Por exemplo, Iliadis et al.³³ descobriram que a TFGe-cis não é melhor que a TFGe-cr em 448 pacientes com diabetes tipo 2, em comparação com a TFGm (clearance de Cr-EDTA). Entretanto, estudos anteriores mostraram que diferentes métodos de referência utilizados como TFGm podem causar resultados diferentes³⁴. Também deve ser levado em consideração que o clearance de creatinina e várias fórmulas de TFGe determinadas e avaliadas com diferentes padrões-ouro podem causar diferentes resultados de TFGe, de modo que essas fórmulas não são exatamente comparáveis³⁵.

As limitações em nosso estudo foram as seguintes: primeiro, não tínhamos um padrão-ouro confiável para o método TFGm devido a seu custo e complicações. Além disso, os tamanhos das amostras dos subgrupos de ND eram muito pequenos. Ademais, nossos grupos de pacientes diferiram em termos de alguns medicamentos e não tínhamos informações detalhadas sobre se esses medicamentos afetam a função renal.

CONCLUSÃO

As TFGe CKD-EPI-cis de todos os diabéticos, incluindo o grupo A1, foram significativamente diferentes dos controles, enquanto as TFGe CKD-EPI-cr, MDRD, CKD-EPI-cis e CKD-EPI-cr-cis no grupo A2 foram significativamente diferentes do grupo A1. Nossos resultados mostraram que a TFGe CKD-EPI-cis teve melhor valor preditivo do que as outras para ND e pode ser útil na detecção do estágio inicial da mesma. Estudos de coorte mais extensos com mais participantes são necessários para o uso generalizado da cistatina C na avaliação da função renal do diabético.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pelo Departamento de Projetos de Pesquisa Científica da Universidade Pamukkale. Patrocinador da bolsa: Departamento de Projetos de Pesquisa Científica da Universidade Pamukkale, número e data da concessão: 2017TIPF018, 26.12.2017.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram para o desenho, gestão e revisão do manuscrito. AK e AD propuseram a ideia e FSM conduziu o estudo clínico. AK editou o artigo. AD gerenciou e supervisionou o método, e verificou os testes. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores não têm nenhum conflito de interesses a declarar.

REFERÊNCIAS

- Lamb EJ, Price P. Kidney function tests. In: Rifai N, ed. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. New York: Saunders; 2012. p. 669-707.
- Gaspari F, Perico N, Remuzzi G. Application of newer clearance techniques for the determination of glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1998 Oct;7(6):675-80.
- Delaney BMP, Price CP, Lamb EJ. Kidney disease. In: Rifai N, ed. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. New York: Saunders; 2012. p. 1523-607.
- Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem*. 1992 Oct;38(10):1933-53.
- Simečić L, Zibar L, Drmić S, Begić I, Serić V. Creatinine clearance and estimated glomerular filtration rate – when are they interchangeable. *Coll Antropol*. 2015 Sep;39(3):735-43.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Off J Int Soc Nephrol*. 2013 Jan;3(1):1-136.
- Fadem S, Rosenthal B. GFR calculators: serum creatinine and cystatin C [Internet]. Touchcalc, Inc.; 2012. Available from: <http://mdrd.com/> --- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). Glomerular filtration rate (GFR) calculators [Internet]. Bethesda: NIDDK; 2012. Available from: <http://www.nkdep.nih.gov>
- Dorsey JL, Becker MH, Al. E. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes Care*. 2018 Jan;41(Suppl 1):S55-S64.
- National Kidney Foundation (NKF). Diabetes - a major risk factor for kidney disease [Internet]. New York: NKF; 2015. Available from: <https://www.kidney.org/atoz/content/diabetes>
- American Diabetes Association (ADA). Standards of medical care in diabetes-2014. *Diabetes Care*. 2014 Jan;37(Suppl 1):S14-S80.
- Mussap M, Vestra MD, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R, et al. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int*. 2002 Apr;61(4):1453-61.
- Kar S, Paglialunga S, Islam R. Cystatin C is a more reliable biomarker for determining eGFR to support drug development studies. *J Clin Pharmacol*. 2018;58(10):1239-47.
- Dharmidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2002 Aug;40(2):221-226.
- Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Nutrition*. 1989 Sep/Oct;5(5):303-11;discussion:312-3.

15. El-Eshmawy MM, Elzeheery R, Samir H, Tarshoby MM. Cystatin C based formula has a higher diagnostic accuracy than creatinine based formula in Egyptian type 2 diabetic patients with early nephropathy. *J Int Res Med Pharm Sci.* 2016;8(4):179-87.
16. Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, Boer IH, Goldstein-Fuchs J, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA consensus conference. *Diabetes Care.* 2014 Oct;37(10):2864-83.
17. Molitch ME, Steffes M, Sun W, Rutledge B, Cleary P, Boer IH, et al. Development and progression of renal insufficiency with and without albuminuria in adults with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial and the epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care.* 2010 Jul;33(7):1536-43.
18. Kedam DP, Polur H, Bandela PV. Cystatin-C as a biomarker in predicting early renal impairment in normo-albuminuric patients with type 2 diabetes mellitus. *J Pharm Sci Res.* 2015;7(11):913-6.
19. Beauvieux MV, Moigne FL, Lasseur C, Raffaitin C, Perlemoine C, Barthe N, et al. New predictive equations improve monitoring of kidney function in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2007 Aug;30(8):1988-94.
20. Cheuiche AV, Queiroz M, Azeredo-da-Silva ALF, Silveiro SP. Performance of cystatin C-based equations for estimation of glomerular filtration rate in diabetes patients: a prisma-compliant systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2019;9(1):1418.
21. Rognant N, Lemoine S, Laville M, Hadj-Aïssa A, Dubourg L. Performance of the chronic kidney disease epidemiology collaboration equation to estimate glomerular filtration rate in diabetic patients. *Diabetes Care.* 2011 Jun;34(6):1320-2.
22. Drion I, Joosten H, Groenier KH, Lieveuse AG, Kleefstra N, Wetzels JFM, et al. Equations estimating renal function in patients with diabetes. *Neth J Med.* 2011 Oct;69(10):455-60.
23. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Jun;5(6):1003-9.
24. Waller DG, Fleming JS, Ramsey B, Gray J. The accuracy of creatinine clearance with and without urine collection as a measure of glomerular filtration rate. *Postgrad Med J.* 1991 Jan;67(783):42-6.
25. Jin R, Grunkemeier GL, Brown JR, Furnary AP. Estimated glomerular filtration rate and renal function. *Ann Thorac Surg.* 2008 Jul;86(1):1-3.
26. Redal-Baigorri B, Rasmussen K, Heaf JG. Indexing glomerular filtration rate to body surface area: clinical consequences. *J Clin Lab Anal.* 2014 Mar;28(2):83-90.
27. Jerums G, Premaratne E, Panagiotopoulos S, MacIsaac RJ. The clinical significance of hyperfiltration in diabetes. *Diabetologia.* 2010 Oct;53(10):2093-104.
28. Bevc S, Hojs R, Ekart R, Završnik M, Gorenjak M, Puklavec L. Simple cystatin c formula for estimation of glomerular filtration rate in overweight patients with diabetes mellitus type 2 and chronic kidney disease. *Exp Diabetes Res.* 2012;2012:179849.
29. Oh SJ, Lee JI, Ha WC, Jeong SH, Yim HW, Son HS, et al. Comparison of cystatin C- and creatinine-based estimation of glomerular filtration rate according to glycaemic status in type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2012 Jul;29(7):e121-5.
30. Jeon YK, Kim MR, Huh JE, Mok JY, Song SH, Kim SS, et al. Cystatin C as an early biomarker of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *J Korean Med Sci.* 2011 Feb;26(2):258-63.
31. Rao X, Wan M, Qiu C, Jiang C. Role of cystatin C in renal damage and the optimum cut-off point of renal damage among patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Ther Med.* 2014 Sep;8(3):887-92.
32. Zhou B, Zou H, Xu G. Clinical utility of serum cystatin c in predicting diabetic nephropathy among patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Kidney Blood Press Res.* 2016;41(6):919-28.
33. Iliadis F, Didangelos T, Ntemka A, Makedou A, Moralidis E, Gotzamani-Psarakou A, et al. Glomerular filtration rate estimation in patients with type 2 diabetes: creatinine- or cystatin C-based equations?. *Diabetologia.* 2011 Dec;54(12):2987-94.
34. Dai SS, Yasuda Y, Zhang CL, Horio M, Zuo L, Wang HY. Evaluation of GFR measurement method as an explanation for differences among GFR estimation equations. *Am J Kidney Dis.* 2011 Sep;58(3):496-8.
35. Herget-Rosenthal S, Bökenkamp A, Hofmann W. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations?. *Clin Biochem.* 2007 Feb;40(3-4):153-61.