



Universidade de Aveiro

Ano 2013

Departamento de Química

**Andrea Janeth
Da Silva da Silva**

**Estudo da função renal em pacientes com
diabetes mellitus**



Universidade de Aveiro

Departamento de Química

Ano 2013

**Andrea Janeth
Da Silva da Silva**

**Estudo da função renal em pacientes com
diabetes mellitus**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção ao grau de Mestre em Bioquímica – Ramo Bioquímica Clínica, realizada sob a orientação científica do Dr. Frederico Cerveira, Assistente Graduado Sénior – Responsável da secção de Imunoquímica do Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E.- Aveiro, da Professora Doutora Rita Ferreira do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Professora Doutora Rosário Domingues do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

Este trabalho foi financiado pela FCT, União Europeia, QREN, FEDER e COMPETE (PEst-C/QUI/UI0062/2013)



O júri

Presidente

Prof. Doutor Bruno Miguel Rodrigues das Neves

Professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor. António Federico Ramos Morais Cerveira

Assistente Graduado Sénior – Responsável da secção de Imunoquímica do Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E.- Aveiro

Prof. Doutora Rita Maria Pinho Ferreira

Professora auxiliar Convidada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Maria do Rosário Gonçalves Domingues

Professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Armando Caseiro (arguente)

Professor Adjunto - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra - Instituto Politécnico de Coimbra

Agradecimentos

Ao centro hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E – Aveiro pela oportunidade da realização deste trabalho.

À Universidade por todos os conhecimentos e experiências que me possibilitou adquirir.

Ao Dr. Frederico Cerveira pelo seu apoio, disponibilidade e motivação ao longo da realização do trabalho.

À Professora Doutora. Rita Ferreira, pela sua disponibilidade, paciência e motivação ao longo da realização do trabalho.

Ao Dr. Telmo Costa por ajudar na recolha de dados e por ser sempre prestável no esclarecimento de questões informáticas.

À Professora Doutora Sónia Gouveia pela sua disponibilidade e pela sua ajuda no tratamento estatístico dos dados.

Ao meu tio Elias e a minha avó Fernanda pelo amor incondicional, motivação constante e pelas excelentes condições que me foram dadas, sem eles não teria chegado até este ponto da minha vida.

À minha mãe, tia Janeth, tio Franklim, Lucas por todo o apoio, incentivo e acreditarem em mim.

Ao Carlos Rocha, aos meus amigos, em especial à Lídia Nogueira e Nadine Quintaneiro que me incentivaram e motivaram para a conclusão final deste trabalho, pela paciência e bons momentos que me proporcionaram.

Palavras-chave: Diabetes mellitus, nefropatia, taxa de filtração glomerular, cistatina C, creatinina, albumina.

Resumo: A diabetes mellitus é doença com elevada incidência e prevalência, estando associada a complicações crônicas graves. De entre estas complicações, destaca-se a nefropatia diabética que afeta 20% a 40% dos pacientes diabéticos. A monitorização da função renal nestes pacientes é então fundamental de forma a diagnosticar esta patologia em estadios iniciais. Na prática clínica, os exames laboratoriais que avaliam a função renal baseiam-se na determinação da TFG sendo a creatinina sérica o marcador endógeno mais comumente utilizado. No entanto, vários fatores independentes da função renal limitam a aplicabilidade deste marcador laboratorial. A cistatina C tem sido apontada como um marcador da filtração glomerular mais adequado ao diagnóstico de nefropatia. Assim, o presente estudo teve como objetivo validar a aplicabilidade da cistatina C na avaliação da função renal de pacientes diabéticos e ainda correlacionar a cistatina C com as equações estimativas da TFG baseadas na creatinina, na cistatina C e ambas. Assim, foi observada uma correlação positiva significativa entre a creatinina sérica e a cistatina C sérica ($r=0,82$; $p<0,0001$). A cistatina C apresentou uma maior correlação com a TFG estimada pela equação MDRD ($r=-0,78$; $p<0,0001$ e $r=-0,77$; $p<0,0001$). Da mesma forma, a TFG estimada pela fórmula MDRD e a TFG estimada pela fórmula de Larsson correlacionaram-se de forma positiva ($r=0,75$; $p<0,0001$) e a TFG estimada pela fórmula Levey ($r=-0,71$; $p<0,0001$). A cistatina C apresentou melhor valor de diagnóstico na deteção da disfunção renal comparativamente à creatinina sérica. Os resultados sugerem que a cistatina C é um parâmetro mais eficiente na deteção de reduções moderadas da TFG do que a creatinina, especialmente, em pacientes com diabetes mellitus.

Keywords: **Diabetes mellitus, nephropathy, glomerular filtration rate, creatinine, cystatin C, albumin.**

Abstract Diabetes mellitus is a disease with high incidence and prevalence, being associated with serious chronic complications. Among these complications, nephropathy affects 20%-40% of diabetic patients. The monitoring of renal function in these patients is therefore important in order to diagnose this disease in the early stages. In the clinical practice, the kidney function is evaluate by laboratory tests based on the determination of GFR, being serum creatinine the most commonly used endogenous marker. However, several factors independent of kidney function compromise the applicability of creatinine for GFR assessment. Cystatin C has been proposed as a more suitable marker to the diagnosis of nephropathy. Thus, the present study aimed to validate the applicability of cystatin C in the assessment of renal function in diabetic patients and also correlate cystatin C with GFR estimated by equations based on serum creatinine, cystatin C, and in both. Data highlighted a significant positive correlation between serum creatinine and serum cystatin C ($r = 0.82$; $\rho < 0.0001$). Cystatin C showed a higher correlation with GFR estimated by the MDRD equation ($r = -0.78$; $\rho < 0.0001$ and $r = -0.77$; $\rho < 0.0001$). Furthermore, eGFR estimated by the MDRD formula correlated positively with eGFR determined by Larsson ($r = 0.75$; $\rho < 0.0001$) and Levey ($r = -0.71$; $\rho < 0,0001$) formulas. Cystatin C presented better diagnosis value in the detection of renal dysfunction than serum creatinine. The results suggest that cystatin C is a better parameter to the detection of GFR mild reductions than creatinine, especially in patients with diabetes mellitus.

Lista de abreviaturas

AGEs	-Produtos finais da glicação avançada
ALT	-Alanina aminotransferase
AST	-Aspartato aminotransferase
CCR	-Com Complicações Renais
CHBV	-Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E - Aveiro
CTL	-Controlo
DM	-Diabetes mellitus
DTPA	-Ácido etilenodiaminopentacético
EDTA	-Ácido etilenodiaminotetracético
GDH	- Grupo de Diagnóstico Homogéneo
GDP	-Guanosina difosfato
Grb-2	- <i>Growth factor receptor-bound protein 2</i>
GTP	-Guanosina trifosfato
IRS-1	- <i>Insulin receptor substrate-1</i>
KDOQI	- <i>Kidney Disease Outcomes Initiative</i>
KIM-1	-Molécula de lesão renal-1
MAPK	- <i>Mitogen-activated protein cinase</i>
MDRD	-Modificação da Dieta na Doença Renal
ND	-Nefropatia Diabética
NGAL	-Lipocalina associada à Gelatinase de Neutrófilos
PDK-1	-Piruvato desidrogenase cinase-1

PDM	-Pacientes com Diabetes Mellitus
PI3K	-Fosfatidilinositol-3-cinase
PKB	-Proteína cinase B
PKC	-Proteína cinase C
RAGE	-Receptor de produtos finais da glicação avançada
ROS	-Espécies reativas de oxigénio
SCR	-Sem Complicações Renais
TFG	-Taxa de filtração glomerular
TTG	-Teste de tolerância à glucose

Índice

<i>Lista de abreviaturas</i>	I
I. Introdução	1
1. Diabetes mellitus: mecanismos celulares envolvidos na patogénese.....	2
1.1. Mecanismo de ação da insulina.....	3
2. Mecanismos fisiopatológicos induzidos pela hiperglicemia.....	4
3. Complicações crónicas associadas à DM.....	6
3.1. Nefropatia Diabética	8
4. Avaliação laboratorial da função renal na DM	11
4.1. Albuminúria e Proteinúria.....	11
4.2. Taxa de Filtração Glomerular (TFG)	12
4.2.1. Creatinina	13
4.2.2. Cistatina C	16
4.3. Marcadores da função dos Túbulos renais	19
4.3.1. Molécula de lesão renal 1 (KIM-1)	19
4.3.2. Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL).....	19
II. Objetivos	21
III. Material e Métodos	23
A. <i>Caracterização dos pacientes diabéticos com e sem patologias renais - estudo retrospectivo</i>	23
1. Seleção e caracterização da população.....	23
2. Análise estatística	25

B. <i>Aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação da função renal de pacientes diabéticos - estudo prospectivo</i>	26
1. Seleção e caracterização da população.....	26
2. Análise estatística.....	26
IV. Resultados	29
A. <i>Caracterização dos pacientes diabéticos com e sem patologias renais - estudo retrospectivo</i>	29
1. Caracterização clínico-laboratorial dos pacientes	29
2. Análise comparativa dos vários parâmetros laboratoriais.....	40
B. <i>Aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação renal de pacientes diabéticos - estudo prospectivo.</i>	45
1. Caracterização clínico-laboratorial dos pacientes	45
2. Análise comparativa dos vários parâmetros laboratoriais.....	46
3. Valor diagnóstico da creatinina e cistatina C para os vários estádios da doença renal	52
V. Discussão	57
VI. Conclusão.....	63
VII. Referências bibliográficas.....	Erro! Marcador não definido.
Anexos.....	Erro! Marcador não definido.

Índice de figuras

Figura 1 - Imagem representativa da distribuição da população diabética a nível mundial em 2000 e da previsão para 2030 (7)..... 1

Figura 2 - Vias de sinalização da insulina envolvendo o recetor tirosina cinase que uma vez ativado por autofosforilação desencadeia uma cascata enzimática (29). 4

Figura 3 - Distribuição dos doentes em estudo de acordo com a idade (A) e o sexo (B).... 29

Figura 4 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de glucose sérica (A) e a percentagem de hemoglobina glicada (B). 30

Figura 5 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de proteínas totais sérica (A) e a concentração de albumina sérica (B)..... 31

Figura 6 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de ureia sérica. 31

Figura 7 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de creatinina sérica (A), concentração de cistatina C sérica (B)..... 33

Figura 8 - Distribuição do grupo SCR e CCR e distribuição do grupo de acordo com a taxa de filtração glomerular pela fórmula de MDRD. 39

Figura 9- Distribuição dos pacientes de acordo com a idade (A) e o sexo (B). 45

Figura 10 - Distribuição dos doentes de acordo com a percentagem de hemoglobina glicada (A) e a concentração de glucose sérica (B). 46

Figura 11- Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de proteína total sérica (A) e a concentração de albumina sérica (B)..... 40

Figura 12 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de ureia..... 40

Figura 13 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de creatinina sérica (A) e a concentração de cistatina C sérica (B). 41

Figura 14 - TFGe pela equação de MDRD, pela equação de Levey e pela equação de Larsson 44

Figura 15 - Correlação entre creatinina sérica e a cistatina C sérica ($r= 0,82$; $\rho < 0,0001$). 48

Figura 16: Correlações relativas ao grupo PDM. Correlação entre creatinina sérica e TFG MDRD. Coeficiente de correlação $r=-0,77$ $\rho < 0,001$ (A). Correlação entre cistatina C sérica e TFG MDRD. Coeficiente de correlação $r=-0,78$ $\rho < 0,001$ (B). Correlação entre creatinina sérica e TFG estimada pela fórmula de Levey. Coeficiente de correlação $r=-0,71$ $\rho < 0,001$ (C). Correlação entre cistatina C sérica e TFG estimada pela Levey C. Coeficiente de correlação $r=-0,86$ $\rho < 0,001$ (D). Correlação entre creatinina sérica e TFG estimada pela fórmula de Larsson. Coeficiente de correlação $r=-0,61$ $\rho < 0,001$ (E). Correlação entre cistatina C sérica e TFG pela cistatina C. Coeficiente de correlação $r=-0,86$ $\rho < 0,001$ (F)..... 50

Figura 17 - Percentual de creatinina $>1,2$ mg /dL nos pacientes de acordo com o estadio correspondente. [creatinina] $< 1,2$ mg/dL [creatinina] $> 1,2$ mg/dL. 54

Figura 18 - Percentual de cistatina sérica $>1,0$ mg /L nos pacientes de acordo com o estadio correspondente. [cistatina C] $< 1,0$ mg/L [cistatina C] $> 1,0$ mg/L..... 55

Índice de tabelas

Tabela 1 - Análise comparativa das potenciais variáveis que induzem alterações nos valores séricos de cistatina C e de creatinina na avaliação da TFG (10, 96, 106, 118-124).	18
Tabela 2 - Parâmetros laboratoriais e respectivos valores de referência.....	24
Tabela 3 - Equações utilizadas para estimar a TFG.	25
Tabela 4 - Correlações da TFGe pela MDRD, TFGe pela Larsson, TFGe pela Levey, creatinina, e cistatina C séricas, no grupo SCR. e no grupo CCR.....	41
Tabela 5 - Correlações da TFGe pela MDRD, TFGe pela Larsson, TFGe pela Levey, creatinina, e cistatina C séricas e outras variáveis, no grupo SCR e no grupo CCR.....	43
Tabela 6 - Distribuição da dosagem de creatinina e cistatina C segundo sexo e idade dos pacientes diabéticos – PDM e CTL.	42
Tabela 7 - Distribuição da taxa de filtração glomerular (TFG) estimada pelas fórmulas de MDRD, Levey e Larsson segundo o sexo e a idade.....	45
Tabela 8 - Correlações entre a TFG estimada pelas fórmulas de MDRD, de Larsson, de Levey, a cistatina C e a creatinina nos pacientes dos grupos PDM e CTL.	47
Tabela 9 - Correlações entre a TFG estimada pelas fórmulas de MDRD, Larsson, Levey, cistatina C e creatinina e outras variáveis em pacientes dos grupos PDM e CTL.	51
Tabela 10 - Dados clínicos e laboratoriais dos pacientes estratificados por estádios com base na TFG, de acordo com as diretrizes do KDOQI da National Kidney Foundation.....	53

I. Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde a Diabetes mellitus (DM) afeta 285 milhões de indivíduos em todo o mundo e espera-se que este número aumente nos próximos anos, principalmente, nos países desenvolvidos (Figura 1) (1). Segundo dados estatísticos 6,8 % da mortalidade mundial está diretamente associada à DM (2). No sentido de contrariar esta tendência, os profissionais da saúde são confrontados com desafios ao nível do diagnóstico e tratamento da DM e das complicações relacionadas. Efetivamente, a nefropatia diabética é uma das principais complicações microvasculares da DM constituindo a principal causa de doença renal (3-5), estando associada a uma elevada morbidade e mortalidade. A prevenção desta patologia tem-se tornado uma preocupação a nível mundial e têm sido feitos esforços no sentido de controlar o desenvolvimento e a progressão destas complicações não só pela definição de novos tratamentos como também de biomarcadores mais específicos que permitam fazer um diagnóstico precoce e prognóstico da progressão da DM e da nefropatia associada (6).

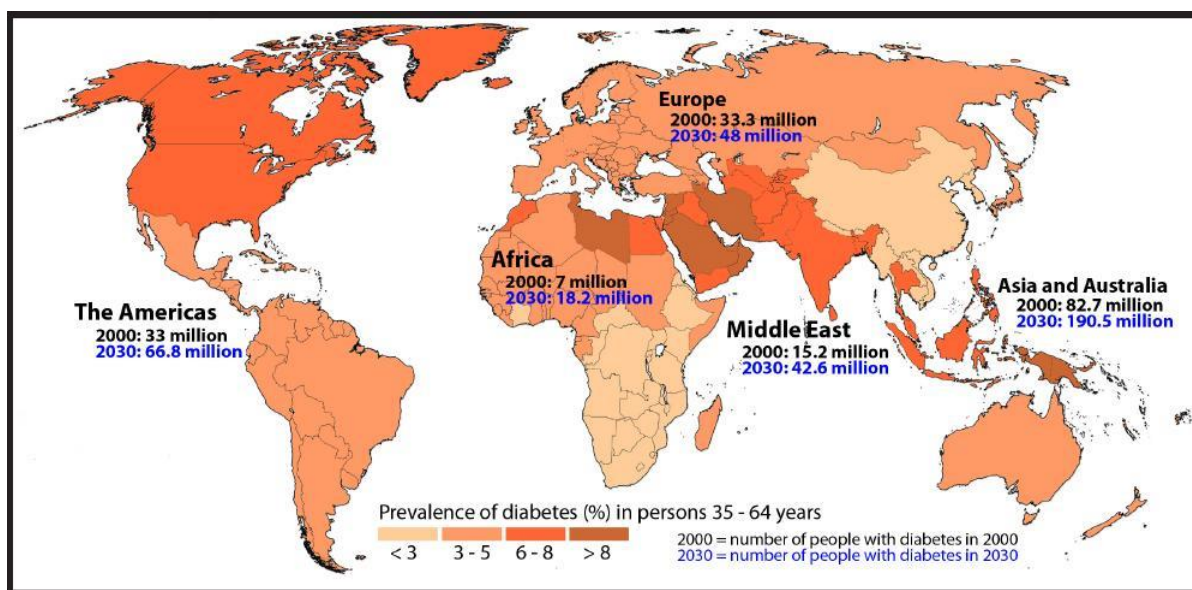


Figura 1 - Imagem representativa da distribuição da população diabética a nível mundial em 2000 e da previsão para 2030 (7).

1. Diabetes mellitus: mecanismos celulares envolvidos na patogênese

A DM é o distúrbio endócrino mais comum na prática clínica podendo ser caracterizada por hiperglicemia e glicosúria (8). Os sintomas/sinais mais comuns associados à DM são a polidipsia, poliúria, polifagia, fadiga, perda de peso repentina, comprometimento da regeneração/cicatrização após lesão, desidratação e, mais tardiamente, angiopatia, retinopatia, nefropatia e neuropatia (9). Enquanto distúrbio endócrino, a DM está associada ao comprometimento da ação da insulina, devido ao seu déficit e/ou a resistência à sua ação (9-12). A insulina é produzida nas células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas endócrino e atua num grande número de células do organismo, como as células do músculo-esquelético e do tecido adiposo, promovendo a absorção de glucose via GLUT 4 (12, 13). Atendendo à patogênese, a DM pode ser classificada em tipo 1 e tipo 2 (14). A DM tipo 1 manifesta-se, normalmente, na infância ou na adolescência e caracteriza-se pela produção insuficiente de insulina como consequência da destruição das células β , devido a processos autoimunes ou idiopáticos (não-autoimune) (15). De forma a compensar o déficit de insulina, os indivíduos com DM tipo 1 devem receber administrações diárias de insulina, cuja quantidade é determinada pelo endocrinologista em função do seu perfil clínico e da quantidade de insulina produzida pelo pâncreas (16). A DM tipo 2 desenvolve-se geralmente em etapas da vida adulta sendo caracterizada pela resistência dos recetores de insulina presentes nas células do músculo-esquelético, fígado, adipócitos e ainda pela secreção insuficiente de insulina (16). As células β do pâncreas aumentam a produção de insulina que, com a progressão da doença, pode resultar na exaustão destas células (17). A resistência à insulina subjacente a DM tipo 2 caracteriza-se por alterações a diversos níveis: (i) redução da concentração e da atividade cinase do recetor da insulina, (ii) diminuição da fosforilação do IRS-1 e -2, (iii) redução da atividade da PI3K (PI3 cinase), (iv) comprometimento da translocação dos transportadores de glucose e da atividade das enzimas intracelulares (12). A DM tipo 2 é uma doença poligénica e pode envolver polimorfismos em vários genes que codificam para as proteínas envolvidas nas vias de sinalização ativadas pela insulina e na secreção desta hormona. As mutações no gene que codifica para o recetor de insulina são relativamente raras estando, contudo, associadas às formas mais graves de resistência à insulina (18).

1.1. Mecanismo de ação da insulina

A insulina exerce os seus efeitos biológicos através da ligação a um recetor de membrana da célula alvo. Os eventos que ocorrem após a ligação da insulina ao seu recetor são altamente regulados e específicos (12). No fígado a insulina promove o armazenamento da glucose sob a forma de glicogénio o que conduz ao aumento da síntese de triglicéridos. No músculo esta hormona estimula a síntese proteica e glicogénese. Nos adipócitos estimula o armazenamento de triglicéridos através da ativação de diversos mecanismos, tais como: (i) indução da lipoproteína lípase, que hidrolisa os triglicéridos; (ii) transporte de glicogénio através da esterificação de ácidos gordos (iii) inibição da lípase intracelular (19).

Como se pode visualizar na Figura 2, a insulina liga-se especificamente a um recetor tirosina cinase da célula alvo, uma proteína heterotetramérica que atua como uma enzima alostérica. A ligação da insulina à subunidade α deste recetor permite que a subunidade β adquira atividade cinase, levando a uma alteração conformacional e consequente autofosforilação do recetor em resíduos de tirosina das subunidades β , ativando-o (17, 20). Nesta forma, o recetor de insulina fosforila vários substratos proteicos em resíduos de tirosina (12, 21, 22). A fosforilação das proteínas IRS cria sítios de reconhecimento para moléculas contendo domínios com homologia a Src 2 (SH2), como por exemplo a fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) (21). Esta cinase é importante na regulação da mitose, na diferenciação celular e no transporte de glucose estimulado pela insulina (21, 23, 24). Atualmente, a PI3K é a única molécula intracelular considerada essencial para o transporte de glucose e possui atividade serina-cinase. Estudos recentes sugerem que esta enzima é importante na ação da insulina independente da produção de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (25). Este metabolito resultante da ação da PI3K parece regular a PDK-1 (*phosphoinositide-dependent kinase 1*), uma serina-treonina cinase que fosforila e ativa outra serina/treonina cinase, a Akt ou PKB (26). Além de fosforilar a PKB, a PDK-1 parece fosforilar isoformas atípicas da PKC envolvidas na ativação da síntese proteica e no transporte de vesículas contendo GLUT4 para a membrana celular de forma a promover a entrada da glucose em resposta à insulina (27, 28). Esta diversidade de sinalização envolvendo a PKB ou a PKC sugere a existência de mecanismos compensatórios em casos de mutações afetando a PKB ou isoformas da PKC (28).

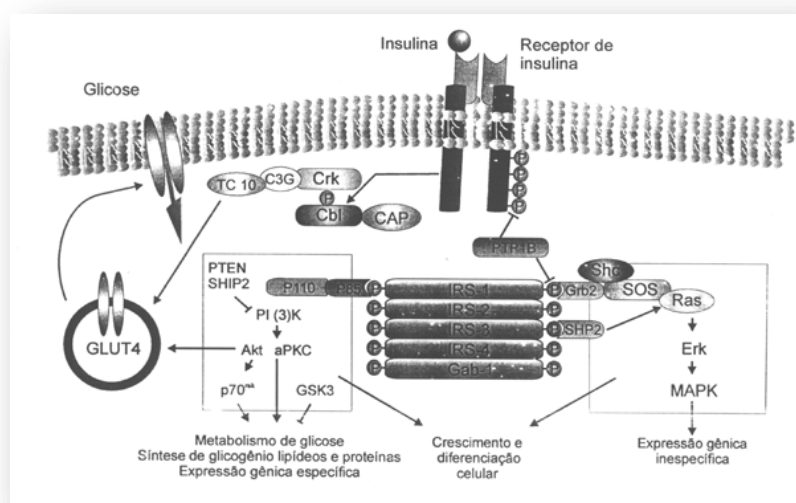


Figura 2 - Vias de sinalização da insulina envolvendo o recetor tirosina cinase que uma vez ativado por autofosforilação desencadeia uma cascata enzimática (29).

À semelhança de outros fatores de crescimento, a insulina estimula a via da MAPK (*mitogen-activated protein* cinase) (Figura 2). Esta via inicia-se com a fosforilação das proteínas IRS e/ou Shc, que interagem com a proteína Grb2 (30). A Grb2 está associada à SOS, proteína que induz a permuta de GDP por GTP da Ras, ativando-a. Uma vez ativa, a Ras estimula a fosforilação de resíduos de serina da cinases envolvidas na cascata MAPK, com consequente estimulação da proliferação e diferenciação celulares (31).

2. Mecanismos fisiopatológicos induzidos pela hiperglicemia

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar as alterações estruturais e funcionais associadas à exposição prolongada dos tecidos vasculares à hiperglicemia (32, 33). A via dos polióis, a glicação não-enzimática das proteínas com a produção dos produtos finais da glicação avançada (AGEs), o *stress* oxidativo, com o aumento do teor de radicais livres, e as alterações da PKC têm sido sugeridos na literatura como os principais mecanismos subjacentes às disfunções endoteliais que precedem as complicações vasculares graves associadas à DM (34).

Em células insulino-independentes, como as células renais, da retina e os neurónios, a hiperglicemia conduz a um aumento da glucose intracelular. A glucose em excesso é metabolizada na célula a sorbitol e a frutose pela ação enzimática da aldose-redutase (35).

A acumulação de sorbitol e de frutose na célula promove um aumento da osmolaridade com consequente influxo de água, comprometendo assim a homeostasia celular (36). A via dos polióis potencia a glucotoxicidade ao promover a diminuição da produção de prostaciclina, um potente vasodilatador endógeno sintetizado no endotélio vascular. A diminuição das prostaciclinas leva à vasoconstrição que, além de contribuir para uma menor oxigenação dos tecidos, estimula a agregação plaquetária, um evento crítico na geração do trombo e responsável pela maioria dos acidentes tromboembólicos (37). A glicação não-enzimática também tem sido implicada na patogénese das complicações crónicas associadas à DM. Em condições de hiperglicemia, a glucose reage com o grupo amina terminal de proteínas comprometendo a sua função. Embora a extensão da glicação não parece alterar a atividade biológica das proteínas em pacientes diabéticos, os produtos AGE que podem resultar desta reação não enzimática parece exercer uma atividade fisiopatológica relevante (38). Tem sido demonstrado que os AGEs acumulam-se no córtex renal de ratos diabéticos e têm sido associados à esclerose glomerular observada nos pacientes diabéticos (39). De entre os efeitos tóxicos dos AGEs tem sido sugerido a ocorrência de ligação cruzada em proteínas da matriz ou o comprometimento da ação do óxido nítrico (40). Adicionalmente tem sido proposto que os AGEs aumentam a permeabilidade vascular, promovem o influxo de células mononucleares e induzem a produção de fatores de crescimento e citocinas (41). Os estudos das reações celulares e moleculares responsáveis pelos efeitos mediados pelos AGEs conduziram à identificação de um recetor de AGE, designado de RAGE (42). Este recetor é expresso pelos macrófagos, células endoteliais, musculares lisas e células mesangiais (43, 44). A ativação deste recetor pelos AGE resulta num aumento do *stress* oxidativo nas células (45). Mais ainda, alguns estudos demonstraram que na DM a eficiência dos mecanismos de defesa antioxidante é menor pelo que o excesso de espécies reativas de oxigénio (ROS) acelera a formação de AGEs que, por sua vez, induzem a produção de mais ROS (46). Relativamente à via da PKC, tem sido sugerido que esta cinase se encontra ativa nas células vasculares de indivíduos diabéticos (47, 48). A PKC regula uma série de processos vasculares, tais como a permeabilidade vascular, a proliferação celular, a síntese de matriz extracelular e a transdução de sinais de várias citocinas e hormonas (49). A PKC tem sido alvo de estudos que visam desenvolver inibidores desta cinase para abordagens

terapêuticas que inibam as alterações celulares que culminam nas complicações microvasculares (nomeadamente ao nível renal e da retina) associadas à DM (50).

3. Complicações crónicas associadas à DM

A hiperglicemia crónica associada à DM resulta, frequentemente, no aparecimento de complicações, geralmente classificadas como microvasculares, tais como a retinopatia, nefropatia e neuropatia, e macrovasculares, como por exemplo a doença arterial coronária, doença cerebrovascular e vascular periférica (51). Acredita-se que as complicações mais importantes da DM como a retinopatia, a nefropatia e a neuropatia, são devidas à hiperglicemia. Alguns estudos correlacionam o desenvolvimento e progressão da retinopatia diabética com o mau controlo da glicémia (52-54).

A retinopatia diabética é a complicação ocular mais importante associada à DM. No entanto, a comparação de grupos de indivíduos diabéticos com doença tipo I e II de duração semelhante evidenciou uma prevalência de retinopatia mais elevada nos indivíduos com DM tipo 1 (55, 56). Dado que a DM tipo 2 é a mais comum, uma percentagem significativa dos diabéticos com retinopatia que evolui para cegueira apresenta este tipo de DM (57). A retinopatia diabética proliferativa é marcada pela presença de proliferação neovascular que é um fator importante na patogénese de várias complicações que levam à cegueira, como o descolamento da retina e hemorragia vítrea (58).

A neuropatia diabética, é também uma importante complicação da DM que aparece com a evolução crónica da doença que culmina na degeneração progressiva dos axónios das fibras nervosas (59). Alguns estudos sugerem que o *stress* oxidativo devido ao aumento de radicais livres constitui um mecanismo patogénico a considerar na neuropatia diabética (60). A principal alteração eletrofisiológica caracteriza-se por uma diminuição na amplitude das respostas sensitivas e motoras dos nervos periféricos. No entanto, parece também existir uma ação desmielinizante promovida pela hiperglicemia, que conduz à diminuição da velocidade de condução nervosa (61). A neuropatia diabética está associada a lesões compressivas de nervos em locais anatómicos estreitos, potenciadas por compressão extrínseca (60). Nos membros superiores, o nervo mediano no túnel do carpo e o nervo ulnar no cotovelo e no punho são os mais afetados enquanto nos membros

inferiores são o nervo fibular no joelho e no tornozelo (62). A intervenção cirúrgica tem sido indicada a pacientes que apresentem sinais de compressão localizada de nervos, alteração da sensibilidade e dor irradiada, tanto proximal quanto distal (61). A velocidade de condução dos nervos ulnar, fibular, peroneal e tibial posterior é significativamente mais lenta em diabéticos com síndrome do túnel do carpo assintomática do que em pacientes não-diabéticos (62).

A Doença Arterial Coronária (DAC) é resultante do estreitamento ou da oclusão das artérias coronárias devido à aterosclerose, uma doença que afeta o revestimento endotelial das grandes e médias artérias (63). A obstrução arterial na DAC é em 90% dos casos causada pela formação de placa de ateroma, lesão da parede arterial constituída por um núcleo lipídico coberto por uma capa fibrótica. O risco de cardiopatia coronária encontra-se aumentado em cerca de 2 a 4 vezes nos pacientes diabéticos (64). A hiperglicemia é hoje considerada um fator de risco para DAC contínuo, de forma semelhante ao que acontece com os níveis de colesterol e da pressão arterial (65). O risco de doenças cerebrovasculares aumenta em indivíduos idosos e/ou com historial clínico de DM, tabagismo ou doença isquémica do coração (14). Decorrente da doença cerebrovascular pode ocorrer acidente vascular cerebral, ou ocasionalmente acidente vascular cerebral hemorrágico (64).

3.1. Nefropatia Diabética

Atualmente, a DM é uma das causas mais comuns de doença renal associada tanto o tipo I como o tipo II (66). A nefropatia diabética atinge cerca de 35% dos indivíduos com DM tipo 1 e entre 10% a 40% dos indivíduos com DM tipo 2. Além de evoluir para insuficiência renal, a ND está associada a uma elevada mortalidade por doença cardiovascular, particularmente nos pacientes com DM tipo 2. Até o momento, não são completamente conhecidos os fatores pelos quais apenas uma parte da população diabética desenvolve esta complicação, embora existam evidências de predisposição genética (37).

3.1.1. Classificação da Nefropatia diabética

A história natural da doença compreende as fases de normoalbuminúria com hiperfiltração até a doença renal terminal, passando por estágios intermediários de nefropatia incipiente, caracterizada por um aumento na excreção urinária de albumina e, posteriormente, por proteinúria persistente (67). A classificação atual da *National Kidney Foundation* sugere que seja considerada tanto a albuminúria como a TFG na classificação dos pacientes, já que os dois parâmetros são prognósticos de desfechos renais e mortalidade (68):

Estadio 1:

Neste estadio ocorre a hiperfiltração e os valores da taxa de filtração glomerular encontram-se normais. No entanto, os valores de creatinina sérica aumentam, e observa-se normoalbuminúria. Os pacientes neste estadio apresentam um aumento bilateral do volume e tamanho dos rins. A hiperfiltração constitui a expressão inicial do envolvimento de patologia renal na DM. A importância de sua detecção reside na potencial reversibilidade, principalmente através de um controlo glicémico rigoroso. Neste estadio a taxa de filtração glomerular (TFG) é superior a 90 ml/min por 1,73 m².

Estadio 2:

Este estadio é caracterizado por microalbuminúria ou nefropatia incipiente. A excreção urinária de albumina situa-se entre 30-299 mg/24h. A TFG encontra-se ligeiramente diminuída, entre 60-89 ml/min por 1,73 m², com tendência para diminuir quando a albuminúria alcança valores superiores a 70 mg/min.

Estadio 3:

Este estadio caracteriza-se pela evolução de microalbuminúria para proteinúria ou nefropatia clínica. A excreção urinária de albumina atinge valores superiores a 300mg/24h e observa-se uma queda progressiva da TFG 30-59 ml/min por 1,73 m², que varia com a ocorrência de hipertensão.

Estadio 4:

Neste estadio ocorre uma diminuição severa da TFG para valores 15-20 ml/min por 1,73 m².

Estadio 5:

Os pacientes apresentam insuficiência renal crónica, sendo necessário hemodiálise e/ou transplante renal. A TFG atinge valores inferiores a 15 15-20 ml/min por 1,73 m².

3.1.2. Alterações histológicas subjacentes à nefropatia diabética

A nível morfológico, a glomerulopatia é a lesão mais relevante, caracterizada pelo espessamento da membrana basal glomerular e dilatação mesangial, verificando-se alterações mais acentuadas ao nível dos túbulos, interstício e arteríolas. Após a manifestação da DM a primeira alteração evidente é o aumento do volume do rim (37, 69). O espessamento da membrana basal glomerular constitui a primeira alteração quantificável, sendo observável dois a três anos após o diagnóstico de DM (70). A membrana glomerular é uma barreira única, complexa e com permeabilidade seletiva (11). Esta barreira permite a passagem de água e de moléculas do soro para a urina, mas quase sempre impede a passagem de albumina (71, 72). Já foi amplamente demonstrado que a membrana basal glomerular distingue moléculas, segundo o seu tamanho e forma (73). As proteínas séricas de maiores dimensões, como as globulinas, são praticamente excluídas pela filtração glomerular normal, enquanto as proteínas menores podem ser filtradas em pequenas quantidades. Em relação à carga elétrica, sabe-se que as moléculas de carga negativa têm menos capacidade de atravessar o glomérulo do que outras com dimensões idênticas. As moléculas de carga positiva têm depuração aumentada (74). Por outro lado, a dilatação mesangial tem um desenvolvimento mais tardio, com o aumento da matriz mesangial a observar-se entre o quinto e sétimo ano após o diagnóstico de DM (67). No entanto, quando a insuficiência renal se manifesta, a dilatação mesangial já se encontra

num estadio avançado e o espessamento da membrana basal também é observável (75). A dilatação mesangial difusa e generalizada pode estar associada a lesões nodulares consistentes. Tanto o espessamento da membrana basal como a dilatação mesangial são consequência da acumulação da matriz extracelular, com aumento de aglomerados de colagénio tipo IV e tipo VI, laminina e fibronectina (75, 76). Os mecanismos subjacentes a estas alterações não são totalmente conhecidos, embora pareçam estar associados ao aumento da produção destas glicoproteínas, diminuição da sua degradação ou por conjugação de ambas os processos (75). Adicionalmente têm sido descritas outras alterações estruturais, incluindo o espessamento da membrana basal dos túbulos, atrofia tubular (77), expansão intersticial (78) e hialinização das artérias aferentes e eferentes. O aumento da capsula de Bowman é frequentemente observado. As artérias aferentes e eferentes sofrem hialinização poucos anos depois do diagnóstico da DM (79). A severidade da hialinização arteriolar está significativamente correlacionada com a percentagem de esclerose glomerular, o que sugere que esta lesão vascular pode contribuir para o comprometimento do fluxo do sangue glomerular (20). Lesões similares são, frequentemente, encontradas no espaço subendotelial glomerular e ao longo da superfície parietal da capsula de Bowman (37).

Em resumo, as alterações patofisiológicas induzidas pela DM e que levam à nefropatia incluem hiperfiltração e microalbuminúria seguida do agravamento das funções renais associadas a distúrbios celulares e extracelulares, tanto no glomérulo como no compartimento túbulo-intersticial (77, 78).

4. Avaliação laboratorial da função renal na DM

Os testes laboratoriais mais comumente utilizados para despiste de DM ou controle da glicemia são: (i) *Hemoglobina glicada*: confere uma estimativa da glicemia média dos últimos 2-3 meses; (ii) *Glicemia de jejum*: avaliação do nível de glucose sanguínea após um jejum de 8 a 12 horas; (iii) *Teste oral de tolerância à glucose* (TTG -75g): paciente ingere 1 dose de 75 g de glucose, em jejum, e a glicemia é medida antes e 120 minutos após a sua ingestão; (iv) *Glicemia casual*: avaliada sem padronização do tempo desde a última refeição.

Mais do que controlar a hiperglicemia, é fundamental avaliar o risco das complicações associadas à DM como a nefropática diabética. Assim, para avaliação da função renal, na prática clínica são monitorizados os valores de proteinúria, a albuminúria e é avaliada a taxa de filtração glomerular (TFG) através dos valores séricos e urinários de creatinina e/ou cistatina C sérica (80). De seguida será feita uma análise crítica dos biomarcadores que têm sido utilizados na avaliação da função renal de pacientes diabéticos.

4.1. Albuminúria e Proteinúria

Mais de 99% da albumina filtrada é reabsorvida e catabolizada pelas células tubulares do rim saudável. O primeiro sinal de envolvimento renal na DM é a ocorrência de microalbuminúria (81). A microalbuminúria afeta 20 - 40% dos pacientes, 10 a 15 anos após o início da diabetes, com progressão para proteinúria. A proteinúria é um marcador da hiperfiltração glomerular (82) e em pacientes diabéticos a sua persistência constitui critério de diagnóstico de doença renal crónica e antecipa a nefropatia (83). A ND pode ser categorizada atendendo ao comprometimento renal na DM, com base em valores de excreção urinária de albumina: normoalbuminúria, microalbuminúria (30-299 mg/24h; nefropatia incipiente) e macroalbuminúria (> 300mg/24h; nefropatia clínica). Valores de microalbuminúria de 30-299 mg/24h relacionam-se com estadios iniciais da ND na DM tipo 1 e 2 por sua vez o aparecimento de macroalbuminúria (>300 mg/24h) indica o aparecimento de ND em estado avançado. Mais ainda, nem todos os pacientes apresentam um curso progressivo de patologia renal semelhante, podendo ocorrer a regressão ao estadio de normoalbuminúria. A progressão de micro- para macroalbuminúria foi

inicialmente estimada com uma frequência de 80% (84). Atualmente estima-se que 45% dos pacientes com microalbuminúria desenvolvam macroalbuminúria. O tratamento para a normalização dos valores da glicose e da pressão arterial pode evitar a macroalbuminúria (81, 85).

No despiste da doença renal, a presença de albuminúria pode ser testada em amostras de urina isoladas (51, 83). No entanto, a diluição da proteína na urina pode variar muito de amostra para amostra, tendo sido recomendado o doseamento da creatinina na mesma amostra, e o resultado, nesse caso, deve ser expresso pela razão albumina/creatinina (considerada normal para valores inferiores a 3 µg/mg creatinina) (82). A doença renal deve ser considerada quando 2 de 3 amostras recolhidas no período de 3-6 meses apresentam valores anormais. No entanto, como a excreção urinária de albumina segue um padrão circadiano é preferível que a sua avaliação seja realizada em amostras de urina de 24 horas. No entanto, deve-se ter em consideração que algumas condições aumentam a excreção urinária de albumina, como por exemplo, febre, infecções, crises hipertensivas, exercício físico e insuficiência cardíaca (84).

4.2. Taxa de Filtração Glomerular (TFG)

A determinação da taxa de filtração glomerular (TFG) constitui o teste mais amplamente usado na avaliação da função renal, refletindo a massa relativa de tecido renal funcional e ainda o número de nefrônios funcionais (86). A TFG definida como a *clearance* de uma substância presente no soro, metabolizada exclusivamente pelos rins e filtrada livremente pelos glomérulos, é o principal indicador de função renal (87). Os capilares glomerulares permitem a passagem de substâncias que devem ser depuradas do sangue, particularmente os produtos finais do metabolismo, como a ureia, a creatinina e o ácido úrico (82). São vários os fatores que influenciam e regulam a filtração glomerular, tais como a pressão hidrostática, a resistência vascular, a pressão oncótica, o coeficiente de ultrafiltração e controlo hormonal e neural. Decorrente do comprometimento destes mecanismos reguladores observa-se um declínio da filtração glomerular, como nas doenças renais (82). A diminuição da TFG ocorre antes do aparecimento dos sintomas de insuficiência renal (82).

De entre os marcadores ideais para a determinação da TFG salientam-se substâncias exógenas tais como a inulina, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), o ácido

etilenodiaminopentacético (DTPA), o iotalamato e, recentemente, o iohexol. No entanto, a utilização de tais substâncias para a determinação da TFG é limitada dado que as técnicas envolvidas são caras, os procedimentos prolongados, não sendo viável a sua aplicação na rotina de um laboratório clínico (87). Contrariamente, os marcadores endógenos são de determinação menos complexa e permitem obter resultados mais rapidamente (88, 89). Entre os marcadores endógenos, destacam-se a ureia e a creatinina sérica, isolada ou conjugada, cujo doseamento requer amostras de urina de 24 horas. Embora amplamente utilizados, estes marcadores não preenchem os critérios de um marcador ideal para a avaliação da função renal (89). A ureia foi a primeira substância endógena doseada no soro para a avaliação da função renal. Trata-se de um produto do metabolismo proteico, sendo mais de 90% excretado pelos rins. No entanto, uma proporção elevada de ureia (40 a 70%) é passivamente reabsorvida, o que subestima a TFG em situações de reduzida perfusão renal. Mais ainda, a sua concentração sérica é influenciada pela dieta, massa corporal, função hepática e várias doenças (88-90). A falta de estabilidade deste marcador no sistema circulatório limita a sua precisão como medida da TFG (88, 90).

A creatinina sérica é atualmente o marcador endógeno mais utilizado na prática clínica, seja por determinação sérica isolada ou analisada em conjunto à determinação da depuração de creatinina (91).

4.2.1. Creatinina

A creatina encontra-se presente no músculo, cérebro e sangue, na forma livre e de fosfocreatina e pode ser encontrada na urina em pequenas quantidades. A creatinina é o anidrido da creatina e é formada, em grande parte, no músculo a partir da fosfocreatina (91). Após a sua libertação pelo músculo, a creatinina é excretada exclusivamente pelos rins. A creatinina sérica é livremente filtrada pelos glomérulos, não é reabsorvida pelos túbulos renais e apenas uma pequena fração é secretada (15%), pelo que a quantidade filtrada é praticamente igual à quantidade excretada (92). A excreção de creatinina é, então, utilizada tanto como uma medida da massa muscular como da função renal. Inconvenientemente, a concentração de creatinina na circulação também reflete a sua produção que é proporcional à massa muscular, o que diminui o seu valor como marcador da taxa de filtração glomerular. A creatinina produzida é influenciada pela idade e género

mas não é afetada por doenças, como a sépsis e o trauma, ou desidratação, mas pode aumentar com a ingestão de proteínas (93).

Embora a creatinina seja um marcador grosseiro, é o mais amplamente usado para determinar a TFG e as vantagens associadas à sua utilização como marcador clínico são o baixo custo e fácil execução do seu doseamento (94). O seu doseamento está inversamente relacionada com a TFG. Dado que este marcador endógeno é libertado nos líquidos corporais a uma taxa constante, e os seus níveis plasmáticos permanecerem dentro de limites estreitos, a sua depuração pode ser determinada como indicador da TFG. Uma pequena quantidade de creatinina, contudo, é reabsorvida pelos túbulos, e uma pequena quantidade aparece na urina (7%-10%) decorrente da secreção tubular (95). A variabilidade intra- e inter-individual são expectáveis e justifica o fato de o nível plasmático da creatinina ser mais elevado em adultos, comparativamente às crianças, e em homens em relação a mulheres (73, 96). Assim, é necessário ter espírito crítico na avaliação dos resultados deste parâmetro, tendo em consideração os potenciais fatores moduladores (89, 97).

Ainda que a creatinina sérica seja o marcador mais utilizado para avaliação da função renal, várias questões têm sido levantadas relativamente ao seu valor na avaliação da TFG (98). Na avaliação da função renal com base na creatinina utiliza-se a equação de cálculo da depuração da creatinina (equação 1):

Equação 1:

$$\text{Depuração de Creatinina} = \frac{\text{Creatinina urinária} \times \text{volume de urina}}{\text{Creatinina sérica} \times \text{tempo (min)}}$$

No sentido de minimizar o potencial erro associado as variações na secreção tubular da creatinina foram definidas outras equações para avaliação da depuração da creatinina ou da TFG.

Em adultos utiliza-se mais frequentemente a equação de Cockcroft-Gault (estimativa da depuração da creatinina, em mL/min) e a fórmula conhecida como MDRD (*Modification of Diet in renal Disease*; estimativa da TFG, expressa em $\text{mL} \times \text{min}^{-1} \times (1,73\text{m}^2)^{-1}$) (99, 100). A equação de Cockcroft-Gault é uma equação amplamente usada e validada tem em consideração a idade, o peso e o sexo do paciente. Contudo, a principal

limitação desta equação passa pela ausência de padronização para área de superfície corporal.

Equação 2:

$$CG = \frac{(140 - \text{idade em anos}) \times \text{peso (kg)} \times 0,85 \text{ (se mulher)}}{72 \times \text{creatinina sérica (mg/dL)}}$$

A equação MDRD abreviada (equação 3) permite o ajuste de acordo com a área de superfície corporal e inclui variáveis como a creatinina, a idade, o sexo e a etnia, excluindo-se a necessidade de pesar os pacientes. Porém, a obrigatoriedade de classificar os indivíduos por etnia mantêm as mesmas limitações da fórmula completa (101).

Equação 3:

$$TFG = 186 \times (\text{creatinina sérica})^{-1,154} \times (\text{idade em anos})^{-0,203} \times 0,742 \text{ (se mulher)} \times 1,212 \text{ (se negro)}.$$

Estudos recentes sugerem que a equação MDRD sobrestima pacientes com doença renal crônica nos estadios menos severos, mas classifica corretamente os pacientes nos estadios mais severos de doença renal crônica (102). O principal fator limitante na utilização das equações acima apresentadas é a sua utilização em populações com características diferentes daquela que originou o estudo (103).

A concentração de creatinina não é sensível para reduções de TFG suaves ou moderadas. A TFG pode diminuir antes da concentração de creatinina sérica se elevar significativamente, atrasando o diagnóstico da doença renal progressiva. Tal decorre do fato da relação entre a concentração sérica e a capacidade de filtração glomerular não ser linear (104, 105). As desvantagens do seu uso como marcador da TFG reduzem significativamente a sua utilidade clínica e enfatizam a necessidade de identificar um marcador mais adequado para avaliação da TFG (94). Nos últimos anos têm-se procurado proteínas séricas de baixo peso molecular que possam servir como marcador de TFG. De entre essas, a cistatina C sérica foi proposta como um novo marcador endógeno da função renal (91).

4.2.2. Cistatina C

A cistatina C é uma proteína catiónica não glicosilada, com 120 aminoácidos dispostos em uma cadeia polipeptídica simples, com massa molecular de 13.359 Da, sendo um constituinte da superfamília das cistatinas, que, por sua vez, é composta por 12 proteínas (93, 106). Esta proteína é um potente inibidor de proteases cisteínicas (106, 107), fundamentais para o metabolismo celular, para a degradação do colagénio e clivagem de proteínas precursoras (88). Estudos demonstraram que a cistatina C é produzida a um ritmo constante por todas as células nucleadas e está presente nos fluídos biológicos (86-88, 96, 108). Esta proteína está envolvida em processos patológicos, tais como inflamação, doenças neurológicas, invasão tumoral e formação de metástases. Após a filtração, a cistatina C é reabsorvida e catabolizada pelas células tubulares renais, sendo excretada em pequenas quantidades na urina (0,03-0,3 mg/L). A estabilidade da cistatina C no sangue possibilita o armazenamento de amostras de plasma ou soro por várias semanas ou meses até que se verifique degradação da cistatina C (109, 110). A produção constante de cistatina C por todos os tecidos, a sua eliminação via filtração glomerular e a não dependência de fatores extrínsecos tais como sexo, idade e dieta são condições para um marcador bioquímico endógeno ideal da filtração glomerular (107). Neste sentido, a cistatina C é um marcador endógeno de função renal muito mais sensível do que a creatinina, principalmente em estádios precoces da doença (108). Porém, os níveis de cistatina C podem sofrer alterações em situações de lipemia e hemólise. Mais ainda, fármacos como a metilprednisolona promovem o aumento dos níveis de cistatina C, enquanto a ciclosporina, por exemplo, causa sua diminuição (108, 111).

De forma similar à creatinina, têm sido propostas várias equações para a estimativa da TFG baseadas nos níveis séricos da cistatina C. Estudos sugerem que existe uma melhor correlação entre as equações baseadas na cistatina C e a TFG do que entre as equações baseadas na creatinina e a TFG (102). Recentemente, foi proposta uma nova equação baseada nos níveis séricos de creatinina e cistatina C, idade, sexo e etnia. Com esta equação (equação 4) parece obter-se uma maior precisão na estimativa da TFG (112).

Equação 4:

$$\text{TFG} = 177,6 \times (\text{creatinina sérica em mg/dL})^{-0,65} \times (\text{cistatina C sérica em mg/dL})^{-0,57} \times (\text{idade em anos})^{-0,20} \times (0,82 \text{ se mulher}) \times (1,11 \text{ se negro})$$

Embora muitos trabalhos tenham relatado o potencial da cistatina C em identificar ligeiras reduções na função renal sem a necessidade de correções para variáveis antropométricas, alguns investigadores tem desenvolvido equações (113-115) para estimar a TFG convertendo a cistatina C de mg/L para mL/min, o que facilita o seu uso na prática nefrológica. Larsson *et al.* (116) realizam um estudo comparando a creatinina, a cistatina C e a *clearance* do iohexol, com o objetivo de expressar a cistatina C em mL/min através de uma regressão linear. Estes autores verificaram uma maior correlação ($\rho < 0,0001$) entre a cistatina C e a *clearance* do iohexol ($r=0,91$) do que entre a creatinina e o *clearance* iohexol ($r=0,84$). Para conversão dos dados foram calculadas $y = 77,239 \times \text{cistatina C}^{(-1,2623)}$ e $y = 99,434 \times \text{cistatina C}^{-1,5837}$. Perante estas duas fórmulas, Pöge *et al.* (117) analisaram retrospectivamente a correlação e precisão das duas fórmulas propostas por Larsson e Hoek baseadas na cistatina C comparando com as duas fórmulas baseadas na creatinina, propostas por Cockcroft & Gault e MDRD, em 44 pacientes com cirrose hepática. As equações baseadas na creatinina bem como na cistatina C sobrestimaram a TFG em comparação à *clearance* de inulina. No entanto, as equações da cistatina C evidenciaram uma maior precisão e correlação em comparação às equações da creatinina.

A determinação sérica da cistatina C começa a ser usada na prática clínica um pouco por todo o mundo, mas ainda não se conhecem claramente as suas limitações ou as condições clínicas mais indicadas à sua análise. Mais ainda, a determinação laboratorial desta proteína comporta custos elevados, pelo que a correta avaliação da sua aplicação clínica é fundamental (96, 111). Na Tabela 1 é feita uma análise comparativa das vantagens e limitações da cistatina C e da creatinina como marcadores para avaliação da TFG.

Tabela 1 - Análise comparativa das potenciais variáveis que induzem alterações nos valores séricos de cistatina C e de creatinina na avaliação da TFG (10, 96, 106, 118-124).

Variáveis	Cistatina C	Creatinina
Massa muscular	Não interfere	Dependente da massa muscular
Idade	Sem variação apreciável	Aumenta
Sexo	Sem variação apreciável	Mais elevada em homens
Alimentação	Não interfere	Influenciada pelo conteúdo proteico da dieta
Hormonas da tiroide	Diminui com o hipotiroidismo e aumenta com o hipertiroidismo	Aumenta com o hipotiroidismo e diminui com o hipertiroidismo
Hipertensão	Aumenta	Sem variação apreciável
Gravidez	Aumenta a concentração urinária e sérica	Sem variação apreciável
Corticosteroides	Aumenta	Sem variação apreciável

Woitás *et al.* (125) estudaram 62 pacientes com vários graus de cirrose hepática, doença renal e DM, e demonstraram que cistatina C se correlacionava significativamente com a TFG medida pela *clearance* da inulina. Os autores chegaram à conclusão de que a cistatina C é um bom indicador da redução da TFG, melhor do que a creatinina. Num estudo desenvolvido por Petri *et al* (126) envolvendo 52 pacientes com DM tipo 2 e com idades compreendidas entre os 48 e os 73 anos, a TFG foi avaliada pela *clearance* do Cr-EDTA. Adicionalmente foram determinadas as concentrações de albumina na urina, lípidos, hemoglobina glicada, creatinina, cistatina C no soro e foi aplicada a fórmula de Cockcroft-Gault para estimativa da TFG. A análise dos resultados obtidos evidenciou a existência de uma melhor correlação entre a TFG e a cistatina C do que com a creatinina. A precisão do resultado obtido com a cistatina C foi de 90%, significativamente maior do que a obtida com a creatinina (77%). Estes autores concluíram que a cistatina C pode ser considerada um marcador mais preciso do que a creatinina para distinguir pacientes diabéticos com TFG reduzida de pacientes com TFG normal (126).

Com base nestes estudos pode-se concluir que a cistatina C constituiu uma alternativa promissora e um marcador mais exato do que a creatinina para avaliação da TFG em pacientes com DM, embora sejam ainda necessários estudos adicionais para avaliar a mais-valia clínica da cistatina C.

4.3. Marcadores da função dos Túbulos renais

A associação entre marcadores de lesão glomerular como albuminúria e marcadores de dano tubular parece permitir uma melhor avaliação clínica da gravidade da lesão glomerular. Mais ainda, tem sido sugerido que o dano túbulo-intersticial permite prever com mais exatidão a progressão da insuficiência renal. De entre os marcadores urinários tubulares, os mais utilizados e estudados são a Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (*Neutrophil-gelatinase associated lipocalin - NGAL*) e molécula de lesão renal 1 (*Kidney injury molecule-1- KIM-1*) (127).

4.3.1. Molécula de lesão renal 1 (KIM-1)

A KIM-1 é uma glicoproteína transmembranar do tipo I com um domínio extracelular que se localiza na membrana apical dos túbulos renais após lesão aguda e crónica (128). Tem sido sugerido que a KIM-1 atua em processos de regeneração após lesão epitelial. Esta molécula não é detetável no tecido renal normal mas apresenta expressão muito elevada em células epiteliais do túbulo proximal após lesão isquémica ou tóxica (129). Nas células renais, esta proteína atua como um recetor de fosfatidilserina, o qual reconhece células apoptóticas (130). Han *et al.* (131) observaram por imunohistoquímica uma sobre-expressão de KIM-1 em seis pacientes com necrose tubular aguda. Estes investigadores avaliaram ainda os níveis de KIM-1 na urina de 40 pacientes, e encontraram teores mais elevados em pacientes com necrose tubular aguda isquémica em comparação com aqueles que apresentavam nefropatia, outras formas de insuficiência renal aguda, doença renal crónica e com indivíduos saudáveis. Entre as vantagens da KIM-1 como marcador da função renal salienta-se o fato de permitir detetar lesões precoces, antes de se observarem alterações dos níveis de outros marcadores (132).

4.3.2. Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL)

A NGAL é uma proteína de 25 kDa pertencente à superfamília das lipocalinas que compreende um grupo de 20 proteínas extracelulares de baixo peso molecular, definidas com base nas suas estruturas tridimensionais e, conseqüentemente, na capacidade de ligarem várias moléculas (133). Esta proteína possui um papel bioquímico importante exercendo diversas funções tais como ligação de moléculas hidrofóbicas e transporte

através da membrana sérica, ligação a recetores específicos de membrana e formação de complexos com macromoléculas solúveis (134). Recentemente foi sugerido que a NGAL pode induzir a formação de epitélio renal por estimulação da conversão de células mesenquimais em epitélio do túbulo proximal (135). Tal fato decorre da NGAL poder atuar como proteína transportadora de ferro através da formação de complexos com sideróforos (NGAL: siderofo: Fe^{2+}) (136). A administração de NGAL em ratos com lesão renal em fase inicial protege o rim, preserva a integridade tubular e minimiza a azotemia (137). Desta forma, a NGAL desempenha um papel renoprotetor por induzir a proliferação de células dos túbulos após lesão renal, como na isquemia-reperfusão (137).

O doseamento da NGAL pode ser efetuado tanto na urina como no soro, principalmente por ensaios imunoenzimáticos (ELISA) (138). As determinações de NGAL no soro podem ser influenciadas por algumas variáveis como insuficiência renal crónica, hipertensão crónica, infeções urinárias e/ou sistémicas, condições inflamatórias e doenças malignas. Contudo, o aumento da NGAL sérica nestas situações é geralmente menor dos encontrados em casos de insuficiência renal aguda (138). Os resultados obtidos num estudo realizado em pacientes com DM tipo 1 evidenciaram níveis elevados de NGAL sugestivos de dano tubular numa fase inicial. Os níveis urinários de NGAL aumentam proporcionalmente com os níveis de albumina na urina (127). Existem estudos que avaliaram a utilidade da mediação de NGAL na urina como possível marcador precoce de ND, tendo verificado um aumento de NGAL proporcional à severidade do dano na função renal. Os autores concluíram que a NGAL apresenta potencial como marcador de diagnóstico precoce da ND (134).

II. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a aplicação da cistatina C na monitorização da função renal nos pacientes diabéticos, em alternativa à creatinina. Nesse sentido realizaram-se dois estudos:

O primeiro estudo teve como objetivo específico a *caracterização de pacientes diabéticos com e sem patologias renais* acompanhado n Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E – Aveiro (CHBV), com base na:

- i. Caracterização clinico-laboratorial;
- ii. Associação entre a cistatina C e a creatinina com outros parâmetros laboratoriais
- iii. Correlação entre a cistatina C e a creatinina com as equações estimativas da filtração glomerular.

O segundo estudo teve como objetivo específico a avaliação da *aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação renal de pacientes diabéticos* seguidos no CHBV, com base na:

- i. Caracterização clinico-laboratorial;
- ii. Comparação dos valores de creatinina e cistatina C no sentido de validar a aplicabilidade da cistatina C na monitorização da função renal dos pacientes diabéticos;
- iii. Associação entre a cistatina C e outros parâmetros laboratoriais;
- iv. Correlação entre a cistatina C e equações estimativas da filtração glomerular baseadas na creatinina.

III. Material e Métodos

O presente trabalho foi dividido em dois estudos, o primeiro foi um estudo retrospectivo enquanto o segundo foi um estudo prospetivo. A realização deste trabalho foi aprovada pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E - Aveiro.

A. Caracterização dos pacientes diabéticos com e sem patologias renais - estudo retrospectivo

1. Seleção e caracterização da população

No presente projeto de mestrado realizou-se um estudo retrospectivo que incluiu os indivíduos com DM com e sem complicações renais diagnosticadas e tratadas no CHBV entre Janeiro de 2011 e Dezembro 2012. Os pacientes incluídos neste estudo foram divididos em dois grupos: pacientes com DM sem complicações renais - SCR e pacientes com DM aos quais foram diagnosticadas complicações – CCR de acordo com a base de dados GDH (Grupo de diagnóstico homogéneo). Para estes pacientes foi obtida a informação das análises bioquímicas realizadas no Serviço de Química Clínica através do SAM (Sistema de Apoio ao Médico) e mediante a consulta dos processos clínicos. Assim, os dados demográficos e os parâmetros laboratoriais considerados para o presente estudo foram: a idade, o sexo dos pacientes, a percentagem de hemoglobina glicada, a concentração de glucose sérica, a concentração de creatinina sérica, a concentração de cistatina C sérica, a concentração de albumina sérica e a concentração de colesterol total. Os valores de referência adotados na realização do trabalho seguem a sugestão do fabricante dos aparelhos automáticos utilizados, como apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros laboratoriais e respectivos valores de referência.

Parâmetros	Valores de referência
Creatinina sérica	0,6- 1,2 mg/dL
Cistatina C sérica	0,5-1,0 mg/L
Proteínas totais	6,0- 8,0 mg/dL
Albumina	3,5 – 5,2 mg/dL
Ureia	10-50 mg/dL
Glicemia	<110 mg/dL - Normal

A concentração de creatinina foi determinada em amostras de soro segundo o método de Jaffé modificado (139) que se baseia na reação do picrato com a creatinina na presença de uma base forte, NaOH, formando-se um cromóforo vermelho. A absorvência a 510 nm é diretamente proporcional à concentração da creatinina da amostra. A medição da absorvência foi efetuada num aparelho automático Dimension RxL Max ® (Siemens). A cistatina C foi doseada no soro por imunonefelometria utilizando o equipamento BN ProSpec ® (Siemens), de acordo com as instruções do fabricante. O método baseia-se na utilização de partículas de poliestireno carregadas com anticorpos específicos anti-cistatina C humana. Ao entrar em contacto com a cistatina C da amostra, estas partículas formam aglutinados que dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersada depende da concentração da respetiva proteína na amostra.

A taxa de filtração glomerular foi calculada com base em 3 equações (Tabela 3), baseadas tanto na creatinina sérica quanto na cistatina C sérica. – Fórmula MDRD, fórmula de Levey e fórmula de Larsson.

Tabela 3 - Equações utilizadas para estimar a TFG.**Equação simplificada MDRD**

$TFG [ml/min/1,73 m^2] = 186 \times (creatinina\ sérica [mg/dL])^{-1,154} \times (idade [anos])^{-0,203} \times (0,742; se\ mulher) \times (1,210; se\ negro)$

Equação de Levey et al

$TFG [ml/min/1,73 m^2] = 177 \times (creatinina\ sérica)^{-0,65} [mg/dL] \times (cistatina\ C)^{-0,57} [mg/L] \times (idade)^{-0,20} \times (0,82\ se\ mulher) \times (1,11\ se\ negro)$

Equação de Larsson et al

$TFG [ml/min] = 77 \times cistatina\ C [mg/L]^{-1,2623}$

2. Análise estatística

A análise estatística dos dados clínico-laboratoriais foi efetuada com os programas Excel ®2010 (Microsoft Corporation, USA) e o GraphPad Prism 5 ® (GraphPad Software Inc., USA). As características clínicas e laboratoriais foram analisadas de forma descritiva. As variáveis com significado estatístico na análise univariada foram submetidas a uma análise multivariada com o objetivo de determinar aquelas que possuíam valores de prognóstico independente. Consideraram-se estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$.

B. Aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação da função renal de pacientes diabéticos - estudo prospetivo

1. Seleção e caracterização da população

No período entre Fevereiro de 2013 e Junho de 2013, realizou-se um estudo prospetivo no Serviço de Química Clínica que incluiu 101 pacientes, de ambos os sexos. Os pacientes foram divididos em dois grupos, grupo PDM (n=81) constituídos por pacientes diabéticos, com valores de hemoglobina glicada igual ou superior a 6,5%, e o grupo CTL (n=20), que incluiu pacientes com valores de hemoglobina glicada inferiores a 6,5% e sem evidências de patologia renal, diabética ou de alguma forma relacionada com estas. Para os pacientes selecionados, recolheram-se os seguintes dados demográficos e parâmetros laboratoriais: a idade, o sexo dos pacientes, a percentagem de hemoglobina glicada, a concentração de glucose sérica, a concentração de creatinina sérica, a concentração de cistatina C sérica, a concentração de albumina sérica e a concentração de colesterol total. Os valores de referência adotados na realização do trabalho encontram-se na Tabela 2.

Tal como no estudo A, a concentração de creatinina e de cistatina C foi determinada em amostra de soro, de acordo o método de Jaffé modificado, utilizando um sistema automático Dimension RxL Max ® (Siemens). A cistatina C foi doseada no soro por imunonefelometria utilizando o equipamento BN ProSpec ® (Siemens), de acordo com as instruções do fabricante.

Assim como referido para o estudo A, a taxa de filtração glomerular foi calculada a partir de 3 equações estimativas, baseadas tanto na creatinina sérica quanto na cistatina C sérica. A taxa de filtração glomerular foi estimada pela equação MDRD (Tabela 3).

2. Análise estatística

Tal como no estudo, A, a análise estatística dos dados clínico-laboratoriais foi efetuada com os programas Excel ®2010 (Microsoft Corporation, USA) e o GraphPad Prism 5 ® (GraphPad Software Inc., USA).

As características clínicas e laboratoriais foram analisadas de forma descritiva. As variáveis com significado estatístico na análise univariada foram submetidas a uma análise

multivariada com o objetivo de determinar aquelas que possuíam valores de prognóstico independente. Consideraram-se estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$.

IV. Resultados

A. Caracterização dos pacientes diabéticos com e sem patologias renais - estudo retrospectivo

1. Caracterização clínico-laboratorial dos pacientes

Neste estudo foram incluídos 7791 pacientes, entres os quais 6412 são diabéticos e não-portadores de doenças renais e 1379 são diabéticos com complicações renais (ND). No sentido de caracterizar os grupos em estudo, avaliaram-se alguns marcadores antropométricos tais como o sexo e a idade, e parâmetros laboratoriais tais como a cistatina C, a creatinina, a glucose e hemoglobina glicada.

Assim, no grupo SCR, de entre os 6412 pacientes 60,3% eram do sexo masculino e 39,7% do sexo feminino com idades entre os 6 e os 97 anos, com uma média de $69,8 \pm 12,3$. Em relação ao grupo CCR, dos 1379 pacientes analisados 49,3% eram do sexo masculino e 50,7% do sexo feminino e as idades variaram entre os 32-97 anos, sendo a média de $75,2 \pm 9,1$ (Figura 3)

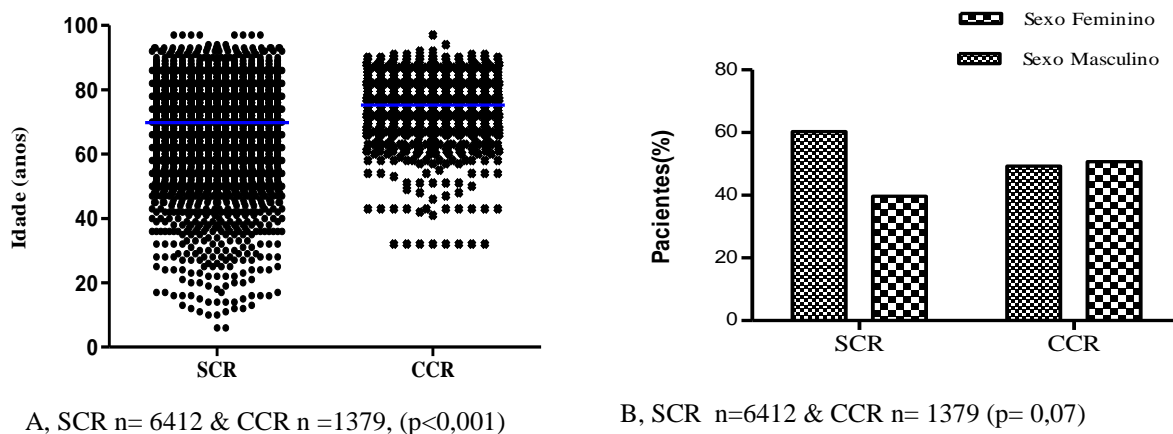
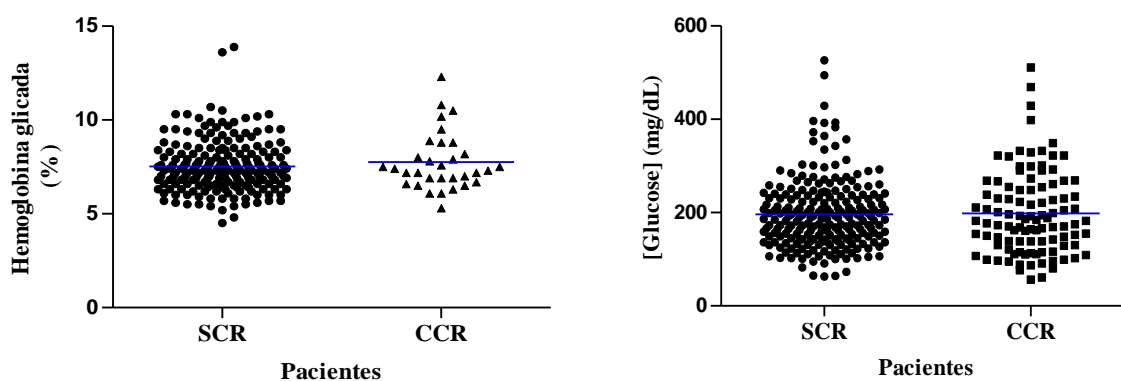


Figura 3 - Distribuição dos doentes em estudo de acordo com a idade (A) e o sexo (B).

No sentido de avaliar o controlo glicémico dos pacientes em estudo compararam-se os valores médios de hemoglobina glicada e glucose sérica (Figura 4). No grupo CCR, o valor médio de hemoglobina glicada foi de $7,7 \pm 1,5$ (Figura 4 A) e no grupo SCR foi ligeiramente inferior $7,5 \pm 1,4\%$, o que reflete, a nível geral, um controlo glicémico relativamente bom.



A, SCR n=196 & CCR n= 84, $\rho=0,54$

B, SCR n=223 & CCR n= 101, $\rho=0,76$

Figura 4 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de glucose sérica (A) e a percentagem de hemoglobina glicada (B).

Relativamente aos valores de glucose sérica, no grupo SCR a concentração variou entre 63 e 526 mg/dL e a média foi de $196,5 \pm 74,0$. Destes, 91,0 % dos pacientes apresentavam hiperglicemia. Em relação ao grupo CCR, a concentração de glucose sérica variou entre 56 e 511 mg/dL e a média foi de $198,6 \pm 89,5$. Neste grupo 77,1 % dos pacientes apresentavam hiperglicemia (Figura 4 B).

Adicionalmente, a concentração de proteínas totais no sangue, no grupo SCR, variou entre 3,6 e 8,7 g/dL, sendo que 16,7 % dos pacientes apresentaram valores inferiores a 6,0 g/dL. A concentração de proteínas totais, no grupo CCR, variou entre 5,9 e 8,6 g/dL e 17,2 % dos pacientes apresentaram valores inferiores a 6,0 g/dL, no entanto estas diferenças não foram estatisticamente significativas ($p=0,86$) (Figura 5 A). Estes valores baixos de concentração de proteína podem verificar-se em consequência de, por exemplo, desnutrição, distúrbios da síntese proteica e na síndrome de má absorção (140).

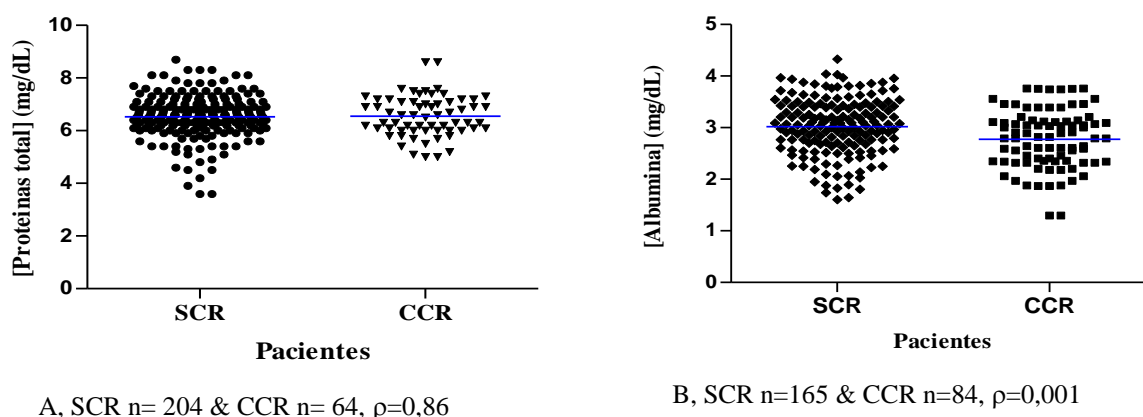
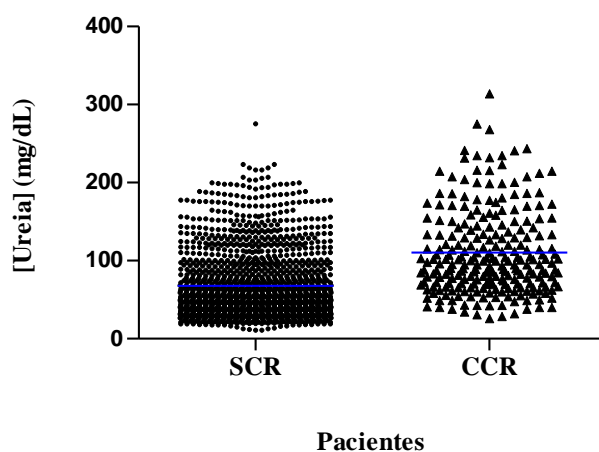


Figura 5 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de proteínas totais sérica (A) e a concentração de albumina sérica (B).

A concentração de albumina no sangue, no grupo SCR, variou entre 1,6 e 4,3 g/dL e 80,0 % dos pacientes apresentaram valores inferiores 3,5 g/dL. No grupo CCR, os valores deste marcador variaram entre 1,3 e 3,8 mg/dL e 90,5 % dos pacientes apresentaram valores inferiores a 3,5 g/dL (Figura 5 B). Clinicamente, a diminuição dos valores séricos desta proteína pode ser sugestiva de uma resposta inflamatória não específica (84).

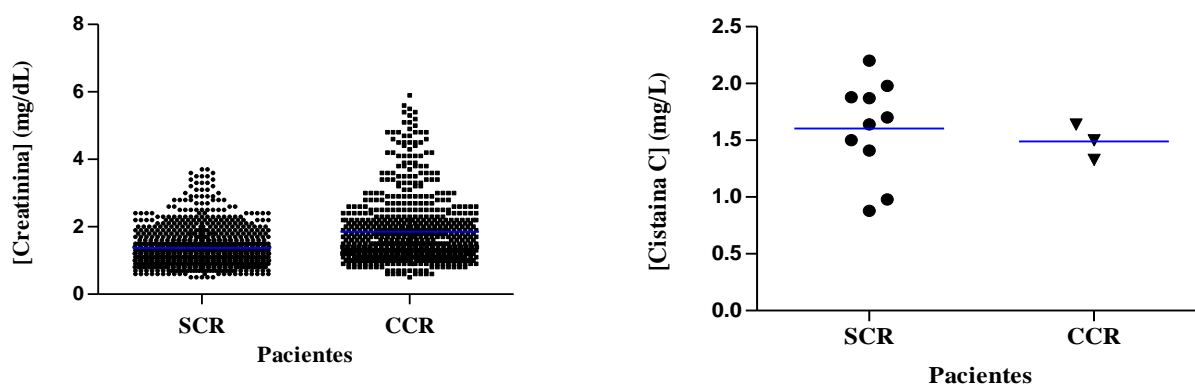
No sentido de verificar o efeito da hiperglicemia crónica na função renal avaliou-se a ureia, a cistatina C e a creatinina. No grupo SCR, a concentração média de ureia foi de $67,9 \pm 43,1$ mg/dL e 55,4 % dos doentes apresentaram um valor superior a 50,0 mg/dL. No grupo CCR, os níveis médios de ureia sérica foram de $110,3 \pm 34,2$ mg/dL e 91,2,7 % dos doentes apresentaram valores superiores a 50,0 mg/dL. Estes valores elevados de ureia podem estar associados a diferentes patologias renais com diferentes tipos de lesões (glomerular, tubular, intersticial ou vascular) (Figura 6) (31).



SCR n=1584 & CCR n= 240, $\rho < 0,0001$

Figura 6 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de ureia sérica.

Da mesma forma, no grupo SCR, a concentração média de creatinina sérica foi de $1,4 \pm 0,8$ mg/dL, sendo que 67,4 % dos doentes apresentaram valores superiores a 1,2 mg/dL. Em relação ao grupo CCR, a concentração média de creatinina sérica foi de $1,8 \pm 0,9$ mg/dL e 84,9 % dos doentes apresentaram valores superiores a 1,2 mg/dL (Figura 7 A). O aumento da concentração de creatinina sérica verifica-se quando ocorre a formação ou excreção reduzida de urina e independente da causa ser pré-renal, renal ou pós-renal. Qualquer condição que reduz a velocidade de filtração glomerular promove uma diminuição da excreção urinária de creatinina, com o consequente aumento da concentração plasmática da mesma (111, 118).



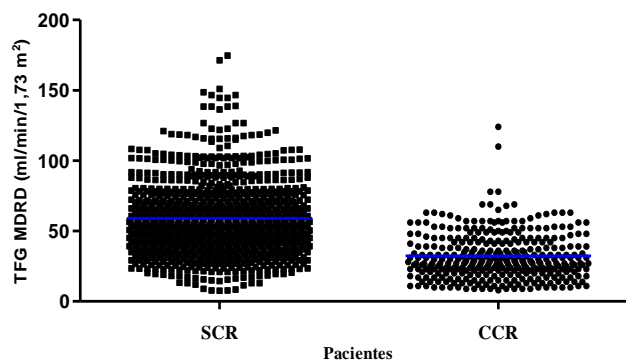
A, SCR n=917 & CCR n= 689, $p < 0,0001$

B, SCR n=10 & CCR n= 3, $p = 0,45$

Figura 7 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de creatinina sérica (A), concentração de cistatina C sérica (B).

A concentração média de cistatina C no grupo SCR foi de $1,6 \pm 0,4$ mg/L, sendo que 75% dos pacientes apresentaram valores superiores a 1,0 mg/dL enquanto no grupo CCR foi de $1,5 \pm 0,2$ mg/L, com valores superiores a 1,0 mg/L observados em todos os pacientes (Figura 7 B). O aumento da cistatina C no sangue é indicativo de diminuição da taxa de filtração glomerular e, em consequência, da função renal (36, 38).

De forma a analisar a alteração da taxa de filtração glomerular nos pacientes com DM com e sem nefropatia foram comparadas as TFG estimadas através da fórmula MDRD (Figura 8). No grupo SCR, a TGF variou entre 7,6 e 174,7 ml/min por $1,73 \text{ m}^2$ e a média foi de $59,0 \pm 26,7$ sendo que 86,5% dos doentes apresentavam TGF inferior a 90 ml/min/ $1,73 \text{ m}^2$.



SCR: n=895 & CCR: n=340, $p < 0,0001$.

Figura 8 - Distribuição do grupo SCR e CCR e distribuição do grupo de acordo com a taxa de filtração glomerular pela fórmula de MDRD.

No grupo CCR a TFG estimada através da fórmula MDRD variou entre 8,0 e 124,0 ml/min por 1,73 m² e a média foi de $32,3 \pm 25,2$, sendo que 90,4% dos doentes apresentavam TFG diminuída (Figura 8).

2. Análise comparativa dos vários parâmetros laboratoriais

A análise comparativa das correlações entre os diferentes parâmetros laboratoriais considerados neste estudo evidenciou no grupo SCR uma correlação significativa entre a creatinina e a cistatina C ($r= 0,88$; $\rho= 0,00$) (Tabela 4). Da mesma forma, no grupo CCR foi observada uma correlação significativa entre estes dois parâmetros laboratoriais ($r= 0,84$; $\rho= 0,04$), embora com menor significado estatístico do que no grupo SCR (Tabela 4).

No que diz respeito às correlações entre a creatinina e a cistatina C com as fórmulas estimativas da TFG, verificou-se que a cistatina C correlacionou-se mais significativamente com a TFG estimada pela fórmula MDRD, com a fórmula Levey e com a fórmula de Larsson em comparação com a creatinina, no grupo SCR (Tabela 4).

Tabela 4 - Correlações da TFGe pela MDRD, TFGe pela Larsson, TFGe pela Levey, creatinina, e cistatina C séricas, no grupo SCR. e no grupo CCR.

Variável	Creatinina (mg/dL)	ρ -value	Cistatina C (mg/L)	ρ -value	TFGe pela MDRD	ρ -value
<u>Grupo SCR</u>						
Cistatina C (mg/dL)	0,88	0,00	1,00	-	-0,82	<0,0001
Creatinina (mg/dL)	1	-	0,88	0,00	-0,77	<0,0001
Ureia (mg/dL)	0,71	<0,0001	0,65	0,06	-0,66	<0,0001
TFGe pela MDRD	-0,77	<0,0001	-0,82	<0,0001	1	-
TFGe pela Levey	-0,81	0,00	-0,92	-0,00	0,86	0,00
TFGe pela Larsson	-0,76	0,02	-0,95	<0,0001	0,77	0,01
<u>Grupo CCR</u>						
Cistatina C (mg/L)	0,84	0,04	1,00	-	-0,76	0,08
Creatinina (mg/dL)	1,00	-	0,84	0,04	-0,82	<0,0001
Ureia (mg/dL)	0,49	<0,0001	0,88	0,02	-0,44	<0,0001
TFGe pela MDRD	-0,82	<0,0001	-0,76	0,08	1,00	<0,0001
TFGe pela Levey	0,14	0,79	0,15	0,78	-0,05	0,92
TFGe pela Larsson	-0,76	0,08	-0,98	0,00	0,70	0,12

No grupo CCR, verificou-se que a creatinina correlacionou-se significativamente com a TFG estimada pela fórmula MDRD enquanto a cistatina C não se correlacionou com esta fórmula ($r = -0,82$; $\rho < 0,0001$ vs. $r = -0,76$; $\rho = 0,08$). A estimativa da TFG pela fórmula de Larsson correlacionou-se significativamente apenas com a cistatina C ($r = -0,98$;

$\rho=0,00$). A fórmula Levey não se correlacionou nem com a creatinina nem com a cistatina C (Tabela 4).

No grupo SCR, a creatinina apresentou uma correlação significativa com a concentração de proteína total no soro ($r= -0,18$; $\rho= 0,01$) e com a idade ($r= 0,19$; $\rho < 0,0001$). A cistatina C não se correlacionou com estes parâmetros. Já no grupo CCR as correlações da creatinina com estes parâmetros perdem significado estatístico (Tabela 5).

Tabela 5 - Correlações da TFGe pela MDRD, TFGe pela Larsson, TFGe pela Levey, creatinina, e cistatina C séricas e outras variáveis, no grupo SCR e no grupo CCR.

Variável	Creatinina (mg/dL)	ρ -value	Cistatina C (mg/L)	ρ -value	TFGe pela MDRD	ρ -value	TFGe pela Levey	ρ -value	TFGe pela Larsson	ρ -value
<u>Grupo SCR</u>										
Proteínas Totais (g/dL)	-0,18	0,01	-0,60	0,12	0,07	0,32	0,50	0,20	0,38	0,35
Albumina (g/dL)	-0,14	0,07	-0,55	0,20	0,19	0,02	0,55	0,20	0,56	0,19
Hemoglobina Glicada (%)	-0,08	0,28	0,56	0,33	0,10	0,16	-0,53	0,36	-0,38	0,52
Glucose (mg/dL)	0,00	1,00	0,11	0,84	-0,08	0,29	0,27	0,61	-0,12	0,82
Idade (anos)	0,19	<0,0001	-0,14	0,72	-0,39	<0,0001	0,32	0,39	0,04	0,91
<u>Grupo CCR</u>										
Proteínas Totais (g/dL)	-0,06	0,56	0,45	0,55	0,05	0,65	-0,58	0,42	-0,42	0,58
Albumina (g/dL)	0,14	0,29	0,42	0,58	-0,10	0,42	0,23	0,77	-0,33	0,67
Hemoglobina glicada (%)	-0,21	0,13	-	-	0,21	0,14	-	-	-	-
Glucose (mg/dL)	-0,04	0,73	-	-	0,15	0,16	-	-	-	-
Idade (anos)	0,00	0,93	-0,66	0,11	-0,11	0,04	-0,70	0,12	0,64	0,17

É de salientar que para nenhum dos grupos de pacientes em estudo se observou correlações estatisticamente significativa entre a creatinina ou a cistatina C com a albumina, a hemoglobina glicada ou com a concentração de glucose (Tabela 5).

Similarmente com o grupo SCR, verificou-se uma correlação entre a cistatina C e a concentração de proteína total e a idade (Tabela 5).

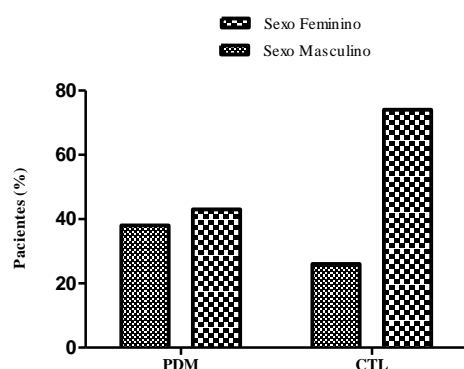
Adicionalmente, verificou-se que a idade se correlacionou de forma significativa com a TFG estimada pela fórmula MDRD no grupo SCR e no CCR ($r = -0,39$; $\rho < 0,0001$ vs. $r = -0,11$; $\rho = 0,04$), respetivamente (Tabela 5).

B. Aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação renal de pacientes diabéticos - estudo prospetivo.

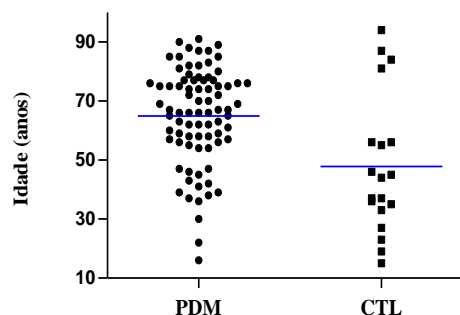
1. Caracterização clinico-laboratorial dos pacientes

No sentido de avaliar a aplicabilidade clínica da cistatina C e da creatinina procedeu-se à caracterização de 81 pacientes com DM- **PDM** e 20 pacientes não diabéticos- **CTL**, tendo em consideração dados antropométricos como o sexo e a idade e parâmetros bioquímicos, nomeadamente a ureia, ácido úrico, glucose, hemoglobina glicada, proteína total, albumina, colesterol total, colesterol LDL, triglicerídeos, cistatina C e creatinina.

O grupo PDM era constituído maioritariamente por pacientes do sexo feminino (56,1%). Em relação a idade, a média foi de $64,9 \pm 16,4$ anos variando entre os 16 e 91 anos. De forma semelhante, no grupo CTL, verificou-se a prevalência do sexo feminino (73,7%) e a idade variou entre os 15 e os 94 anos tendo sido em média de $49,9 \pm 23,5$ anos (Figura 11).



A, PDM n= 81 & CTL n= 20 $\rho=0,29$



B, PDM n= 81 $\rho<0,0001$, CTL n= 20 $\rho=0,002$

Figura 9- Distribuição dos pacientes de acordo com a idade (A) e o sexo (B).

Os pacientes do grupo PDM, apresentaram uma concentração de glicose sérica média de $164,3 \pm 64,1$ mg/dL e variou entre 61 e 362 mg/dL, sendo em, com 85,2% dos pacientes evidenciando hiperglicemia. A concentração de glicose sérica no grupo CTL foi de $93,4 \pm 9,6$, com todos os valores determinados dentro do intervalo de referência (Figura 10).

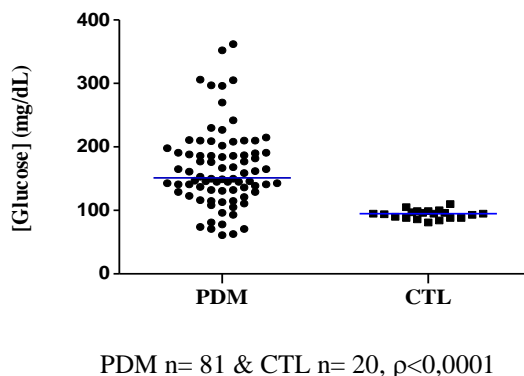


Figura 10 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de glicose sérica.

Comparando os valores médios da concentração de proteína total não se verificaram diferenças significativas entre os grupos CTL e PDM ($6,50 \pm 0,47$ vs. $6,86 \pm 0,80$ mg/dL, respectivamente; $\rho = 0,34$). No entanto, 82,1% dos pacientes do grupo PDM apresentaram valores inferiores ao intervalo de referência de proteínas totais no soro. Concomitantemente, a concentração de albumina sérica observada foi de $3,3 \pm 0,7$ g/dL (Figura 11). Já no grupo CTL a concentração média de albumina sérica foi de $2,89 \pm 0,44$ mg/dL. Através da análise conjunta destes dois parâmetros verificamos a tendência para a perda de proteína a nível renal presente no grupo PDM (Figura 11).

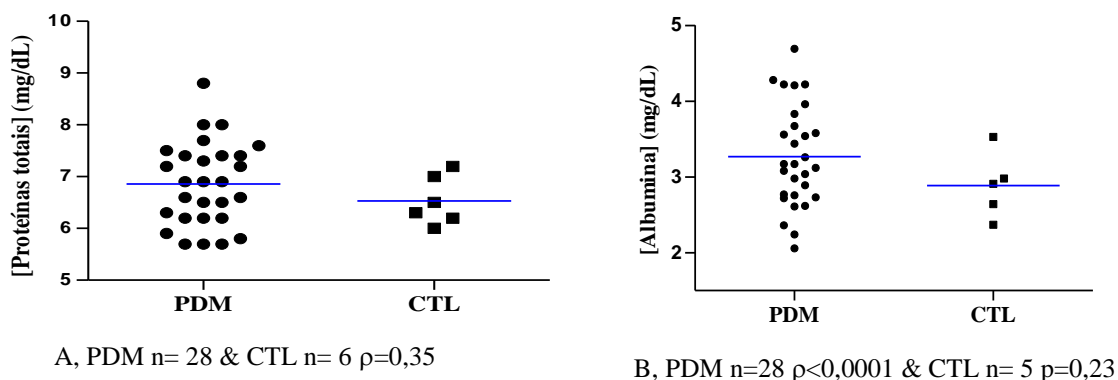
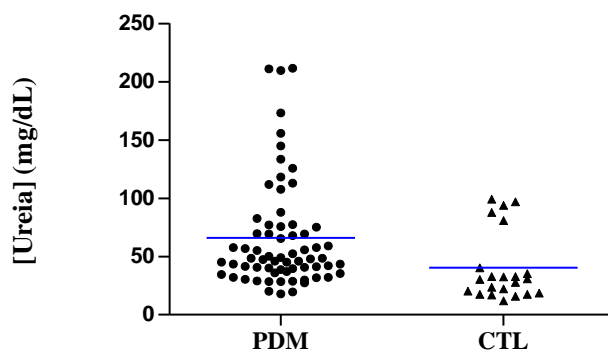


Figura 11- Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de proteína total sérica (A) e a concentração de albumina sérica (B).

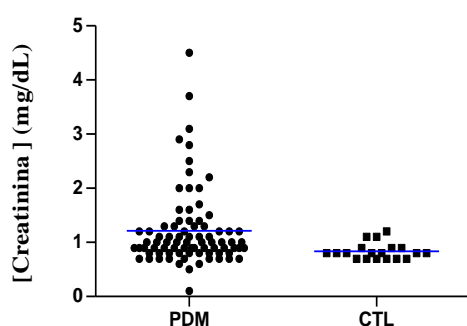
No sentido de avaliar a aplicabilidade da cistatina C na avaliação renal dos pacientes diabéticos, compararam-se os valores médios de cistatina C, creatinina e ureia. Assim, verificou-se uma concentração de ureia significativamente superior no grupo PDM relativamente ao grupo CTL ($65,8 \pm 26,1$ vs. $40,4 \pm 29,7$ mg/dL). No grupo PDM, a concentração de ureia variou entre 17,9 e 211,5 mg/dL e 63,5% dos pacientes apresentaram valores superiores a 40 mg/dL (Figura 14). Da mesma forma, no grupo CTL a concentração de ureia variou entre os 12,0 e os 99,4 mg/dL, e a percentagem de pacientes com valores aumentados foi de 30%.



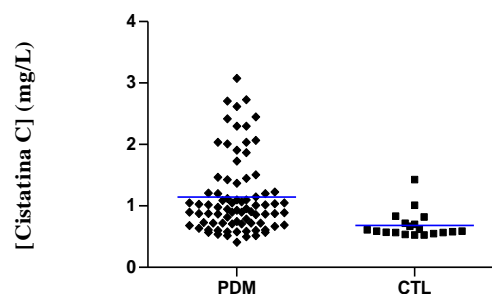
PDM n= 67 & CTL n= 20, $\rho=0,0007$

Figura 12 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de ureia

No grupo PDM, a concentração de creatinina sérica variou entre 0,1 e 4,5 mg/dL enquanto no grupo CTL variou entre os 0,7 e 1,2 mg/dL. A concentração de creatinina foi significativamente superior no grupo PDM ($1,2 \pm 0,7$ mg/dL vs. $0,83 \pm 0,2$ mg/dL) (Figura 15 A). Relativamente à concentração de cistatina C, no grupo PDM, esta foi de $1,1 \pm 0,6$ mg/dL enquanto no grupo CTL foi de $0,68 \pm 0,2$ (Figura 15 B). Ao comparar-se a percentagem de pacientes do grupo PDM com valores superiores ao limite de referência estas foram maiores para a creatinina do que para a cistatina C, 54,3% e 32,1%, respetivamente.



A, DM n= 81 & CTL n= 19, $\rho=0,002$



B, DM n=81 & CTL n= 20, $\rho<0,0001$

Figura 13 - Distribuição dos doentes de acordo com a concentração de creatinina sérica (A) e a concentração de cistatina C sérica (B).

De forma a analisar a influência de fatores demográficos como a idade e sexo nos valores de creatinina e cistatina C, procedeu-se à análise comparativa destes parâmetros (Tabela 6). Assim, a concentração média da creatinina sérica foi significativamente superior nos homens do que nas mulheres nos dois grupos de pacientes em estudo. Por sua vez, verificou-se que no grupo PDM os valores médios da concentração de cistatina C sérica eram maiores nas mulheres do que nos homens, tendo-se verificado uma tendência oposta no grupo CTL, embora estas diferenças não tenham significado estatístico ($\rho=0,11$ vs $\rho=0,12$). Em relação à idade, os pacientes do grupo PDM com idade superior ou igual a 60 anos apresentaram uma concentração média de creatinina sérica ($1,3 \pm 0,8$ mg/dL) mais elevada do que os pacientes com idade inferior a 60 anos ($0,9 \pm 0,2$ mg/dL) ($\rho= 0,02$). No entanto, no grupo CTL não se observaram diferenças com significado

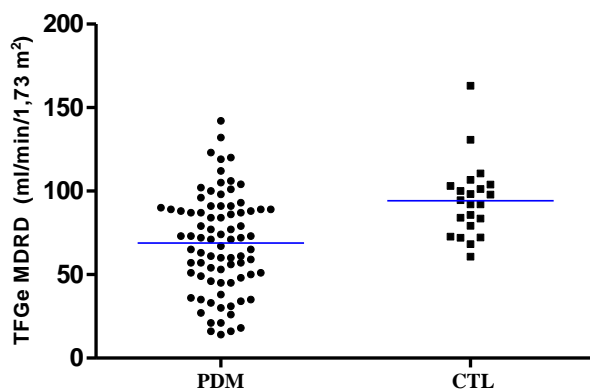
estatístico ($\rho=0,57$). Da mesma forma, os pacientes com idade superior ou igual a 60 anos apresentaram uma concentração média de cistatina C sérica significativamente mais elevada do que os pacientes com idade inferior a 60 anos (PDM: $\rho < 0,0001$ e CTL: $\rho=0,03$). Estes dados analisados em conjunto expõem a limitação destes parâmetros a variáveis antropométricas como o sexo e a idade.

Tabela 6 - Distribuição da dosagem de creatinina e cistatina C segundo sexo e idade dos pacientes diabéticos – PDM e CTL.

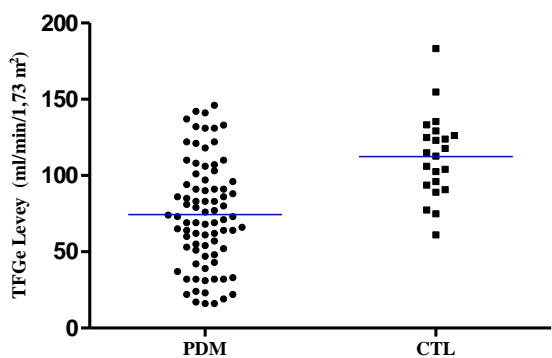
Variável	Dosagem Creatinina (mg/dL)		ρ -value	Dosagem Cistatina C (mg/L)		ρ -value
	n	Média \pm Desvio Padrão		Média \pm Desvio Padrão		
<u>Grupo PDM</u>						
Sexo			0,016			0,11
Feminino	43	1,1 \pm 0,5		1,2 \pm 0,6		
Masculino	38	1,3 \pm 0,9		1,1 \pm 0,6		
Idade (anos)			0,02			<0,0001
<60	27	0,9 \pm 0,2		0,8 \pm 0,2		
\geq 60	54	1,3 \pm 0,8		1,3 \pm 0,1		
<u>Grupo CTL</u>						
Sexo			0,04			0,12
Feminino	14	0,80 \pm 0,11		0,68 \pm 18,8		
Masculino	5	0,96 \pm 0,18		0,70 \pm 0,08		
Idade (anos)			0,57			0,03
<60	27	0,83 \pm 0,15		0,63 \pm 0,13		
\geq 60	54	0,87 \pm 0,17		0,90 \pm 0,36		

Com o intuito de analisar a taxa de filtração glomerular nos pacientes com DM, procedeu-se ao cálculo deste parâmetro com a fórmula MDRD. A taxa de filtração foi ainda estimada através das fórmulas de Levey e Larsson de forma a verificar a aplicabilidade e correlação entre estas equações estimativas. No grupo PDM, a TFG determinada através da fórmula MDRD apresentou um valor médio de $68,8 \pm 29,5$, tendo 76,5% dos pacientes apresentado TFG inferior a $90 \text{ ml/min/ } 1,73 \text{ m}^2$. Os valores médios da TGF aumentaram quando se aplicou das equações estimativas de Levey e Larsson, ($74,4 \pm 34,5$ e $88,5 \pm 46,3$), comparativamente a equação MDRD. Ainda, verificou-se que a percentagem de pacientes cuja TFG se encontrava diminuída era menor (67,9% para a equação de Levey e 56,7% para a de Larsson (Figura 16).

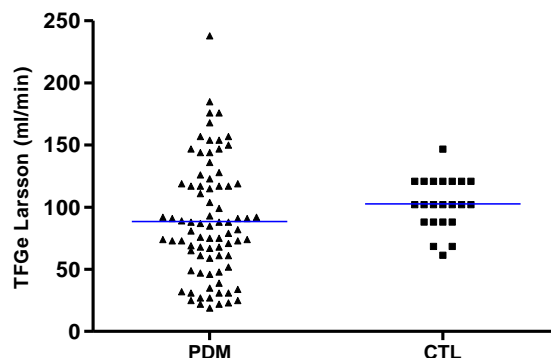
Relativamente ao grupo CTL, a TFG determinada através da fórmula MDRD apresentou um valor médio de $94,2 \pm 22,4$. Similarmente ao que se verificou no grupo PDM, os valores médios da TFG aumentaram quando se aplicou as fórmulas de Levey e Larsson ($112,5 \pm 27,4$ e $120,6 \pm 20,9$), tendo-se observado valores médios superiores relativamente ao grupo PDM. No que concerne à percentagem de pacientes com TFG diminuída, esta foi maior quando se aplicou a equação de MDRD (45,0%) do que para as equações de Levey e Larsson (20% e 35%, respetivamente (Figura 14).



A, PDM n= 81 & CTL n= 20 $\rho=0,0003$



B, PDM n= 81 & CTL n= 20 $\rho<0,0001$



C, PDM n= 81 & CTL n= 20 $\rho=0,17$

Figura 14 - TFGe pela equação de MDRD, pela equação de Levey e pela equação de Larsson

Adicionalmente analisou-se a distribuição dos valores de TFG estimada pela aplicação das diferentes fórmulas, de acordo com os parâmetros antropométricos idade e sexo (Tabela 7).

Tabela 7 - Distribuição da taxa de filtração glomerular (TFG) estimada pelas fórmulas de MDRD, Levey e Larsson segundo o sexo e a idade.

Variável	TFGe pela MDRD		ρ -value	TFGe pela Levey		ρ -value	TFGe pela Larsson		ρ -value
	n	Média \pm Desvio Padrão		Média \pm Desvio Padrão		Média \pm Desvio Padrão			
Grupo PDM									
Sexo			<0,0001			0,012			<0,0001
Feminino	43	62,4 \pm 25,8		66,7 \pm 30,6			82,4 \pm 45,8		
Masculino	38	76,2 \pm 31,4		83,2 \pm 37,0			95,4 \pm 46,6		
Idade (anos)			<0,0001			<0,0001			<0,0001
<60	27	87,1 \pm 17,9		101,8 \pm 24,3			125,3 \pm 43,1		
\geq 60	54	59,7 \pm 29,7		60,7 \pm 30,6			70,2 \pm 36,0		
Grupo CTL									
Sexo			0,79			0,42			0,04
Feminino	14	86,6 \pm 13,6		99,2 \pm 14,3			84,3 \pm 18,9		
Masculino	5	88,7 \pm 13,6		108,3 \pm 23,0			105,7 \pm 16,3		
Idade (anos)			0,47			0,05			0,55
<60	15	89,4 \pm 14,9		111,6 \pm 18,1			101,5 \pm 14,9		
\geq 60	4	83,45 \pm 12,1		84,6 \pm 319,5			94,8 \pm 22,2		

Verificou-se que independentemente da fórmula usada, os valores médios de TFG foram significativamente superiores no sexo masculino, nos dois grupos em estudo. No entanto, no grupo CTL verificou-se que os valores apresentaram uma tendência a serem superiores no sexo masculino, apresentando significado estatístico apenas na equação estimativa de Larsson ($\rho= 0,04$). Em relação à idade dos pacientes, os indivíduos com menos de 60 anos apresentaram TFG mais elevadas independentemente do grupo em estudo. No grupo CTL estas diferenças apresentaram significado estatístico apenas na fórmula de Levey ($\rho= 0,05$).

2. Análise comparativa dos vários parâmetros laboratoriais

Com o intuito de estabelecer uma associação entre os parâmetros laboratoriais, as equações da TFG e os dados demográficos dos pacientes com DM, procedeu-se ao cálculo de correlações de Pearson (Tabela 8). Assim, verificaram-se correlações significativas entre os valores de taxa de filtração glomerular estimados pelas diferentes fórmulas. É de realçar que a correlação entre a equação de Levey e a equação de MDRD foi estatisticamente equivalente à correlação entre a equação de Levey e a de Larsson (Tabela 8).

Tabela 8 - Correlações entre a TFG estimada pelas fórmulas de MDRD, de Larsson, de Levey, a cistatina C e a creatinina nos pacientes dos grupos PDM e CTL.

Variável	Creatinina (mg/dl)	ρ -value	Cistatina C (mg/L)	ρ -value	TFGe pela MDRD	ρ -value	TFGe pela Levey	ρ -value	TFGe Pela Larsson	ρ -value
<u>Grupo PDM</u>										
Creatinina	1,00	-	0,82	<0,0001	-0,77	<0,0001	-0,71	<0,0001	-0,61	<0,0001
Cistatina C	0,82	<0,0001	1,00	-	-0,78	<0,0001	-0,86	0,0002	-0,84	<0,0001
TFGe pela MDRD	-0,77	<0,0001	-0,78	<0,0001	1,00	-	0,93	<0,0001	0,75	<0,0001
Ureia	0,89	<0,0001	0,88	<0,0001	-0,75	<0,0001	-0,74	<0,0001	-0,70	<0,0001
TFGe pela Levey	-0,71	<0,0001	-0,86	<0,0001	0,93	<0,0001	1,00	-	0,93	
<u>Grupo CTL</u>										
Creatinina	1,00	-	-0,18	0,49	-0,77	0,00	-0,32	0,17	-0,98	<0,0001
Cistatina C	-0,18	0,49	1,00	-	-0,30	0,22	-0,80	0,0001	-0,15	0,55
TFGe pela MDRD	-0,77	0,00	-0,30	0,22	1,00	-	0,78	<0,0001	0,68	0,0014
Ureia	-0,04	0,87	-0,12	0,62	-0,75	0,0002	-0,32	0,17	-0,98	<0,0001
TFGe pela Levey	-0,32	0,17	-0,80	0,0001	0,78	<0,0001	1,00	-	0,31	0,19

Relativamente ao grupo PDM, verificou-se a que a ureia se correlaciona com o mesmo significado estatístico com a creatinina e com a cistatina C ($r = 0,89$ $\rho < 0,0001$ e $r = 0,88$; $\rho < 0,0001$, respetivamente). No entanto o mesmo não se verificou no grupo CTL, não se tendo observado correlação entre a ureia e estes parâmetros. Assim, foi observada

uma correlação positiva significativa entre a creatinina sérica e a cistatina C sérica ($r=0,82$; $\rho<0,0001$) no grupo PDM (Figura 15). Porém, no grupo CTL não se verificou correlação significativa entre estes parâmetros ($r= -0,0018$; $\rho= 0,94$) (Tabela 8).

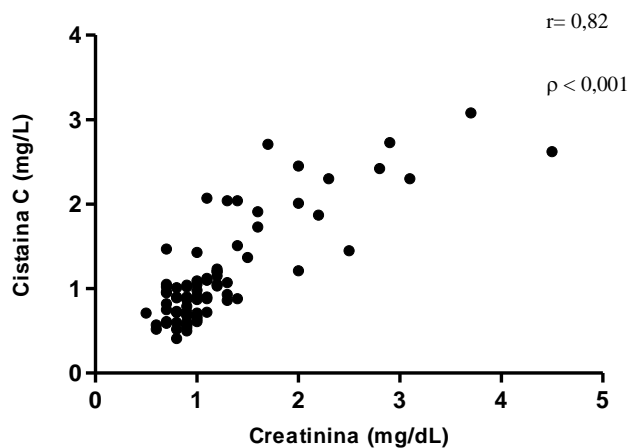


Figura 15 - Correlação entre creatinina sérica e a cistatina C sérica ($r= 0,82$; $\rho< 0,0001$).

Relativamente ao grupo CTL, através da análise das correlações entre a cistatina C, a creatinina e as fórmulas da TFG, verificou-se que a creatinina apenas não se correlacionou com a equação estimativa de Levey. Entre a TFG estimada pela fórmula MDRD e a TFG estimada pela fórmula de Larsson verificou-se uma correlação positiva ($r= 0,68$; $\rho= 0,0014$). Não se verificou correlação significativa entre a cistatina C e a equação de MDRD, porém a cistatina C apresentou uma correlação negativa com a equação de Levey ($r= -0,76$; $\rho= 0,0001$). Ainda, a equação de Levey correlacionou-se de forma positiva com a equação MDRD ($r= 0,78$; $\rho< 0,0001$) (Tabela 8).

A creatinina e TFG estimada pela fórmula MDRD correlacionaram-se de forma semelhante nos grupos PDM ($r= -0,77$; $\rho< 0,0001$) e CTL ($r= -0,77$; $\rho= 0,0002$). No grupo PDM, observou-se uma correlação negativa entre a cistatina C e a creatinina e as fórmulas de Levey e Larsson (Figura 16). No entanto é interessante notar que a cistatina C apresentou uma correlação mais significativa com as equações usadas na determinação de TFG do que a creatinina, inclusivamente com a equação MDRD onde apenas a creatinina e os dados antropométricos foram considerados para cálculo. Relativamente ao estudo das correlações entre as fórmulas estimativas no grupo PDM, a TFG estimada pela fórmula MDRD e a TFG estimada pela fórmula de Larsson apresentaram uma forte correlação ($r=$

0,75; $\rho < 0,0001$). Igualmente, verificou-se uma correlação significativa ente a TFG estimada pela fórmula MDRD e a TFG estimada pela fórmula Levey ($r = -0,71$; $\rho < 0,0001$) (Tabela 8).

É de realçar que no grupo PDM a cistatina C correlaciona-se fortemente com a TFG estimada pela fórmula de Larsson embora no grupo CTL tal não se verifique. Da mesma forma, é curioso como a creatinina se correlaciona fortemente com a cistatina C e com a fórmula de Larsson, no grupo PDM. Contrariamente, no grupo CTL, a creatinina não se correlaciona com a cistatina mas mantém a correlação com a fórmula de Larsson onde apenas a cistatina C é considerada no cálculo.

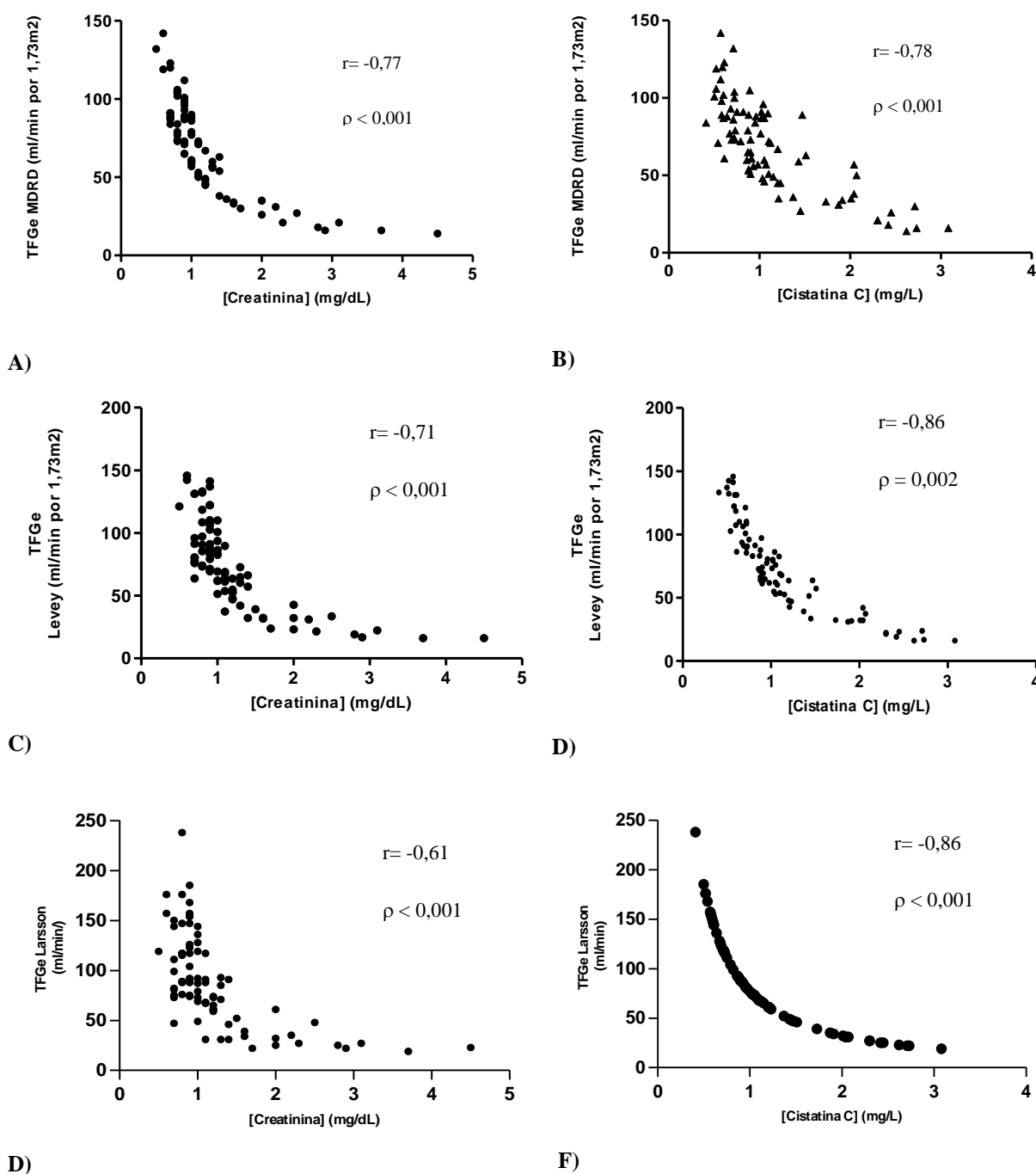


Figura 16: Correlações relativas ao grupo PDM. Correlação entre creatinina sérica e TFG MDRD. Coeficiente de correlação $r = -0,77$ $\rho < 0,001$ (A). Correlação entre cistatina C sérica e TFG MDRD. Coeficiente de correlação $r = -0,78$ $\rho < 0,001$ (B). Correlação entre creatinina sérica e TFG estimada pela fórmula de Levey. Coeficiente de correlação $r = -0,71$ $\rho < 0,001$ (C). Correlação entre cistatina C sérica e TFG estimada pela Levey C. Coeficiente de correlação $r = -0,86$ $\rho < 0,001$ (D). Correlação entre creatinina sérica e TFG estimada pela fórmula de Larsson. Coeficiente de correlação $r = -0,61$ $\rho < 0,001$ (E). Correlação entre cistatina C sérica e TFG pela cistatina C. Coeficiente de correlação $r = -0,86$ $\rho < 0,001$ (F).

Em relação à idade, é interessante notar a existência de uma fraca e simétrica correlação com a cistatina C ($r= 0,57$; $\rho < 0,0001$) e a TFG estimada pela fórmula MDRD ($r= -0,57$; $\rho < 0,0001$). O mesmo se verificou entre a idade e a creatinina sérica ($r= 0,41$; $\rho= 0,00$) no grupo PDM (Tabela 9).

Tabela 9 - Correlações entre a TFG estimada pelas fórmulas de MDRD, Larsson, Levey, cistatina C e creatinina e outras variáveis em pacientes dos grupos PDM e CTL.

Variável	Creatinina (mg/dL)	ρ -value	Cistatina C (mg/L)	ρ -value	TFGe pela MDRD	ρ -value	TFGe pela Levey	ρ -value	TFGe Pela Larsson	ρ -value
Grupo PDM										
Idade (anos)	0,41	0,00	0,57	<0,0001	-0,57	<0,0001	-0,67	<0,0001	-0,62	<0,0001
Hemoglobina glicada (%)	-0,16	0,15	-0,18	0,10	0,16	0,16	0,13	0,25	0,08	0,50
Proteínas Totais (g/dL)	-0,07	0,73	-0,20	0,30	0,06	0,78	0,14	0,46	0,23	0,24
Albumina (g/dL)	-0,19	0,34	-0,26	0,17	0,23	0,24	0,31	0,10	0,37	0,05
Glucose (mg/dL)	-0,12	0,28	-0,11	0,31	0,15	0,19	0,09	0,40	0,03	0,76
Grupo CTL										
Idade (anos)	-0,08	0,72	0,61	0,01	-0,27	0,22	-0,60	0,01	-0,09	0,68
Hemoglobina glicada (%)	-0,20	0,38	0,32	0,13	0,05	0,83	-0,14	0,53	0,20	0,38
Proteínas Totais (g/dL)	0,08	0,52	-0,13	0,89	0,46	0,36	0,42	0,41	0,42	0,41
Albumina (g/dL)	-0,88	0,05	-0,74	0,16	0,61	0,27	-0,42	0,48	0,93	0,12
Glucose (mg/dL)	0,07	0,78	-0,11	0,31	0,03	0,91	-0,05	0,83	0,37	0,76

No grupo CTL, verificou-se que a cistatina C se correlaciona mais fortemente com a idade ($r= 0,60$; $\rho=0,0007$) comparativamente à creatinina ($r= 0,41$; $\rho=0,00$) (Tabela 9).

3. Valor diagnóstico da creatinina e cistatina C para os vários estadios da doença renal

Na Tabela 10 encontram-se resumidas as características clínicas dos 81 pacientes em estudo pertencentes ao grupo **PDM**, estratificados em quatro grupos de com os estadios basais da TFG, como definido pelas diretrizes de prática clínica da KDOQI (*Kidney Disease Outcomes Initiative*) da *National Kidney Foundation* para a ND (68). A concentração sérica de proteína total e albumina diminuíram progressivamente com a diminuição da TFG. Similarmente, as concentrações de creatinina, cistatina C e ureia aumentaram com a redução da TFG por estadio ($p < 0,0001$). Assim, os 81 pacientes diabéticos foram distribuídos em 4 estadios: 19 pacientes com TFG normal (> 90 ml/min/ $1,73$ m²), correspondendo ao estadio 1; 21 pacientes com diminuição leve da TFG (60-89 ml/min/ $1,73$ m²), correspondendo ao estadio 2; 23 pacientes com diminuição moderada da TFG (30-59 ml/min/ $1,73$ m²) correspondendo ao estadio 3; e finalmente 7 pacientes com diminuição severa da TFG (15-20 ml/min/ $1,73$ m²), correspondendo ao estadio 4. A TGF foi determinada tendo como referência a fórmula MDRD.

Tabela 10 - Dados clínicos e laboratoriais dos pacientes estratificados por estadios com base na TFG, de acordo com as diretrizes do KDOQI da *National Kidney Foundation*

Variável	Estadio 1	Estadio 2	Estadio 3	Estadio 4	ρ
n	18	31	23	7	
	Média \pm Desvio Padrão	Média \pm Desvio Padrão	Média \pm Desvio Padrão	Média \pm Desvio Padrão	
Sexo F/M (%)	27,8 / 72,2	58,1/ 41,9	69,6 /30,4	57,1/ 42,9	0,62
Idade (anos)	53,3 \pm 12,79	59,94 \pm 16,12	76,61 \pm 7,79	81,14 \pm 7,99	<0,0001
Hemoglobina glicada (%)	8,54 \pm 1,71	7,67 \pm 1,15	7,84 \pm 1,41	7,43 \pm 0,64	<0,0001
Proteínas totais (7,75 \pm 0,35	6,54 \pm 11,90	7,07 \pm 27,97	6,7 \pm 0,61	0,02
Albumina (g/dL)	4,46 \pm 0,33	3,04 \pm 0,61	3,33 \pm 0,66	3,04 \pm 0,23	<0,0001
Ácido úrico	5,25 \pm 1,60	4,39 \pm 0,65	5,98 \pm 1,88	7,63 \pm 1,10	0,007
Ureia (mg/dL)	32,33 \pm 12,01	39,42 \pm 11,90	76,09 \pm 27,97	156,7 \pm 45,14	<0,0001
Cistatina C (mg/L)	0,69 \pm 0,16	0,87 \pm 0,25	1,43 \pm 0,51	2,39 \pm 0,50	<0,0001
Creatinina (mg/dL)	0,77 \pm 0,12	0,94 \pm 0,17	1,38 \pm 0,33	2,76 \pm 0,56	<0,0001
TFG (ml/min/1,73m²)	107,0 \pm 14,82	75,94 \pm 10,01	45,62 \pm 9,67	20,71 \pm 4,47	<0,0001

A relação entre estes marcadores séricos e a TFG estimada foi semelhante à variação da TFG. As concentrações dos marcadores aumentaram discretamente do estadio 1 para o 2 e na passagem para o estadio 3 verificou-se um aumento considerável dos valores médios (Tabela 10).

Relativamente à creatinina sérica, verificou-se o aumento das suas percentagens conjuntamente com o evoluir do estadio. No estadio 2, 9,7% dos pacientes apresentaram a creatinina aumentada. No estadio 3, 73,9% dos pacientes apresentaram a creatinina sérica aumentada (Figura 17).

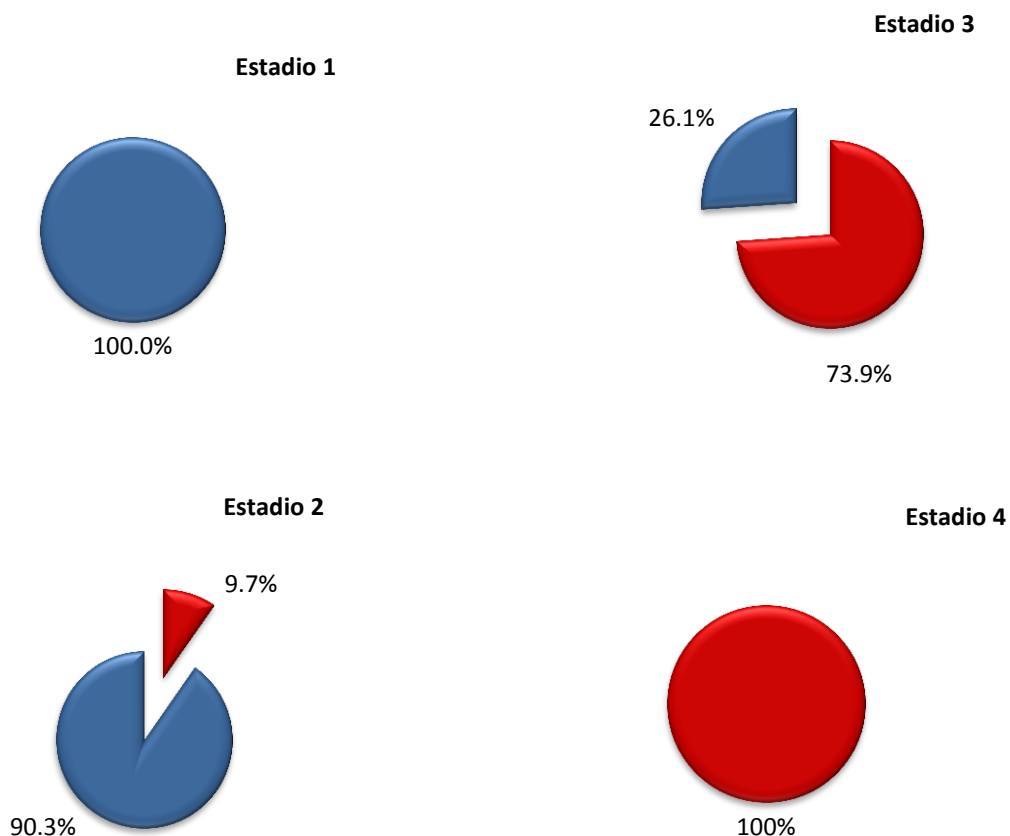


Figura 17 - Percentual de creatinina >1,2mg /dL nos pacientes de acordo com o estadio correspondente. ■ [creatinina] < 1,2 mg/dL ■ [creatinina] > 1,2 mg/dL.

Relativamente à cistatina C sérica, verificou-se que no estadio 2, 29,0% dos pacientes apresentaram a cistatina C sérica aumentada. No estadio 3, verifica-se o aumento da percentagem de pacientes com os valores fora do limite de referência, sendo que 78,3% dos pacientes apresentaram a cistatina superior a 1,0 mg/L (Figura 18).

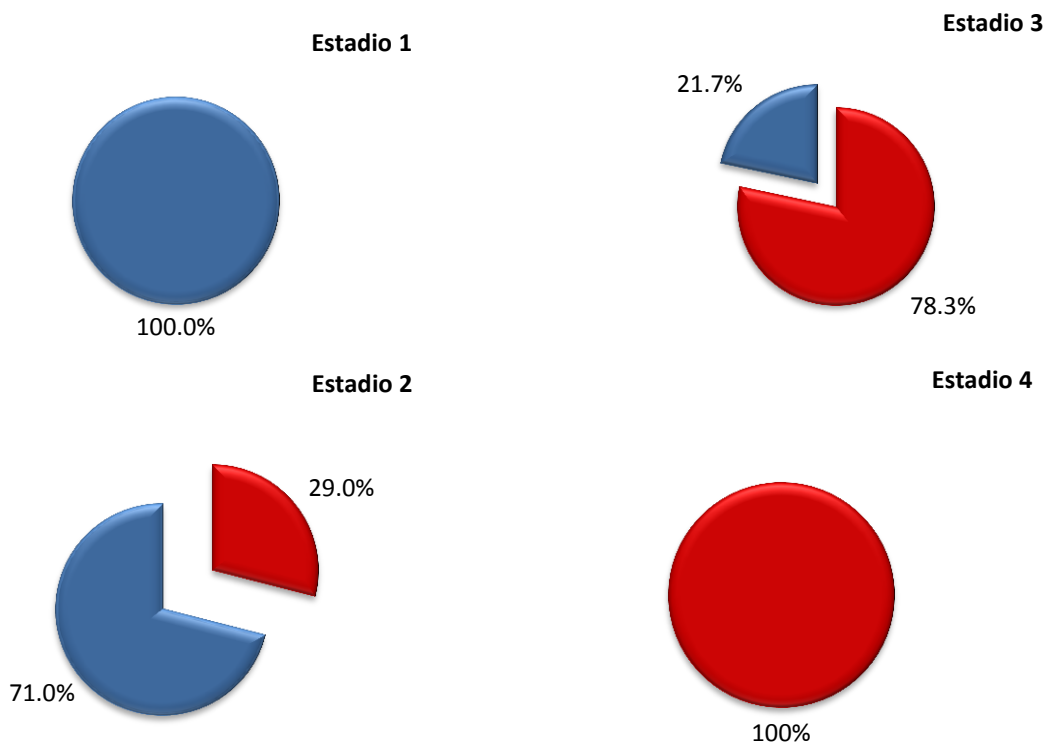


Figura 18 - Percentual de cistatina sérica >1,0 mg /L nos pacientes de acordo com o estadio correspondente. ■ [cistatina C]< 1,0 mg/L ■ [cistatina C]> 1,0 mg/L

Analisando de forma conjunta os dados destes dois parâmetros verificou-se que os valores de cistatina C se encontravam aumentados numa percentagem maior de pacientes no estadio 2 do que a creatinina. No estadio 3 verificou-se uma equivalência na percentagem de pacientes com valores destes dois parâmetros fora dos limites de referência.

V. Discussão

A hiperglicemia crônica associada à DM resulta, frequentemente, no aparecimento de complicações macro e microvasculares. Entre as complicações microvasculares, a ND tem adquirido cada vez mais importância uma vez que é considerado a principal causa de insuficiência renal em, aproximadamente, 30% a 40% dos casos de DM tipo 1 e em 20% dos casos de DM tipo 2 (141). Neste sentido, torna-se fundamental a monitorização contínua da função renal nestes pacientes, de forma a ser possível a aplicação de medidas preventivas evitando a progressão da patologia. Em geral, os exames laboratoriais que avaliam a função renal estimam a taxa de filtração glomerular, sendo a creatinina sérica o marcador endógeno mais comumente utilizado. No entanto, muitos fatores independentes de patologias renais limitam a sua aplicabilidade no diagnóstico e monitorização da ND (122, 123, 142, 143). Nestes últimos anos, diversas proteínas plasmáticas de baixo peso molecular têm vindo a ser estudadas com o intuito de se identificar um melhor marcador da TFG. Neste contexto surge a cistatina C como alternativa à creatinina na avaliação da função renal. De forma a validar a sua aplicabilidade laboratorial para avaliação da função renal em pacientes diabéticos foram realizados dois estudos: A. *Caracterização de pacientes diabéticos com e sem patologias renais - estudo retrospectivo* e B. *Aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação renal de pacientes diabéticos - estudo prospetivo*.

No estudo A, foram incluídos todos os casos de DM com e sem complicações renais diagnosticados e tratados no CHBV, E.P.E desde o início do ano 2011 até ao final de 2012. No estudo B, foi considerada uma população de pacientes diabéticos e não diabéticos, que deram entrada no CHBV, E.P.E no período de tempo compreendido entre Março e Junho de 2013.

No estudo A, verificou-se que a prevalência do sexo feminino (50,7%) no grupo CCR, contrariamente no grupo SCR constatou-se a prevalência do sexo masculino. No estudo B, foi considerada uma população de pacientes diabéticos e com idades compreendidas entre os 15 e os 94 anos, também com prevalência do sexo feminino, quer no grupo PDM (56,1%) quer no grupo CTL (73,3%). Apesar de se ter observado um ligeiro predomínio do sexo feminino na população diabética com complicações renais, estudos anteriores não são consensuais quanto à influência do sexo na prevalência da ND.

Efetivamente, alguns estudos sugerem que o sexo masculino é mais suscetível ao desenvolvimento desta patologia. (144). Gall *et al* (145) encontraram uma progressão mais rápida da ND em homens caucasianos relativamente às mulheres da mesma etnia, verificando que existe uma predominância do sexo masculino entre pacientes macroalbuminúricos. Contudo, outros estudos não salientam a importância do sexo como fator desencadeante da ND (146-148). O presente estudo não avaliou a influência genética no desenvolvimento da ND, mas a literatura sugere fortemente que esta patologia ocorre com maior frequência em determinadas famílias, demonstrando a existência de uma predisposição genética para esta complicação da DM (149, 150).

Relativamente ao controlo da glicémia, no estudo A, observamos que no grupo CCR a concentração média de glucose sérica foi ligeiramente superior à do grupo SCR, no entanto, a percentagem de pacientes com hiperglicemia (não controlada) foi superior no grupo SCR em relação ao grupo CCR (91,0% vs. 77,1%). Não foram observadas diferenças significativas de hemoglobina glicada entre os grupos. No estudo B, observamos que aproximadamente 85,2% dos pacientes pertencentes ao grupo PDM apresentaram hiperglicemia e hemoglobina glicada média de 7,9%. O mau controlo glicémico tem-se mostrado como fator de risco para a progressão de complicações microvasculares, tanto em pacientes com DM tipo1 como em DM tipo 2 (151, 152), com consequente aumento de risco associado ao aparecimento de lesões vasculares e consequente aumento do risco de ND (8). Estudos realizados pela *Diabetes Control and Complications* e o *United Kingdom Prospective Diabetes Study*, salientam a necessidade de controlar a glicémia para prevenção da ND e de outras complicações microvasculares (153, 154).

A eficiência da filtração glomerular foi avaliada pela concentração sérica de proteína total e de albumina. No estudo A verificou-se que aproximadamente 20 % dos pacientes de ambos os grupos apresentavam valores de proteínas totais sérica diminuídos. Adicionalmente, a maioria dos pacientes em estudo apresentaram valores de albumina sérica diminuídos tanto no grupo SCR (80,0%) como no grupo CCR (90,5%). O comprometimento da função renal pela hiperglicemia crónica tem sido mecanisticamente explicado pela glicação não enzimática de proteínas, que promove alterações da matriz extracelular (57) e pela lesão celular resultante do aumento da atividade da via dos polióis (59). Estes dois processos, a longo prazo, resultam no prejuízo da função renal com

consequente aparecimento de albuminúria, que a maior excreção e consequente diminuição da concentração de proteína total e de albumina no soro (57, 59). Efetivamente, o primeiro sinal de envolvimento renal na DM é a ocorrência de microalbuminúria (81). A microalbuminúria afeta 20 - 40% dos pacientes, 10 a 15 anos após o início da diabetes, com progressão para proteinúria (82). Em pacientes diabéticos a persistência da proteinúria constitui um critério de diagnóstico de doença renal crônica e antecipa a nefropatia (72, 88).

Os valores de ureia sérica foram também monitorizados tendo-se verificando que todos os pacientes, quer do grupo SCR quer do grupo CCR, no estudo A, apresentavam urémia. No estudo B, a concentração média de ureia foi significativamente inferior no grupo CTL comparativamente ao grupo PDM, onde 64% dos pacientes apresentavam urémia. A determinação da ureia é um teste de baixa precisão, dado este metabolito não ser produzido a um ritmo estável e o seu nível sérico ser altamente dependente da ingestão e catabolismo proteico, além de ser reabsorvida a nível tubular (90). Por isso, a ureia é considerado um marcador de função renal com menor valor diagnóstico do que a creatinina. Efetivamente, valores de ureia aumentados estão associados não só a insuficiência renal mas também a dieta rica em proteínas, presença de tumores, enfarte do miocárdio, trauma, infecções, uso de corticosteroides, entre outros (89).

No estudo A, 84,9% dos pacientes do grupo CCR apresentaram valores séricos de creatinina aumentados, enquanto no grupo SCR esta percentagem foi de 67,4%. Relativamente à cistatina C sérica, 100% dos pacientes do grupo CCR apresentaram valores aumentados, já no grupo SCR esta percentagem foi de 75% (contudo valor elevado), o que suporta a ocorrência de lesão glomerular associada à hiperglicemia manifestada, na grande maioria dos pacientes diabéticos (47, 48). Por outro lado, no estudo B, cerca de 55% dos pacientes diabéticos (grupo PDM) apresentaram um valor elevado de creatinina sérica enquanto apenas 32,1% exibiram um aumento dos valores de cistatina C. Esta discrepância pode estar associada a fatores que influenciam distintamente a concentração sérica de creatinina e cistatina C. Esta hipótese é suportada pela distribuição das concentrações destes parâmetros em função da idade e sexo dos pacientes (Tabela 6). Verificaram-se valores médios de creatinina mais elevados nos homens e de cistatina C nas mulheres. A creatinina tem origem principalmente do metabolismo da creatina muscular e a sua produção é diretamente proporcional à massa muscular. Assim, é de se esperar que,

em geral, a produção de creatinina seja maior nos homens do que nas mulheres (155). Em relação à cistatina C, não se observaram diferenças significativas entre os homens e as mulheres, o que está de acordo com o publicado na literatura (156, 157). Keevil *et al* (158) não observaram diferenças nos níveis de cistatina C embora tenham verificado concentrações de creatinina superiores nos homens. A análise da distribuição dos valores destes parâmetros com a idade evidenciou valores mais elevados nos indivíduos com mais de 60 anos, embora seja expectável a deterioração da função renal com a idade. Alguns autores relatam que a vantagem da cistatina C sobre a creatinina sérica é o fato da cistatina C não ser influenciada por fatores como sexo, idade e a massa muscular (96, 109, 118, 159). No entanto, neste trabalho verificamos a influência da idade na distribuição dos valores séricos segundo a idade tanto no grupo PDM como no grupo CTL. O que vai de acordo ao relatado no estudo realizado por Knight *et al.* (159). Os autores observaram que indivíduos idosos, do sexo masculino, fumadores e com elevados níveis de proteína C reativa se encontraram positivamente associados à níveis mais elevados de cistatina C após o ajuste para a depuração de creatinina. É de salientar que no grupo CTL não se observou uma associação entre os níveis de creatinina e a idade. É de salientar que no grupo CTL não se observou uma associação entre os níveis de creatinina e a idade.

Os resultados do presente estudo corroboram ainda a aplicabilidade clínica da cistatina C como marcador mais sensível da TFG comparativamente à creatinina, uma vez que permite detetar pequenas alterações na função renal, dentro da chamada zona cega da depuração da creatinina. Desta forma a cistatina C parece ser sensível a pequenas diminuições da TFG e o seu aumento manifesta-se antes do aumento da creatinina sérica (159).

No estudo A, o valor médio da TFG estimada pela fórmula de MDRD foi superior no grupo SCR relativamente ao grupo CCR. Da mesma forma também observou-se que 86,5 % dos pacientes do grupo SCR apresentaram TFG diminuída, avaliada pela fórmula MDRD, enquanto no grupo CCR esta percentagem correspondeu a 90,4%. Estes resultados não apontam para uma inequívoca correspondência na classificação segundo a GDH. Ainda, estes resultados corroboram o facto de a hiperglicemia crónica aumentar a hiperfiltração glomerular. Com o tempo ocorre o aparecimento de microalbuminúria e os primeiros sinais de insuficiência renal, com conseqüente aumento dos níveis séricos de ureia e creatinina, contribuindo diretamente para a diminuição da TFG estimada pela

equação MDRD. É ainda de salientar que em resposta a diferentes situações clínicas o nível sanguíneo da creatinina pode não se relacionar com a TFG (160). A fórmula MDRD detém limitações que advém da utilização da creatinina como marcador da função renal (142). O valor da creatinina sérica ou plasmática acima do valor considerado normal pela maioria dos laboratórios só ocorre quando a diminuição da TFG é de 50-60%. Estas considerações são especialmente importantes quando se avalia a TFG nos pacientes idosos, particularmente os do sexo feminino, nos quais por apresentarem menor massa muscular, podem manifestar um nível sanguíneo de creatinina na “faixa da normalidade” na vigência de TFG diminuída (105).

Ainda, no estudo A, a cistatina C correlacionou-se com maior significado estatístico com a TFG estimada pela fórmula MDRD do que a creatinina. Em 1985 Grubb *et al* (161) sugeriram a existência de uma correlação significativa entre a cistatina C e a creatinina sérica com a TFG (0,77 e 0,75 respectivamente), medida pela *clearance* de Cr-EDTA em 135 pacientes com idades compreendidas entre os 7 e os 77 anos e com diferentes doenças renais, incluindo glomerulonefrites primárias e secundárias e ND. Outros autores encontraram correlações mais significativas ainda entre a cistatina C e a creatinina sérica com a TFG ($r=0,91$ e $0,89$, respectivamente) (162).

No estudo B, a TFG foi estimada pela creatinina (fórmula MDRD), pela cistatina C (fórmula Larsson) e por ambas (fórmula Levey) tendo-se em consideração o sexo e a idade. Verificou-se que nos pacientes diabéticos que o valor médio da TFG estimada pela fórmula MDRD foi menor do que os valores calculados pelas equações de Larsson e Levey. Dado a percentagem de pacientes com TFG diminuída foi maior para esta equação (MDRD: 75,6%, Levey: 67,9% e Larsson: 46,3%). Estes dados evidenciam que a fórmula MDRD subestima a TFG em indivíduos com perda moderada da função renal (142).

Os resultados evidenciam ainda que a cistatina C e a creatinina sérica se correlacionaram significativamente com a TFG estimada pela fórmula MDRD ($r=-0,78$; $\rho<0,0001$ e $r=-0,77$; $\rho<0,0001$), pela fórmula Levey ($r=-0,86$; $\rho=0,0002$ e $r=-0,71$; $\rho<0,0001$) e pela fórmula de Larsson ($r=-0,84$; $\rho<0,0001$ e $r=-0,61$; $\rho<0,0001$). Embora as correlações sejam significativas, são mais baixas para a creatinina do que para a cistatina C. No grupo CTL, a correlação entre a equação MDRD e as equações estimativas de Levey e Larsson persistiram embora com menor significado. Contudo, neste grupo, não se verificou a existência de correlação entre a cistatina C e a equação estimativa MDRD.

Rigalleu *et al.* (163) também observaram uma *performance* semelhante entre a equação Levey e a equação MDRD. Estes autores sugeriram que a análise combinada dos valores de creatinina e de cistatina C (fórmula de Levey) permite uma melhor monitorização da função renal em pacientes com DM e doença renal crónica. Mais recentemente, Steven *et al* (112) realizaram um estudo populacional tendo analisado dados relativos a pacientes com doença renal crónica e compararam equações estimativas da TFG que incluíam creatinina sérica, cistatina C ou ambas. O estudo incluiu 3418 pacientes, ensaios de doseamento de creatinina calibrada, medidas das cistatinas C em um mesmo laboratório e um conjunto externo de validação dos dados. Os autores observaram que em populações com doença renal crónica, o valor de cistatina C isoladamente correlacionou-se melhor com a TFG estimada do que a creatinina sérica, com a vantagem de não depender da idade e da massa muscular. O acréscimo das variáveis idade, sexo e etnia em equações com a cistatina C diminuiu os vieses na população de pacientes em estudo. No entanto, a combinação em uma mesma fórmula das variáveis cistatina C, creatinina, idade, sexo e etnia foi a que ofereceu melhores resultados.

Estudos recentes demonstram que a cistatina C se eleva precocemente na insuficiência renal e na progressão da ND (142, 159). A importância decorre do facto de os pacientes com doenças renais em estadios iniciais não apresentarem sinais e sintomas, sendo a avaliação laboratorial a única forma de deteção da doença. Assim, a cistatina C parece identificar um estado “pré-clínico” de disfunção renal que não é detetado com a creatinina sérica (164). No presente estudo a cistatina C apresentou melhor valor de diagnóstico na deteção da disfunção renal comparativamente à creatinina sérica (Figura 17 e 18). Estes resultados revelam que a cistatina C pode ser usada na triagem simples e sensível para alterações subtis da TFG e consequentemente de ND.

VI. Conclusão

No sentido de estudar a aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação da função renal de pacientes diabéticos seguidos no Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E – Aveiro analisaram-se vários parâmetros laboratoriais, parâmetros demográficos e equações estimativas de TFG cujos resultados permitiram tirar as seguintes conclusões:

- (i) A hiperglicemia encontra-se associada ao aparecimento de lesões renais em pacientes diabéticos atendendo as diferenças significativas verificadas entre os valores de glucose sérica entre o grupo PDM e CTL e também entre os parâmetros da função renal entre estes grupos.
- (ii) A cistatina C sérica correlacionou-se significativamente com a creatinina e a ureia sérica sugerindo que a cistatina C pode constituir um marcador útil para a avaliação da função renal.
- (iii) Os valores séricos de cistatina C correlacionaram-se melhor com a TFG estimada pela equação MDRD do que a creatinina sérica.
- (iv) A equação estimativa de Levey, que estima a taxa de filtração glomerular recorrendo a cistatina C, creatinina e parâmetros antropométricos, apresenta uma maior correlação com a cistatina C do que com a creatinina.
- (v) O cálculo da fórmula de Larsson para estimar a taxa de filtração glomerular em detrimento da concentração sérica isolada de cistatina C, não apresentou vantagens dado que a cistatina C sérica apresentou uma maior correlação com a TFG estimada pela fórmula MDRD.
- (vi) A cistatina C apresentou melhor valor de diagnóstico na deteção da disfunção renal comparativamente à creatinina sérica, particularmente em estadios iniciais da doença pois permite detetar diminuições subtis da filtração glomerular, especialmente, em pacientes com DM.

Conclusão

De uma forma geral, podemos concluir que a cistatina C é um marcador de taxa de filtração glomerular com aplicabilidade ao diagnóstico em estádios iniciais da ND. Estudos futuros envolvendo um maior número de pacientes serão fundamentais para suportar os resultados obtidos no presente trabalho que evidenciaram a superioridade da cistatina C relativamente à creatinina sérica.

VII. Referências Bibliográficas

1. Diabetes. 2011 [cited 2012 Setembro]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>.
2. Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: Estimates for the year 2010. *Diabetes Res Clin Pr.* 2010;87(1):15-9.
3. Molitch M, Steffes M. 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;33(7):1536-43.
4. Rigalleau V, Lasseur C. Normoalbuminuric renal-insufficient diabetic patients - A lower-risk group. *Diabetes Care.* 2007;30(8):2034-9.
5. Perkins B, Ficociello L. Microalbuminuria and the risk for early progressive renal function decline in type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(4):1353-61.
6. Mann J, Schmieder R. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet.* 2008;372(9638):547-53.
7. Puhanic A. Globalization | Type 2 Diabetes Pandemic in Developing Countries. 2012 [cited 2012 15 de novembro].
8. Graw A, Murphy, M. Glucose metabolism and diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry: An Illustrated Colour Text.* 4 ed: Churchill Livingstone Elsevier; 2008. p. 60-1.
9. Epstein M, Sowers J. Diabetes Mellitus and Hypertension. *Hypertension.* 1992;19(5):403-18.
10. Seronie-Vivien S, Toullec S. Contribution of the MDRD equation and of cystatin C for renal function estimates in cancer patients. *Med Oncol.* 2006;23(1):63-73.
11. Stein G, Funfstuck R. Hematuria and proteinuria. Referral concept of the patient to the nephrologist. *Med Klin.* 2005;100(10):663-9.
12. Pessin J, Saltiel A. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation.* 2000;106(2):165-9.
13. Kumashiro N, Erion D. Cellular mechanism of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *P Natl Acad Sci USA.* 2011;108(39):16381-5.
14. Creager M, Luscher T. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation.* 2003;108(12):1527-32.
15. Retnakaran R, Cull CA, Thorne KI, Adler AI, Holman RR, Grp US. Risk factors for renal dysfunction in type 2 diabetes - UK prospective diabetes study 74. *Diabetes.* 2006;55(6):1832-9.

16. DeFronzo R, Davidson J, Del Prato S. The role of the kidneys in glucose homeostasis: a new path towards normalizing glycaemia. *Diabetes Obes Metab.* 2012;14(1):5-14.
17. Ebina Y, Ellis L. The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone-activated transmembrane signalling. *Cell.* 1985;40(4):747-58.
18. Stern M. Strategies and prospects for finding insulin resistance genes. *Journal of Clinical Investigation.* 2000;106(3):323-7.
19. Murakami M, Lambeau G. Emerging roles of secreted phospholipase A(2) enzymes: an update. *Biochimie.* 2013;95(1):43-50.
20. White M, Shoelson S. A cascade of tyrosine autophosphorylation in the beta-subunit activates the phosphotransferase of the insulin receptor. *Journal Biological Chemistry.* 1988;263(6):2969-80.
21. Folli F, Saad M, Backer J. Insulin stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity and association with insulin receptor substrate 1 in liver and muscle of the intact rat. *The Journal of biological chemistry.* 1992;267(31):22171-7.
22. Rojas F, Carvalho C. Regulation of cardiac Jak-2 in animal models of insulin resistance. *IUBMB life.* 2000;49(6):501-9.
23. Saad M, Folli F. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *Journal of Clinical Investigation.* 1993;92(4):2065-72.
24. Shepherd P, Nave B, Siddle K. Insulin stimulation of glycogen synthesis and glycogen synthase activity is blocked by wortmannin and rapamycin in 3T3-L1 adipocytes: evidence for the involvement of phosphoinositide 3-kinase and p70 ribosomal protein-S6 kinase. *Biochemical Journal* 1995;305:25-8.
25. Kessler A, Uphues I, Ouwens D. Diversification of cardiac insulin signaling involves the p85 alpha/beta subunits of phosphatidylinositol 3-kinase. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2001;280(1):65-74.
26. Czech MP, Corvera S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. *The Journal of biological chemistry.* 1999;274(4):1865-8.
27. Kitamura T, Ogawa W. Requirement for activation of the serine-threonine kinase Akt (protein kinase B) in insulin stimulation of protein synthesis but not of glucose transport. *Journal of Molecular Cell Biology.* 1998;18(7):3708-17.
28. Kohn A, Summers S, Birnbaum M, Roth R. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *Journal Biological Chemistry.* 1996;271(49):31372-8.
29. Carvalheira JZ, H; Saad, M. Vias de Sinalização da Insulina. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.* 2002;46(4):419-25.

30. Paez-Espinosa E, Rocha E. Insulin induced tyrosine phosphorylation of Shc in liver, muscle and adipose tissue of insulin resistant rats. *Molecular & Cellular Endocrinology*. 1999;156(1-2):121-9.
31. Boulton T, Nye S, Robbins D. ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. *Cell Mol Life Sci*. 1991;65(4):663-75.
32. Shanab A, Nakazawa T, Ryu M, Tanaka Y. Metabolic stress response implicated in diabetic retinopathy: The role of calpain, and the therapeutic impact of calpain inhibitor. *Neurobiology of disease*. 2012;48(3):556-67.
33. Singh D, Winocour P, Farrington K. Mechanisms of Disease: the hypoxic tubular hypothesis of diabetic nephropathy. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008;4(4):216-26.
34. Schalkwijk C, Stehouwer C. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci*. 2005;109(2):143-59.
35. Cohen R. Dysfunction of Vascular Endothelium in Diabetes-Mellitus. *Circulation*. 1993;87(5):67-76.
36. Feener E, King G. Vascular dysfunction in diabetes mellitus. *Lancet*. 1997;350 Suppl 1:SI9-13.
37. Lehmann R, Schleicher E. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clinical Chemical Acta*. 2000;297(1-2):135-44.
38. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced Products of Nonenzymatic Glycosylation and the Pathogenesis of Diabetic Vascular-Disease. *Diabetes Metabolism Reviews*. 1988;4(5):437-51.
39. Miyata S, Monnier V. Immunohistochemical Detection of Advanced Glycosylation End-Products in Diabetic Tissues Using Monoclonal-Antibody to Pyrraline. *Journal of Clinical Investigation*. 1992;89(4):1102-12.
40. Schmidt A, Yan S, Stern D. The Dark Side of Glucose. *Nat Med*. 1995;1(10):1002-4.
41. Doi T, Vlassara H, Kirstein M. Receptor-Specific Increase in Extracellular-Matrix Production in Mouse Mesangial Cells by Advanced Glycosylation End-Products Is Mediated Via Platelet-Derived Growth-Factor. *P Natl Acad Sci USA*. 1992;89(7):2873-7.
42. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Novel Macrophage Receptor for Glucose-Modified Proteins Is Distinct from Previously Described Scavenger Receptors. *J Exp Med*. 1986;164(4):1301-9.
43. Bierhaus A, Hofmann M. AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovasc Res*. 1998;37(3):586-600.

44. Schmidt A, Yan S. Activation of receptor for advanced glycation end products - A mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res.* 1999;84(5):489-97.
45. Yan S, Schmidt A. Enhanced Cellular Oxidant Stress by the Interaction of Advanced Glycation End-Products with Their Receptors Binding-Proteins. *Journal of Biological Chemistry.* 1994;269(13):9889-97.
46. Du X, Sui G. Induction of apoptosis by high proinsulin and glucose in cultured human umbilical vein endothelial cells is mediated by reactive oxygen species. *Diabetologia.* 1998;41(3):249-56.
47. Larkins R, Dunlop M. The Link between Hyperglycemia and Diabetic Nephropathy. *Diabetologia.* 1992;35(6):499-504.
48. Schleicher E, Nerlich A. The role of hyperglycemia in the development of diabetic complications. *Horm Metab Res.* 1996;28(8):367-73.
49. Triches C, Schaan B. Macrovascular diabetic complications: clinical characteristics, diagnosis and management. *Arq Bras Endocrinol.* 2009;53(6):698-708.
50. Ishii H, Jirousek M. Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. *Science.* 1996;272(5262):728-31.
51. Ceriello A. The emerging challenge in diabetes: The "metabolic memory". *Vascular pharmacology.* 2012;57(5-6):133-8.
52. Correa Z, Eagle Jr R. [Pathological features of diabetic retinopathy]. *Arquivos brasileiros de oftalmologia.* 2005;68(3):410-4. Epub 2005/08/02. Aspectos patológicos da retinopatia diabética.
53. (DCCT) DRGDCaCT. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes-Mellitus. *New Engl J Med.* 1993;329(14):977-86.
54. Okada S, Ichiki K. Factors related to the development and progression of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Journal of International Medical Research.* 1996;24(2):214-20.
55. Warpeha K, Chakravarthy U. Molecular genetics of microvascular disease in diabetic retinopathy. *Eye.* 2003;17(3):305-11.
56. McCarty M. A central role for protein kinase C overactivity in diabetic glomerulosclerosis: implications for prevention with antioxidants, fish oil, and ACE inhibitors. *Med Hypotheses.* 1998;50(2):155-65.
57. Arora M, Singh U. Molecular mechanisms in the pathogenesis of diabetic nephropathy: An update. *Vascular pharmacology.* 2013;58(4):259-71.
58. Moreno A, Lozano M. Diabetic retinopathy. *Nutricion Hospitalaria.* 2013;28:53-6.
59. Reiners K. Diabetic neuropathy: Pathogenesis, clinical manifestation and therapy. *Zbl Chir.* 1999;124:25-32.

60. Biessels G, Kappelle A. Cerebral Function in Diabetes-Mellitus. *Diabetologia*. 1994;37(7):643-50.
61. Cooper M, Gilbert R. Diabetic vascular complications. *Clin Exp Pharmacol P*. 1997;24(9-10):770-5.
62. Biessels G. Cerebral complications of diabetes: Clinical findings and pathogenetic mechanisms. *Neth J Med*. 1999;54(2):35-45.
63. Reddy M, Natarajan R. Epigenetic mechanisms in diabetic vascular complications. *Cardiovasc Res*. 2011;90(3):421-9.
64. Gibbons G, Shaw P. Diabetic Vascular Disease: Characteristics of Vascular Disease Unique to the Diabetic Patient. *Semin Vasc Surg*. 2012;25(2):89-92.
65. Graziani L, Silvestro A. Vascular involvement in diabetic subjects with ischemic foot ulcer: A new morphologic categorization of disease severity. *Eur J Vasc Endovasc*. 2007;33(4):453-60.
66. Vallon V. The proximal tubule in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Am J Physiol-Reg I*. 2011;300(5):R1009-R22.
67. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol*. 2007;27(2):195-207.
68. Levey A, Coresh J. National kidney foundation practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med*. 2003;139(2):137-47.
69. Mauer S, Steffes M. Structural-Functional Relationships in Diabetic Nephropathy. *Kidney Int*. 1984;25(1):225-.
70. Osterby R. Morphometric studies of the peripheral glomerular basement membrane. II. Topography of the initial lesions. *Diabetologia*. 1973;9(2):108-14.
71. Berrut G, Bouhanick B. Microalbuminuria as a predictor of a drop in glomerular filtration rate in subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus and hypertension. *Clin Nephrol*. 1997;48(2):92-7.
72. Haraldsson B, Nystrom J. Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria. *Physiol Rev*. 2008;88(2):451-87.
73. Herget-Rosenthal S, Bokenkamp A. How to estimate GFR - serum creatinine, serum cystatin C or equations. *Clin Biochem*. 2007;40(3-4):153-61.
74. Bagshaw S, Gibney R. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med*. 2008;36(4):152-8.
75. Fioretto P, Steffes M. Sequential Renal Biopsies in Insulin-Dependent Diabetic-Patients - Structural Factors Associated with Clinical Progression. *Kidney Int*. 1995;48(6):1929-35.
76. Kim Y, Butkowski R. Differential Expression of Basement-Membrane Collagen in Membranous Nephropathy. *Am J Pathol*. 1991;139(6):1381-8.

77. Brito P, Fioretto P. Proximal tubular basement membrane width in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1998;53(3):754-61.
78. Lane P, Steffes M. Renal Interstitial Expansion in Insulin-Dependent Diabetes-Mellitus. *Kidney Int.* 1993;43(3):661-7.
79. Harris R, Steffes M. Global Glomerular Sclerosis and Glomerular Arteriolar Hyalinosis in Insulin-Dependent Diabetes. *Kidney Int.* 1991;40(1):107-14.
80. Guder W, Hofmann W. Differentiation of Proteinuria and Hematuria by Single Protein-Analysis in Urine. *Clin Biochem.* 1993;26(4):277-82.
81. Rademacher E, Sinaiko A. Albuminuria in children. *Curr Opin Nephrol Hy.* 2009;18(3):246-51.
82. Rigalleau V, Beauvieu M. Estimation of renal function in patients with diabetes. *Diabetes Metab.* 2011;37(5):359-66.
83. Borchjohansen K, Andersen P. The Effect of Proteinuria on Relative Mortality in Type-1 (Insulin-Dependent) Diabetes-Mellitus. *Diabetologia.* 1985;28(8):590-6.
84. Berhane A, Weil E. Albuminuria and Estimated Glomerular Filtration Rate as Predictors of Diabetic End-Stage Renal Disease and Death. *Clin J Am Soc Nephro.* 2011;6(10):2444-51.
85. Aekplakorn W, Srivanichakorn S, Sangwatanaroj S. Microalbuminuria and metabolic risk factors in patients with type 2 diabetes in primary care setting in Thailand. *Diabetes Res Clin Pr.* 2009;84(1):92-8.
86. Stevens L, Levey A. Medical progress - Assessing kidney function - Measured and estimated glomerular filtration rate. *New Engl J Med.* 2006;354(23):2473-83.
87. Hojs R, Bevc S. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with mild to moderate impairment of kidney function. *Nephrol Dial Transpl.* 2006;21(7):1855-62.
88. Dharnidharka V, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2002;40(2):221-6.
89. Laterza O, Price C, Scott M. Cystatin C: An improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem.* 2002;48(5):699-707.
90. Price C, Finney H. Developments in the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chim Acta.* 2000;297(1-2):55-66.
91. Ylinen E, Ala-Houhala M, Harmoinen A, Knip M. Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol.* 1999;13(6):506-9.
92. Tangri N, Stevens L, Schmid C, Zhang Y. Changes in dietary protein intake has no effect on serum cystatin C levels independent of the glomerular filtration rate. *Kidney Int.* 2011;79(4):471-7.

93. Shimizu-Tokiwa A, Kobata M, Io H, Kobayashi N. Serum cystatin C is a more sensitive marker of glomerular function than serum creatinine. *Nephron*. 2002;92(1):224-6.
94. Tan G, Lewis A. Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in type 1 diabetes - Reproducibility and accuracy compared with standard measures and iohexol clearance. *Diabetes Care*. 2002;25(11):2004-9.
95. Prigent A. Monitoring renal function and limitations of renal function tests. *Seminars in nuclear medicine*. 2008;38(1):32-46.
96. Bokenkamp A, Domanetzki M. Cystatin C - A new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics*. 1998;101(5):875-81.
97. Oddoze C, Morange S. Cystatin C is not more sensitive than creatinine for detecting early renal impairment in patients with diabetes. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(2):310-6.
98. Mazur M, Heilman R. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C: A new opportunity for a hepatologist (Reprinted from *Kidney Int*, vol 66, pg 1115-1122, 2004). *Liver Transplant*. 2005;11(6):705-7.
99. Cockcroft D, Gault M. Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.
100. Levey A, Berg R. Creatinine filtration, secretion and excretion during progressive renal disease. *Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Group. Kidney international Supplement*. 1989;27:S73-80.
101. Levey A, Bosch J, Lewis J. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med*. 1999;130(6):461-70.
102. Thomas C, Thomas L. Renal failure measuring the glomerular filtration rate. *Deutsches Arzteblatt international*. 2009;106(51-52):849-54.
103. Thongboonkerd V, Malasit P. Renal and urinary proteomics: current applications and challenges. *Proteomics*. 2005;5(4):1033-42.
104. Hayashi T. Clinical assessment of serum, cystatin C as a marker of glomerular filtration rate in patients with various renal diseases. *Clin Exp Nephrol*. 2000;4:133-6.
105. Shemesh O, Golbetz H. Limitations of Creatinine as a Filtration Marker in Glomerulopathic Patients. *Kidney Int*. 1985;28(5):830-8.
106. Filler G, Bokenkamp A. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications, and future research. *Clin Biochem*. 2005;38(1):1-8.
107. Abrahamson M, Mason R. Human cystatin C. role of the N-terminal segment in the inhibition of human cysteine proteinases and in its inactivation by leucocyte elastase. *The Biochemical journal*. 1991;273 621-6.
108. Jung K, Jung M. Cystatin C: a promising marker of glomerular filtration rate to replace creatinine. *Nephron*. 1995;70(3):370-1.

109. Curhan G. Cystatin C: A marker of renal function or something more? *Clin Chem*. 2005;51(2):293-4.
110. Rigalleau V, Beauvieux M, Le Moigne F. Cystatin C improves the diagnosis and stratification of chronic kidney disease, and the estimation of glomerular filtration rate in diabetes. *Diabetes Metab*. 2008;34(5):482-9.
111. Bargnoux A, Cavalier E, Cristol J. Cystatin C is a reliable marker for estimation of glomerular filtration rate in renal transplantation: validation of a new turbidimetric assay using monospecific sheep antibodies. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(2):265-70.
112. Stevens L, Coresh J, Schmid C. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis*. 2008;51(3):395-406.
113. Grubb A, Nyman U. Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem*. 2005;51(8):1420-31.
114. Grubb A, Bjork J. A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula. *Scand J Clin Lab Inv*. 2005;65(2):153-62.
115. Rule A, Bergstralh E, Slezak J. Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney Int*. 2006;69(2):399-405.
116. Larsson A, Malm J, Grubb A. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Inv*. 2004;64(1):25-30.
117. Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B. Calculation of glomerular filtration rate based on Cystatin C in cirrhotic patients. *Nephrol Dial Transpl*. 2006;21(3):660-4.
118. Arias I, Pobes A, Banos M. Cystatin C New marker of renal function. *Nefrologia*. 2005;25(3):217-20.
119. Hoek F, Kemperman F, Krediet R. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transpl*. 2003;18(10):2024-31.
120. Martins T. Cistatina C: um novo marcador para filtração glomerular comparada ao clearance da creatinina e a creatinina sérica. *RBAC*. 2003;35(4):207-13.
121. Mussap M, Dalla Vestra M, 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;61(4):1453-61.
122. Ognibene A, Mannucci E. Cystatin C reference values and aging. *Clin Biochem*. 2006;39(6):658-61.
123. Okay T. Cystatin C: A new marker for children kidney function. *Revista da Associação Médica Brasileira* 2002;48(2):112-3.

124. Visvardis G, Griveas I, Zilidou R. Glomerular filtration rate estimation in renal transplant patients based on serum cystatin-C levels: comparison with other markers of glomerular filtration rate. *Transpl P*. 2004;36(6):1757-9.
125. Woitas R, Stoffel-Wagner B. Low-molecular weight proteins as markers for glomerular filtration rate. *Clin Chem*. 2001;47(12):2179-80.
126. Petri M. Trace urine protein at the baseline visit is strongly associated with later proteinuria. *Arthritis Rheum-Us*. 2004;50(9):S404-S.
127. Nielsen S, Andersen S. Tubular markers do not predict the decline in glomerular filtration rate in type 1 diabetic patients with overt nephropathy. *Kidney Int*. 2011;79(10):1113-8.
128. Ichimura T, Bonventre J, Bailly V, Wei H, Hession C. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(7):4135-42.
129. De Borst M, van Timmeren M, Vaidya V, De Boer R. Induction of kidney injury molecule-1 in homozygous Ren2 rats is attenuated by blockade of the renin-angiotensin system or p38 MAP kinase. *Am J Physiol-Renal*. 2007;292(1):F313-F20.
130. Pennemans V, Rigo J, Penders J, Swennen Q. Collection and storage requirements for urinary kidney injury molecule-1 (KIM-1) measurements in humans. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(3):539-43.
131. Han W, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre J. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int*. 2002;62(1):237-44.
132. Dupont M, Shrestha K. Admission Values of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, Kidney Injury Molecule-1 and Interleukin-18 Do Not Predict Worsening Renal Function. *J Card Fail*. 2012;18(8):28-.
133. Haase M, Bellomo R, Mertens P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of acute renal disease. *Curr Opin Hematol*. 2011;18(1):11-8.
134. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005;365(9466):1231-8.
135. Yang J, Goetz D, Li J, Wang W. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Journal of Molecular Cell Biology*. 2002;10(5):1045-56.
136. Wang Y, Lam K, Kraegen E, Sweeney G. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. *Clin Chem*. 2007;53(1):34-41.
137. Mori K, Lee H. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(3):610-21.

138. Katano M, Okamoto K, Arito M, Kawakami Y. Implication of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induced neutrophil gelatinase-associated lipocalin in pathogenesis of rheumatoid arthritis revealed by proteome analysis. *Arthritis research & therapy*. 2009;11(1).
139. Nilssonehle P, Grubb A. New Markers for the Determination of Gfr - Iohexol Clearance and Cystatin-C Serum Concentration. *Kidney Int*. 1994:S17-S9.
140. Myers B, Winetz J. Mechanisms of Proteinuria in Diabetic Nephropathy - a Study of Glomerular Barrier Function. *Kidney Int*. 1982;21(4):633-41.
141. O'Meara Y BH, Brenner B. Glomerulopathies associated with multisystem diseases. In: Braunwald E FA, Kasper D, Hauser, S, Longo D, Jameson J., editor. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill;; 2001. p. p.1590-7.
142. Rosner M, Bolton W. Renal function testing. *Am J Kidney Dis*. 2006;47(1):174-83.
143. Nitta K, Hayashi T. Serum cystatin C concentration as a marker of glomerular filtration rate in patients with various renal diseases. *Internal Med*. 2002;41(11):931-5.
144. Ravid M, Brosh D. Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia. *Arch Intern Med*. 1998;158(9):998-1004.
145. Gall MA, Hougaard P, Borch-Johnsen K, Parving HH. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: Prospective, observational study. *Brit Med J*. 1997;314(7083):783-8.
146. Murussi M, Baglio P, Silveiro SP. Risk factors for microalbuminuria and macroalbuminuria in type 2 diabetic patients - A 9-year follow-up study. *Diabetes Care*. 2002;25(6):1101-3.
147. Park JY, Kim HK, Chung YE, Kim SW, Hong SK, Lee KU. Incidence and determinants of microalbuminuria in Koreans with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1998;21(4):530-4.
148. Nelson RG, Knowler WC, Pettitt DJ, Hanson RL, Bennett PH. Incidence and Determinants of Elevated Urinary Albumin Excretion in Pima-Indians with Niddm. *Diabetes Care*. 1995;18(2):182-7.
149. Borch-Johnsen K, Norgaard K, Hommel E, Mathiesen ER, Jensen JS, Deckert T, et al. Is Diabetic Nephropathy an Inherited Complication. *Kidney Int*. 1992;41(4):719-22.
150. Harjutsalo V, Katoh S, Sarti C, Tajima N, Tuomilehto J. Population-based assessment of familial clustering of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(9):2449-54.
151. Implications at the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*. 2000;23:S24-S6.

152. Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Brit Med J.* 2000;321(7258):405-12.
153. Effect of Intensive Therapy on the Development and Progression of Diabetic Nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney Int.* 1995;47(6):1703-20.
154. Grupe UPDS. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Brit Med J.* 2000;321(7258):405-12.
155. Reinhard M, Erlandsen E, Randers E. Biological variation of cystatin C and creatinine. *Scand J Clin Lab Inv.* 2009;69(8):931-836.
156. Bagshaw S, Gibney R. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med.* 2008;36(4):S152-S8.
157. Kottgen A, Selvin E. Serum cystatin C in the United States: The Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney Dis.* 2008;51(3):385-94.
158. Keevil B, Kilpatrick E. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem.* 1998;44(7):1535-9.
159. Filler G, Priem F. beta-trace protein, cystatin C, beta(2)-microglobulin, and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clin Chem.* 2002;48(5):729-36.
160. Stevens L, Coresh J, Greene T, Levey A. Medical progress - Assessing kidney function - Measured and estimated glomerular filtration rate. *New Engl J Med.* 2006;354(23):2473-83.
161. Grubb A, Simonsen O. Serum Concentration of Cystatin-C, Factor-D and Beta-2-Microglobulin as a Measure of Glomerular-Filtration Rate. *Acta Med Scand.* 1985;218(5):499-503.
162. Randers E, Kristensen J. Serum cystatin C as a marker of the renal function. *Scand J Clin Lab Inv.* 1998;58(7):585-92.
163. Rigalleau V, Beauvieux M. The combination of cystatin C and serum creatinine improves the monitoring of kidney function in patients with diabetes and chronic kidney disease. *Clin Chem.* 2007;53(11):1988-9.
164. Shlipak M, Katz R. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med.* 2006;145(4):237-46.

Anexos

Anexo A

Tabelas com informação dos pacientes incluídos no estudo A. Caracterização de pacientes diabéticos com e sem patologias renais.

Tabela A1 - Parâmetros analisados em todos os pacientes incluídos no grupo CCR.

Data de nascimento	Idade (anos)	Sexo	Ano	Creatinina [mg/dL]	Cistatina C [mg/L]	Albumina [mg/dL]	Proteínas totais [mg/dL]	Glucose [mg/dL]	HA1c (%)	Ureia [mg/dL]
12-02-1958	54	M	2012	1.8	1.5	1.87	6.9	152	6.5	170.7
12-02-1958	54	M	2012	2.2	-	2.32	6.6	170	6.1	198.8
25-04-1924	88	M	2012	1.5	1.8	2.56	6.9	109	7.2	107.6
12-02-1958	54	M	2012	2.4	-	3.45	6	96	6.7	49.1
25-04-1924	88	M	2012	1.5	-	3.05	5.8	205	12.3	214.9
12-02-1958	54	M	2012	1.9	-	3.14	6.6	254	8.8	40.1
25-04-1924	88	M	2012	2.1	1.3	2.59	6.7	429	8.8	65.5
25-04-1924	88	M	2012	2.3	-	3.39	6.9	182	6.9	207.7
12-08-1931	81	M	2012	3.6	-	2.18	7.2	138	8	129.6
24-05-1943	69	F	2012	2.4	-	3.76	7.1	166	10.5	53.8
12-08-1931	81	M	2012	4.6	1.5	3	5.2	322	10.2	150.3
24-05-1943	69	F	2012	1.7	-	2.2	5.8	56	8.2	49
30-11-1938	74	F	2012	1.2	-	2.61	5.8	290	7	158.3
13-06-1956	57	F	2013	5.1	-	3.03	7.2	182	7.5	43.3
24-05-1943	69	F	2012	1.3	1.9	3.56	5.7	267	7.8	52.2
13-06-1956	56	F	2012	2	-	2.79	5.4	229	7.3	54.4
12-08-1931	81	M	2012	1.6	-	2.64	6.2	147	6.3	182.6

30-11-1938	74	F	2012	2.4	-	1.97	5.1	261	10.8	114.4
25-04-1924	88	M	2012	2.2	-	1.88	6.2	332	7.2	38
15-05-1933	79	M	2012	1.2	1.8	2.61	7.4	329	7.4	64.8
13-06-1956	56	F	2012	3	-	3.39	7.5	201	6.9	133.2
23-07-1950	62	M	2012	1.3	1.6	3.21	6.9	299	9.5	99.6
07-08-1936	76	M	2012	4.4	-	3.04	6.3	162	8.9	40.1
01-06-1937	75	F	2012	4.5	-	2.35	6.3	273	7.5	69.8
01-06-1937	75	F	2012	4.5	-	2.46	6.9	221	7.2	103.9
29-07-1953	59	F	2012	2	-	3.07	6.2	121	7.9	110.5
25-04-1924	88	M	2012	4.8	-	2.36	7	193	5.3	175.1
29-07-1953	59	F	2012	4.8	-	3.74	7.4	162	6.9	215.6
29-07-1953	59	F	2012	1.3	-	2.06	6.7	99	6.1	186.1
12-02-1958	54	M	2012	2.2	-	3.09	6.3	115	6.6	231.6
25-04-1924	88	M	2012	3.6	-	2.91	6.9	129	6.5	95.3
08-09-1938	74	F	2012	2.9	-	3.46	6.3	268	7.5	87.8
23-07-1950	62	M	2012	2.1	-	3.11	6.3	188	7.6	88.7
01-10-1930	82	F	2012	2.5	-	2.79	6.1	196	9.3	112.3
18-09-1937	75	F	2012	1.3	-	3.12	6.1	116	11.1	114.3
13-06-1956	57	F	2013	2.8	-	3.75	8.6	130	7.4	67
27-11-1931	81	F	2012	2.7	-	2.89	7.6	138	9.7	103.5
18-09-1937	75	F	2012	2.2	-	2.82	7.5	107	7.8	313.8
25-04-1924	88	M	2012	3	-	1.3	5.7	217	7.9	89.9
23-07-1950	62	M	2012	1.2	-	2.32	6	234	10.6	115.2
07-08-1936	76	M	2012	2.9	-	2.4	6	102	7.7	97.9
26-09-1923	89	M	2012	2.1	-	2.34	7.3	113	8.3	73.9

01-10-1930	82	F	2012	1.8	-	1.76	6	398	7.9	90
01-10-1930	82	F	2012	2.2	-	3.4	6.8	142	7	126.9
18-09-1937	75	F	2012	4.1	-	3.64	6.6	349	7.7	275.5
29-07-1953	59	F	2012	1.9	-	1.98	7.1	87	13.5	28.7
25-04-1924	88	M	2012	4.1	-	2.29	6	110	8.2	119.1
29-07-1953	59	F	2012	0.6	-	3.57	6.5	223	6.7	80.4
13-06-1956	56	F	2012	2.7	-	3.21	7.2	301	12.3	86.2
23-07-1950	62	M	2012	2	-	2.19	7	169	8.8	75.6
18-09-1937	75	F	2012	2.6	-	2.32	7.4	322	8.8	37.9
23-07-1950	62	M	2012	1.4	-	-	5.5	194	6.9	102.2
28-01-1957	55	M	2012	2.7	-	-	7.3	269	8	99.8
18-09-1937	75	F	2012	1.4	-	-	6.1	299	10.5	72
13-06-1956	56	F	2012	3.9	-	-	6.1	208	10.2	172.5
07-03-1928	84	M	2012	2.5	-	2.24	5	175	8.2	69.5
23-07-1950	62	M	2012	3	-	2.66	5	168	7	104.9
18-09-1937	75	F	2012	2.6	-	2.62	6.2	192	7.5	154.7
11-08-1934	78	M	2012	3.6	-	3.23	6.2	150	7.8	158.8
07-03-1928	84	M	2012	1.1	-	3.39	6	148	7.3	52.2
07-08-1936	76	M	2012	1.8	-	2.68	7.1	511	6.3	204
01-10-1930	82	F	2012	2.8	-	2.53	7.6	177	10.8	71.9
11-08-1934	78	M	2012	2.1	-	2.51	7.2	152	7.2	83.3
18-09-1937	75	F	2012	3.3	-	1.56	8.6	139	7.7	139.8
07-03-1928	84	M	2012	1.8	-	-	6.1	255	13.5	111.8
24-04-1926	86	M	2012	1.8	-	-	6.1	290	8.2	66.3
01-10-1930	82	F	2012	1.3	-	-	6.9	184	6.7	83.1

07-08-1936	76	M	2012	2.1	-	2.93	8.3	164	12.3	41.3
27-11-1931	81	F	2012	1.6	-	2.37	6.8	115	8.8	88.5
29-08-1938	74	M	2012	2.4	-	2.95	7.2	227	8.8	169.8
11-08-1934	78	M	2012	2	-	2.49	6.1	211	6.9	69.9
18-09-1937	75	F	2012	2.6	-	-	5.9	111	8	86.5
07-03-1928	84	M	2012	1.9	-	-	5.7	469	-	79.4
18-03-1931	82	M	2013	1.8	-	-	7.2	95	-	143.3
24-04-1926	86	M	2012	2.5	-	-	8.3	207	10.2	114
26-11-1942	70	F	2012	2.4	-	-	7.1	199	8.2	121
26-11-1942	70	F	2012	1.3	-	-	6.7	268	7	93.5
07-08-1936	76	M	2012	2.2	-	-	7.2	170	-	108.5
11-08-1934	78	M	2012	2.7	-	-	5.9	161	7.8	50
07-03-1928	84	M	2012	2	-	-	7.2	248	7.3	84.6
18-09-1937	75	F	2012	3	-	-	6.8	248	6.3	80
07-03-1928	84	M	2012	1.6	-	-	5.7	173	10.8	104.7
29-08-1938	74	M	2012	2.8	-	-	5.8	332	7.2	79.4
11-08-1934	78	M	2012	2	-	-	6.9	320	-	104.2
18-03-1931	82	M	2013	1.9	-	-	4.6	186	-	134.2
27-11-1931	81	F	2012	3.9	-	-	4.8	230	8.2	129
07-03-1928	84	M	2012	1.7	-	-	6.3	80	-	155.8
29-08-1938	74	M	2012	2.2	-	-	5.6	322	12.3	72
18-09-1937	75	F	2012	4.1	-	-	5.6	138	-	150.6
07-03-1928	84	M	2012	4.2	-	-	6.8	76	-	93.2
07-03-1928	84	M	2012	1.8	-	-	4.6	88	-	234.9
12-09-1931	81	F	2012	1.5	-	-	6.3	130	-	171.6

24-05-1943	69	F	2012	0.9	-	-	-	292	-	99.7
13-06-1956	56	F	2012	2.7	-	-	-	238	-	234.9
11-08-1934	78	M	2012	2.2	-	-	-	230	-	26.2
07-08-1936	76	M	2012	4.2	-	-	-	196	-	96.3
07-03-1928	84	M	2012	3.8	-	-	-	116	-	216.3
23-09-1935	77	M	2012	1.7	-	-	-	130	-	180.6
29-08-1938	74	M	2012	1.4	-	-	-	138	-	30.8
14-06-1934	78	M	2012	3	-	-	-	243	-	154.1
23-09-1935	77	M	2012	1.5	-	-	-	97	-	131.8
07-08-1936	76	M	2012	3.4	-	-	-	99	-	117.1
07-03-1928	84	M	2012	3.7	-	-	-	91	-	241.6
29-07-1953	59	F	2012	1.7	-	-	-	155	-	120.2
29-08-1938	74	M	2012	3.2	-	-	-	61	-	102.4
07-03-1928	84	M	2012	1.3	-	-	-	111	-	87.2
12-03-1938	74	M	2012	2.5	-	-	-	109	-	107.2
23-09-1935	77	M	2012	1.6	-	-	-	158	-	120
07-08-1936	76	M	2012	1.7	-	-	-	165	-	268
24-05-1943	69	F	2012	2.1	-	-	-	84	-	55.8
18-03-1931	82	M	2013	2.2	-	-	-	117	-	105
10-01-1929	83	M	2012	1.7	-	-	-	219	-	85.5
07-08-1936	76	M	2012	1.6	-	-	-	90	-	186.6
30-11-1938	74	F	2012	1.4	-	-	-	123	-	87.4
29-08-1938	75	M	2013	2.3	-	-	-	76	-	150.9
27-11-1931	81	F	2012	2.2	-	-	-	111	-	101.3
24-05-1943	69	F	2012	2.2	-	-	-	237	-	145.9

23-09-1935	77	M	2012	1.4	-	-	-	229	-	132.4
29-08-1938	75	M	2013	2	-	-	-	94	-	142.4
10-01-1929	83	M	2012	1.4	-	-	-	106	-	97.2
07-08-1936	76	M	2012	2	-	-	-	257	-	129.4
24-05-1943	69	F	2012	2.2	-	-	-	135	-	88.3
18-08-1932	80	F	2012	1.5	-	-	-	156	-	151.8
07-08-1936	76	M	2012	3.2	-	-	-	187	-	114.2
17-01-1930	82	F	2012	2.7	-	-	-	86	-	130
25-04-1924	88	M	2012	1.8	-	-	-	81	-	87
24-05-1943	69	F	2012	1.2	-	-	-	316	-	95.4
29-08-1938	75	M	2013	2	-	-	-	77	-	78
30-11-1938	74	F	2012	1.4	-	-	-	106	-	88.3
18-09-1928	84	F	2012	2.5	-	-	-	187	-	139.3
12-08-1931	81	M	2012	2.1	-	-	-	145	-	109.8
17-01-1930	82	F	2012	2.3	-	-	-	91	-	63.2
12-08-1931	81	M	2012	1.9	-	-	-	82	-	144.8
24-05-1943	69	F	2012	2.5	-	-	-	79	-	55.4
11-08-1934	78	M	2012	2.1	-	-	-	231	-	154.8
30-11-1938	74	F	2012	2.2	-	-	-	100	-	70.6
27-11-1931	81	F	2012	4.8	-	-	-	124	-	87.7
11-01-1929	83	F	2012	1.6	-	-	-	100	-	32.1
30-11-1938	74	F	2012	4.8	-	-	-	106	-	161.2
11-01-1929	83	F	2012	1.8	-	-	-	241	-	60.4
15-05-1933	79	M	2012	1.4	-	-	-	128	-	58.4
30-04-1935	77	M	2012	1.8	-	-	-	119	-	66.4

15-05-1933	79	M	2012	3.3	-	-	-	225	-	65.6
25-04-1924	89	M	2013	1.4	-	-	-	117	-	169.9
29-08-1938	75	M	2013	2.1	-	-	-	82	-	54
30-11-1938	74	F	2012	3.5	-	-	-	291	-	34.3
18-01-1939	73	F	2012	2.4	-	-	-	207	-	81
27-11-1931	81	F	2012	3.5	-	-	-	203	-	76.1
18-01-1939	73	F	2012	1.8	-	-	-	157	-	52.7
15-05-1933	79	M	2012	1.4	-	-	-	245	-	94.9
13-06-1956	57	F	2013	1.9	-	-	-	181	-	94.9
30-11-1938	74	F	2012	1.2	-	-	-	108	-	76.2
15-07-1937	75	M	2012	1.2	-	-	-	172	-	42.4
15-07-1937	75	M	2012	3.4	-	-	-	168	-	60.1
18-01-1939	73	F	2012	2	-	-	-	93	-	232
23-09-1935	77	M	2012	2	-	-	-	183	-	42.7
25-04-1924	88	M	2012	1.5	-	-	-	115	-	60.5
15-07-1937	75	M	2012	1.1	-	-	-	92	-	71.1
18-03-1931	82	M	2013	1.2	-	-	-	192	-	75.2
18-03-1931	82	M	2013	2.2	-	-	-	199	-	43
30-11-1938	74	F	2012	2	-	-	-	171	-	79.8
23-09-1935	77	M	2012	1.8	-	-	-	361	-	47.9
15-05-1933	79	M	2012	3.5	-	-	-	93	-	89.1
18-01-1939	73	F	2012	1.9	-	-	-	207	-	53.2
30-11-1938	74	F	2012	2.6	-	-	-	164	-	82.9
27-11-1931	81	F	2012	1.3	-	-	-	124	-	94.7
15-07-1937	75	M	2012	2.3	-	-	-	83	-	147.3

30-11-1938	74	F	2012	3	-	-	-	152	-	102.2
23-09-1935	77	M	2012	1.1	-	-	-	93	-	58.5
15-07-1937	75	M	2012	2.3	-	-	-	157	-	76.4
30-11-1938	74	F	2012	2.3	-	-	-	178	-	101.4
23-09-1935	77	M	2012	4.5	-	-	-	182	-	115.8
01-06-1937	75	F	2012	1.4	-	-	-	200	-	65.4
15-07-1937	75	M	2012	2.9	-	-	-	200	-	62.6
25-04-1924	89	M	2013	1.7	-	-	-	301	-	104.1
10-02-1929	83	M	2012	4.1	-	-	-	425	-	70.5
01-06-1937	75	F	2012	3	-	-	-	124	-	71.3
18-01-1939	73	F	2012	1.7	-	-	-	168	-	214.9
10-02-1929	83	M	2012	2.3	-	-	-	112	-	81.7
30-11-1938	74	F	2012	2.6	-	-	-	101	-	64.5
27-11-1931	81	F	2012	2.4	-	-	-	133	-	61.4
25-04-1924	88	M	2012	2.9	-	-	-	215	-	61.4
18-01-1939	73	F	2012	2.2	-	-	-	265	-	66.4
30-11-1938	74	F	2012	1.7	-	-	-	119	-	100.1
11-11-1939	73	F	2012	1.7	-	-	-	91	-	207.7
11-11-1939	73	F	2012	2	-	-	-	98	-	69.2
11-11-1939	73	F	2012	1.6	-	-	-	302	-	90.4
21-02-1927	85	F	2012	2.1	-	-	-	99	-	198.8
25-04-1924	88	M	2012	1.9	-	-	-	162	-	101.4
11-11-1939	73	F	2012	2.2	-	-	-	210	-	63
11-11-1939	73	F	2012	2.2	-	-	-	288	-	128.6
25-04-1924	88	M	2012	1.4	-	-	-	187	-	95

21-02-1927	85	F	2012	2.2	-	-	-	347	-	170.7
30-11-1938	74	F	2012	1.8	-	-	-	127	-	178.3
21-02-1927	85	F	2012	1.9	-	-	-	205	-	62.1
25-04-1924	88	M	2012	2.1	-	-	-	223	-	187.5
11-11-1939	73	F	2012	1.2	-	-	-	328	-	85.5
18-03-1931	82	M	2013	2.5	-	-	-	79	-	164.7
27-11-1931	81	F	2012	2.3	-	-	-	87	-	133.4
11-11-1939	73	F	2012	1.5	-	-	-	300	-	177.4
18-03-1931	82	M	2013	2	-	-	-	357	-	120.4
11-11-1939	73	F	2012	1.2	-	-	-	143	-	84
29-08-1938	75	M	2013	4.5	-	-	-	102	-	133.7
01-12-1971	41	M	2012	2.5	-	-	-	280	-	40.1
30-11-1938	74	F	2012	5.1	-	-	-	171	-	84.8
01-06-1937	75	F	2012	1.3	-	-	-	91	-	185.1
24-05-1943	69	F	2012	1.8	-	-	-	111	-	241.3
11-11-1939	73	F	2012	5.2	-	-	-	150	-	173.9
16-08-1933	79	M	2012	1.4	-	-	-	184	-	200.2
22-02-1970	42	M	2012	1.9	-	-	-	254	-	186.3
24-05-1943	69	F	2012	5.4	-	-	-	268	-	243.7
16-08-1933	79	M	2012	5.9	-	-	-	144	-	137.1
16-08-1933	79	M	2012	4.6	-	-	-	175	-	142.5
01-06-1937	75	F	2012	5.6	-	-	-	222	-	223.3
16-08-1933	79	M	2012	4.3	-	-	-	113	-	133.4
01-06-1937	75	F	2012	4.8	-	-	-	165	-	87.2
24-03-1946	66	M	2012	2.9	-	-	-	210	-	119.3

11-11-1939	73	F	2012	4.4	-	-	-	105	-	74.2
24-03-1946	66	M	2012	3.8	-	-	-	66	-	102
01-06-1937	75	F	2012	4.1	-	-	-	116	-	71.1
24-03-1946	66	M	2012	3.6	-	-	-	93	-	165.2
01-06-1937	75	F	2012	3.8	-	-	-	218	-	200.8
24-03-1946	66	M	2012	3.8	-	-	-	175	-	74.4
01-06-1937	75	F	2012	2.6	-	-	-	117	-	80.4
21-02-1941	71	M	2012	5.5	-	-	-	135	-	102.9
16-08-1933	79	M	2012	1.8	-	-	-	128	-	72.7
22-02-1970	42	M	2012	1.9	-	-	-	66	-	60.8
21-02-1941	71	M	2012	1.2	-	-	-	220	-	89.1
13-06-1956	56	F	2012	3.9	-	-	-	292	-	83.2
01-06-1937	75	F	2012	1.6	-	-	-	222	-	212.2
21-02-1941	71	M	2012	1.1	-	-	-	120	-	57.6
24-05-1943	69	F	2012	1.3	-	-	-	358	-	77.4
24-05-1943	69	F	2012	5.3	-	-	-	82	-	58.9
16-08-1933	79	M	2012	3.6	-	-	-	167	-	165.5
01-06-1937	75	F	2012	1.2	-	-	-	330	-	107.6
24-05-1943	69	F	2012	4.5	-	-	-	96	-	112.1
16-08-1933	79	M	2012	1.8	-	-	-	211	-	65.5
12-02-1958	54	M	2012	2.9	-	-	-	204	-	49.1
23-07-1950	62	M	2012	1.5	-	-	-	98	-	78.9
12-02-1958	54	M	2012	2.1	-	-	-	118	-	61.3
01-10-1930	82	F	2012	1.3	-	-	-	303	-	82.1
24-05-1943	69	F	2012	1.5	-	-	-	192	-	63.9

12-02-1958	54	M	2012	1.4	-	-	-	196	-	156.2
22-02-1970	43	M	2013	1.3	-	-	-	245	-	49.6
21-09-1937	75	F	2012	5	-	-	-	92	-	54.8
11-01-1929	83	F	2012	1.4	-	-	-	219	-	124.6
10-06-1933	79	M	2012	2.7	-	-	-	140	-	200.4
02-04-1930	82	M	2012	1.7	-	-	-	231	-	98
23-09-1935	77	M	2012	1	-	-	-	155	-	179.3
12-01-1940	72	M	2012	4.7	-	-	-	197	-	123.5
11-01-1929	83	F	2012	1.8	-	-	-	159	-	227.7
11-04-1924	88	F	2012	1.6	-	-	-	105	-	187.5
11-04-1924	88	F	2012	2.5	-	-	-	105	-	71.6
30-11-1940	72	M	2012	2.9	-	-	-	181	-	119.4
11-07-1934	78	F	2012	3.1	-	-	-	253	-	81.9
11-07-1934	78	F	2012	1.6	-	-	-	61	-	182.2
30-11-1940	72	M	2012	2.5	-	-	-	149	-	94.9
23-09-1935	77	M	2012	3	-	-	-	175	-	177.5
11-07-1934	78	F	2012	2	-	-	-	255	-	67.3
30-11-1940	72	M	2012	1	-	-	-	63	-	138.4
12-01-1940	72	M	2012	2.8	-	-	-	239	-	170.6
07-04-1942	70	M	2012	1.4	-	-	-	170	-	87.6
14-05-1931	81	F	2012	2.5	-	-	-	209	-	90.1
11-07-1934	78	F	2012	1.4	-	-	-	186	-	180.8
30-11-1940	72	M	2012	0.5	-	-	-	281	-	68
28-09-1924	88	F	2012	1.9	-	-	-	50	-	172.6
23-03-1937	75	M	2012	1.5	-	-	-	201	-	71.7

30-11-1940	72	M	2012	2.1	-	-	-	99	-	56.4
23-03-1937	75	M	2012	2	-	-	-	220	-	26.6
14-01-1927	85	M	2012	1.1	-	-	-	57	-	176.6
25-03-1927	85	F	2012	1.2	-	-	-	142	-	132.4
25-03-1927	85	F	2012	4.9	-	-	-	212	-	72
03-12-1931	81	F	2012	1.6	-	-	-	110	-	106
08-11-1936	76	M	2012	4.2	-	-	-	185	-	87
23-03-1937	75	M	2012	1.2	-	-	-	108	-	73.5
11-04-1924	88	F	2012	2.3	-	-	-	106	-	221.1
30-11-1940	72	M	2012	1.2	-	-	-	116	-	111.4
25-03-1927	85	F	2012	2.5	-	-	-	107	-	124.8
30-11-1940	72	M	2012	1.9	-	-	-	98	-	111
07-01-1927	85	F	2012	2.6	-	-	-	242	-	119.1
07-04-1942	70	M	2012	3.3	-	-	-	97	-	184.9
07-04-1942	70	M	2012	2.2	-	-	-	138	-	80.1
08-11-1936	76	M	2012	4.7	-	-	-	101	-	105.2
03-12-1931	81	F	2012	1.6	-	-	-	45	-	85.2
14-01-1927	85	M	2012	5.4	-	-	-	140	-	96
03-12-1931	81	F	2012	2.1	-	-	-	99	-	127.6
23-09-1935	77	M	2012	3.4	-	-	-	120	-	109.6
03-12-1931	81	F	2012	2.4	-	-	-	151	-	46.9
08-11-1936	76	M	2012	1.1	-	-	-	158	-	19.3
25-03-1927	85	F	2012	3.4	-	-	-	111	-	198.8
07-04-1942	70	M	2012	1.5	-	-	-	160	-	103.1
12-01-1940	72	M	2012	2.4	-	-	-	188	-	57.7

23-09-1935	77	M	2012	2.2	-	-	-	120	-	101
07-04-1942	70	M	2012	1.3	-	-	-	194	-	242.3
25-03-1927	85	F	2012	1.2	-	-	-	155	-	222.9
11-04-1924	88	F	2012	4.8	-	-	-	98	-	135.1
23-03-1937	75	M	2012	3.2	-	-	-	157	-	28.2
07-04-1942	70	M	2012	1.3	-	-	-	228	-	72.3
14-06-1927	85	M	2012	3.3	-	-	-	138	-	72.7
07-04-1942	70	M	2012	1.9	-	-	-	289	-	41.6
11-04-1924	88	F	2012	1.5	-	-	-	140	-	137.3
30-11-1940	72	M	2012	4.2	-	-	-	136	-	98.2
23-03-1937	75	M	2012	1.5	-	-	-	115	-	90.2
11-04-1924	88	F	2012	3.8	-	-	-	117	-	119.4
23-03-1937	75	M	2012	2.2	-	-	-	154	-	75.6
07-04-1942	70	M	2012	2.3	-	-	-	247	-	61.5
23-09-1935	77	M	2012	1.3	-	-	-	193	-	107.4
14-06-1927	85	M	2012	1.2	-	-	-	203	-	56.1
25-03-1927	85	F	2012	2.1	-	-	-	112	-	60.3
08-11-1936	76	M	2012	2.7	-	-	-	123	-	46.3
03-12-1931	81	F	2012	1.4	-	-	-	159	-	153.6
08-11-1936	76	M	2012	1.6	-	-	-	111	-	67.9
21-09-1937	75	F	2012	2	-	-	-	91	-	202.7
03-12-1931	81	F	2012	1.3	-	-	-	106	-	56.1
08-11-1936	76	M	2012	2.9	-	-	-	101	-	98.1
23-03-1937	75	M	2012	2.6	-	-	-	160	-	54.9
30-11-1940	72	M	2012	1.5	-	-	-	170	-	50.9

21-09-1937	75	F	2012	0.9	-	-	-	149	-	78.7
25-03-1927	85	F	2012	1.3	-	-	-	174	-	72.7
14-06-1927	85	M	2012	3.3	-	-	-	223	-	192.6
07-04-1942	70	M	2012	1.4	-	-	-	147	-	161.3
14-05-1931	81	F	2012	2.4	-	-	-	148	-	36.1
30-11-1940	72	M	2012	1.5	-	-	-	151	-	72.6
30-11-1940	72	M	2012	1.3	-	-	-	155	-	49.9
08-11-1936	76	M	2012	2.1	-	-	-	357	-	100.8
23-09-1935	77	M	2012	1.4	-	-	-	194	-	70
21-09-1937	75	F	2012	1.2	-	-	-	255	-	50.6
19-07-1951	61	M	2012	2.1	-	-	-	140	-	72.7
20-07-1941	72	M	2013	1.4	-	-	-	157	-	49
14-01-1927	85	M	2012	3.4	-	-	-	63	-	63
07-04-1942	70	M	2012	1.8	-	-	-	84	-	85
23-03-1937	75	M	2012	1.3	-	-	-	191	-	81.6
14-05-1931	81	F	2012	1	-	-	-	105	-	185.2
25-03-1927	85	F	2012	1.9	-	-	-	210	-	187.6
08-11-1936	76	M	2012	2.5	-	-	-	81	-	42.6
23-09-1935	77	M	2012	2	-	-	-	179	-	151.7
14-01-1927	85	M	2012	1.9	-	-	-	201	-	40.6
14-01-1927	85	M	2012	1.7	-	-	-	156	-	184.1
14-01-1927	85	M	2012	1.3	-	-	-	169	-	90.3
30-04-1935	77	M	2012	1	-	-	-	190	-	42.4
25-03-1927	85	F	2012	2.4	-	-	-	101	-	61.8
23-09-1935	77	M	2012	2.8	-	-	-	138	-	188.5

30-04-1935	77	M	2012	1.4	-	-	-	168	-	-
14-05-1931	81	F	2012	1.4	-	-	-	263	-	-
14-05-1931	81	F	2012	1	-	-	-	89	-	-
25-03-1927	85	F	2012	1.7	-	-	-	187	-	-
11-04-1924	88	F	2012	2.1	-	-	-	284	-	-
20-07-1941	72	M	2013	1.2	-	-	-	102	-	-

Tabela A2 - Parâmetros analisados em todos os pacientes incluídos no grupo SCR.

Data de nascimento	Idade	Sexo	Ano	Creatinina [mg/dL]	Cistatina C [mg/L]	Ureia [mg/dL]	Albumina [mg/dL]	Proteínas totais [mg/dL]	Glucose [mg/dL]	HA1c (%)
25-02-1946	66	M	2012	-	-	170.7	3.0	6.5	150	5.8
22-09-1974	39	M	2012	1.0	-	198.8	4.0	6.7	105	7.2
10-08-1940	72	M	2012	1.7	1.64	107.6	3.1	6.8	183	-
24-04-1926	86	M	2012	1.5	-	49.1	-	6.4	279	-
24-04-1926	86	M	2012	1.5	-	214.9	-	5.4	290	8
10-08-1940	72	M	2012	1.3	-	40.1	3.2	6.7	235	9.3
25-02-1946	66	M	2012	1.6	1.33	65.5	2.8	7.8	174	-
01-06-1943	69	M	2012	1.1	-	207.7	3.1	6.7	189	-
24-04-1926	86	M	2012	1.5	-	129.6	2.9	7.3	132	9.9
24-04-1926	86	M	2012	1.6	-	53.8	3.3	7.3	205	6.4
27-12-1942	70	M	2012	1.3	-	150.3	-	-	124	5.4
11-06-1935	77	M	2012	0.9	1.5	49	-	-	110	7.6
17-02-1954	58	M	2012	1.1	-	158.3	-	-	367	-
07-05-1934	78	M	2012	1.9	-	43.3	-	-	100	-
22-02-1970	42	M	2012	1.2	-	52.2	-	-	191	7
05-08-1937	75	F	2012	1.1	-	54.4	-	-	251	6.9
16-11-1931	81	F	2012	1.0	-	182.6	-	-	225	-
17-02-1954	58	M	2012	1.2	-	114.4	-	-	166	-
27-12-1945	67	M	2012	1.0	-	38	-	-	152	-
10-08-1929	83	M	2012	2.0	-	64.8	-	-	114	-

07-05-1934	78	M	2012	2.8	-	133.2	-	-	153	-
27-12-1945	67	M	2012	0.9	-	99.6	-	-	70	-
11-06-1935	77	M	2012	1.1	-	40.1	-	-	174	-
01-12-1929	83	F	2012	1.6	-	69.8	-	-	108	-
07-05-1934	78	M	2012	2.1	-	103.9	-	-	189	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	110.5	-	-	128	-
27-07-1939	73	M	2012	1.9	-	175.1	-	-	181	-
23-06-1940	72	M	2012	1.3	-	215.6	-	-	285	-
11-06-1935	77	M	2012	1.3	-	186.1	-	-	127	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	231.6	-	-	212	-
15-10-1969	43	M	2012	0.9	-	95.3	-	-	219	-
27-07-1939	73	M	2012	2.2	-	87.8	-	-	149	-
22-02-1970	42	M	2012	1.3	-	88.7	-	-	243	-
27-07-1939	73	M	2012	2.0	-	112.3	-	-	125	-
22-04-1947	65	M	2012	1.4	-	114.3	-	-	152	-
15-10-1969	43	M	2012	0.9	-	67	-	-	181	-
27-07-1939	73	M	2012	2.1	-	103.5	-	-	119	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	313.8	-	-	222	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	89.9	-	-	111	-
27-07-1939	73	M	2012	1.7	-	115.2	-	-	115	-
22-04-1947	65	M	2012	1.2	-	97.9	-	-	146	-
22-04-1947	65	M	2012	1.3	-	73.9	-	-	143	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	90	-	-	96	-
15-10-1969	43	M	2012	0.9	-	126.9	-	-	196	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	275.5	-	-	106	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	28.7	-	-	174	-

20-04-1949	63	F	2012	0.6	-	119.1	-	-	136	-
27-07-1939	73	M	2012	1.7	-	80.4	-	-	116	-
27-07-1939	73	M	2012	1.8	-	86.2	-	-	116	-
22-02-1970	42	M	2012	1.5	-	75.6	-	-	173	-
20-04-1949	63	F	2012	0.6	-	37.9	-	-	136	-
22-04-1947	65	M	2012	1.3	-	102.2	-	-	127	-
20-04-1949	63	F	2012	0.7	-	99.8	-	-	216	-
22-04-1947	65	M	2012	1.6	-	72	-	-	107	-
28-07-1941	72	M	2012	1.2	-	172.5	-	-	170	-
28-07-1941	72	M	2012	1.3	-	69.5	-	-	136	-
22-04-1947	66	M	2012	1.1	-	104.9	-	-	160	-
28-07-1941	72	M	2012	1.9	-	154.7	-	-	151	-
20-04-1949	64	F	2012	0.8	-	158.8	-	-	139	-
30-09-1930	83	F	2012	1.1	-	52.2	-	-	94	-
30-09-1930	83	F	2012	1.3	-	204	-	-	162	-
30-09-1930	83	F	2012	1.1	-	71.9	-	-	113	-
22-04-1947	66	M	2012	1.1	-	83.3	-	-	127	-
30-09-1930	83	F	2012	1.1	-	139.8	-	-	146	-
15-10-1935	78	F	2012	2.0	-	111.8	-	-	126	-
28-07-1941	72	M	2012	1.5	-	66.3	-	-	156	-
15-10-1935	78	F	2012	1.8	-	83.1	-	-	95	-
15-10-1935	78	F	2012	1.7	-	41.3	-	-	172	-
30-09-1930	83	F	2012	1.0	-	88.5	-	-	169	-
30-09-1930	83	F	2012	0.9	-	169.8	-	-	58	-
15-10-1935	78	F	2012	1.7	-	69.9	-	-	122	-
26-10-1951	62	M	2012	1.0	-	86.5	-	-	95	-

30-09-1930	83	F	2012	0.9	-	79.4	-	-	140	-
22-04-1947	66	M	2012	1.1	-	143.3	-	-	200	-
30-09-1930	83	F	2012	1.0	-	114	-	-	121	-
22-04-1947	66	M	2012	1.1	-	121	-	-	165	-
30-09-1930	83	F	2012	1.0	-	93.5	-	-	144	-
15-10-1935	78	F	2012	1.5	-	108.5	-	-	140	-
30-09-1930	83	F	2012	1.1	-	50	-	-	113	-
30-09-1930	83	F	2012	1.1	-	84.6	-	-	246	-
30-09-1930	83	F	2012	1.2	-	80	-	-	142	-
30-09-1930	83	F	2012	1.2	-	104.7	-	-	121	-
30-09-1930	83	F	2012	1.2	-	79.4	-	-	122	-
22-02-1970	43	M	2012	1.4	-	104.2	-	-	100	-
30-09-1930	83	F	2012	1.2	-	134.2	-	-	95	-
18-01-1938	75	M	2012	1.3	-	129	-	-	127	-
22-04-1947	66	M	2012	1.0	-	155.8	-	-	143	-
05-02-1949	64	F	2012	1.5	-	72	-	-	296	-
14-10-1934	79	M	2012	1.3	-	150.6	-	-	182	-
23-10-1927	86	M	2012	1.1	-	93.2	-	-	277	-
09-08-1933	80	M	2012	1.2	-	234.9	-	-	155	-
05-02-1949	64	F	2012	1.6	-	171.6	-	-	178	-
09-08-1933	80	M	2012	1.2	-	99.7	-	-	150	-
14-10-1934	79	M	2012	1.0	-	234.9	-	-	80	-
25-09-1941	72	F	2012	1.0	-	26.2	-	-	181	-
23-11-1954	59	F	2012	0.8	-	96.3	-	-	119	-
23-11-1954	59	F	2012	0.9	-	216.3	-	-	163	-
09-08-1933	80	M	2012	1.2	-	180.6	-	-	111	-

02-07-1942	71	M	2012	1.1	-	30.8	-	-	166	-
05-02-1949	64	F	2012	1.4	-	154.1	-	-	53	-
03-03-1931	82	F	2012	1.5	-	131.8	-	-	93	-
14-10-1934	79	M	2012	1.2	-	117.1	-	-	141	-
02-07-1942	71	M	2012	2.0	-	241.6	-	-	134	-
05-02-1949	64	F	2012	1.4	-	120.2	-	-	167	-
08-12-1935	78	M	2012	1.5	-	102.4	-	-	160	-
05-02-1949	64	F	2012	1.5	-	87.2	-	-	132	-
05-02-1949	64	F	2012	1.2	-	107.2	-	-	177	-
09-08-1933	80	M	2012	1.3	-	120	-	-	69	-
03-03-1931	82	F	2012	1.4	-	268	-	-	154	-
05-02-1949	64	F	2012	1.1	-	55.8	-	-	98	-
14-10-1934	79	M	2012	1.1	-	105	-	-	176	-
20-05-1948	65	M	2012	1.0	-	85.5	-	-	165	-
05-02-1949	64	F	2012	1.1	-	186.6	-	-	128	-
02-10-1935	78	F	2012	0.6	-	87.4	-	-	176	-
20-05-1948	65	M	2012	1.1	-	150.9	-	-	117	-
14-11-1944	69	M	2012	0.8	-	101.3	-	-	119	-
20-05-1948	65	M	2012	1.0	-	145.9	-	-	98	-
02-10-1935	78	F	2012	0.7	-	132.4	-	-	102	-
05-02-1949	64	F	2012	1.4	-	142.4	-	-	117	-
02-10-1935	78	F	2012	0.7	-	97.2	-	-	157	-
29-08-1946	67	M	2012	1.1	-	129.4	-	-	176	-
02-10-1935	78	F	2012	0.6	-	88.3	-	-	164	-
05-02-1949	64	F	2012	1.4	-	151.8	-	-	75	-
02-10-1935	78	F	2012	0.7	-	114.2	-	-	265	-

29-08-1946	67	M	2012	1.1	-	130	-	-	174	-
05-02-1949	64	F	2012	1.2	-	87	-	-	83	-
08-09-1962	51	F	2012	0.7	-	95.4	-	-	126	-
08-09-1962	51	F	2012	0.6	-	78	-	-	219	-
05-02-1949	64	F	2012	1.2	-	88.3	-	-	2085	-
08-09-1962	51	F	2012	0.8	-	139.3	-	-	74	-
05-03-1939	74	M	2012	1.8	-	109.8	-	-	181	-
05-03-1939	74	M	2012	1.8	-	63.2	-	-	152	-
05-02-1949	64	F	2012	1.0	-	144.8	-	-	153	-
29-08-1946	67	M	2012	1.1	-	55.4	-	-	190	-
29-08-1946	67	M	2012	1.1	-	154.8	-	-	130	-
05-02-1949	64	F	2012	1.0	-	70.6	-	-	110	-
05-03-1939	74	M	2012	1.9	-	87.7	-	-	134	-
15-05-1934	79	M	2012	1.3	-	32.1	-	-	225	-
05-03-1939	74	M	2012	1.8	-	161.2	-	-	153	-
05-02-1949	64	F	2012	1.0	-	60.4	-	-	116	-
05-02-1949	64	F	2012	1.3	-	58.4	-	-	109	-
15-05-1934	79	M	2012	1.3	-	66.4	-	-	220	-
31-10-1934	79	F	2012	1.0	-	65.6	-	-	166	-
05-03-1939	74	M	2012	1.6	-	169.9	-	-	110	-
31-10-1934	79	F	2012	1.0	-	54	-	-	114	-
05-02-1949	64	F	2012	1.4	-	34.3	-	-	196	-
15-05-1934	79	M	2012	1.2	-	81	-	-	141	-
05-02-1949	64	F	2012	1.5	-	76.1	-	-	134	-
05-03-1939	74	M	2012	1.4	-	52.7	-	-	162	-
05-02-1949	64	F	2012	1.5	-	94.9	-	-	193	-

20-08-1927	86	M	2012	1.1	-	94.9	-	-	138	-
05-03-1939	74	M	2012	1.4	-	76.2	-	-	99	-
20-08-1927	86	M	2012	1.1	-	42.4	-	-	222	-
15-05-1934	79	M	2012	1.4	-	60.1	-	-	141	-
29-08-1946	67	M	2012	1.1	-	232	-	-	205	-
20-08-1927	86	M	2012	1.2	-	42.7	-	-	143	-
10-03-1926	87	M	2012	2.0	-	60.5	-	-	281	-
10-03-1926	87	M	2012	2.0	-	71.1	-	-	114	-
23-07-1935	78	M	2012	2.5	-	75.2	-	-	131	-
23-07-1935	78	M	2012	2.1	-	43	-	-	151	-
22-09-1974	39	M	2012	1.3	-	79.8	-	-	222	-
23-07-1935	78	M	2012	1.1	-	47.9	-	-	137	-
22-09-1974	39	M	2012	1.3	-	89.1	-	-	152	-
22-09-1974	39	M	2012	1.2	-	53.2	-	-	129	-
23-07-1935	78	M	2012	1.6	-	82.9	-	-	118	-
22-09-1974	39	M	2012	1.3	-	94.7	-	-	55	-
23-07-1935	78	M	2012	1.3	-	147.3	-	-	163	-
18-01-1934	79	F	2012	1.5	-	102.2	-	-	220	-
09-10-1930	83	F	2012	1.3	-	58.5	-	-	104	-
22-09-1974	39	M	2012	1.3	-	76.4	-	-	260	-
23-07-1935	78	M	2012	1.0	-	101.4	-	-	138	-
23-07-1935	78	M	2012	0.9	-	115.8	-	-	226	-
22-09-1974	39	M	2012	1.2	-	65.4	-	-	152	-
23-07-1935	78	M	2012	1.0	-	62.6	-	-	162	-
23-07-1935	78	M	2012	1.0	-	104.1	-	-	118	-
23-07-1935	78	M	2012	1.0	-	70.5	-	-	135	-

28-06-1934	79	F	2012	1.2	-	71.3	-	-	155	-
25-02-1946	66	M	2012	2.3	-	214.9	-	-	130	-
10-06-1933	79	M	2012	1.4	-	81.7	-	-	122	-
28-08-1956	56	F	2012	1.1	-	64.5	-	-	92	-
24-04-1926	86	M	2012	1.8	-	61.4	-	-	133	-
03-04-1942	70	M	2012	0.8	-	61.4	-	-	139	-
25-02-1946	66	M	2012	1.5	-	66.4	-	-	97	-
10-08-1940	72	M	2012	2.1	-	100.1	-	-	96	-
14-06-1934	78	M	2012	1.1	-	207.7	-	-	255	-
24-04-1926	86	M	2012	2.1	-	69.2	-	-	121	-
19-03-1966	46	M	2012	0.7	-	90.4	-	-	182	-
10-08-1940	72	M	2012	1.4	-	198.8	-	-	146	-
19-11-1939	73	M	2012	2.2	-	101.4	-	-	238	-
19-11-1939	73	M	2012	2.2	-	63	-	-	101	-
28-08-1956	56	F	2012	1.3	-	128.6	-	-	90	-
30-10-1939	73	M	2012	0.8	-	95	-	-	159	-
19-11-1939	73	M	2012	2.2	-	170.7	-	-	91	-
19-11-1939	73	M	2012	2.5	-	178.3	-	-	131	-
25-09-1950	62	M	2012	1.2	-	62.1	-	-	159	-
28-08-1956	56	F	2012	1.1	-	187.5	-	-	116	-
25-09-1950	62	M	2012	1.2	-	85.5	-	-	292	-
19-11-1939	73	M	2012	2.5	-	164.7	-	-	122	-
25-09-1950	62	M	2012	1.2	-	133.4	-	-	195	-
14-06-1934	78	M	2012	1.3	-	177.4	-	-	140	-
10-08-1940	72	M	2012	1.2	-	120.4	-	-	145	-
24-04-1926	86	M	2012	1.9	-	84	-	-	101	-

26-09-1923	89	M	2012	2.9	-	133.7	-	-	83	-
19-11-1939	73	M	2012	1.6	-	40.1	-	-	146	-
25-09-1950	62	M	2012	1.4	-	84.8	-	-	78	-
19-11-1939	73	M	2012	2.5	-	185.1	-	-	127	-
08-04-1932	80	M	2012	0.8	-	241.3	-	-	141	-
19-03-1966	46	M	2012	1.3	-	173.9	-	-	179	-
30-10-1939	73	M	2012	1.2	-	200.2	-	-	94	-
30-10-1939	73	M	2012	1.1	-	186.3	-	-	210	-
10-02-1942	70	F	2012	0.8	-	243.7	-	-	105	-
30-10-1939	73	M	2012	1.0	-	137.1	-	-	291	-
25-07-1930	82	F	2012	2.3	-	142.5	-	-	223	-
19-03-1966	46	M	2012	1.1	-	223.3	-	-	182	-
30-10-1939	73	M	2012	0.8	-	133.4	-	-	174	-
08-04-1932	80	M	2012	0.9	-	87.2	-	-	68	-
10-02-1942	70	F	2012	0.7	-	119.3	-	-	97	-
24-01-1923	89	M	2012	1.0	-	74.2	-	-	108	-
10-02-1942	70	F	2012	0.9	-	102	-	-	156	-
08-04-1932	80	M	2012	0.9	-	71.1	-	-	145	-
19-05-1977	35	M	2012	0.8	-	165.2	-	-	203	-
22-01-1952	60	M	2012	0.8	-	200.8	-	-	135	-
30-09-1933	79	F	2012	0.8	-	74.4	-	-	247	-
20-07-1941	71	F	2012	1.8	-	80.4	-	-	182	-
18-02-1923	89	F	2012	1.0	-	102.9	-	-	174	-
19-05-1977	35	M	2012	0.9	-	72.7	-	-	195	-
18-02-1923	89	F	2012	1.0	-	60.8	-	-	183	-
05-04-1931	81	F	2012	0.9	-	89.1	-	-	199	-

22-01-1952	60	M	2012	0.9	-	83.2	-	-	116	-
12-03-1920	92	F	2012	2.2	-	212.2	-	-	168	-
12-03-1920	92	F	2012	2.2	-	57.6	-	-	163	-
18-02-1923	89	F	2012	1.1	-	77.4	-	-	185	-
08-04-1932	80	M	2012	0.8	-	58.9	-	-	176	-
20-07-1941	71	F	2012	0.9	-	165.5	-	-	135	-
12-03-1920	92	F	2012	2.3	-	107.6	-	-	160	-
12-03-1920	92	F	2012	2.4	-	112.1	-	-	130	-
27-12-1941	71	M	2012	1.9	-	65.5	-	-	138	-
12-03-1920	92	F	2012	2.6	-	49.1	-	-	169	-
18-02-1923	89	F	2012	1.4	-	78.9	-	-	188	-
18-02-1923	89	F	2012	1.3	-	61.3	-	-	315	-
12-03-1920	92	F	2012	3.7	-	82.1	-	-	139	-
20-07-1941	71	F	2012	0.6	-	63.9	-	-	187	-
20-07-1941	71	F	2012	0.7	-	156.2	-	-	180	-
27-12-1941	71	M	2012	2.0	-	49.6	-	-	148	-
12-03-1920	92	F	2012	3.5	-	54.8	-	-	113	-
18-02-1923	89	F	2012	1.1	-	124.6	-	-	131	-
07-01-1950	62	M	2012	1.7	-	200.4	-	-	154	-
22-01-1952	60	M	2012	0.9	-	98	-	-	130	-
12-03-1920	92	F	2012	2.4	-	179.3	-	-	121	-
02-08-1938	74	M	2012	2.2	-	123.5	-	-	342	-
02-08-1938	74	M	2012	2.1	-	227.7	-	-	165	-
27-12-1939	73	M	2012	1.0	-	187.5	-	-	238	-
27-12-1939	73	M	2012	0.8	-	71.6	-	-	221	-
02-08-1938	74	M	2012	1.9	-	119.4	-	-	207	-

27-12-1939	73	M	2012	0.9	-	81.9	-	-	229	-
02-08-1938	74	M	2012	1.8	-	182.2	-	-	187	-
25-08-1936	76	F	2012	1.2	-	94.9	-	-	157	-
27-12-1941	71	M	2012	1.6	-	177.5	-	-	325	-
02-08-1938	74	M	2012	2.0	-	67.3	-	-	212	-
12-03-1920	92	F	2012	2.1	-	138.4	-	-	366	-
22-02-1954	58	F	2012	0.8	-	170.6	-	-	140	-
22-02-1954	58	F	2012	0.7	-	87.6	-	-	191	-
22-02-1954	58	F	2012	0.6	-	90.1	-	-	77	-
21-09-1934	78	F	2012	1.5	-	180.8	-	-	205	-
12-03-1920	92	F	2012	2.1	-	68	-	-	217	-
21-09-1934	78	F	2012	1.4	-	172.6	-	-	150	-
22-02-1954	58	F	2012	0.7	-	71.7	-	-	170	-
21-09-1934	78	F	2012	1.2	-	56.4	-	-	111	-
16-11-1936	76	M	2012	1.9	-	26.6	-	-	146	-
21-09-1934	78	F	2012	1.0	-	176.6	-	-	219	-
16-11-1936	76	M	2012	1.9	-	132.4	-	-	173	-
12-03-1920	92	F	2012	2.3	-	72	-	-	53	-
27-12-1939	73	M	2012	1.3	-	106	-	-	124	-
21-09-1934	78	F	2012	1.2	-	87	-	-	99	-
25-08-1936	76	F	2012	1.5	-	73.5	-	-	318	-
04-09-1918	94	F	2012	1.3	-	221.1	-	-	181	-
16-11-1936	76	M	2012	2.0	-	111.4	-	-	204	-
10-04-1933	79	M	2012	1.0	-	124.8	-	-	232	-
27-12-1939	73	M	2012	1.2	-	111	-	-	237	-
21-09-1934	78	F	2012	1.4	-	119.1	-	-	129	-

16-11-1936	76	M	2012	2.4	-	184.9	-	-	207	-
07-11-1934	78	F	2012	3.3	-	80.1	-	-	103	-
04-09-1918	94	F	2012	1.4	-	105.2	-	-	117	-
18-11-1947	65	M	2012	0.9	-	85.2	-	-	107	-
18-11-1947	65	M	2012	1.1	-	96	-	-	67	-
16-11-1936	76	M	2012	2.7	-	127.6	-	-	115	-
23-10-1928	84	F	2012	1.0	-	109.6	-	-	121	-
25-08-1936	76	F	2012	1.2	-	46.9	-	-	198	-
21-09-1934	78	F	2012	1.4	-	19.3	-	-	111	-
23-10-1928	84	F	2012	1.0	-	198.8	-	-	114	-
16-11-1936	76	M	2012	3.1	-	103.1	-	-	134	-
21-09-1934	78	F	2012	1.5	-	57.7	-	-	109	-
16-11-1936	76	M	2012	2.9	-	101	-	-	138	-
01-04-1934	78	F	2012	1.4	-	242.3	-	-	152	-
01-04-1934	78	F	2012	1.4	-	222.9	-	-	153	-
16-11-1936	76	M	2012	3.0	-	135.1	-	-	199	-
10-04-1933	79	M	2012	1.0	-	28.2	-	-	110	-
01-04-1934	78	F	2012	1.5	-	72.3	-	-	122	-
10-04-1933	79	M	2012	1.0	-	72.7	-	-	123	-
07-11-1934	78	F	2012	3.2	-	41.6	-	-	153	-
23-09-1941	71	M	2012	1.0	-	137.3	-	-	213	-
01-04-1934	78	F	2012	1.4	-	98.2	-	-	116	-
24-07-1942	70	M	2012	1.2	-	90.2	-	-	210	-
23-09-1941	71	M	2012	1.0	-	119.4	-	-	242	-
01-04-1934	78	F	2012	1.3	-	75.6	-	-	323	-
16-11-1936	76	M	2012	2.3	-	61.5	-	-	103	-

23-10-1928	84	F	2012	1.0	-	107.4	-	-	289	-
20-04-1931	81	F	2012	1.2	-	56.1	-	-	262	-
12-01-1932	80	M	2012	0.9	-	60.3	-	-	108	-
24-04-1926	86	M	2012	1.6	-	46.3	-	-	226	-
01-04-1934	78	F	2012	1.3	-	153.6	-	-	172	-
24-07-1942	70	M	2012	1.7	-	67.9	-	-	136	-
10-11-1934	78	M	2012	1.5	-	202.7	-	-	148	-
24-07-1942	70	M	2012	1.6	-	56.1	-	-	105	-
01-04-1934	78	F	2012	1.4	-	98.1	-	-	163	-
23-09-1941	71	M	2012	1.0	-	54.9	-	-	165	-
24-07-1942	70	M	2012	1.6	-	50.9	-	-	144	-
24-07-1942	70	M	2012	1.7	-	78.7	-	-	132	-
24-07-1942	70	M	2012	1.6	-	72.7	-	-	180	-
20-04-1931	81	F	2012	1.0	-	192.6	-	-	180	-
07-11-1934	78	F	2012	2.9	-	161.3	-	-	154	-
05-07-1932	80	M	2012	3.7	-	36.1	-	-	193	-
03-12-1943	69	F	2012	1.3	-	72.6	-	-	116	-
03-12-1943	69	F	2012	0.9	-	49.9	-	-	91	-
15-09-1936	76	M	2012	1.4	-	100.8	-	-	105	-
03-12-1943	69	F	2012	0.9	-	70	-	-	164	-
05-07-1932	80	M	2012	3.1	-	50.6	-	-	108	-
14-10-1937	75	M	2012	2.0	-	72.7	-	-	132	-
20-04-1931	81	F	2012	0.9	-	49	-	-	80	-
15-09-1936	76	M	2012	1.9	-	63	-	-	116	-
03-12-1943	69	F	2012	1.2	-	85	-	-	163	-
19-01-1956	56	F	2012	0.9	-	81.6	-	-	115	-

14-10-1937	75	M	2012	2.0	-	185.2	-	-	205	-
15-09-1936	76	M	2012	1.5	-	187.6	-	-	139	-
15-09-1936	76	M	2012	1.4	-	42.6	-	-	126	-
15-09-1936	76	M	2012	1.3	-	151.7	-	-	120	-
14-10-1937	75	M	2012	2.0	-	40.6	-	-	86	-
19-01-1956	56	F	2012	0.7	-	184.1	-	-	217	-
29-01-1938	74	F	2012	2.4	-	90.3	-	-	222	-
05-07-1932	80	M	2012	2.7	-	42.4	-	-	195	-
20-04-1931	81	F	2012	1.0	-	61.8	-	-	89	-
14-10-1937	75	M	2012	2.0	-	188.5	-	-	170	-
03-12-1943	69	F	2012	1.2	-	-	-	-	215	-
15-09-1936	76	M	2012	1.6	-	-	-	-	96	-
29-01-1938	74	F	2012	1.6	-	-	-	-	108	-
30-06-1946	66	M	2012	1.8	-	-	-	-	194	-
19-03-1939	73	M	2012	7.4	-	-	-	-	133	-
07-01-1950	62	M	2012	1.7	-	-	-	-	83	-
19-12-1949	63	F	2012	0.8	-	-	-	-	110	-
14-10-1937	75	M	2012	2.1	-	-	-	-	181	-
10-04-1953	59	M	2012	0.6	-	-	-	-	125	-
14-10-1937	75	M	2012	2.0	-	-	-	-	114	-
30-06-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	98	-
29-08-1928	84	M	2012	2.8	-	-	-	-	179	-
14-10-1937	75	M	2012	1.6	-	-	-	-	103	-
24-08-1958	54	M	2012	1.1	-	-	-	-	119	-
24-08-1958	54	M	2012	1.1	-	-	-	-	147	-
02-10-1935	77	F	2012	0.5	-	-	-	-	256	-

30-04-1935	77	M	2012	1.4	-	-	-	-	190	-
14-10-1937	75	M	2012	1.5	-	-	-	-	121	-
16-12-1924	88	F	2012	0.8	-	-	-	-	177	-
24-08-1958	54	M	2012	1.2	-	-	-	-	110	-
02-10-1935	77	F	2012	0.5	-	-	-	-	120	-
24-08-1958	54	M	2012	1.2	-	-	-	-	118	-
02-10-1935	77	F	2012	0.5	-	-	-	-	125	-
05-10-1926	86	F	2012	2.3	-	-	-	-	132	-
16-12-1924	88	F	2012	0.8	-	-	-	-	172	-
30-06-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	127	-
02-10-1935	77	F	2012	0.6	-	-	-	-	113	-
24-08-1933	79	M	2012	1.5	-	-	-	-	112	-
16-12-1924	88	F	2012	0.7	-	-	-	-	103	-
30-06-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	243	-
30-06-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	122	-
30-06-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	127	-
30-06-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	127	-
05-10-1926	86	F	2012	2.5	-	-	-	-	116	-
24-08-1933	79	M	2012	1.4	-	-	-	-	151	-
02-10-1935	77	F	2012	0.6	-	-	-	-	160	-
16-09-1929	83	M	2012	1.2	-	-	-	-	131	-
30-06-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	190	-
25-09-1946	66	F	2012	0.9	-	-	-	-	143	-
16-09-1929	83	M	2012	1.1	-	-	-	-	171	-
01-04-1976	36	M	2012	1.1	-	-	-	-	310	-
28-03-1938	74	F	2012	2.8	-	-	-	-	527	-

14-04-1962	50	M	2012	0.9	-	-	-	-	95	-
01-04-1976	36	M	2012	1.1	-	-	-	-	272	-
28-08-1924	88	M	2012	1.6	-	-	-	-	270	-
01-04-1976	36	M	2012	1.0	-	-	-	-	147	-
30-06-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	209	-
28-08-1924	88	M	2012	1.6	-	-	-	-	199	-
28-03-1938	74	F	2012	2.2	-	-	-	-	108	-
25-09-1946	66	F	2012	1.0	-	-	-	-	80	-
30-06-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	157	-
28-08-1924	88	M	2012	1.5	-	-	-	-	251	-
16-09-1929	83	M	2012	1.1	-	-	-	-	107	-
01-04-1976	36	M	2012	1.1	-	-	-	-	103	-
28-12-1942	70	F	2012	0.5	-	-	-	-	239	-
25-02-1946	66	M	2012	1.6	-	-	-	-	116	-
30-06-1946	66	M	2012	1.1	-	-	-	-	182	-
25-02-1946	66	M	2012	1.5	-	-	-	-	221	-
25-09-1946	66	F	2012	1.0	-	-	-	-	148	-
28-03-1938	74	F	2012	1.6	-	-	-	-	161	-
30-06-1946	66	M	2012	1.1	-	-	-	-	125	-
28-08-1924	88	M	2012	1.7	-	-	-	-	72	-
25-02-1946	66	M	2012	2.2	-	-	-	-	224	-
11-04-1943	69	M	2012	0.8	-	-	-	-	84	-
25-02-1946	66	M	2012	1.9	-	-	-	-	142	-
11-04-1943	69	M	2012	0.8	-	-	-	-	88	-
28-03-1938	74	F	2012	1.6	-	-	-	-	118	-
11-04-1943	69	M	2012	1.1	-	-	-	-	166	-

25-02-1946	66	M	2012	1.5	-	-	-	-	146	-
25-02-1946	66	M	2012	1.8	-	-	-	-	181	-
11-04-1943	69	M	2012	1.3	-	-	-	-	97	-
02-01-1942	70	M	2012	1.3	-	-	-	-	155	-
28-03-1938	74	F	2012	1.9	-	-	-	-	203	-
25-02-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	153	-
25-02-1946	66	M	2012	1.7	-	-	-	-	244	-
28-05-1943	69	M	2012	0.9	-	-	-	-	241	-
02-01-1942	70	M	2012	1.2	-	-	-	-	200	-
18-08-1945	67	F	2012	0.8	-	-	-	-	170	-
25-02-1946	66	M	2012	1.8	-	-	-	-	73	-
28-05-1943	69	M	2012	1.0	-	-	-	-	78	-
25-02-1946	66	M	2012	2.5	-	-	-	-	105	-
28-05-1943	69	M	2012	1.1	-	-	-	-	66	-
02-01-1942	70	M	2012	1.3	-	-	-	-	62	-
28-05-1943	69	M	2012	1.3	-	-	-	-	147	-
18-11-1947	65	M	2012	1.0	-	-	-	-	163	-
18-11-1947	65	M	2012	0.9	-	-	-	-	113	-
03-12-1943	69	F	2012	1.0	-	-	-	-	266	-
24-01-1959	53	F	2012	0.8	-	-	-	-	131	-
30-10-1925	87	F	2012	0.9	-	-	-	-	171	-
14-06-1934	78	M	2012	1.2	-	-	-	-	83	-
27-05-1945	67	M	2012	1.1	-	-	-	-	334	-
23-05-1926	86	F	2012	1.0	-	-	-	-	127	-
23-05-1926	86	F	2012	1.1	-	-	-	-	200	-
23-05-1926	86	F	2012	1.2	-	-	-	-	135	-

16-01-1946	66	M	2012	1.0	-	-	-	-	245	-
23-05-1926	86	F	2012	1.0	-	-	-	-	259	-
03-04-1935	77	M	2012	1.2	-	-	-	-	96	-
03-04-1935	77	M	2012	0.8	-	-	-	-	114	-
03-04-1935	77	M	2012	0.8	-	-	-	-	167	-
29-08-1938	74	M	2012	1.7	-	-	-	-	156	-
03-04-1935	77	M	2012	0.7	-	-	-	-	171	-
03-04-1935	77	M	2012	0.7	-	-	-	-	217	-
03-04-1935	77	M	2012	0.6	-	-	-	-	119	-
29-07-1950	62	M	2012	5.5	-	-	-	-	147	-
03-04-1935	77	M	2012	0.7	-	-	-	-	222	-
20-02-1928	84	F	2012	0.7	-	-	-	-	276	-
23-04-1935	77	M	2012	1.6	-	-	-	-	129	-
20-02-1928	84	F	2012	0.7	-	-	-	-	257	-
30-12-1937	75	M	2012	1.0	-	-	-	-	252	-
29-07-1950	62	M	2012	5.2	-	-	-	-	251	-
29-07-1950	62	M	2012	5.2	-	-	-	-	114	-
23-04-1935	77	M	2012	1.7	-	-	-	-	59	-
03-04-1935	77	M	2012	0.8	-	-	-	-	239	-
03-04-1935	77	M	2012	0.5	-	-	-	-	310	-
29-07-1950	62	M	2012	5.3	-	-	-	-	322	-
30-12-1937	75	M	2012	1.0	-	-	-	-	134	-
23-04-1935	77	M	2012	2.2	-	-	-	-	121	-
23-04-1935	77	M	2012	2.2	-	-	-	-	299	-
29-07-1950	62	M	2012	5.4	-	-	-	-	212	-
29-07-1950	62	M	2012	5.4	-	-	-	-	197	-

03-04-1935	77	M	2012	0.6	-	-	-	-	119	-
29-07-1950	62	M	2012	6.0	-	-	-	-	234	-
29-07-1950	62	M	2012	5.9	-	-	-	-	122	-
02-11-1947	65	F	2012	0.9	-	-	-	-	204	-
03-04-1935	77	M	2012	0.6	-	-	-	-	256	-
02-11-1947	65	F	2012	0.8	-	-	-	-	281	-
12-10-1959	53	M	2012	0.8	-	-	-	-	93	-
19-11-1950	62	F	2012	0.6	-	-	-	-	136	-
19-11-1950	62	F	2012	0.6	-	-	-	-	171	-
19-11-1950	62	F	2012	0.7	-	-	-	-	281	-
19-11-1950	62	F	2012	0.7	-	-	-	-	286	-
19-11-1950	62	F	2012	0.7	-	-	-	-	356	-
05-02-1935	77	M	2012	1.4	-	-	-	-	106	-
05-02-1935	77	M	2012	1.2	-	-	-	-	140	-
05-02-1935	77	M	2012	1.4	-	-	-	-	200	-
29-11-1935	77	M	2012	1.0	-	-	-	-	157	-
29-11-1935	77	M	2012	1.1	-	-	-	-	116	-
05-02-1935	77	M	2012	1.5	-	-	-	-	132	-
12-08-1922	90	M	2012	1.5	-	-	-	-	126	-
17-06-1950	62	M	2012	0.8	-	-	-	-	108	-
05-02-1935	77	M	2012	1.3	-	-	-	-	168	-
29-11-1935	77	M	2012	1.2	-	-	-	-	164	-
05-02-1935	77	M	2012	1.3	-	-	-	-	122	-
29-11-1935	77	M	2012	1.0	-	-	-	-	112	-
12-08-1922	90	M	2012	1.1	-	-	-	-	94	-
03-12-1943	69	F	2012	1.1	-	-	-	-	107	-

30-12-1951	61	F	2012	0.9	-	-	-	-	95	-
30-05-1939	73	F	2012	0.8	-	-	-	-	70	-
03-12-1943	69	F	2012	1.2	-	-	-	-	134	-
22-11-1938	74	M	2012	1.7	-	-	-	-	135	-
22-11-1938	74	M	2012	1.2	-	-	-	-	141	-
09-03-1951	61	M	2012	0.7	-	-	-	-	137	-
22-11-1938	74	M	2012	1.2	-	-	-	-	187	-
22-11-1938	74	M	2012	1.2	-	-	-	-	107	-
04-02-1949	63	F	2012	0.6	-	-	-	-	221	-
26-06-1932	80	F	2012	1.4	-	-	-	-	292	-
15-07-1932	80	F	2012	2.2	-	-	-	-	160	-
22-11-1938	74	M	2012	1.2	-	-	-	-	144	-
22-11-1938	74	M	2012	1.2	-	-	-	-	161	-
24-04-1949	63	F	2012	0.8	-	-	-	-	161	-
22-11-1938	74	M	2012	1.3	-	-	-	-	153	-
22-11-1938	74	M	2012	1.3	-	-	-	-	145	-
22-03-1938	74	M	2012	0.8	-	-	-	-	78	-
26-06-1932	80	F	2012	1.4	-	-	-	-	117	-
18-08-1931	81	M	2012	0.8	-	-	-	-	146	-
22-11-1938	74	M	2012	1.3	-	-	-	-	157	-
06-12-1946	66	M	2012	0.9	-	-	-	-	150	-
22-11-1938	74	M	2012	1.3	-	-	-	-	120	-
22-11-1938	74	M	2012	1.3	-	-	-	-	129	-
28-09-1955	57	M	2012	0.9	-	-	-	-	134	-
26-06-1932	80	F	2012	1.5	-	-	-	-	301	-
22-11-1938	74	M	2012	1.3	-	-	-	-	124	-

08-05-1941	72	M	2012	0.9	-	-	-	-	80	-
11-08-1930	83	F	2012	1.2	-	-	-	-	138	-
28-03-1936	76	F	2012	1.8	-	-	-	-	202	-
26-08-1945	67	M	2012	1.0	-	-	-	-	98	-
08-08-1943	69	F	2012	1.0	-	-	-	-	207	-
28-03-1936	76	F	2012	1.7	-	-	-	-	209	-
04-10-1932	80	M	2012	1.1	-	-	-	-	125	-
28-11-1946	66	M	2012	1.6	-	-	-	-	140	-
29-12-1932	80	M	2012	2.2	-	-	-	-	141	-
28-03-1936	76	F	2012	1.4	-	-	-	-	221	-
28-11-1946	67	M	2012	2.1	-	-	-	-	120	-
28-03-1936	76	F	2012	1.3	-	-	-	-	184	-
25-05-1937	75	F	2012	1.4	-	-	-	-	131	-
28-11-1946	67	M	2012	1.5	-	-	-	-	174	-
28-05-1936	76	F	2012	0.8	-	-	-	-	135	-
24-02-1937	75	M	2012	1.8	-	-	-	-	113	-
13-03-1959	53	M	2012	1.3	-	-	-	-	170	-
04-10-1932	80	M	2012	1.1	-	-	-	-	132	-
11-01-1961	51	M	2012	1.5	-	-	-	-	119	-
12-02-1934	79	M	2012	1.2	-	-	-	-	119	-
19-12-1949	63	F	2012	0.9	-	-	-	-	177	-
11-01-1961	51	M	2012	1.5	-	-	-	-	75	-
15-04-1956	56	M	2012	0.9	-	-	-	-	113	-
27-07-1953	59	M	2012	1.2	-	-	-	-	104	-
01-12-1939	73	M	2012	1.0	-	-	-	-	123	-
12-02-1934	79	M	2012	1.9	-	-	-	-	107	-

08-08-1943	69	F	2012	0.9	-	-	-	-	179	-
28-11-1946	67	M	2012	1.7	-	-	-	-	78	-
18-07-1938	74	M	2012	1.2	-	-	-	-	117	-
15-05-1933	79	M	2012	2.2	-	-	-	-	110	-
04-12-1954	58	M	2012	0.9	-	-	-	-	234	-
22-11-1939	73	M	2012	0.6	-	-	-	-	131	-
29-12-1932	80	M	2012	1.7	-	-	-	-	191	-
28-01-1944	69	F	2012	2.0	-	-	-	-	355	-
28-11-1946	66	M	2012	1.1	-	-	-	-	261	-
24-04-1951	61	M	2012	1.1	-	-	-	-	124	-
11-01-1961	51	M	2012	1.3	-	-	-	-	132	-
28-03-1936	76	F	2012	1.6	-	-	-	-	143	-
25-05-1937	75	F	2012	1.0	-	-	-	-	129	-
28-01-1944	69	F	2012	1.9	-	-	-	-	236	-
25-05-1937	75	F	2012	1.0	-	-	-	-	112	-
04-12-1954	58	M	2012	0.9	-	-	-	-	87	-
12-02-1934	79	M	2012	2.1	-	-	-	-	117	-
05-09-1953	59	M	2012	0.7	-	-	-	-	149	-
28-01-1944	69	F	2012	2.3	-	-	-	-	85	-
29-12-1932	80	M	2012	1.9	-	-	-	-	177	-
29-12-1932	80	M	2012	1.5	-	-	-	-	213	-
10-09-1932	80	M	2012	1.3	-	-	-	-	170	-
31-05-1930	82	M	2012	3.6	-	-	-	-	161	-
11-01-1961	51	M	2012	1.2	-	-	-	-	208	-
24-02-1937	75	M	2012	1.7	-	-	-	-	105	-
31-05-1930	82	M	2012	3.6	-	-	-	-	93	-

12-08-1922	90	M	2012	1.2	-	-	-	-	275	-
12-07-1933	79	M	2012	1.0	-	-	-	-	116	-
28-01-1944	69	F	2012	1.5	-	-	-	-	107	-
13-03-1959	53	M	2012	1.4	-	-	-	-	80	-
13-09-1934	78	M	2012	1.7	-	-	-	-	175	-
08-10-1940	73	F	2012	1.3	-	-	-	-	279	-
31-05-1930	82	M	2012	3.4	-	-	-	-	180	-
13-09-1934	78	M	2012	1.9	-	-	-	-	120	-
01-12-1939	73	M	2012	1.2	-	-	-	-	125	-
10-09-1932	80	M	2012	1.3	-	-	-	-	137	-
28-11-1946	66	M	2012	0.9	-	-	-	-	299	-
18-07-1938	74	M	2012	1.0	-	-	-	-	193	-
31-05-1930	82	M	2012	3.5	-	-	-	-	163	-
28-03-1936	76	F	2012	1.5	-	-	-	-	143	-
04-12-1954	58	M	2012	0.8	-	-	-	-	147	-
28-11-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	183	-
31-05-1930	82	M	2012	2.8	-	-	-	-	153	-
12-07-1933	79	M	2012	0.9	-	-	-	-	164	-
28-11-1946	66	M	2012	1.2	-	-	-	-	217	-
09-08-1943	69	M	2012	0.8	-	-	-	-	219	-
09-03-1939	73	F	2012	0.9	-	-	-	-	224	-
31-05-1930	82	M	2012	2.3	-	-	-	-	109	-
05-09-1953	59	M	2012	0.8	-	-	-	-	95	-
31-05-1930	82	M	2012	0.9	-	-	-	-	101	-
05-08-1948	64	F	2012	1.1	-	-	-	-	102	-
28-05-1936	76	F	2012	0.7	-	-	-	-	153	-

11-01-1961	51	M	2012	1.1	-	-	-	-	126	-
09-03-1950	62	M	2012	1.0	-	-	-	-	116	-
31-05-1930	82	M	2012	2.2	-	-	-	-	135	-
28-01-1944	69	F	2012	1.5	-	-	-	-	188	-
08-12-1957	55	M	2012	0.6	-	-	-	-	148	-
12-02-1934	79	M	2012	1.5	-	-	-	-	187	-
04-02-1937	75	M	2012	1.2	-	-	-	-	109	-
31-05-1930	82	M	2012	1.7	-	-	-	-	128	-
28-03-1936	76	F	2012	1.6	-	-	-	-	105	-
07-03-1935	77	M	2012	1.7	-	-	-	-	152	-
05-05-1948	64	M	2012	0.8	-	-	-	-	113	-
28-11-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	165	-
28-11-1946	66	M	2012	1.4	-	-	-	-	299	-
07-03-1935	77	M	2012	1.8	-	-	-	-	108	-
19-09-1947	65	M	2012	1.1	-	-	-	-	175	-
13-03-1959	53	M	2012	1.3	-	-	-	-	224	-
31-05-1930	82	M	2012	1.3	-	-	-	-	140	-
31-05-1930	82	M	2012	1.2	-	-	-	-	244	-
12-11-1946	66	M	2012	0.8	-	-	-	-	185	-
01-12-1939	73	M	2012	1.0	-	-	-	-	297	-
28-09-1929	83	F	2012	1.9	-	-	-	-	191	-
08-08-1943	69	F	2012	0.8	-	-	-	-	189	-
01-12-1939	73	M	2012	1.2	-	-	-	-	172	-
12-07-1933	79	M	2012	1.2	-	-	-	-	179	-
25-05-1937	75	F	2012	1.0	-	-	-	-	175	-
03-01-1930	82	M	2012	1.2	-	-	-	-	178	-

28-03-1936	76	F	2012	1.3	-	-	-	-	166	-
24-04-1951	61	M	2012	1.1	-	-	-	-	145	-
25-09-1940	72	M	2012	1.4	-	-	-	-	166	-
31-05-1930	82	M	2012	1.9	-	-	-	-	102	-
28-05-1936	76	F	2012	0.9	-	-	-	-	104	-
13-09-1934	78	M	2012	1.3	-	-	-	-	109	-
31-05-1930	82	M	2012	1.3	-	-	-	-	312	-

Anexo B

Tabelas com informação dos pacientes incluídos no estudo *B. Aplicabilidade da cistatina C e da creatinina na avaliação da função renal de pacientes diabéticos*

Tabela B1 - Parâmetros analisados em todos os pacientes incluídos no grupo PDM.

Tipo de DM	Idade (anos)	Sexo	Data Nascimento	HBA1C (%)	Glucose [mg/dL]	Creatinina [mg/dL]	Cistatina [mg/L]	TFGe MDRD	TFGe Levey	TFGe Larsson
II	70	M	03-02-43	7.3	153	0.6	0.57	142	146	157
II	38	F	18-11-74	6.8	121	0.6	0.52	119	142	176
I	22	M	17-07-90	9.9	111	0.9	0.57	112	141	157
II	37	M	29-02-76	8.4	139	0.9	0.5	101	137	185
II	41	F	18-03-72	7.7	115	0.8	0.41	84	133	238
II	58	M	30-06-54	8.6	209	0.8	0.52	106	132	176
II	59	M	11-11-53	8	186	0.7	0.61	123	131	144
II	65	M	13_01_1948	7.5	145	0.7	0.59	120	131	150
II	43	M	15-10-69	6.6	129	0.9	0.58	98	122	154
I	16	F	19-11-96	9.4	270	0.9	0.58	89	122	154
II	63	F	18-02-50	7.6	362	0.5	0.71	132	121	119
	67	M	11-11-45	6.7	141	0.8	0.6	102	118	147
II	39	M	29-10-73	7.2	146	0.9	0.72	100	110	117
II	39	M	08-08-73	6.9	167	1	0.64	88	110	136
I	62	M	08-09-50	7	146	0.8	0.72	104	108	117

II	75	M	24-10-37	6.7	141	0.9	0.6	87	107	147
II	55	M	26-08-57	11.5	352	0.9	0.68	93	106	126
II	47	F	14-11-65	7.9	190	0.9	0.54	71	103	168
II	45	M	31-07-67	8.2	143	1	0.71	86	101	119
II	59	M	10-03-54	8.5	108	0.8	0.89	105	97	89
II	58	F	28-06-54	8.9	81	0.7	0.75	91	96	111
II	77	M	15-09-35	7.2	165	1	0.67	77	94	128
II	58	F	06-01-55	10.1	71	0.7	0.82	91	91	99
II	42	F	28-05-70	7.7	137	0.9	0.69	73	91	123
II	54	F	22-02-59	6.5	188	0.8	0.73	79	91	115
II	57	M	05-11-55	9.1	136	1.1	0.72	73	90	117
II	69	M	27-12-43	6.6	150	0.9	0.88	89	88	91
II	56	F	18-02-57	8.5	162	1	0.61	61	86	144
	47	M	10-05-65	11.5	208	0.9	1.04	96	86	74
II	76	F	18-02-37	6.6	177	0.8	0.72	74	85	117
II	66	M	05-03-47	6.5	116	1	0.87	79	83	92
I	46	F	13-11-66	7.9	211	0.9	0.79	72	83	104
II	36	M	04-01-77	10.5	230	1	1.09	90	83	69
II	69	F	01-10-43	6.8	145	0.7	0.96	88	81	81
II	60	F	17-08-52	11.6	305	0.7	1.02	91	80	75
II	75	M	08-02-38	8.4	63	0.9	1.02	87	79	75
II	87	F	20-02-26	9.2	306	0.7	0.95	84	77	82
II	72	F	01-05-40	9.3	210	0.7	1.05	87	76	73
II	82	F	27-11-30	6.8	123	0.8	0.9	73	74	88
II	62	F	22-12-50	7.4	132	0.8	1.01	77	73	76

II	57	M	20-09-55	6.8	149	1.3	0.86	60	73	93
II	74	F	12-03-39	6.7	182	0.9	0.87	65	71	92
II	77	F	28-02-36	6.5	113	0.9	0.9	65	69	88
I	54	F	11-11-58	8.9	61	1	0.91	61	69	87
	63	M	02-08-49	8.1	227	1.1	1.1	72	69	68
II	66	M	15-05-46	6.9	141	1.1	1.12	71	68	67
II	67	M	09-11-45	11.6	159	1.4	0.88	54	66	91
II	82	M	03-02-31	6.9	150	1.3	0.93	56	65	85
II	65	F	08-03-48	7.9	168	1.1	0.88	53	64	91
II	66	F	15-01-47	7.5	132	0.7	1.47	89	64	47
II	56	M	07-01-57	6.7	147	1.2	1.2	67	64	61
II	62	F	23-12-50	11.3	210	1	1.05	60	62	73
II	77	F	14-05-35	7.6	131	1	0.98	57	62	79
II	75	F	10-03-38	6.6	115	1.1	0.9	51	61	88
	78	M	02-05-34	6.5	165	1.3	1.07	57	60	71
II	30	M	24-02-43	7.1	296	1.4	1.51	63	57	46
II	67	F	27-02-46	8.7	242	1.2	1.03	48	55	74
II	81	F	31-01-32	6.9	145	1.1	1.1	51	54	68
	76	F	19-06-36	8.6	177	1.2	1.05	46	53	73
II	61	F	06-03-52	7.1	191	1.2	1.15	49	52	65
II	66	F	28-04-46	9.7	297	1	1.43	59	51	49
II	85	F	15-03-27	9.5	215	1.2	1.2	45	48	61
II	87	F	19-05-25	10	186	1.2	1.23	45	47	59
II	76	M	14-04-36	9.8	202	2	1.21	35	43	61
II	75	M	27-05-37	6.7	143	1.3	2.04	57	42	31

II	77	F	17-01-36	7.4	93	1.5	1.37	36	39	52
II	83	F	17-11-29	7	105	1.1	2.07	50	37	31
II	74	M	22-11-38	7.1	191	2.5	1.45	27	33	48
II	85	F	02-02-28	6.7	129	1.6	1.73	33	32	39
II	74	M	15-02-39	6.7	71	2	2.01	35	32	32
II	85	F	29-08-27	7.3	9	1.4	2.04	38	32	31
II	70	F	30-12-42	6.5	176	1.6	1.91	34	32	34
II	80	M	17-04-32	7.3	187	2.2	1.87	31	31	35
II	90	F	15-11-22	7.2	210	1.7	2.71	30	24	22
II	79	F	28-02-34	7.5	198	2	2.45	26	23	25
II	75	M	16_04-1937	8.5	78	3.1	2.3	21	22	27
II	88	F	07-05-24	7.5	184	2.3	2.3	21	22	27
II	72	F	30-11-40	6.9	74	2.8	2.42	18	19	25
II	89	F	01-06-23	6.6	96	2.9	2.73	16	17	22
II	91	M	11-08-21	7.9	161	3.7	3.08	16	16	19
II	78	M	04-04-34	6.8	186	4.5	2.62	14	16	23

Tabela B2 - Parâmetros analisados em todos os pacientes incluídos no grupo CTL.

Data nascimento (DD-MM-AA)	Idade (anos)	Sexo	Glucose [mg/dL]	Albumina	Proteína total	HA1C (%)	Creatinina [mg/dL]	Cistatina C [mg/L]	Ureia [mg/dL]	TFGe MDRD	TFGe Larsson	TFGe Levey
12-09-25	87	F	97	3.53	6.5	5.9	0.7	1.43	97.2	84.1	120.8	61.1
10-09-57	55	F	65	-	-	5.9	0.8	1.01	32.8	79.2	102.1	74.9
24-12-31	81	M	95	2.37	6.3	6.2	1.1	0.819	30.9	68.3	68.3	77.4
04-07-79	33	F	99	-	-	5	1.1	0.619	30.5	60.8	68.3	89.1
24-06-56	56	F	95	-	-	5.6	0.7	0.835	17.6	92.0	120.8	90.7
26-11-18	94	M	81	2.91	6	5.1	0.9	0.699	81	83.5	88.0	93.7
30-04-68	45	F	99	-	6.2	4.9	0.9	0.612	28	72.0	88.0	96.0
01-07-69	44	F	88	-	-	5.9	0.9	0.55	99.4	72.3	88.0	102.5
27-01-77	36	M	95	2.64	7	5.2	1.2	0.587	35.4	72.8	61.2	104.0
10-08-28	84	M	94	2.98	7.2	6	0.8	0.67	94	97.9	102.1	106.0
21-09-75	37	F	100	-	-	4.8	0.8	0.565	32.8	85.8	102.1	112.8
26-03-67	46	M	90	-	-	5.5	0.8	0.718	22.4	110.6	102.1	114.9
16-10-55	56	F	88	-	-	5.9	0.7	0.528	88	92.0	120.8	117.7
01-08-75	37	F	86	-	-	5.8	0.7	0.565	17	100.1	120.8	123.1
23-10-77	35	F	96	-	-	5.2	0.7	0.569	32.6	101.2	120.8	123.9
12-11-55	32	F	88	-	-	5	0.9	0.616	40.4	103.9	88.0	124.9
16-11-93	19	F	105	-	-	5.9	0.8	0.587	23.7	98.2	102.1	126.2
03-04-90	23	F	110	-	-	5.3	0.8	0.526	16	94.5	102.1	129.3
31-12-97	15	F	97	-	-	6	0.8	0.579	12	103.0	102.1	133.3
10-04-86	27	F	96	-	-	5.4	0.7	0.534	17.7	106.7	120.8	135.4
23-03-29	43	F	84	-	-	5.3	0.7	0.508	20.3	130.8	120.8	154.7

03-06-20	35	F	93	-	-	5.6	0.6	0.484	18.8	163.0	146.7	183.2
----------	----	---	----	---	---	-----	-----	-------	------	-------	-------	-------

Anexo C

Tabela B1 - Terapia efetuada pelos pacientes do grupo PDM e respectivas patologias diagnosticadas.

ID Tubo	Medicação	Patologias
372658	Clopidogrel 75mg	-
371922	Insulina glargina 100U/ml	-
380914	-	DM com cetoacidose
207075	-	-
370914	Insulina glargina 100U/ml	-
364105	Insulina humana [Mixtarde 30 Penfill] 100U./ml	-
370658	Dexametasona+ Gentamicina+Tetruzolina= 1mg/ml+3mg/ml0.5 mg/ml	Manifestações oftalmológica
207619	-	-
377119	Insulino terapia, nitroglicerina	Hiperlipemia
381855	Insulina aspártico 100 U/ml, Insulina glargina 100U/ml	DM com cetoacidose
579462	Furosemida 40mg, Trifusal 300mg, Fluticasona+Salmeterol 250µg/dose+50µg/dose, Ivabradina 7,5 mg	-
354945	Sivastatina	-
371890	Metformina 1000mg, insulina glargina 100U/L, Carvedilol 6,25mg, Clopidogrel 75mg	Hiperlipemia, abuso de tabaco, aterosclerose
373754	Insulina glargina 100U/ml, sinvastatina 20mg, insulina aspártica (solúvel)	-
380703	Metformina, glicazida, insulatard	DM com complicações periféricas
366892	Metformina 1000 mg, Sitagliptina 50mg	
367985	Insulina neutra SOS, tiamina, tiapride, esomeprazole	Hepatite alcoólica aguda
385436	Metformina, furosemida, insulina actrapid SOS, levofloxacina 500ev	Hiperlipemias
207744	-	-
385800	Insulina isofanica 100U/ml, nitroglicerina, furosemida, amiodarona, albumina humana, digoxina, varfarina via oral 7.5 mg	-
379621	Insulina glargina 100U/ml	Retinopatia
361880	-	-
207711	-	-
363243	Metfomina+vildagliptina, 1000mg+50mg. Insulina glargina, 100U/ml	-
581105	Ramipril 5mg, Metformina 1000mg, Brometo de ipratropio, rasuvastatina 10 mg, insulina SOS	-
580051	-	-
207626	Ramipril 10mg	-
207727	-	-
207339	-	-
580580	Spiriva, Atacand 16mg, Serenal 15 mg, Cipralelex 10 mg	-
366967	Metformina+ vildagliptina 1000mg+50mg	-
207611	Insulina glargina 100U/ml, sinvastatina 20mg, insulina aspártica (solúvel)	Hepatite

370863	Buspirona 10 mg, Zolpidem 10 mg, Venlafaxina 150 mg	-
580093	Losartan 50 mg, Furosemida 40mg, Pantoprazol 20mg	
383857	Gliclazida 30 mg	-
581075	Ceftriaxone, azitromicía, pantoprazol, furosemida, insulina glargina, ramipril, diazepam, e fluidoterapia	Hiperlipemias
580047	Betametasona 1mg/g, Insulina neutra 100U/L, paracetamol	-
383820	Insulina injetável 100U/ml	-
370011	Metoclopramida 10 mg	-
580123	Metformina+vildagliptina, 1000mg+50mg. Insulina glargina, 100U/ml	-
580293	Lasix 40	-
579888	metformina 1000mg, Amiodarona 200mg, Perindopril 10 mg	-
207621	-	-
374639	Insulina aspártico, injetável 100U/ml	Retinopatia diabética, manifestações neurológicas,
207278	Alfuzosina 10 mg	-
376971	Acetilcisteína 600mg, Azitromicina 500mg, Brometo de tiotrópio: 2,5 µg/dose	Hepatite -out-2007
372496	Metformina+ vildagliptina 850mg+50mg	
382296	Metformina, enoxaparina, paracetamol, alopurinol	
354752	Pitavastatina 4mg	-
365125	Lornoxicam 8 mg	Hepatite B. sem complicações vasculares
373239	Bisoprolol	Sem complicação
366071	Insulina humana 100 UI/ml, Gliclazida 30mg	-
371026	Gliclazida 30 mg	-
363245	Metformina + Vildagliptina 1000+50mg, Losartan 50 mg, Pitavastatina 2 mg	
364065	Lisinopril 20mg, ácido acetilsalicílico 150mg, insulina humana 100U/ml	DM com complicações oftalmológicas
580416	Insulina neutra, prednisolona 5mg, Lactitol 10g	Hiperlipemias
581106	Paracetamol+ codeína 500+30, Cianocobalamina+Piridoxina+tiamina 0.2mg+200mg+100mg	-
382757	Flucloxacilina 500mg	Hepatite crónica
207288	Zarator, lisinopril, lasix 40	
369115	Amoxicilina+ácido clavulânico 875 mg+ 125 mg	-
207275	Lasix. Losartan 50mg, Metformina 1000mg	-
365756	Lasix, furosemida, insulina neutra, ramipril, risidon 1000 3id, Xelevia	Abr-05
366796	Insulina glargina 100U/ml	-
355003	Insulina glargina 100U/ml	DM com manifestações neurológicas
579641	Paracetamol 1000mg, Levofloxacina 500mg, lasix	-
207510	Sitagliptina 100mg, Nebivolol 5mg	
580373	Metformina 100mg, Prednisolona 20mg, Aminofilina 225 mg, lasix, losartan 50	
580577	Insulinoterapia, Rosuvastatina 10mg. Ramipril 10mg	Retinopatia
579006	Furosemida 40mg	Hepatite, DM com manifestações renais
579691	Furosemida 40 mg, Aminofilina 225mg	-

579581	Metformina 1000mg	Insuficiência renal aguda
368101	Lecarnipidina 20mg	-
365108	Mixtard 30, tandix	-
580213	Furosemida 40mg, atorvastatina 20mg	-
580913	Lasix 40mg, Insulatard 8U, Sinemet 25/250 mg	Hiperlipemias
579668	Mixtarde 30, Trental, Lasix, Arcoxia	DM com distúrbios periféricos
578739	LASIX, AC. Acetilsalicílico	Doença renal crónica
207274	Lisados polibacterianos 7mg, furosemida 40mg	Insuficiência renal crónica
207090	Lancetas estéreis*	-
580956	Furosemida, Fluvastatina 80mg, Pantoprazol	-
579629	-	Retinopatia