

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Hellen Cássia dos Santos Gomes

**AVALIAÇÃO DA CISTATINA C COMO MARCADOR DE LESÃO  
GLOMERULAR EM MULHERES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPسيا**

**BELO HORIZONTE**

**2020**

Hellen Cássia dos Santos Gomes

**AVALIAÇÃO DA CISTATINA C COMO MARCADOR DE LESÃO  
GLOMERULAR EM MULHERES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPZIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação da Saúde da Mulher da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Vitor Leite

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Patrícia Gonçalves Teixeira

Área de concentração: Perinatologia

**Belo Horizonte**

**2020**

G633a Gomes, Hellen Cássia dos Santos.  
Avaliação da acurácia da Cistatina C como marcador de Lesão Glomerular em mulheres portadoras de Preeclâmpsia [recursos eletrônicos]. / Hellen Cássia dos Santos Gomes. -- Belo Horizonte: 2020.  
103f.: il.  
Formato: PDF.  
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Henrique Vítor Leite.  
Coorientador (a): Patrícia Gonçalves Teixeira.  
Área de concentração: Perinatologia.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Cistatina C. 2. Testes de Função Renal. 3. Gravidez. 4. Pré-Eclâmpsia. 5. Saúde da Mulher. 6. Dissertação Acadêmica. I. Leite, Henrique Vítor. II. Teixeira, Patrícia Gonçalves. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WQ 215

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER**

**UFMG**


**FOLHA DE APROVAÇÃO**


**AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DA CISTATINA C COMO MARCADOR DE  
FUNÇÃO RENAL EM GESTANTES COM PRÉ ECLÂMPSIA**


**HELLEN CÁSSIA DOS SANTOS GOMES**


Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Doutor em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PERINATOLOGIA.


Aprovada em 08 de agosto de 2020, pela banca constituída pelos membros:


  
Prof(a). Henrique Vitor Leite - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Patrícia Gonçalves Teixeira  
UFMG

  
Prof(a). Antônio Carlos Vieira Cabral  
UFMG

  
Prof(a). Alim Alves Demian  
UNIPAC

  
Prof(a). Eura Martins Lage  
UFMG

  
Prof(a). Augusto Henriques Fulgêncio Brandão  
UFMG

Belo Horizonte, 8 de agosto de 2020.



UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL  
DE MINAS GERAIS

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO SAÚDE DA MULHER**

### **Reitor:**

Sandra Regina Goulart Almeida

### **Vice-Reitora:**

Alessandro Fernandes Moreira

### **Pró-Reitor de Pós-Graduação da UFMG**

Profª. Sílvia Helena Paixão Alencar

### **Diretor da Faculdade de Medicina:**

Prof. Humberto José Alves

### **Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:**

Profa. Alamanda Kfoury Pereira

### **Coordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

### **Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Selmo Geber

### **Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia:**

Prof. Agnaldo Lopes da Silva

### **Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher:**

Prof. Selmo Geber

### **Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher:**

Fernando Marcos dos Reis

Dedico esse trabalho à minha filha Ana Carolina que me transformou e transforma diariamente em uma eterna aprendiz. Ao Ítalo pelo incansável estímulo, compreensão, paciência e acima de tudo pelo amor. A minha vó(*in memoriam*) que sempre falava que o importante era estudar, sendo exemplo de simplicidade e respeito. Que falta você faz, saudades eternas!

## **AGRADECIMENTOS**

-Ao Prof. e orientador Henrique Vitor Leite, por ter me acolhido como orientada e me ajudado com tantas palavras positivas para seguir firme e adiante; agradeço por sempre repetir que iria dar tudo certo mesmo me deparando com tantas dificuldades. Admirável professor deixo minha eterna gratidão.

- À minha co-orientadora, Prof.<sup>a</sup> Doutora Patrícia Teixeira pela sua disponibilidade e incentivo que foram fundamentais para realizar e prosseguir este estudo. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada como acompanhou a realização deste trabalho. Não posso esquecer a sua grande contribuição para o meu crescimento e sua amizade e conselhos para prosseguir até o final. Eternamente grata por todo o apoio.

- Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral, cientista renomado, que criou e norteou esse trabalho desde o início da tese. Para mim é exemplo de conhecimento, e agradeço pela oportunidade por trazer suas valiosas experiências no campo da ciência para esse trabalho.

- A colaboração das professoras Eura Lage, Alamanda Khoury e demais professores que foram sempre disponíveis para conselhos e incentivos.

- Aos profissionais do CEMEFE pela oportunidade a mim concedida de, com muito orgulho, ser integrante deste grupo que é exemplo de conhecimento e profissionalismo.

- As Professoras e Doutoradas Silvia e Paula Peixoto Campos do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, pelo valoroso e metucioso trabalho nosadagem das amostras, além de dicas inestimáveis.

- Aos membros do Programa de Pós-graduação da Saúde Mulher da UFMG pelo suporte.

- A viabilização contou com a participação da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), cujos recursos são geridos pelo Programa de Pós-Graduação em Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

## RESUMO

### AVALIAÇÃO DA CISTATINA C COMO MARCADOR DE LESÃO GLOMERULAR EM MULHERES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPسيا

A função renal alterada é um componente essencial do processo fisiopatológico que está relacionado ao pior prognóstico materno-fetal. Os rins estão entre os órgãos centrais afetados na pré-eclâmpsia, e desempenham um papel significativo na síntese e degradação das substâncias de baixo peso molecular, como creatinina, ureia e cistatina C. A cistatina C vem sendo apontada como uma substância promissora para avaliar a função renal, e alterações da filtração glomerular precocemente. O presente trabalho foi realizado para investigar a cistatina C sérica e urinária como marcador de lesão glomerular em grávidas portadoras de PE, e correlacionar com a dosagem de creatinina e uréia. Trata-se de um estudo transversal com 44 gestantes com diagnóstico da pré-eclâmpsia e 24 normotensas. Os níveis de cistatina C plasmáticos e urinárias apresentam-se elevados e estatisticamente significativos (respectivamente,  $p=0,001$ ,  $p=0,012$ ) nas mulheres portadoras de PE quando comparadas com as normotensas. Comparando-se com outros marcadores, a cistatina C sérica demonstrou melhor capacidade de identificar a função renal, com valor percentual de área da curva ROC de 91,7%. Nesse estudo, a cistatina C mostra-se um bom marcador de lesão glomerular em gestantes portadoras de pré eclâmpsia, comparável aos marcadores tradicionais uréia e creatinina. Sua vantagem sobre estes marcadores refere-se a sua menor influência de diversos aspectos biológicos não relacionados a doença gestacional propriamente dita.

Palavras-chave: cistatina C, função renal, gravidez, pré-eclâmpsia



## ABSTRACT

### EVALUATION OF CYSTATIN C AS A MARKER OF GLOMERULAR INJURY IN WOMEN WITH PREECLÂMPسيا

Renal function is an essential component of the pathophysiological process that is related to the worst maternal-fetal prognosis. The kidneys are among the major levels of affection in PE, and play a significant role in the turnover of most low molecular weight substances such as creatinine, urea and cystatin C. Cystatin C has been shown to be a promising substance for assessing renal function and glomerular filtration changes earlier. The present study was carried out to investigate serum and urinary cystatin C as marker of glomerular lesion in pregnant women with PE, and correlate with creatinine and urea. It is a cross-sectional study with 44 pregnant women diagnosed with preeclampsia and 24 normotensive women. Plasma and urinary cystatin C levels were elevated and statistically significant ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.012$ ) in women with PE compared to normotensive women, respectively. Compared with other markers, serum cystatin C demonstrated a better ability to identify renal function, with a percentage of area of the ROC curve of 91.7%. Cystatin C is a good marker of glomerular lesion in pregnant women with preeclampsia, comparable to traditional urea and creatinine markers. Their advantage over these markers is their lower influence of several biological aspects unrelated to gestational disease itself.

Keywords: Cystatin C, renal function, pregnancy, preeclampsia

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Critérios diagnósticos para pré-eclâmpsia.....	18
Tabela 2- Equações para estimativa da Taxa de Filtração Glomerular baseada na cistatina C sérica (mg/L) isoladamente ou conjugada com a creatinina sérica (mg/L).....	31
Tabela 3 - Características descritivas das variáveis qualitativas das grávidas normotensas e com pré-eclâmpsia .....	44
Tabela 4- Características descritivas das variáveis quantitativas das grávidas normotensas e com PE .....	45
Tabela 5 - Descritiva das variáveis qualitativas que foram medidas apenas no grupo de grávidas com PE .....	46
Tabela 6 - Descritiva das variáveis qualitativas que foram medidas apenas no grupo de grávidas com PE. ....	46
Tabela 7 -Comparação das variáveis quantitativas entre os grupos caso (PE) e controle .....	47
Tabela 8- Caracterização das pacientes quanto a pressão arterial em mmHg, por grupo .....	48
Tabela 9- Indicadores de Qualidade do teste preditivo -Cistatina C Urinária	49
Tabela 10- Indicadores de Qualidade do teste preditivo-Cistatina C plasmática.	51
Tabela 11- Indicadores de Qualidade do teste preditivo-Creatinina .....	54
Tabela 12 - Indicadores de Qualidade do teste preditivo -Ureia.....	56
Tabela 13 - Comparação dos indicadores de qualidade para resultado do teste preditivo dada as concentrações da cistatina C urinária, cistatina C plasmática, creatinina, uréia.....	58
Tabela 14- Matriz de correlação de Spearman - Ambos os grupos.....	63
Tabela 15-Matriz de correlação de Spearman -Grupo caso/gestantes com PE	64
Tabela 16 - Matriz de correlação de Spearman - Grupo Controle .....	65

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação gráfica da curva ROC - Cistatina C urinária .....	49
Figura 2 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração da cistatina C urinária.....	50
Figura 3- Gráfico representativo da curva ROC - Cistatina C plasmática. ....	51
Figura 4 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração plasmática da cistatina C plasmática.....	52
Figura 5- Gráfico representativo da curva ROC- creatinina.....	54
Figura 6 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração plasmática da uréia .....	55
Figura 7 -Representação gráfica da curva ROC - Ureia. ....	56
Figura 8 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração plasmática da uréia .....	57
Figura 9 - Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da creatinina, grupo caso-controle.....	59
Figura 10 - Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da ureia, grupo caso-controle .....	60
Figura 11- Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da cistatina urinária, grupo caso-conrole .....	61
Figura 12 - Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da cistatina plasmática, grupo caso-controle .....	62
Figura 13- Box Plot dos valores médios, desvio padrão e limites superiores e inferiores da concentração da cistatina C urinária nos grupos caso- pré-eclâmpsia e controle .....	66
Figura 14 - Box Plot dos valores médios, desvio padrão e limites superiores e inferiores da concentração dacistatina C plasmática nos grupos caso- pré-eclâmpsia e controle .....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACOG	American College of Obstetricians And Gynecologists
AUC	Área sob a curva
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
BSA	Body Surface Area
CBC	Contagem Sanguínea Completa
CEMEFE	Centro De Medicina Fetal
CIUR	Crescimento Intrauterino Restrito
CO <sub>2</sub>	Dióxido De Carbono
ROC	Receiver Operating Characteristic
DTPA	Ácido Etileno Diamino Pentacético
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetracético
ELISA	Enzyme Linked Imunosorbent Assay
FAPEMIG	Fundação De Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
HELLP	Hemolysis Elevated Liver Enzymes and Low Platelet
ICB	Instituto De Ciências Biológicas
IMC	Índice De Massa Corporal
MDRD	Modification Of Diet In Renal Disease
NHBPEPWG	National Blood Pressure Education Program Working Group
NKF	National Kidney Foundation Americana
PBS	Phosphate Buffered Saline
PBT	Proteína Beta Traço
PE	Pré-eclâmpsia
PLGF	Placental Growth Factor
RV	Razão de Verossimilhança
sFlit-1	Fms-LikeTyrosine Kinase-1
SUS	Sistema Único De Saúde
TFG	Taxa De Filtração Glomerular
TFP	Taxa de Falso Positivo
UFMG	Universidade Federal De Minas Gerais
VEGF	Fator De Crescimento Vascular Endotelial
VPP	Valor Preditivo Positivo

## INDICE

<b>1.0 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2.0 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1 PRÉ-ECLÂMPسيا -GENERALIDADES.....	17
2.2 FISIOPATOLOGIA DA PRÉ-ECLÂMPسيا E RINS.....	23
2.3 CISTATINA C .....	26
2.3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA E USO CLÍNICO.....	26
2.4 MARCADORES RENAI S DE LESÃO GLOMERULAR NA PRÉ-ECLÂMPسيا.....	28
<b>3.0 OBJETIVO GERAL</b> .....	35
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	35
<b>4.0 PACIENTES E MÉTODOS</b> .....	36
4.1 PACIENTES .....	36
4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	36
4.3 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS .....	36
4.4 DOSAGEM DA CISTATINA C.....	37
4.5 TÉCNICA DE DOSAGEM DA CISTATINA C .....	37
4.6 DOSAGEM DA CREATININA .....	40
4.7 DOSAGEM DA UREIA .....	40
4.8 FÓRMULA PARA CÁLCULO DA TFG .....	41
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	41
4.10 QUESTÕES ÉTICAS E FINANCIAMENTO DA PESQUISA .....	42
<b>5.0 RESULTADOS</b> .....	44
5.1 ANÁLISE DESCRITIVA.....	44
<b>6.0 DISCUSSÃO</b> .....	68
6.1 IMPORTÂNCIA DE UTILIZAÇÃO DE NOVOS E MAIS SENSÍVEIS MARCADORES DA LESÃO GLOMERULAR EM GESTANTES COM PRÉ- ECLÂMPسيا.....	68
6.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS GRUPOS AVALIADOS .....	69
6.3 MARCADORES DISPONÍVEIS ATUALMENTE PARA PREDIÇÃO DA PE .....	71
6.4 POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DA CISTATINA C PLASMÁTICA E URINÁRIA COMO MARCADOR RENAL .....	74
6.5 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DOS MARCADORES URÉIA E CREATININA .....	76

6.6 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA CISTATINA C .....	77
6.7 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL: USO DA FÓRMULA DE HOEK EMPREGANDO CISTATINA C SÉRICA.....	80
6.8 ANÁLISE DA ACURÁCIA PARA TESTE PREDITIVO DOS MARCADORES ESTUDADOS.....	81
6.9 PROPOSTAS DE NOVOS ESTUDOS POTENCIAIS A PARTIR DESTE ESTUDO INICIAL.....	82
<b>7.0 CONCLUSÕES.....</b>	<b>84</b>
<b>8.0 BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>85</b>
<b>9.0 ANEXOS .....</b>	<b>105</b>
9.1 TERMO DE CONSENTIMENTO .....	105
9.2 ARTIGO PUBLICADO .....	107

## 1.0 INTRODUÇÃO

Trilhar o caminho da carreira científica para mim teve seu início no curso de Ciências Biológicas já no primeiro semestre, quando fui participar de um projeto de extensão. A Biologia sempre me promoveu grandes oportunidades para conhecer renomados pesquisadores e pesquisas instigantes. Nas diversas perspectivas que a ciência possui, a pesquisa é uma mola propulsora que nos mostra o quanto já aprendemos e quantas coisas ainda faltam para serem aprendidas.

E dentro desse doutorado, vislumbrei a possibilidade de romper meus paradigmas e viver esse novo desafio, que foi estimulado pelo memorável e insígne professor André Roquete. Foi então, que percebi dramaticamente o quanto a cada dia estava adquirindo um novo conhecimento tendo uma nova experiência em uma área distinta daquela trilhada na graduação.

Dentro do grupo que se intitula Centro de Medicina Fetal (CEMEFE) do Hospital das Clínicas (UFMG) fui carinhosamente abraçada por ilustres professores. E, logo foi notório que a missão científica nesse centro de referência é espalhar conhecimento e beneficiar um número maior de pacientes das diferentes classes sociais de Minas Gerais. Participei de diversas reuniões com professores, médicos residentes e outros profissionais que têm o intuito de trocar conhecimentos, promover discussões, melhorar atividade preventiva e diversos tratamentos oferecidos ao público alvo.

É um desafio, mesmo não sendo médica, poder contribuir com a elaboração dessa tese e ser mais um componente na “força tarefa” multidisciplinar que promove descobertas e resultados que envolvem a desafiadora doença que é a pré-eclâmpsia(PE). Além disto, esse grupo vinculado ao Programa de Pós- Graduação em Saúde da Mulher na Faculdade de Medicina da UFMG, dedica-se, incessantemente, a pesquisa em busca da elucidação da PE. Várias pesquisas nos antecederam e subsidiaram o presente estudo, sejam dissertações, teses e publicações. O CEMEFE forma uma linha de pesquisa concisa com diversos artigos publicados em periódicos de impacto nacional e internacional.

Dentro deste Programa de Pós-graduação, recorri a profissionais competentes e seus artigos diretamente focados no estudo que enfatizam a busca

de marcadores na PE. E também contei com o valioso apoio laboratorial no ICB (Instituto de Ciências Biológicas da UFMG), do grupo de Angiogênese da Professora Silvia Andrade e Professora Paula Campos.

Posso citar alguns trabalhos oriundos do CEMEFE como: tese da colega Érica Barcala, que também usou a cistatina C, trabalho intitulado “Estudo da dosagem da cistatina C urinária como biomarcador da função renal, em fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa”. Outro trabalho importante foi “Uromodulina: um novo marcador de função renal fetal?” que promoveu mais conhecimento científico na área. Além da dissertação, “Avaliação dos níveis séricos de ADMA e da dilatação fluxo mediada da artéria braquial em gestantes com fatores de risco para pré-eclâmpsia”

Recentemente, posso também citar o trabalho “Avaliação longitudinal da perfusão uterina, função endotelial e fluxo sanguíneos central em gestações complicadas por pré-eclâmpsia precoce com critérios de gravidade”. Portanto, poderia citar e listar diversos trabalhos desse grupo que merecem destaque, pois eles contribuem permanentemente com conhecimento e têm tido um impacto fundamental no direcionamento dos estudos da PE e coloca a “ciência” como ferramenta significativa para melhoria no dia-a-dia na área da saúde.

A tese apresentada encontra-se dividida em seis partes: a primeira parte apresenta uma revisão literária focada na apresentação sumária de conceitos, estudos científicos e referenciais teóricos necessários para a contextualização das hipóteses a serem testadas. A segunda caracteriza os objetivos. A terceira descreve a metodologia proposta e executada para seleção das pacientes, registro dos dados clínicos, dosagens laboratoriais, assim como os métodos estatísticos que foram utilizados. Quarta apresenta os resultados encontrados de forma descritiva e analítica, utilizando-se de gráficos e tabelas. A quinta parte discute os resultados encontrados frente à literatura científica atual, e faz considerações para sua aplicabilidade e perspectivas futuras. E a última aponta as conclusões.



## 2.0 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PRÉ-ECLÂMPسيا

PE é síndrome específica da gestação, sendo uma doença heterogênea, multifatorial, sem etiologia totalmente esclarecida e fisiopatologia complexa, sendo caracterizada primordialmente pelo aumento pressórico após as vinte semanas de idade gestacional, classicamente associada ao aparecimento de proteinúria (Steegers *et al.*, 2010).

Uma revisão, em 2103, gerou novas diretrizes do ACOG, e mostrou que para o diagnóstico de pré-eclâmpsia não é imperativo a detecção de altos níveis de proteína na urina (proteinúria). Deve-se focar então na presença de alterações laboratoriais como: plaquetopenia, transaminases e creatinina, ou mesmo clínicas: edema pulmonar, cefaléia e turvação visual; portanto a proteína urinária não é critério obrigatório para diagnóstico (Roberts *et al.*, 2013).

A presença de proteínas na urina de grávidas em pequenas quantidades é normal. No caso de grávidas com PE, a proteinúria pode ser indicativa que o rim pode estar sendo acometido por alterações morfológicas e funcionais acentuadas. Considera-se as manifestações renais típicas como a diminuição do fluxo plasmático renal e a diminuição da taxa de filtração glomerular (Coelho *et al.*, 2004). Evidências indicam que danos renais podem ocorrer sem sinais de proteína, e ainda há achados que a quantidade de proteína na urina não prediz o quão severa a doença irá progredir. (Roberts *et al.*, 2013).

Alerta-se, também que dentre as manifestações multissistêmicas que a doença promove, é no rim que se expressa de forma mais contundentes as alterações endoteliais quando ocorre o evento pré-eclâmpico. Nesse tipo de distúrbio hipertensivo na gestação que pode evidenciar a importância das lesões glomerulares, além da endoteliose renal (Holt *et al.*, 2007). Portanto, as alterações renais na PE podem ser nefropatias grávidas em que há manifestações patológicas tanto nos rins quanto nos vasos, que aparecem na gestação e desaparecem após o parto (Almeida, 2017).

Na gravidez normal, a filtração do rim aumenta cerca de 40-60% no primeiro trimestre, e se mantém elevada até o final em uma gestação normal. Enquanto, em

gestações com pré-eclâmpsia a filtração renal cai entre 30-40% em relação aos valores normais da gravidez, podendo essa situação estar conjugada ao aparecimento da proteinúria e mais tardiamente queda na contagem das plaquetas. Em doenças hipertensivas específicas da gravidez como a PE, o ganho de peso pode ser excessivo na fase terminal; no qual o processo culmina com oligúria, rápido acúmulo de líquido, convulsão, e morte do feto e/ou mãe (Valério, 2005). O evento pode ter um início aparentemente enganoso e lento, com mínimas alterações de plaquetas e nas avaliações da função hepática. O aumento na pressão sanguínea e a alteração renal podem ser discretos ou ausentes, mas podem progredir rapidamente para um quadro completo de síndrome HELLP (Hemolysis elevated liver enzymes and low platelet) (Suresh, 1998). Essa sequência pode evoluir em um período de semanas a meses, mas a fase final é rápida. Valério (2005) aponta que a doença pode provocar também alterações como aumento do tufo glomerular, com isquemia e espessamento das paredes vasculares, características típicas de uma lesão renal específica da pré-eclâmpsia que se denomina endoteliose capilar glomerular (Do Rio et al., 2004).

Segundo os critérios pontuados pelo National Blood Pressure Education Program Working Group (NHBPEPWG), a PE pode ser clinicamente classificada como leve e grave. Esta classificação é fundamentada em critérios clínicos objetivos e é extensamente empregada, reflete seu prognóstico e orienta as condutas em gestações consideradas de alto risco (Tabela 1). Portanto, essa fundamentação nos critérios auxilia no entendimento e na interrupção de outras manifestações clínicas mais sérias como a eclâmpsia, a síndrome HELLP e a coagulação intravascular disseminada (Roberts et al., 2013).

**Tabela 1- Critérios diagnósticos para pré-eclâmpsia**

**Pré-eclâmpsia leve**

•Elevação da PA sistólica em 30 mmHg/PA diastólica em 15 mmHg ou PA >140x90 mmHg após a 20ª semana de gestação sem ultrapassar 110 mmHg de níveis de PA diastólica (considerando a fase V de Korotkoff com a paciente na posição sentada e aferição no braço direito);

•Proteinúria de 24 horas > 300 mg (0,3 g) e < 2 g/l positivo (na fita); Ausência de sinais clínicos e/ou laboratoriais de comprometimento sistêmico materno ou fetal grave.

---

### **Pré-eclâmpsia grave**

•PA > 160x110 mmHg aferida em duas medidas com intervalo de no mínimo 2 horas e após repouso;

- Proteinúria de 24 horas > 2g em 24 horas;
- Dor epigástrica ou no abdome superior;
- Alterações visuais;
- Exacerbação dos reflexos tendinosos profundos, devendo ser aferidos dois reflexo(patelar e em membros superiores);
- Cefaléia;
- Alterações comportamentais;
- Dispneia e sinais de congestão pulmonar;
- Icterícia;
- Volume urinário < 400 mL em 24 horas ou 100 ml em 4 horas (duas medidas);
- Trombocitopenia (< 100.000/mm<sup>3</sup>);
- Elevação de enzimas hepáticas, LDH;
- Presença de hemácias anormais em esfregaço sanguíneo;
- Restrição do crescimento intra uterino(RCIU)

A classificação, em estudo de referência, em forma leve/grave da PE foi discutida e atualmente é bastante utilizada (Gifford, 2000). Nesse caso essa classificação é considerada vantajosa ao se associar ao diagnóstico de CIUR ao nascimento, em relação à classificação agrupamento dos casos, de acordo com o momento gestacional da ocorrência do diagnóstico (REIS, et al. 2010). Sabe-se que das pacientes que desenvolvem PE, 25% são classificadas como grave e 75%, como leve.

Para Reis *et al.* (2010), a multifatorialidade da patogenia da pré-eclâmpsia foi melhor esclarecida pela classificação em forma precoce ou tardia, enquanto as condições de nutrição fetal associaram-se melhor à severidade de suas manifestações clínicas (forma leve/grave) .

Não existe atualmente, um consenso na literatura quanto à idade gestacional de corte para a classificação da pré-eclâmpsia em precoce e tardia. Portanto, a classificação de PE utiliza-se como referencial a idade gestacional na qual surgem os sintomas, sendo utilizado normalmente o ponto de corte em 34 semanas. Ressalta-se que as formas precoce e tardia podem ser consideradas como doenças que possuem entidades etiopatogênicas distintas (Dekker *et al.*, 1995).

O surgimento da PE em momentos mais precoces, ou seja, que ocorre antes da 34ª semana, apesar de ser menos freqüente, determina um prognóstico mais desfavorável. Nesses casos, há complicações mais acentuadas na placentação, o que explica as lesões isquêmicas placentárias e a restrição de crescimento (Crispi *et al.*, 2006). Também, está associada com inadequada e incompleta invasão trofoblástica das artérias espiraladas maternas, alterações no fluxo das artérias uterinas, aumento da resistência das artérias umbilical. Diante desse quadro, a forma precoce está associada à alta morbidade materna e perinatal e há chance de 50% de recorrência em gestações subseqüentes, além do aumento da incidência de hipertensão crônica a longo prazo (Jim *et al.*, 2010).

Cerca de 1% de todos os casos de PE e, cerca de 10% dos casos de PE grave exigem partos antes de 34 semanas de gestação. Quanto mais precoce ocorre a PE, maior o risco de morte materna e perinatal (Sibai *et al.*, 1995).

Por outro lado, a PE tardia, com início a partir da 34ª semana gestacional, é a mais frequente, responsável por mais de 80% de todos os casos, e geralmente é

associada a uma placentação adequada ou levemente comprometida, e os resultados perinatais são mais favoráveis, caracterizada por ausência ou leve resistência ao fluxo nas artérias uterinas, menor comprometimento do crescimento fetal. Além de ser acompanhada de massa ou superfície placentária aumentada (diabetes, gestação múltipla, anemia) (Sibai, 2008; Jim et al., 2010).

O parto é a única cura para a doença. A decisão da realização do parto de imediato versus a continuidade da gestação depende de:

1. Forma clínica e gravidade da progressão da doença
2. Idade gestacional
3. Condição clínica materna e bem estar fetal (Sibai *et al.*, 2007).

ACOG (2017) recomenda condutas nos casos com PE. Devem-se fazer avaliações maternas contínuas e frequentes para avaliar a gravidade e progressão da doença.

Avaliação laboratorial:

- CBC
- Creatinina
- AST, ALT
- Proteína de urina de 24 horas e depuração de creatinina
- Considere a relação proteína / creatinina, urinanálise, ácido úrico, lactato desidrogenase, bilirrubina total, esfregaço de sangue periférico e coagulação perfil para esclarecer o diagnóstico

Avaliação dos sintomas:

- Distúrbios cerebrais ou visuais de início recente
- Falta de ar
- Dor no quadrante superior direito

Avaliação do exame físico:

- Exame Pulmonar
- Edema

As avaliações maternas devem ser repetidas conforme clinicamente indicado.

A conduta que aguardar e postergar o parto de pacientes ambulatoriais deve incluir assistência materna duas vezes por semana.

#### Avaliação materna:

- A monitorização materno-fetal por um médico / enfermeiro é aconselhada durante tratamento da hipertensão grave de início agudo.
- Não é necessário monitoramento cardíaco.
- É necessária uma pressão sanguínea precisa para gerir de forma ideal a hipertensão ou a gravidez.
- O monitoramento da pressão arterial deve ser padronizado baseado na conduta com padrão-ouro.

#### Avaliação fetal:

- Frequentes avaliações fetais contínuas são necessárias para avaliar a gravidade e a progressão de doença.
- Avaliação do crescimento fetal no momento do diagnóstico e repetido como clinicamente indicado. Testes a cada duas semanas.

Em relação à conduta da pré-eclâmpsia, existem possibilidades básicas quando se avalia a paciente com idade gestacional inferior a 34 semanas: verifica-se a vitalidade fetal e gravidade da doença para avaliar o risco de gestação prolongada (Dekker et al., 1995). Nesse caso, há um aconselhamento pré-natal de alto risco com avaliação da proteinúria, repouso relativo, controle de peso, acompanhamento com hemograma, função hepática e renal (Roberts et al., 2013).

Outra possibilidade é a indução de parto com a resolução da gravidez, com a consequente retirada do conceito, para as pacientes que estão com idade gestacional superior a 34 semanas. O parto pode ser indicado, mas a situação ideal depende da vitalidade fetal (Sales e Franco, 2009).

Quando a doença é identificada quanto à gravidade, como eclâmpsia e síndrome HELLP, está formalmente recomendado a interrupção da gravidez, ainda que não se deva ser imediata nem intempestiva. Há necessidade de estabilização da condição clínica materna (Amorim, 2010). Na pré-eclâmpsia grave com condição materna estável e vitalidade fetal satisfatória, sugere-se que a conduta conservadora melhore o prognóstico perinatal, reduzindo a morbimortalidade neonatal (ACOG, 2002). Posterga-se, portanto, o parto para depois da 34ª semana. A indução pode ser oferecida depois dessa idade gestacional (Amorim, 2010).

Na pré-eclâmpsia classificada como leve, mantendo-se vigilância do bem-estar materno e fetal, a gravidez pode prosseguir até o termo (Amorim, 2010). Pode-se eventualmente aguardar a 40ª semana se a hipertensão for bem controlada e não houver sinais de agravamento do quadro, uma vez que existe a possibilidade da gestante entrar espontaneamente em trabalho de parto e ter maiores chances de um parto vaginal (ACOG., 2002).

## 2.2 FISIOPATOLOGIA DA PRÉ-ECLÂMPSIA E OS RINS

A pré-eclâmpsia apresenta um grande risco para binômio mãe-feto e quando presente, as complicações obstétricas graves são 25 vezes mais elevadas. É uma das principais responsáveis pela morbimortalidade materna e fetal (Sibai *et al.*, 2005; Roberts *et al.*, 2013). No Brasil, a PE somada às demais desordens hipertensivas, lideram as causas deste tipo de morte, representando em torno de 25% dos óbitos maternos investigados (Laurenti *et al.*, 2004). A doença também aumenta os riscos fetais, associada ao aumento risco de morte fetal, morte neonatal, restrição de crescimento intrauterino e parto prematuro (Payne *et al.*, 2014).

A literatura sugere a interação de vários mecanismos responsáveis pela característica multisistêmica da doença, como: placentação inadequada (Pijnenborg *et al.*, 1983); resposta inflamatória excessiva (Redman *et al.*, 1999; Kharfi *et al.*, 2003; Redman e Sargent, 2003), má adaptação imunológica (Dekker e Sibai, 1999); estresse oxidativo (Gupta *et al.*, 2005; Redman e Sargent, 2005); disfunção endotelial (Khan *et al.*, 2005), angiogênese insuficiente (Levine *et al.*, 2006); trombose e ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Elsheikh *et al.*, 2001).

Embora a causa exata seja desconhecida, os processos fisiopatológicos da PE promovem manifestações maternas sistêmicas que convergem para alteração da função endotelial, o que pode resultar em danos de múltiplos órgãos (Stegers *et al.*, 2010). Os rins estão entre os órgãos centrais afetados na PE, e o nível da injúria pode estar relacionado ao pior prognóstico materno, perinatal, ao maior risco

de desenvolver complicações, como eclâmpsia e síndrome HELLP (Coelho *et al.*, 2004; Holt *et al.*, 2007).

Durante a gestação com PE, ocorrem alterações fisiológicas e anatômicas em todo o trato urinário, detecta-se a microalbuminúria que é um marcador de lesão endotelial renal, resultante do dano vascular local ou sistêmico, que está associada ao maior risco cardiovascular nessas pacientes (Facca *et al.*, 2012). Portanto, o mecanismo responsável pelo comprometimento da função renal na PE está relacionado à vasoconstrição renal e endoteliose glomerular que torna definitivo o diagnóstico, após a biópsia renal.

O acometimento renal na PE está intimamente associado à existência de podocitopatia, que se correlaciona com a patogênese da proteinúria e gravidade da doença (Garovic *et al.*, 2007). O podócito, quando danificado, perde suas interdigitações, iniciando um processo de desdiferenciação. Sua aderência à membrana glomerular basal torna-se inadequada e, conseqüentemente, ele é excretado na urina. A membrana desnuda e assim favorece o aparecimento de sinéquias e glomeruloesclerose que, clinicamente, manifesta-se por proteinúria, afetando o rim funcional e morfológicamente (Stillman e Karumanchi, 2007).

As manifestações renais típica na lesão renal da pré-eclâmpsia são: o aumento da excreção urinária de proteínas, bem como a diminuição na filtração glomerular e no clearance de ácido úrico, o último causando a característica hiperuricemia (Chesley *et al.*, 1945), que pode refletir um dano renal progressivo (Yoshimura *et al.*, 1990; Kahhale *et al.*, 1992).

O ácido úrico apresenta níveis séricos acima de 5mg/dl e nesse caso são considerados anormais em mulheres grávidas, podendo assim auxiliar a detecção e a evolução da PE. Porém, isoladamente o ácido úrico não é bom preditor que evidencia as complicações da PE e requer atenção na avaliação complementar devido a redução na taxa de filtração glomerular (Beaufils *et al.*, 1981). Roberts e colaboradores relatam que a hiperuricemia pode ser um indicador de aumento de risco para desfechos perinatais complicados e desfavoráveis. Os autores conseguiram demonstrar uma forte associação com gestações mais curtas e com aumento do risco de nascimentos pré-termo (Roberts *et al.*, 2005).



Cerca de 1,8% das gestantes com PE desenvolvem insuficiência renal aguda (Sibai *et al.*, 1990) que quase sempre é secundário a necrose tubular aguda. Em geral, cerca de 30% a 50% das pacientes com insuficiência renal aguda necessitam de diálise durante a gestação.

## 2.3 CISTATINA C

### 2.3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA E USO CLÍNICO

Cistatina C sérica é uma proteína monoglicosilada, tem baixo peso molecular 13 kDa com 122 aminoácidos, é sintetizada por um gene expresso em todas as células nucleadas com ritmo constante de produção e independe da massa muscular. Essa cadeia polipeptídica da cistatina C humana foi determinada em 1981 (Abrahamson *et al.*, 1991; Filler *et al.*, 2005). Sabe-se que a sequência de aminoácidos de cistatina C foi a primeira seqüência da superfamília da cistatina a ser determinada. A família de cistatina humana, portanto, atualmente compreende 12 proteínas. O ponto isoelétrico de cistatina C é 9,3; e a proteína é carregada positivamente em praticamente todos os fluidos corporais (Abrahamson *et al.*, 1991).

A determinação plasmática da cistatina C tem sensibilidade elevada quando se avalia o índice de filtração glomerular (Larsson *et al.*, 2004; Grubb, Nyman, *et al.*, 2005; Le Bricon *et al.*, 2005). A concentração média normal dessa proteína é de 0,7 mg/dL e aumenta proporcionalmente com a diminuição da taxa de filtração glomerular. Esta alta sensibilidade está relacionada ao fato da cistatina C ter produção constante, e ainda essa produção não ser influenciada por ações inflamatórias, pela dieta ou massa muscular; além de não ocorrerem variações no sexo do paciente (Bouvet *et al.*, 2006). Para enfatizar a importância da cistatina C na avaliação renal, estudos demonstraram que os níveis séricos de cistatina C começam a aumentar quando a TFG está em torno de 88 ml/min, enquanto a concentração sérica de creatinina somente aumenta quando a TFG está abaixo de 75 ml/min (Larsson *et al.*, 2004; Grubb, Nyman, *et al.*, 2005; Bacchetta *et al.*, 2011).

Muitos estudos validaram o uso da cistatina C em indivíduos adultos saudáveis (Erlandsen *et al.*, 1998; Seco *et al.*, 1999; Finney *et al.*, 2000; Fliser e Ritz, 2001) e em portadores de variadas doenças renais com TFG em todos os níveis (Fliser e Ritz, 2001; Le Bricon *et al.*, 2005). A correlação da cistatina C com diversos marcadores exógenos de TFG apresenta coeficientes muito interessantes

entre os níveis séricos de cistatina C e TFG mensurada por esses métodos, indiscutivelmente melhores que o da creatinina sérica (Woitas *et al.*, 2000; Dharnidharka *et al.*, 2002).

Apesar de ser reconhecidamente um avanço da medicina laboratorial, a dosagem de cistatina C ainda é muito pouco utilizada, mas estudos evidenciam que a cistatina C correlaciona-se melhor como marcador do que a creatinina sérica em pacientes adultos e é, portanto, uma alternativa potencialmente melhor como marcador de danos renais (Sodré *et al.*, 2007).

Em crianças, a partir do primeiro ano de vida, a cistatina C seria constante até a fase adulta (Schwartz *et al.*, 2009). Kirsztajn (2007) e colaboradores descreveram uma acurácia melhor para cistatina C em relação à creatinina para aferição da TFG em crianças, quando comparado à inulina. Finney *et al.* (2000) definiram, pela primeira vez, os intervalos de referência para a concentração sérica de cistatina C em grupo pediátrico, notando que a sua concentração não se alterava por influência de variáveis antropométricas, como peso e massa muscular, no desenvolvimento das crianças. Por outro lado, a concentração de creatinina sérica aumenta com a idade, até o início da adolescência, em virtude do ganho de massa muscular que ocorre com o crescimento (Bökenkamp *et al.*, 1998; Hahn *et al.*, 2001).

Adicionalmente, mais estudos sugeriram que a cistatina C seria um marcador mais sensível do que creatinina sérica para pequenas alterações na TFG em pacientes com doenças coronarianas, e ainda seria um bom indicador de início para insuficiência renal leve (Shlipak *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2007). A menor variabilidade nas determinações sanguíneas da cistatina C, sua meia-vida mais curta e o seu menor volume de distribuição tornam a cistatina C um marcador de função glomerular com maior sensibilidade para detectar diminuições leves da taxa de filtração glomerular na doença renal crônica do que a creatinina e outras moléculas de baixo peso molecular (Dharnidharka *et al.*, 2002).

Entendendo a grande limitação da creatinina em demonstrar o comprometimento da filtração glomerular que ocorre com o envelhecimento, a cistatina C pode ser um marcador alternativo para determinar diminuição da TFG nos idosos (Neto e De Souza, 2017). Em grandes estudos de coorte prospectivos

em idosos saudáveis (Shilpak *et al.*, 2005; Shilpak *et al.*, 2006), foram encontrados altos valores de cistatina C que mostraram fator de risco independente para mortalidade, principalmente de causa cardiovascular como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico. Estes achados reforçam essa associação em pessoas idosas; pois à medida que valores de cistatina C aumentaram houve correspondência com as taxas mais elevadas de mortalidade.

Poucos estudos analisaram a importância da cistatina C na ocorrência da gravidez, e na PE. c encontraram maiores concentrações de cistatina C em mulheres grávidas a termo e seus recém nascidos. Strevens (2001) e colaboradores mostraram melhor desempenho diagnóstico quando comparado com creatinina sérica, o mesmo grupo também mostrou que a correlação entre cistatina C e TFG foi definida em diferentes níveis para mulheres grávidas e não grávidas. Com isso, mostrou que cistatina C aumenta progressivamente a partir do segundo para o terceiro trimestre em gravidez sem intercorrências (Stevens *et al.*, 2002). Adicionalmente, Thilaganathan *et al.* (2009) evidenciaram que há aumento significativo nas concentrações séricas de cistatina C nas pacientes com PE. E ainda, acredita-se que esse acréscimo é um reflexo da função renal alterada que indica um prejuízo na filtração renal.

## **2.4 MARCADORES RENAIIS DE LESÃO GLOMERULAR NA PRÉ-ECLÂMPSIA**

Considerando que doenças renais só se manifestam clinicamente quando mais de 50% a 75% da função renal já está afetada, pesquisadores incluem como um dos principais alvos os novos biomarcadores que visam tanto diagnóstico precoce de PE, quanto o auxílio no prognóstico de possíveis lesões renais (Dusse *et al.*, 2016). Dessa forma, há propostas envolvendo o sistema renal, pré-eclâmpsia e promissores marcadores (Kirsztajn, 2007).

Os métodos considerados padrão-ouro na avaliação da TFG baseiam-se na depuração das substâncias exógenas como o iohexol, a inulina, o ácido etileno diaminotetracético (EDTA), o ácido etileno diaminopentacético (DTPA), o iotalamato . Porém, a utilidade no dia a dia dessas substâncias fica limitada a

alguns protocolos ou circunstâncias, pois a informação precisa sobre a função renal é imprescindível. Além de serem técnicas laboratoriais com alto custo, elas ainda necessitam de tempo prolongado para sua realização, e por tudo isso, tornam o método inconveniente e de aplicabilidade clínica limitada (Kahhale *et al.*, 1992).

Na prática clínica, a avaliação da TFG utiliza substâncias de produção endógena e que são eliminadas pelos rins e podem ser determinadas de forma menos complexa e oferecem resultados mais rápidos, (Gabriel *et al.*, 2011) porém essas substâncias também apresentam limitações.

Historicamente, substâncias endógenas como a ureia sérica é considerada um marcador útil para TFG, mas a alta dependência da ingestão protéica e da hidratação tornaram a sua interpretação inconsistente (Spencer, 1986). A depuração renal de creatinina é mais rotineiramente na prática clínica seja por meio de sua determinação sérica isolada ou em conjunto com a coleta de urina de 24 horas para a determinação da depuração de creatinina (Dalton, 2011).

Nos últimos anos, a utilidade clínica da dosagem da creatinina no diagnóstico de doença renal, permitiu monitoramento da progressão de lesões renais. O desenvolvimento de fórmulas para a estimativa da TFG com base na creatinina sérica reitera a continuidade e importância deste biomarcador. Porém, sabe-se da limitação em que o nível sérico da creatinina depende da idade, sexo, do estado nutricional e massa muscular. Adicionalmente, outro problema é o fato da creatinina guardar uma relação inversa com a TFG (Grubb, Nyman, *et al.*, 2005).

Observando essas limitações e alinhada a busca do “marcador ideal da TFG”, pesquisas recentes têm sido direcionadas às substâncias endógenas como: cistatina C, VEGF, proteína beta traço (PBT), nefrina e dimetilarginina simétrica. Substâncias relevantes e promissoras geraram trabalhos e resultados consistentes, fidedignos e superiores à creatinina sérica (Dalton, 2011).

Adicionalmente, biomarcadores como as proteínas angiogênicas produzidas pela placenta, como sFlit-1, endoglin solúvel e VEGF que contribuem na patogênese da PE, também podem ser úteis na identificação e desenvolvimento da lesão renal. Essas moléculas não são capazes de atravessar as membranas da máquina da diálise e assim podem servir de marcadores úteis no diagnóstico da

doença (Maynard *et al.*, 2003; Shan *et al.*, 2008). Há resultados de pesquisas que sugerem que a mensuração de fatores antiangiogênicos podem se tornar um substituto da biópsia renal para estabelecer diagnóstico (Maynard *et al.*, 2003).

Maynard *et al.* (2003) descrevem ainda que os níveis séricos de VEGF e sFlt-1 estão diminuídos em roedores e que os modelos animais desenvolveram uma síndrome clínica com características de pré-eclâmpsia, incluindo endoteliose glomerular, proteinúria e hipertensão.

A partir do tecido renal retirado de autópsia de mulheres pré-eclâmplicas identificou-se uma redução na expressão de nefrina e sinaptopodina em glomérulos com grávidas com PE (Garovic *et al.*, 2007). Nefrina e sinaptopodina são proteínas podocitárias e são essenciais para a manutenção das funções do podócito e a integridade do diafragma da fenda. Corroborando com esses resultados, Sugimoto *et al.* (2003) demonstraram que os anticorpos anti-VEGF e a sFlt-1 causavam descolamento e hipertrofia de células endoteliais glomerulares, bem como regulação negativa da nefrina, uma proteína epitelial chave no aparato de filtração glomerular. Este estudo sugere que a regulação negativa ou neutralização do VEGF circulante pode desempenhar um papel importante na indução da proteinúria em várias doenças renais, algumas formas de terapia do câncer e também em mulheres portadoras de pré-eclâmpsia.

#### **2.4.1 TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR E FÓRMULAS**

A taxa de filtração glomerular é considerada a melhor medida geral da função renal e a mais facilmente compreendida. Ela é definida como a capacidade dos rins para eliminar uma substância do sangue e é expressa como o volume de sangue que é completamente depurado por unidade de tempo. Na prática clínica, a TFG é avaliada através de substâncias que normalmente são produzidas pelo corpo, como a uréia, a creatinina e mais recentemente a cistatina C (Herget-Rosenthal *et al.*, 2007).

Há evidência preliminar de que as concentrações séricas de cistatina C são influenciadas pelo uso de corticosteroides e estão relacionadas à idade, sexo, peso,

altura, tabagismo e nível de proteína C reativa, mesmo após o ajuste para a depuração da creatinina (Shlipak *et al.*, 2009). Existe a possibilidade de que a cistatina C venha a ser um marcador útil de disfunção renal precoce, como parte de programas de rastreamento (De Souza Brito *et al.*, 2016).

Algumas fórmulas que utilizam a cistatina C apresentaram melhores performances quando comparados com as equações que empregam a creatinina (Grubb, Nyman, *et al.*, 2005) ou foram similares (Macisaac *et al.*, 2006). Para alguns autores, a combinação das fórmulas que utilizam dosagens séricas de creatinina e cistatina C foi a melhor escolha, quando foram considerados dados demográficos (Larsson *et al.*, 2004; Ma *et al.*, 2007; Rigalleau *et al.*, 2008; Sjostrom *et al.*, 2008; Stevens *et al.*, 2008).

Em atual estudo, no qual envolve um grande número de pacientes com doença renal crônica moderada a severa, a cistatina C sérica diferente da creatinina sérica não foi afetada pela ingestão proteica da dieta, sendo independente de mudanças na TFG. Demonstrando assim, que a cistatina C pode fornecer estimativas mais precisas da TFG que a creatinina em pacientes com ingestão reduzida de proteínas (Shlipak *et al.*, 2006; Shlipak *et al.*, 2013). Já há achado em que os níveis de cistatina C não são afetados pela desnutrição, enquanto os de creatinina diminuem, fazendo com que a TFG seja superestimada (Dharnidharka *et al.*, 2002).

Destaca-se que, também no caso da cistatina C, como vem ocorrendo com a creatinina sérica, foram criadas fórmulas nos últimos anos com o intuito de avaliar a função renal com melhor precisão, estimando a TFG, (Larsson *et al.*, 2004; Grubb, Björk, *et al.*, 2005; Grubb, Nyman, *et al.*, 2005; Stevens *et al.*, 2008) em diferentes e diversos grupos amostrais.

**Tabela 2- Equações para estimativa da Taxa de Filtração Glomerular baseada na cistatina C sérica(mg/L) isoladamente ou conjugada com a creatinina sérica (mg/L)**

FÓRMULA	AUTORES
---------	---------

$TFG = -4,32 + 80,35 \times 1/cistatinaC$	(Hoek <i>et al.</i> , 2003)
$TFG = 87,1/cistatinaC - 6,87$	(Tan <i>et al.</i> , 2002)
$TFG = 66,8 \times cistatinaC^{-1,30}$	(Rule <i>et al.</i> , 2006)
$TFG = 99,19 \times cistatinaC^{-1,713} \times 0,823$ (se sexo feminino)	(Grubb <i>et al.</i> , 2005)
$TFG = 87,62 \times cistatinaC^{-1,693} \times 0,94$ (se sexo feminino)	(Grubb <i>et al.</i> , 2005)
$TFG = 86,7/cistatinaC - 4,2$	(Maclisacc <i>et al.</i> , 2006)
$TFG = 77,239 \times cistatinaC^{1,2623}$	(Larsson <i>et al.</i> , 2004)
$TFG = 177,6 \times creatinina^{-0,65} \times cistatinaC^{-0,57} \times idade^{0,20} \times 0,82$ (se sexo feminino) $\times 1,11$ (se raça negra)	(Stevens <i>et al.</i> , 2008)

Sabe-se que, não há concordância ainda qual é a fórmula que possa indicar uma precisão superior entre aquelas que empregam a cistatina C. Nem mesmo, há um consentimento geral, no caso em que há combinação dos dois marcadores. Considera-se que, possivelmente, as fórmulas são limitadas para uso quando a população amostral é heterogênea (Urbaniak *et al.*, 2008).

Deve-se ter o foco que, foram e estão sendo realizados diversos estudos, para se definir melhor o papel da cistatinaC e sua utilização na análise da função renal.



## 2.4.2 TESTE PREDITIVO E MARCADORES DA PRÉ-ECLÂMPZIA

O teste preditivo ideal deveria ter características como: não ser invasivo, de fácil execução e pouco oneroso, além de apresentar alta sensibilidade e especificidade.

Quanto maior a sensibilidade de um teste, maior a probabilidade de detectar a doença. Quanto maior a especificidade de um teste, maior a probabilidade de que pessoas sem a doença sejam excluídas pelo teste. O ideal seria um teste com alta sensibilidade e alta especificidade, mas isso raramente ocorre, pois elas estão inversamente correlacionadas (Pereira, 1995).

Pode-se também avaliar o teste diagnóstico ou decidir quais os pontos de corte são mais adequados através da chamada curva ROC (Receiver Operating Characteristic). Dentro da representação gráfica da curva ROC, quanto mais próxima a curva do ângulo superior esquerdo do gráfico, o teste terá a melhor sensibilidade e melhor especificidade quanto mais a curva afastar-se desse ângulo, pior será o teste (Fletcher et al., 2012).

Característica importante é a razão verossimilhança. Razão de verossimilhança para o teste positivo (RV+) expressa quantas vezes é mais provável encontrar um resultado positivo em pessoas doentes quando comparado com pessoas não doentes. É uma razão entre a probabilidade de um teste ser positivo, dado que existe a doença, e a probabilidade de um teste ser positivo, dado que não existe a doença (Fletcher et al., 2012)

No trabalho de Plasencia et al. (2007) em grávidas com PE, utilizou-se a história materna como referência de dado único. E assim, houve uma predição com cerca de 50 % de PE grave, que encetou antes de 34 semanas de gestação e com uma taxa de falso positivo (TFP) de 10%. Outro estudo, a uma TFP de 10%, obteve uma taxa de detecção para pré-eclâmpsia de início tardio com 40% e de início precoce com 45% (Poon et al., 2009).

Altos níveis de ácido úrico no sangue têm sido associados com PE desde 1917. Dano renal e o aumento da depuração de purinas quando ocorre isquemia

placentária sugere a hiperuricemia em pacientes com PE. As estimativas de sensibilidade e especificidade para o teste de predição de PE usando o ácido úrico sérico foram de 36% e 88%, respectivamente (Meads *et al.*, 2008).

Em pacientes que desenvolveram PE, o sFlt-1 e a razão sFlt-1/PIGF foram parâmetros que atingiram alta sensibilidade e especificidade, preenchendo 90,1% e 97,1% da área sob a curva ROC para a predição de PE (Simas *et al.*, 2007). Outro estudo indicou que os níveis séricos de PIGF baixos podem ser relacionados à presença de fatores de risco na história clínica e à elevação do índice de pulsatilidade no primeiro trimestre de gravidez. Achado indicou a predição para PE de 89,7% para uma taxa de falso positivo de 10%. Concluiu-se também uma associação positiva entre os baixos níveis séricos de PIGF e a severidade da PE (Akolekar *et al.*, 2008).

### **3.0 OBJETIVO GERAL**

- Verificar a concentração de cistatina C sérica e urinária como marcador de lesão glomerular, utilizando um grupo de gestantes normotensas e um grupo de gestantes com pré-eclâmpsia.

### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Correlacionar a concentração da cistatina C sérica com valores séricos da creatinina e da uréia nos grupos caso e controle.
- Verificar a correlação da cistatina C sérica e urinária como marcador de filtração glomerular (TFG) nos grupos caso e controle.
- Avaliar e comparar a acurácia da creatinina, uréia, Cistatina C sérica e urinária.

## **4.0 PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1 PACIENTES**

Trata-se de um estudo transversal para a determinação das concentrações séricas e urinária de Cistatina C em mulheres com diagnóstico de PE e mulheres normotensas. Foram selecionadas 44 gestantes com diagnóstico da pré-eclâmpsia (ACOG, 2017) e 24 normotensas na Maternidade Otto Cirne do Hospital das Clínicas da UFMG/EBSHER, entre o primeiro semestre de 2015 até 2016.

### **4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Foram incluídas gestantes com idade gestacional  $\leq 21$  semanas, que apresentavam pelo menos um dos fatores de risco para desenvolvimento de PE :

- História obstétrica:
  - Primiparidade
  - Primipaternidade
  - História de PE em gestação anterior;
- Obesidade, avaliada por  $IMC \geq 30 \text{kg/m}^2$ ;
- Idade  $\geq 35$  anos;
- Raça não-branca;
- Portadora de hipertensão arterial crônica.

Sendo considerados critérios de exclusão: tabagismo; gestação múltipla ou fetos com anomalias estruturais; histórico médico de doenças renal proteinúrica.

### **4.3 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS**

Houve coleta de uma amostra aleatória de 10 ml de urina que foi mensurada a proteinúria creatinina e a uréia de forma quantitativa e qualitativa. A leitura será positiva para proteinúria quando superior a +/+++ ( $\geq 300 \text{ mg/dL}$ ). Utilizou-se a dosagem da amostra de urina durante 24 horas, para cálculo do clearance da creatinina e da proteinúria. A coleta de até 5 ml sangue foi feita por punção de veia

braquial em sistema de *VACUTAINER* estéril contendo EDTA. A amostra de sangue foi centrifugada por 5 minutos em 5000rpm. O plasma foi aliquoteado em tubos de eppendorf devidamente identificados. As amostras foram armazenadas em freezer – 80°C até que se completou a coleção de amostra calculada.

#### **4.4 DOSAGEM DA CISTATINA C**

A análise quantitativa das concentrações séricas e urinária de Cistatina C foi realizada pela técnica de ELISA -Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Crispi *et al.*, 2006), que se baseia no princípio de “sanduíche” de anticorpos. Para detecção urinária e sérica da cistatina C foi utilizado *kit Duo Set* ELISA comercial da *R&D Systems*. Foi utilizada uma placa de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Crispi *et al.*) para cistatina C. O ensaio foi realizado conforme o protocolo de ELISA.

#### **4.5 TÉCNICA DE DOSAGEM DA CISTATINA C**

As amostras do plasma foram armazenadas em -80°C no laboratório do CEMEFE (Hospital das Clínicas UFMG/EBSHER). Foram transportadas para o Laboratório de Angiogênese do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG campus Pampulha, preservadas em gelo seco nesse trajeto. As amostras foram descongeladas, logo após centrifugadas e a partir daí começou-se o processo de dosagem.

##### **Sensibilização da placa de ELISA para CISTATINA C**

No 1º dia a realização do ensaio iniciou-se pela adição de anticorpos de captura 100µl específico previamente diluído em tampão PBS a 4 µg/mL a uma microplaca para ensaio de ELISA com 96 poços estéril. Sendo esta a fase de sensibilização da placa com anticorpos específicos. Essa placa ficou incubada overnight dentro da geladeira a 4°C, em uma caixa vedada e umedecida.

## Segunda etapa do ensaio para CISTATINA C: bloqueio

No segundo dia foi retirado todo o conteúdo dos poços vertendo a placa na pia de uma só vez. O excesso de anticorpo foi removido por lavagens manuais com tampão PBS-tween 20 (100µl/poço) cinco vezes usando-se pipeta de multicanal. Depois, foram colocados em cada poço 300 µL de tampão de bloqueio com 300µL de reagente diluente (1:10/ BSA 1% albumina serum bovina) em cada orifício. A placa foi vedada e incubada por uma hora em temperatura ambiente. Após esse tempo, o conteúdo da placa foi retirado e novas lavagens manuais foram realizadas com tampão PBS-tween20.

As amostras, contendo o antígeno que se desejava quantificar, foram então descongeladas e adicionadas (100µl/poço) em duplicatas aos poços da placa previamente identificados.

## Padronização do padrão da curva

O padrão foi reconstituído com 10,5mL com reagente diluente (kit diluído 1:10). Para o ensaio foi diluído a 10.000 pg/ml com reagente diluente. Foi feita a curva Padrão da seguinte diluição:

Tubo 60 µL padrão + 450 µL de reagente diluente= 510 µL de solução

510 µL de solução a 10.000pg/ml diluições seriadas 1:2.

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. 510 µL solução estoque.....                    | 10.000pg/ml  |
| 2. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução1..... | 5.000 pg/ml  |
| 3. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução2..... | 2.500 pg/ml  |
| 4. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução3..... | 1.250 pg/ml  |
| 5. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução4..... | 625 pg/ml    |
| 6. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução5..... | 312,5 pg/ml  |
| 7. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução6..... | 156,25 pg/ml |
| 8. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução7..... | 78 pg/ml     |
| 9. 250 µL reagente diluente + 250 µLsolução8..... | 39 pg/ml     |

10. 250 µL reagente diluente + 250 µL solução 9.....	19,5 pg/ml
11. 250 µL reagente diluente + 250 µL solução 10.....	9,75 pg/ml

As diluições seriadas das soluções da curva contendo 8 padrões de concentrações diferentes (x) foram pipetadas nos orifícios da placa e incubada *overnight* a 4°C. Nesta etapa ocorre a ligação dos antígenos da amostra com os anticorpos aderidos previamente à placa.

Foram pipetados 100 µL do branco e dos padrões em duplicatas em cada orifício da placa da curva obtida através da diluição, contendo 8 padrões de concentrações diferentes (x) foram pipetadas nos orifícios da placa .

As amostras foram descongeladas e centrifugadas a 12000 rpm por 10min, foram diluídas 1:3 com reagente diluente. Adicionaram-se as amostras urinárias, o qual tinha o antígeno pesquisado, que era o objetivo quantificar. Ocorreu a partir desse momento a ligação dos antígenos com os anticorpos, incubada a placa *overnight* a 4°C.

#### Terceira etapa do ensaio: detecção e revelação

No terceiro dia desprezou todo o conteúdo da placa. Foram realizadas lavagens com tampão de lavagem 5 vezes, afim de retirar o excesso da reação e adicionou-se (100µl/poço), anticorpo de detecção biotilado (part 842595), capaz de detectar a reação anterior entre anticorpo/antígeno, já ocorrida entre o antígeno da amostra e o anticorpo da placa, finalizando o chamado “sanduíche” de ELISA. Esse processo ficou incubado ao abrigo da luz (2h).

Após o processo de incubação foram feitas novas lavagens com tampão de lavagem 5 vezes com pipeta multicanal. Em seguida, o conteúdo dos poços das placas foi aspirado e seguido de novas lavagens (4x), e adicionou-se a estreptovidina (1:200/100µl/poço). A placa da reação foi coberta com papel alumínio ao abrigo da luz por 20 minutos, procedeu-se a nova lavagem (4x) e adicionou-se a solução substrato (100µl/poço- reagente de cor A e reagente de cor B 1:1 ref. DY 999). Observou-se o aparecimento de uma cor azulada em todos os

orifícios. Adicionou a solução stop para a paralização da reação em todos os orifícios. A cor passou a ser amarela

Foi realizada leitura em leitor de microplaca de ELISA, em absorbância, num comprimento de onda de 492nm. A conversão de absorbância para pg/ml foi obtida por meio da média aritmética da somatória das absorbâncias.

O ensaio de ELISA para cistatina C foi padronizado segundo o protocolo existente e cedido por colaboradores do Laboratório de Angiogênese. Esta curva foi construída conforme orientações do fabricante e as diluições foram adequando-se a diluição dos padrões e anticorpos de modo a tornar possível a detecção da cistatina C na urina e no plasma.

As dosagens de cistatina C em plasmática e urinária, de ambos os grupos, ou seja gestantes com pré-eclâmpsia e normotensas, foram confrontadas com os valores de marcadores de função renal apresentados no abaixo.

- Uréia plasmática
- Creatinina plasmática
- TFG

#### **4.6 DOSAGEM DA CREATININA**

Os valores de creatinina, realizados nas amostras, foram medidos no Hospital das Clínicas da UFMG/EBSHER, através do método de Jaffé modificada. O método consiste em uma reação colorimétrica entre a creatinina e o ácido pícrico, cujo produto é amarelo-avermelhado. Este método consiste em uma reação colorimétrica entre a creatinina e o ácido pícrico, cujo produto é amarelo-avermelhado (Jacobs e Bernard Jr, 1990; Tietz, 1995).

#### **4.7 DOSAGEM DA UREIA**

Os níveis de uréia plasmática foram dosados e medidos no Hospital das Clínicas da UFMG/EBSHER sendo determinados por teste enzimático



colorimétrico. O princípio básico da reação é a hidrólise da uréia em íons amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), através da enzima urease. Em pH alcalino e na presença de salicilato e hipoclorito de sódio, a amônia origina um composto esverdeado, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de uréia na amostra analisada (Jacobs e Bernard Jr, 1990; Tietz, 1995).

#### 4.8 FÓRMULA PARA CÁLCULO DA TFG

Para análise de TFG a partir da cistatina C plasmática utilizará a área de superfície corporal pela fórmula Stevenson e Hoek's para a estimativa de filtração glomerular :

---

##### EQUAÇÃO 1

Área de superfície corporal (BSA) foi calculado pela fórmula de Stevenson:

**Área de superfície corporal ( $\text{m}^2$ ) =  $0,016 \times \text{altura (cm)} + 0,0128 \times \text{peso corporal (kg)} - 0,1529$**

(Stevenson *et al.*, 1937)

---



---

##### EQUAÇÃO 2

TFG foi calculada pelo valor cistatina C detectado e a fórmula Hoek's

**TFG (ml / min) =  $-4,32 + 80,35 \times 1/\text{CysC} \times \text{BSA (m}^2) / 1,73$**

(Hoek *et al.*, 2003)

---

#### 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados em termos de média e desvio padrão ou ainda mediana e valores máximos e mínimos, conforme a característica da variável. O Teste para normalidade de Anderson Darling verificou a normalidade das variáveis contínuas numéricas. Para os testes de hipóteses, o nível de significância  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

A análise estatística utilizada foi o teste-t de médias para comparação de variáveis de distribuição paramétrica, e no caso das variáveis não-paramétricas, o teste de qui-quadrado para variáveis nominais e o teste de Mann Whitney para variáveis contínuas, nas comparações entre dois grupos.

Para avaliar a sensibilidade e especificidade da dosagem da Cistatina C plasmática e urinária para teste preditivo foi utilizada a curva ROC, assim como para uréia e creatinina plasmática.

Para avaliar o ponto de corte da creatinina e uréia para classificar a gestante que desenvolveu pré-eclâmpsia, isto quer dizer, o valor que estas variáveis deveriam assumir para maximizar a qualidade do resultado do teste preditivo foi ajustada uma Regressão Logística (Agresti, 2002). O ponto de corte encontrado para a concentração da creatinina foi de 0,90, sendo assim, quando a creatinina era maior que 0,90, a gestante era classificada com pré-eclâmpsia. O ponto de corte encontrado para a concentração da ureia foi de 22,87 sendo assim, quando a ureia era maior que 22,87, a gestante era classificada com pré-eclâmpsia.

Ao avaliar o ponto de corte da concentração da cistatina C urinária e da cistatina C plasmática para classificar a mãe com pré-eclâmpsia, isto quer dizer, o valor que estas variáveis deveriam assumir para maximizar a qualidade do resultado do teste preditivo por Regressão Logística (Agresti, 2002). O ponto de corte encontrado para cistatina C urinária foi de 0,82, sendo assim, quando a concentração da cistatina C urinária era maior que 0,82, a mãe era classificada com pré-eclâmpsia. O ponto de corte encontrado para a concentração da cistatina C plasmática foi de 0,64, sendo assim, quando a cistatina C plasmática era maior que 0,64 a mãe era classificada com pré-eclâmpsia.

As análises foram realizadas no software SPSS versão 20.0 considerando um nível de significância de 5%.

#### **4.10 Questões éticas e financiamento da pesquisa**

A participação do foi voluntária e houve consentimento verbal prévio e foi assinado Termo de consentimento livre e esclarecimento (ANEXO A) pelas gestantes. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CNAE 54429715.3.0000.5149 / Plataforma Brasil). O estudo recebeu apoio financeiro FAPEMIG, captado pelo Edital Universal, Projeto CDS APQ-01112-09.

## 5.0 RESULTADOS

### 5.1 ANÁLISE DESCRITIVA

Dentro da análise, recrutou-se 63,3% das grávidas que pertencem ao grupo caso com PE, enquanto 33,3% das gestantes são do grupo controle, que são consideradas normotensas (vide: critérios de inclusão). A tabela 3 sumariza as variáveis por percentagem que foram medidas no grupo das grávidas normotensas e com pré-eclâmpsia. A partir dessa tabela, pode-se verificar que não houve diferença significativa entre as variáveis caracterizadoras, sendo portanto um perfil de amostragem homogêneo quando se considerou essas variáveis.

**Tabela 3 - Características descritivas das variáveis qualitativas das grávidas normotensas e com pré-eclâmpsia.**

Variáveis	Grupo				Valor-p <sup>1</sup>	
	Caso		Controle			
Idade gestacional (semanas)	26-30	4	10,5%	5	22,7%	0,185
	31-34	8	21,1%	8	36,4%	
	35-37	20	52,6%	8	36,4%	
	Maior que 38	6	15,8%	1	4,5%	
Faixa etária (anos)	Menor ou igual a 21	10	26,3%	5	22,7%	0,632
	21 à 27	14	36,8%	6	27,3%	
	28à 34	5	13,2%	6	27,3%	
	Maior que 35	9	23,7%	5	22,7%	
Por Paridade	G1	26	68,4%	13	59,1%	0,071
	G2	5	13,2%	8	36,4%	
	>G3	7	18,5%	1	4,5%	
Raça	Branca	13	25,0%	9	40,9%	00,455
	Não branca	26	75,0%	13	59,1%	
História familiar de PE	Não	25	65,7%	18	81,8%	0,186
	Sim	13	34,3%	4	18,2%	

<sup>1</sup> Teste Exato de Fisher.

Já a tabela 4, resume as médias das variáveis quantitativas medidas nos dois grupos, destaca-se o IMC que foi considerado elevado entre as mulheres do grupo total, com média de  $36\text{kg/m}^2$  ( $dp\pm 2,9$ ), portanto uma classificação compatível com quadro de obesidade.

**Tabela 4- Características descritivas das variáveis quantitativas das grávidas normotensas e portadoras de PE.**

<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>
Idade Materna (anos)	60	27,27	6,37
Idade Gestacional (semanas)	60	34,48	3,09
Número de gestações	60	1,72	1,40
Intervalo de interpartal (anos)	20	5,10	3,26
Peso (kg)	60	78,80	18,31
Altura (m)	60	1,62	0,06
IMC ( $\text{kg/m}^2$ )	60	36,0	0,29
Creatinina (mg/dL)	53	0,67	0,20
Ureia (mg/dL)	54	15,97	5,38
Cistatina C Urina (mg/L)	60	0,52	0,21
Cistatina C Plasma (mg/L)	60	0,60	0,11
TFG	60	2003,90	1089,55

A Tabela 5 evidencia as variáveis qualitativas em percentual no grupo de grávidas que desenvolveram PE, podendo destacar que 21,4% das gestantes tinham história de PE anterior, também observou-se que 91,7% das grávidas declararam que essa gestação é do mesmo pai da gestação anterior. O marcador para PE, a média para variável proteinúria (volume de 24 horas) foi de 1319,80, enquanto a proteinúria em amostra única foi de 229,74.

**Tabela 5 - Descritiva das variáveis qualitativas que foram medidas apenas no grupo de grávidas com PE.**

<b>Variáveis do grupo com PE</b>		<b>N</b>	<b>%</b>
Portadora de HAS (n=38)	Não	33	86,8%
	Sim	5	13,2%
Proteinúria Fita (n=38)	1+	4	10,5%
	2+	10	26,3%
	4+	23	60,5%
	Traço	1	2,6%
História de PE anterior (n=14)	Não	11	78,6%
	Sim	3	21,4%
Mesmo pai (n=12)	Não	1	8,3%
	Sim	11	91,7%

A tabela 6 refere-se a coleta para mensuração da proteinúria dado o volume em 24 horas de coleta e dosado quantitativamente a concentração em amostra única.

**Tabela 6 - Descritiva das variáveis qualitativas que foram medidas apenas no grupo de grávidas portadoras de PE.**

<b>Variáveis do grupo com PE</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>D.P</b>
Proteinúria (volume de 24 horas)	8	1319,80	391,25
Proteinúria (amostra única)	16	229,74	122,68

A Tabela 7 apresenta a comparação das médias das variáveis quantitativas entre os grupos caso com PE e grupo controle de normotensas . A partir delas pode-se destacar as variáveis para prognóstico que:

- Houve diferença significativa (valor-p=0,021) da média da concentração da uréia entre os grupos, sendo que a uréia no grupo caso (17,00) foi maior que no grupo controle (13,54).
- Houve diferença significativa (valor-p=0,012) da média da concentração da cistatina C urinária entre os grupos, sendo que a cistatina C urinária no grupo caso (0,58) foi maior que no grupo controle (0,42).
- Houve diferença significativa (valor-p=0,002) da média da concentração da cistatina C plasmática entre os grupos, sendo que a cistatina C plasmática no grupo Caso (0,64) foi maior que no grupo controle (0,52).

**Tabela 7 -Comparação das variáveis quantitativas entre os grupos caso (PE) e controle**

Variáveis	Grupo						Valor-p**
	Caso			Controle			
	N	Média <sup>1</sup>	E.P.	N	Média <sup>1</sup>	E.P.	
Idade Materna (anos)	38	26,97	1,03	22	27,77	1,39	0,916
Idade gestacional (semanas)	38	35,16	0,51	22	33,32	0,58	0,540
Número de gestações	38	1,87	0,28	22	1,46	0,13	0,270
Intervalo de Interpartal (anos)	12	5,83	0,97	8	4,00	1,05	0,221
Peso(kg)	38	82,45	3,29	22	72,50	2,61	0,082
Altura (m)	38	1,61	0,01	22	1,62	0,01	0,422
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	38	36,4	0,05	22	35,3	0,05	0,243
Creatinina (mg/dL)	37	0,69	0,04	16	0,61	0,02	0,165
Ureia(mg/dL)	38	17,00	0,95	16	13,54	0,72	<b>0,021</b>
Cistatina C urina (mg/L)	38	0,58	0,03	22	0,42	0,04	<b>0,012</b>
Cistatina C plasma (mg/L)	38	0,64	0,02	22	0,52	0,02	<b>0,001</b>
TFG	38	1275,91	38,27	22	2261,35	168,10	<b>0,022</b>

<sup>1</sup> = Teste de médias; \*\*= Teste de Mann-Whitney;

**Tabela 8- Caracterização das pacientes quanto a pressão arterial em mmHg, por grupo**

Variáveis	Grupo	N	Media	Mediana	Desvio Padrão
PAS <sup>1</sup>	Caso	38	165,1	171,0	16,23
	Controle	22	111,0	115,0	7,95
PAD <sup>2</sup>	Caso	38	106,0	109,6	10,69
	Controle	22	75,6	76,0	9,54
PAM <sup>3</sup>	Caso	38	134,9	126,9	10,64
	Controle	22	86,5	87,6	9,2

<sup>1</sup>Pressão arterial sistólica <sup>2</sup>Pressão arterial diastólica <sup>3</sup>Pressão arterial média

A Tabela 9 apresenta os indicadores de qualidade para teste preditivo com cistatina C urinária, enquanto que a Figura 1 apresenta o gráfico da curva ROC dessa variável. Sendo assim, pode-se verificar que:

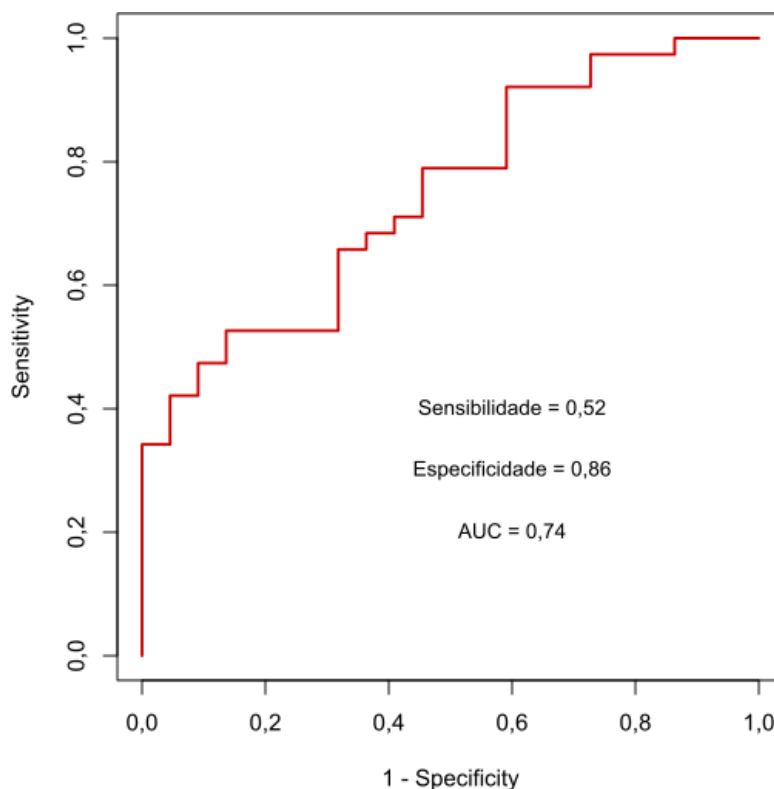
- A sensibilidade do modelo testado foi de 52,6%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 52,6% dos casos em que houve pré-eclâmpsia.
- A especificidade do modelo foi de 86,4%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 86,4% dos casos em que não houve pré-eclâmpsia.
- A área sob a curva ROC foi de 74,7%.



**Tabela 9- Indicadores de Qualidade do teste preditivo – Cistatina C Urinária.**

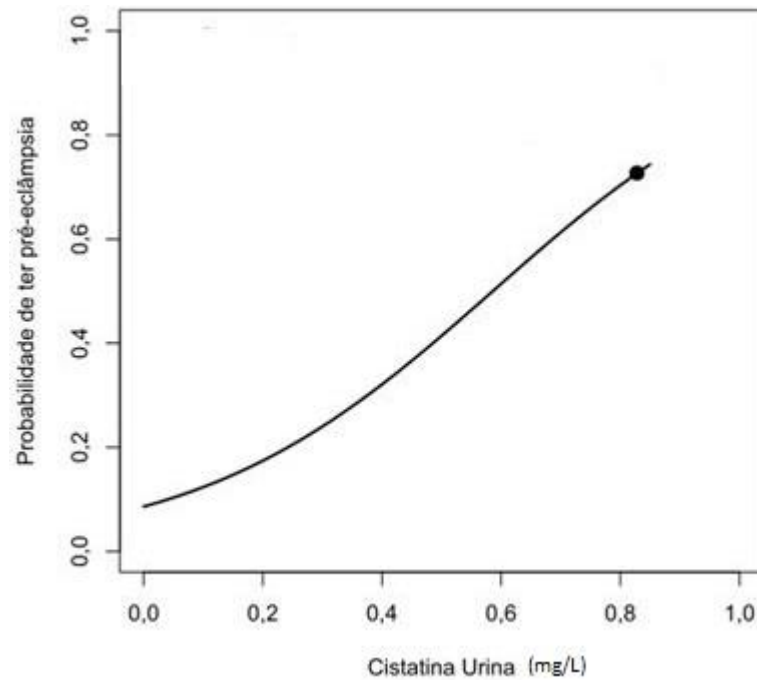
Medidas de Qualidade para CistatinaC Urinária		Doença	
		PRESENTE	AUSENTE
TESTE	POSITIVO	86,4%	47,4%
	NEGATIVO	13,6%	52,6%
Área sob curva ROC		74,7%	
Sensibilidade		52,6%	
Especificidade		86,4%	
Valor preditivo positivo		0,87	
Valor preditivo negativo		0,51	
Razão de Verossimilhança para teste positivo ( <i>likelihoodratio</i> )		3,86	
Acurácia		20,32	

**Figura 1- Representação gráfica da curva ROC – Cistatina C urinária.**



A Figura 2 sugere uma possível relação causal, em que a associação da cistatina C urinária com a chance da grávida ter PE é positiva e crescente. Que a probabilidade dada uma gestante ter PE no ponto de corte da concentração da cistatina C urinária é quase 80%.

**Figura 2 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração da cistatina C urinária.**



A Tabela 10 apresenta os indicadores de qualidade para resultado do teste utilizando a concentração da cistatina C plasmática, enquanto que a Figura 2 apresenta o gráfico da representação da curva ROC. Sendo assim, pode-se verificar que:

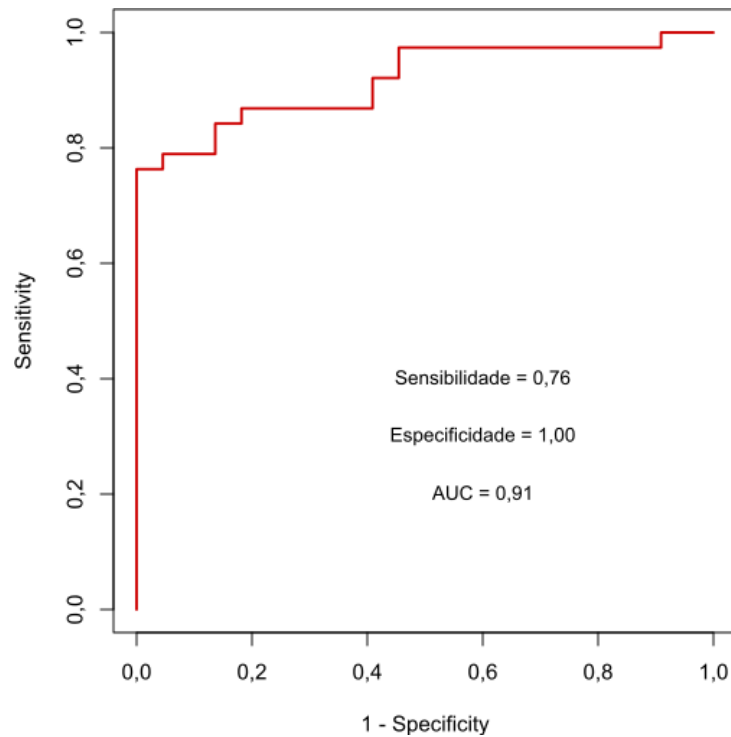
- A sensibilidade do modelo foi de 76,3%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 76,3% dos casos em que houve pré-eclâmpsia.
- A especificidade do modelo foi de 100,0%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 100,0% dos casos em que não houve pré-eclâmpsia.

- A área sob a curva ROC foi de 91,7%

**Tabela 10 - Indicadores de Qualidade do teste preditivo – Cistatina C plasmática.**

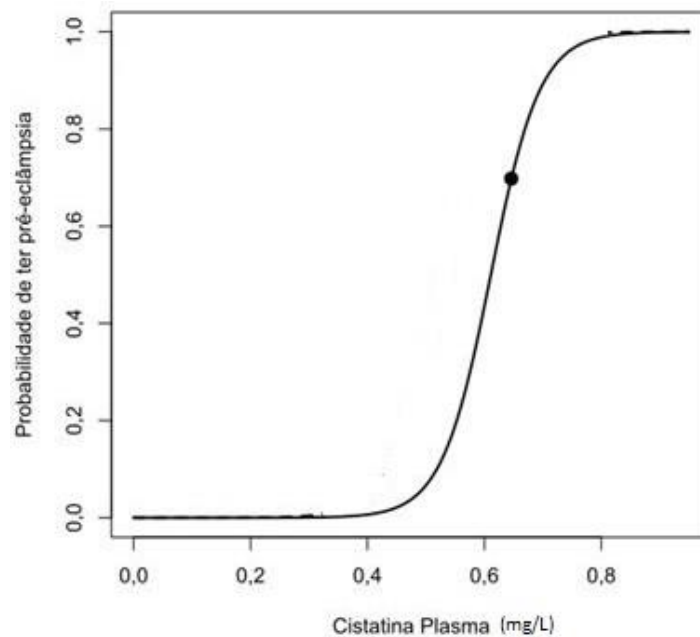
Medidas de Qualidade para Cistatina C plasmática		DOENÇA	
		PRESENTE	AUSENTE
TESTE	POSITIVO	76,3%	0%
	NEGATIVO	23,7%	100%
Área sob curva ROC		91,7%	
Sensibilidade		76,3%	
Especificidade		100,0%	
Valor Preditivo Positivo		1	
Valor Preditivo Negativo		0.71	
Razão de Verossimilhança para teste positivo ( <i>likelihoodratio</i> )		Infinito	
Acurácia		29,4	

**Figura 3- Gráfico representativo da curva ROC – Cistatina C plasmática.**



A Figura 4 sugere uma possível relação causal, em que há associação da cistatina C plasmática com a chance da grávida ter PE é positiva e crescente. Que a probabilidade dada uma gestante ter PE no ponto de corte da concentração da cistatina C urinária é em torno 70%.

**Figura 4 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração plasmática da cistatina C plasmática.**



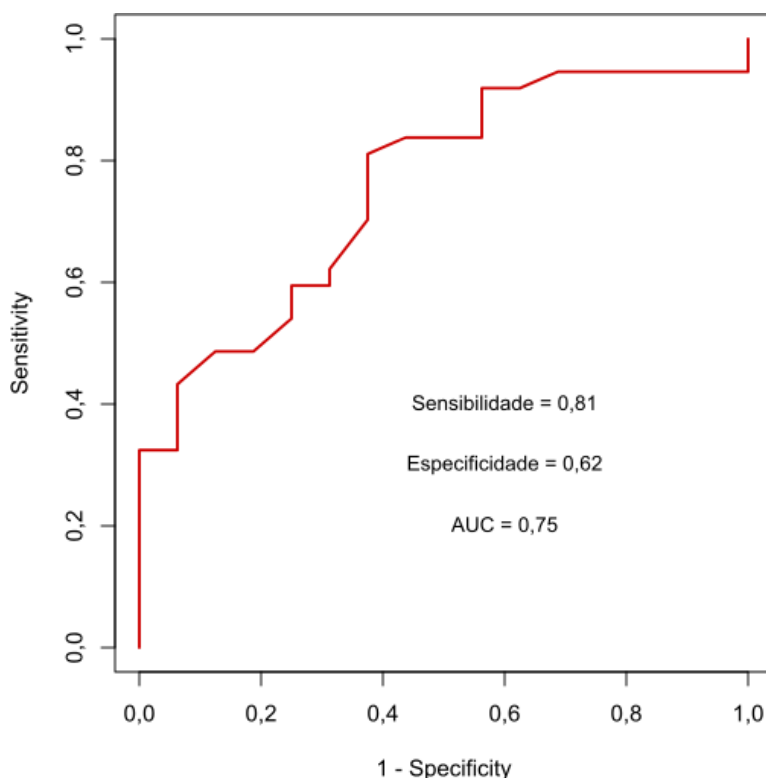
A Tabela 11 apresenta os indicadores de qualidade do teste preditivo com a concentração da creatinina, enquanto que a Figura 3 apresenta o gráfico representativo da curva ROC. Sendo assim, pode-se verificar que:

- A sensibilidade do modelo foi de 81,1%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 81,1% dos casos em que houve pré-eclâmpsia.
- A especificidade do modelo foi de 62,5%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 62,5% dos casos em que não houve pré-eclâmpsia.
- A área sob a curva ROC foi de 75,7%.

Tabela 11- Indicadores de Qualidade do teste preditivo–Creatinina.

Medidas de Qualidade para Creatinina		DOENÇA	
		PRESENTE	AUSENTE
TESTE	POSITIVO	81,1%	37,5%
	NEGATIVO	18,5%	62,5%
Área sob curva ROC		75,7%	
Sensibilidade		81,1%	
Especificidade		62,5%	
Valor preditivo positivo		0,83	
Valor preditivo negativo		0,59	
Razão de Verossimilhança para teste positivo ( <i>likelihoodratio</i> )		2,1	
Acurácia		30,2	

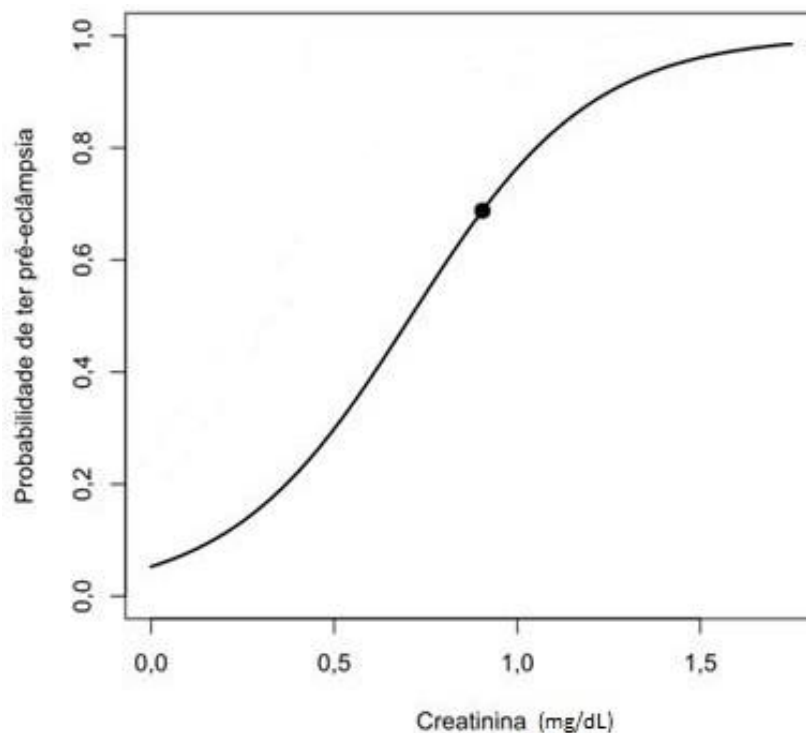
Figura 5- Gráfico representativo da curva ROC- creatinina.



A Figura 6 sugere uma possível relação causal, em que a associação da concentração da uréia com a chance da grávida ter PE é positiva e crescente. Que

a probabilidade dada uma gestante ter PE no ponto de corte da concentração da uréia é em torno 70%.

**Figura 6 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração plasmática da uréia.**



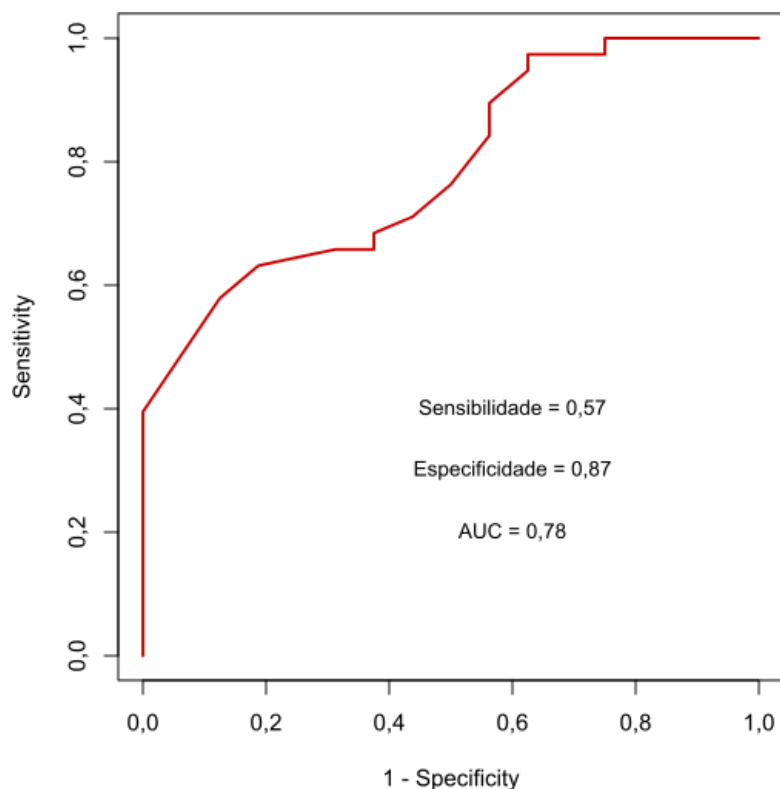
A Tabela 12 apresenta os indicadores de qualidade para resultado do teste preditivo dada a concentração da uréia, enquanto que a Figura 4 apresenta o gráfico representativo da curva ROC. Sendo assim, pode-se verificar que:

- A sensibilidade do modelo foi de 57,9%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 57,9% dos casos em que houve pré-eclâmpsia.
- A especificidade do modelo foi de 87,5%, o que significa que o modelo foi capaz de prever corretamente 87,5% dos casos em que não houve pré-eclâmpsia.
- A área sob a curva ROC foi de 78,9%.

Tabela 12 - Indicadores de Qualidade do teste preditivo -Ureia.

Medidas de Qualidade para Ureia		DOENÇA	
		PRESENTE	AUSENTE
<b>Predito</b>	POSITIVO	57,9%	12,5%
	NEGATIVO	42,1%	87,5%
Área sob curva ROC		78,9%	
Sensibilidade		57,9%	
Especificidade		87,5%	
Valor preditivo positivo		0,92	
Valor preditivo negativo		0,47	
Razão de Verossimilhança para teste positivo ( <i>likelihoodratio</i> )		4,6	
Acurácia		22,3	

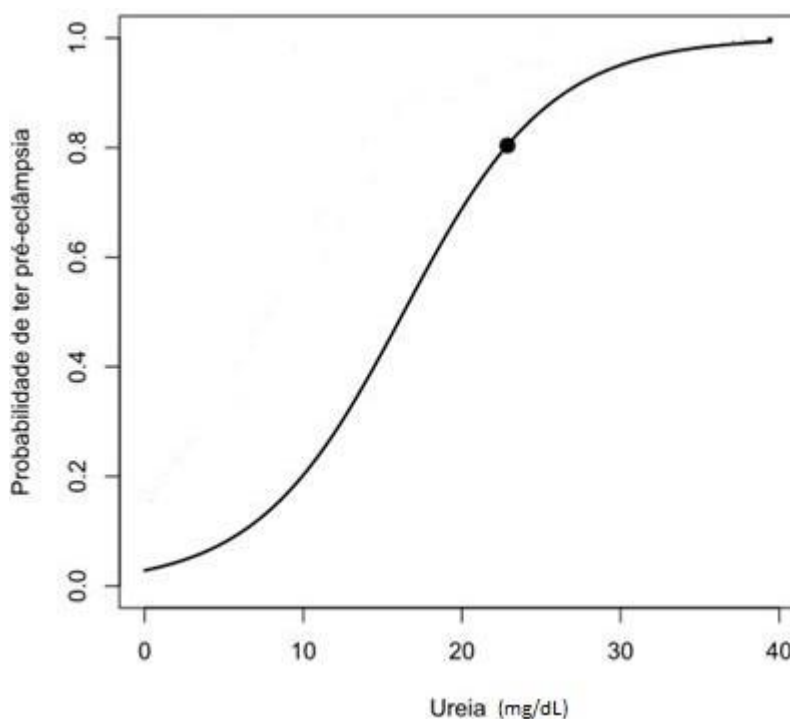
Figura 7-Representação gráfica da curva ROC – Ureia.





A Figura 8 sugere uma possível relação causal, em que a associação da concentração da ureia com a chance da grávida ter PE é positiva e crescente. Que a probabilidade dada uma gestante ter PE no ponto de corte da concentração da ureia é em torno 80%.

**Figura 8 - Probabilidade de ter pré-eclâmpsia dada a concentração plasmática da uréia.**



A Tabela 13 apresenta os indicadores de qualidade para resultado do teste preditivo para as concentrações das variáveis cistatina C urinária, cistatina C plasmática, creatinina e ureia. Sendo assim, pode-se verificar que:

- A maior sensibilidade foi encontrada nas variáveis dada as concentrações das cistatina C plasmática e creatinina.
- A maior especificidade foi encontrada na variável dada a concentração da cistatina C plasmática.
- A maior área sob a curva ROC foi encontrada na variável cistatina C plasmática.

- Todas as áreas sob as curvas ROC foram significativamente (valor- $p < 0,050$ ) maiores que 0,50 uma vez que nenhum intervalo de confiança se sobrepôs a este valor.

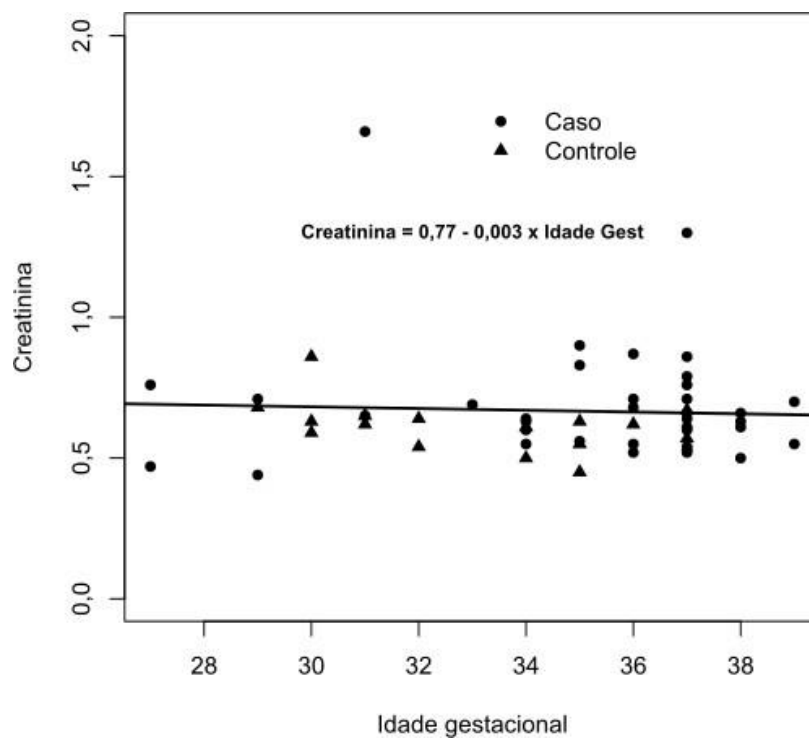
**Tabela 13 - Comparação dos indicadores de qualidade para resultado do teste preditivo dada as concentrações da cistatina C urinária, cistatina C plasmática, creatinina, ureia**

Medidas de Qualidade	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	RV+	Acurácia	AUC	I.C. - 95%	Valor-p	Ponto de Corte
CistatinaC urinária	52,6%	86,3%	0,87	0,51	3,8	0,65	74,7%	[62,3%; 87,2%]	0,001	0,828
Cistatina C plasmática	76,3%	100,0%	1,0	0,71	Infinito	/	91,7%	[84,8%; 98,6%]	0,0001	0,646
Creatinina	81,1%	62,5%	0,83	0,59	2,1	30,2	75,7%	[62,1%; 89,5%]	0,004	0,905
Ureia	57,8%	87,5%	0,92	0,47	4,6	22,3	78,9%	[66,6%; 91,3%]	0,004	22,87

Os scatterplots a seguir apresentam o modelo da influência da idade gestacional sobre as variáveis creatinina, ureia, cistatina C urinária e cistatina C plasmática tanto do grupo caso quanto do grupo controle.

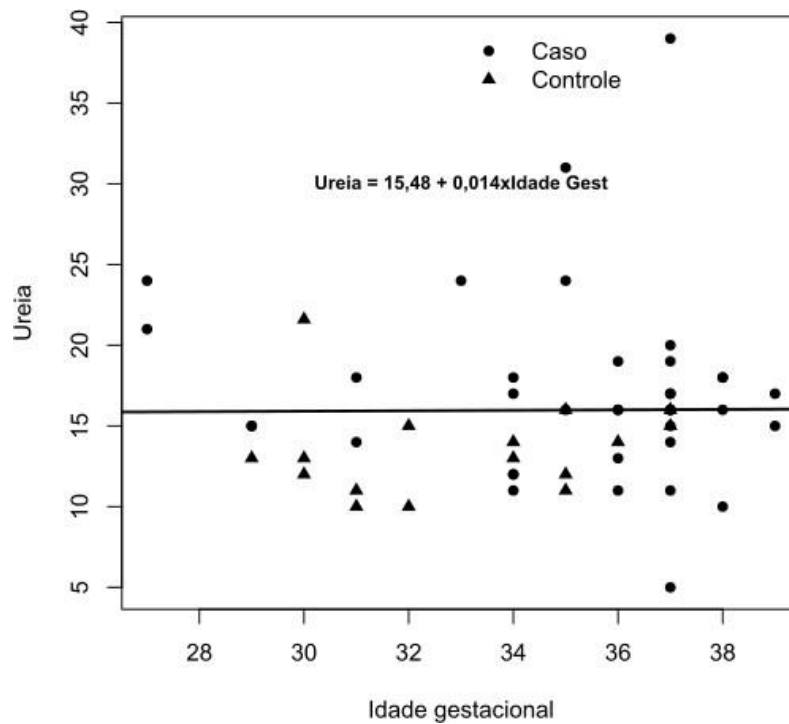
Observa-se na Figura 9, uma correlação forte da concentração da creatinina do grupo caso com PE entre 36-38 semanas de gestação, visualizada devido a proximidade dos pontos do grupo caso. Destaca-se que a concentração da creatinina não foi crescente, ou seja, não houve aumento da concentração da creatinina dada variável idade gestacional.

**Figura 9 - Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da creatinina, grupo caso-controle**



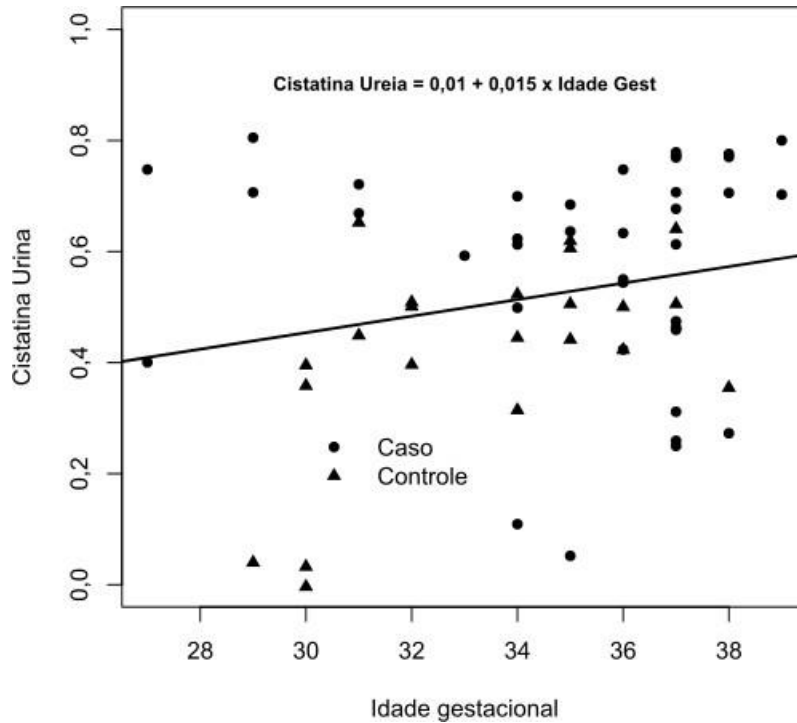
Observa-se na Figura 10, uma correlação fraca da concentração da creatinina do grupo caso com PE com a variável idade gestacional, visualizada devido a dispersão dos pontos do grupo caso. Destaca-se que a concentração da creatinina em ambos os grupos não foi crescente, ou seja, não houve aumento da concentração da creatinina dada a variável idade gestacional.

**Figura 10 - Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da ureia, grupo caso-controle**



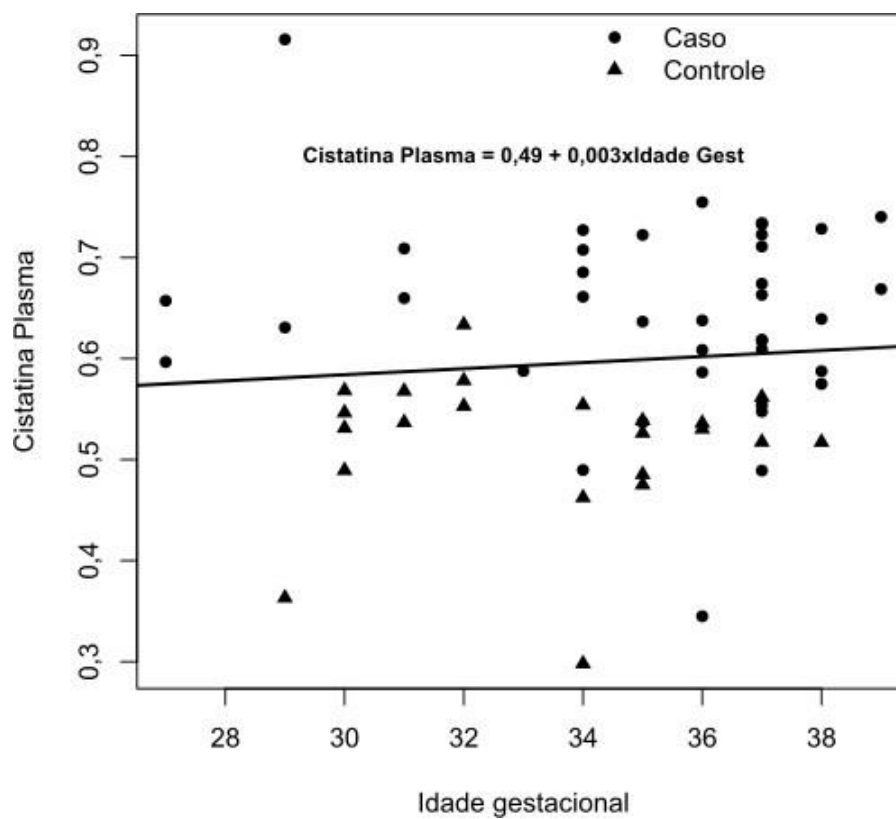
Observa-se na Figura 11, uma correlação moderada da concentração da cistatina C urinária do grupo caso com PE com a variável idade gestacional, visualizada devido a dispersão dos pontos do grupo caso, ressalta que a concentração dos pontos foi maior no final da gestação. Houve uma tendência crescente na linearidade, então sugere-se que há aumento da concentração da cistatina C urinária dada a idade gestacional.

**Figura 11-Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da cistatina urinária, grupo caso-control**



Observa-se na Figura 12, uma correlação moderada da concentração da cistatina C plasmática do grupo caso com PE, visualizada devido a proximidade dos pontos do grupo caso. Destaca-se que a concentração da cistatina C plasmática levemente crescente, ou seja, houve um discreto aumento da concentração da cistatina C urinária dada variável idade gestacional.

Figura 12 - Scatterplot sobre a influência da idade gestacional em relação a concentração da cistatina C plasmática, grupo caso-controle



A Tabela 14 apresenta a matriz de correlação de Spearman das variáveis numéricas em ambos os grupos. As correlações significativas foram destacadas em negrito, sendo então possível afirmar que, por exemplo:

- Houve uma correlação negativa ( $r=-0,47$  e  $r=-0,94$ ) da TFG com concentração da cistatina C plasmática e urinária, sendo que quanto maior TFG, menor tende a concentração da cistatina C urinária e plasmática em ambos os grupos.

Tabela 14- Matriz de correlação de Spearman - Ambos os grupos.

Variáveis – Geral	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Idade Materna (1)											
Idade gestacional(2)	-0,19										
Número de gestações (3)	<b>0,38</b>	<b>-0,30</b>									
Intervalo de Interpartal (4)	0,31	-0,05	-0,24								
Peso (5)	0,11	0,19	-0,02	0,21							
Altura (6)	-0,07	0,02	-0,03	-0,14	<b>0,40</b>						
IMC (7)	0,02	0,13	-0,02	0,12	<b>0,91</b>	<b>0,72</b>					
Creatinina (8)	0,01	-0,01	-0,03	0,48	0,13	0,05	0,11				
Ureia (9)	-0,09	0,12	0,11	0,16	0,02	-0,14	-0,06	<b>0,47</b>			
Cistatina Urina (10)	-0,08	0,22	-0,15	0,23	0,01	<b>-0,30</b>	-0,11	-0,21	0,05		
Cistatina Plasma (11)	-0,17	0,18	-0,07	0,20	-0,04	-0,13	-0,05	0,12	0,18	<b>0,45</b>	
TFG (12)	0,19	<b>-0,28</b>	0,10	-0,28	0,00	0,15	0,03	-0,13	-0,22	<b>-0,47</b>	<b>-0,94</b>

As correlações significativas foram destacadas em negrito.

A tabela 15 apresenta a matriz de correlação de Spearman das variáveis numéricas do grupo caso das grávidas com PE. As correlações significativas foram destacadas em negrito, sendo então possível afirmar por exemplo:

- Houve correlação positiva ( $r=0,39$ ) da idade materna associada com o TFG, sendo que quanto maior a idade materna, maior tende a ser o TFG e assim também vice-versa, quanto maior a TFG encontrada, maior seria idade materna.
- Houve uma correlação positiva ( $r=0,58$ ) da concentração da ureia associada com a concentração da creatinina, sendo que quanto maior concentração da ureia, maior tende a ser a concentração da creatinina e vice-versa.
- Houve uma correlação negativa ( $r=-1,00$ ) da concentração da cistatina C plasmática associada TFG, sendo que quanto menor a concentração da cistatina C plasmática, menor tende a ser a concentração TFG e vice-versa.

**Tabela 15 - Matriz de correlação de Spearman – Grupo caso – gestantes com PE.**

Variáveis – Caso	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Idade Materna (1)											
Idade gestacional (2)	-0,06										
Número de gestações (3)	0,37	-0,25									
Intervalo de Interpartal (4)	0,10	-0,04	-0,64								
Peso (5)	0,20	0,12	-0,03	0,18							
Altura (6)	0,08	-0,09	0,01	-0,02	<b>0,48</b>						
IMC (7)	0,14	0,03	-0,05	0,08	<b>0,94</b>	<b>0,72</b>					
Creatinina (8)	-0,03	-0,08	-0,19	0,36	0,22	-0,09	0,13				
Ureia (9)	0,02	0,03	0,09	-0,21	-0,07	-0,11	-0,10	<b>0,58</b>			
Cistatina Urina (10)	-0,18	0,34	-0,22	0,13	-0,06	-0,12	-0,07	-0,30	-0,11		
Cistatina Plasma (11)	<b>-0,39</b>	0,08	-0,30	-0,32	-0,25	0,01	-0,16	0,03	-0,13	0,27	
TFG (12)	<b>0,39</b>	-0,08	0,30	0,32	0,25	-0,01	0,16	-0,03	0,13	-0,27	<b>-1,00</b>

As correlações significativas foram destacadas em negrito.



A tabela 16 apresenta a matriz de correlação de Spearman das variáveis numéricas do grupo controle. As correlações significativas foram destacadas em negrito, sendo então possível afirmar que, por exemplo:

- Houve correlação positiva ( $r=0,76$ ) da idade gestacional com a cistatina C urinária, sendo que quanto maior a idade gestacional, maior tende a ser a concentração da cistatina C urinária e vice-versa.
- Houve correlação positiva ( $r=0,80$ ) do peso com o TFG, sendo que quanto maior o peso, maior tende a ser o TFG e vice-versa.

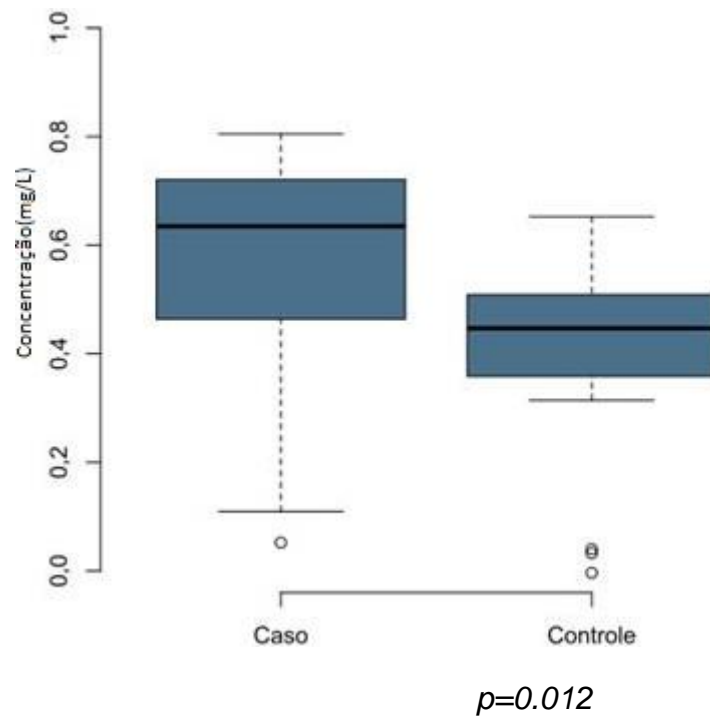
**Tabela 16 - Matriz de correlação de Spearman – Grupo Controle.**

Variáveis - Controle	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Idade Materna (1)											
Idade gestacional (2)	-0,32										
Número de gestações (3)	0,02	0,27									
Intervalo de Interpartal (4)	0,63	-0,30	0,19								
Peso (5)	0,50	0,17	0,30	-0,11							
Altura (6)	0,08	-0,24	-0,23	<b>-0,79</b>	0,34						
IMC (7)	0,35	0,20	0,30	-0,11	<b>0,95</b>	0,47					
Creatinina (8)	-0,29	-0,46	-0,37	0,32	-0,33	0,60	-0,14				
Ureia (9)	-0,67	-0,39	-0,11	0,32	<b>-0,71</b>	-0,12	<b>-0,71</b>	0,53			
Cistatina Urina (10)	-0,20	<b>0,76</b>	-0,04	-0,21	-0,16	-0,15	-0,14	-0,14	-0,22		
Cistatina Plasma (11)	-0,37	<b>0,74</b>	0,26	0,37	-0,33	<b>-0,66</b>	-0,28	-0,33	-0,02	<b>0,71</b>	
TFG (12)	0,46	-0,39	0,00	-0,11	<b>0,80</b>	0,58	<b>0,78</b>	0,07	-0,36	-0,59	<b>-0,78</b>

As correlações significativas foram destacadas em negrito.

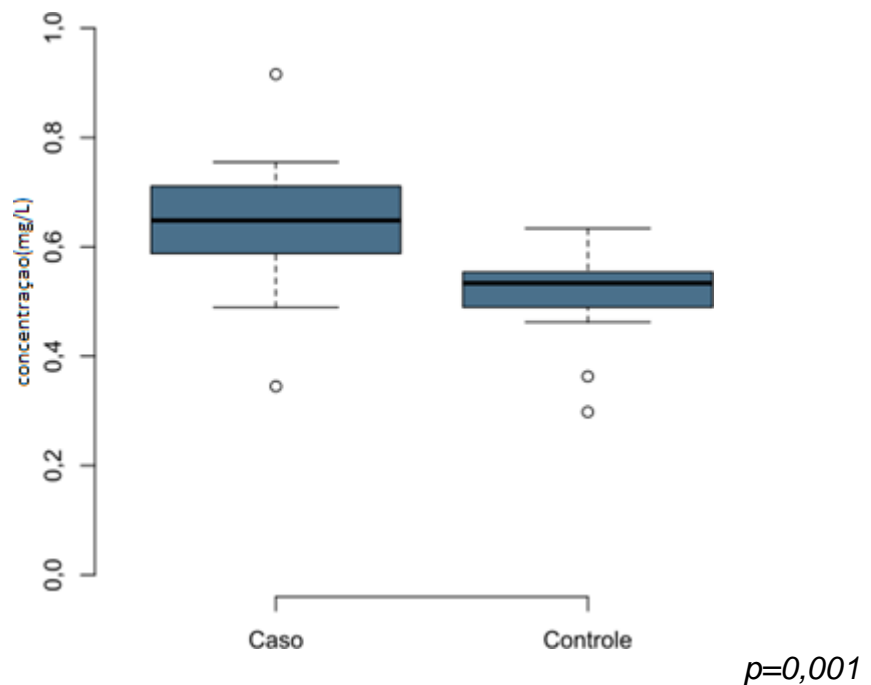
As figuras 13 e 14 a seguir, mostram a representação gráfica que evidenciam os valores das concentrações da cistatina C urinária e plasmática, quando comparadas os grupos; houve diferença significativa, com  $p=0,012$  e  $p=0,001$  respectivamente. Destaca-se na Figura 13, que a amplitude dada a concentração da cistatina C urinária foi maior no grupo caso do que no grupo controle, portanto a variação da concentração da cistatina C urinária é maior no grupo caso.

**Figura 13 -Box Plot dos valores médios, desvio padrão e limites superiores e inferiores da concentração da cistatina C urinária nos grupos caso- pré-eclâmpsia e controle.**



Destaca-se na Figura 14, a mediana da concentração da cistatina C plasmática no grupo caso evidencia que a distribuição dos dados foi simétrica. Outra interpretação é sobre a amplitude interquartil quando comparamos a figura 13 e figura 14, em que a concentração da cistatina C plasmática do grupo de grávidas com PE foi menor quando comparada a concentração cistatina C urinária.

Figura 14 - Box Plot dos valores médios, desvio padrão e limites superiores e inferiores da concentração da cistatina C plasmática nos grupos caso- pré-eclâmpsia e controle.



## 6.0 Discussão

### 6.1 Importância de utilização de novos e mais sensíveis marcadores da lesão glomerular em gestantes com pré-eclâmpsia

A pré-eclâmpsia permanece como uma doença desafiadora para especialistas e pesquisadores devido a sua dificuldade diagnóstica, a complexidade da sua fisiopatologia, bem como as lacunas existentes ainda na literatura. Sabendo que a PE é uma doença com alta morbi-mortalidade para o binômio mãe-feto, principalmente em países em desenvolvimento, no Brasil, ela é considerada uma importante causa ainda de prematuridade e restrição de crescimento intra-uterino. Resultados de exames que indiquem benefícios para o diagnóstico precoce podem influir de forma positiva no prognóstico dessa doença e justificam todos os estudos que buscam sua melhor compreensão (Cunningham *et al.*, 2000).

A PE promove episódio multissistêmico e multifatorial tanto com aparecimento tardio quanto com instalação em fases precoces da gestação; dessa forma há uma dificuldade da compreensão precisa de sua etiologia e dos diversos mecanismos fisiopatológicos que induzem ao quadro de PE . A possibilidade de se utilizar novos marcadores isolados e/ou conjugados, assim como técnicas de prevenção e rastreamento precoce de PE revolucionaria o acompanhamento pré-natal e evitaria os efeitos deletérios para a grávidas e para o concepto.

A gravidade da PE nas distintas apresentações clínicas indicam que existem etiologias diferentes para esta síndrome, podendo haver marcadores diferentes para a previsão de uma PE precoce ou tardia (Reis *et al.*, 2010).

A elucidação ao longo dos últimos anos sobre a fisiopatologia da PE permitiu a descoberta e a realização de exames que auxiliam no direcionamento do diagnóstico e classificação da doença. A aferição adequada dos níveis pressóricos, os exames que avaliam lesão de órgãos-alvo - como proteinúria - e o reconhecimento de sintomas que precedem a lesão neurológica são dados

confiáveis que devem ser sempre considerados durante a abordagem das gestantes (Brown *et al.*, 1999).

Um dos problemas relacionados aos estudos científicos que abordam pacientes com PE, está relacionado ao fato da rápida evolução, a dificuldade de recrutamento de casos e se estimar o número de pacientes necessários para realização da pesquisa. A grande motivação, porém, para a realização desses estudos clínicos é tentar trazer melhorias para o diagnóstico e/ou prognóstico dessas gestantes podendo corroborar para a clínica médica no dia-a-dia.

Buscando melhorias no cotidiano na área de saúde, a tese de Érica Barchala teve como um dos objetivos dosar a cistatina C em amostras de urina fetal e líquido amniótico. Avaliou-se a eficácia da cistatina C como biomarcador da função renal, em fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa. Um dos resultados foi que ao comparar com outros marcadores urinários, somente a cistatina C demonstrou capacidade de identificar a função renal fetal, com valor de área sob a curva ROC de 0,750. A autora a partir dos seus achados concluiu que novos estudos são necessários, com amostras maiores, para comparar a cistatina C com outros biomarcadores e com a função renal pós-natal em longo prazo (Rodrigues, 2017).

Outro estudo de impacto utilizou material de biópsia renal empregando microscopia ótica e evidenciou acerto diagnóstico na totalidade dos casos estudados quando confrontados com o diagnóstico clínico em grávidas que desenvolveram PE (Rio *et al.*, 2004).

Recentemente, estudo publicado discutiu-se que os marcadores tradicionais da função renal em grávidas com PE são bastante limitados, quando se avalia o comprometimento renal em um estágio inicial e o momento clínico inicial em que há redução da TFG da disfunção renal. Por isso, a pesquisa de novos biomarcadores como a cistatina C é sugerida, a fim de superar este obstáculo na indicação precoce do comprometimento da função renal em mulheres grávidas com PE. Estudos como o nosso, procura demonstrar que biomarcadores como a cistatina C podem refletir com melhor eficácia a TFG (Niraula *et al.*, 2017).

## **6.2 Características clínicas dos grupos avaliados**

As pacientes do grupo avaliado foram encaminhadas pela rede do SUS, provenientes de Belo Horizonte e de outras cidades do estado de Minas Gerais e tiveram um breve esclarecimento sobre importância do estudo desenvolvido e convidadas para participar dessa pesquisa.

As gestantes com diagnóstico PE foram abordadas após serem admitidas na Maternidade do Hospital das Clínicas UFMG/EBSHER durante sua internação na unidade. Enquanto as pacientes do grupo controle foram abordadas nos instantes anteriores as consultas do pré-natal no Ambulatório Jenny Faria do Hospital das Clínicas UFMG/EBSHER. No final do período de dois anos, foram elegidas 38 pacientes que desenvolveram PE e 22 pacientes híginas. A prevalência de pacientes com alguma doença na maternidade e no ambulatório é elevada, já que é um centro de referência com gestações classificadas de alto risco. Por isso, a seleção de pacientes híginas foi uma das dificuldades encontradas.

Entre as considerações dos nossos achados visualizou-se que as faixas mais representativas no grupo com PE foram aquelas acima de 34 semanas, consideradas PE tardia. Atualmente alguns autores tem considerado a idade gestacional como um critério de gravidade e prognóstico, sendo uma variável clínica de relevância na predição do desfecho no resultado materno e perinatal.

A incidência de idade mais avançada foi similar aos 26% encontrada por Sibai *et al.* (1986) cujo estudo de referência não encontrou correlação da idade com maior da incidência de pré-eclâmpsia. Já Liu e Zhang (2014) apontaram que gestantes com idade acima de 35 anos podem ter risco aumentado não só de desenvolver pré-eclâmpsia, como também parto prematuro, parto cesariano, diabetes gestacional, RN com baixo peso ao nascimento e mortalidade perinatal.

Nesse estudo, apesar de não apresentar diferença significativa, o grupo de gestantes com PE apresentou IMC de 36,4 kg/m<sup>2</sup> e no grupo controle foi encontrado 35,3 kg/m<sup>2</sup>, cifras consideradas elevadas indicando obesidade. Ressalta-se que gestantes com IMC elevado e, em especial com quadro de obesidade, possuem elevado risco para pré-eclâmpsia, cuja taxa aumenta quanto maior o índice de massa corporal (Amaral e Peraçoli, 2011).

### 6.3 Marcadores disponíveis atualmente para predição da PE

O biomarcador para a predição da PE deve demandar a coexistência de algumas particularidades: alta sensibilidade e especificidade, reprodutibilidade e alto valor preditivo positivo (VPP). A capacidade de predição da PE com razoável margem temporal ao início dos sintomas, conheceu avanços na última década, tendo sido testados vários marcadores clínicos, biofísicos e bioquímicos bem como a conjugação entre eles (Barra *et al.*, 2012).

Apesar de melhorias terem sido alcançadas e incorporadas à prática laboratorial, nenhum biomarcador disponível atualmente é completamente eficaz para indicar precocemente o acometimento da função renal em gestantes com pré-eclâmpsia. Atualmente, a creatinina e a uréia são os marcadores endógenos amplamente estudados nas diversas patologias que acometem os rins, e ambos foram referenciados nesse estudo para as devidas comparações com a cistatina C. No entanto, sabe-se que esses tradicionais marcadores sofrem influência de uma série de fatores na sua produção, como, por exemplo: massa muscular e ingestão de proteínas.

A dosagem da creatinina sérica apresenta várias desvantagens analíticas, ela sofre secreção tubular, modificando a filtração glomerular e assim provocando uma superestimativa, especialmente em pacientes com função renal reduzida. É avaliada como pouco sensível, pois detecta somente quando ocorrem quedas superiores a 50% na FG e, por fim, não identifica alterações rápidas na função renal (Perrone *et al.*, 1992).

Apesar dessas questões apontadas, o clearance de creatinina continua sendo um dos marcadores mais utilizados na avaliação da função renal. Ele pode ser dosado diretamente com uma amostra de sangue e outra de urina em 24 horas consecutivas. Outros problemas já foram detectados, entre eles o uso de medicamentos que alteram taxas de secreção tubular de creatinina, modificação na ingestão de água e, principalmente, a limitação na compreensão das orientações laboratoriais para a coleta eficaz (Sodré *et al.*, 2007).

Portanto, as diretrizes da NKF (National Kidney Foundation) e Sociedade Brasileira de Nefrologia recomendam que a avaliação isolada da creatinina não é o

método mais acurado para estimar o nível de função renal, sendo necessário complementar o emprego de equações que levem em conta outros fatores além da creatinina sérica, tais como a idade, sexo, raça e índice de massa corporal . As equações do estudo de Cockcroft-Gault e MDRD promovem estimativas úteis da filtração glomerular em adultos. No entanto, a equação do MDRD subestima a FG em pacientes que apresentam pouca perda de função renal (Bowers, 1980). Por isso, têm sido propostas várias fórmulas tentando contemplar essas variáveis. A recomendação da NKF é a de que seja ainda desenvolvida uma equação empregando a cistatina C como marcador da FG em substituição à creatinina (Froissart *et al.*, 2005). A uréia é outro indicador estudado que avalia a função renal. No entanto, exibe atributos precários de um marcador ideal. Sua produção é variável e é amplamente dependente da ingestão de proteínas que podem mudar significativamente os valores séricos da ureia subestimando a função renal. A dieta, a taxa de produção hepática, desidratação, insuficiência cardíaca congestiva, infecção e uso de corticosteróides, diuréticos são fatores que modificam os valores da uréia. Embora apresente estas limitações, as alterações nos níveis plasmáticos da ureia decorrentes de insuficiência renal aparecem mais precocemente quando comparado à creatinina (Stevens e Levey, 2005; Erichsen *et al.*, 2009).

Por fim, destaca-se a proteinúria e os níveis pressóricos que são marcadores instáveis que podem variar dentro de uma ampla gama de situações durante o curso da doença. Portanto, as mulheres grávidas podem apresentar alterações pressóricas e de proteínas devido a outras condições, e um estado pré-eclâmpico pode ser presente sem aumento da pressão arterial ou albuminúria (Finney *et al.*, 2000).

A medida de proteinúria significativa mais aceita é a coleta de realizada em 24 horas sendo considerada padrão-ouro. Perdas maiores ou iguais a 300mg de proteína em 24 horas são indicativas de PE. Modernamente, a presença da proteinúria é dispensável no diagnóstico da PE se a paciente já apresentar, por exemplo níveis pressóricos que caracterizem comprometimento de órgãos alvos (Roberts *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, o emprego da quantificação da proteinúria no prognóstico da evolução da pré-eclâmpsia passou a receber apontamentos críticos devido a



utilização da proteinúria como critério isolado para a realização do parto, contribuindo para o aumento das taxas de prematuridade relacionadas à doença (World Health Organization, 2011).

Outra questão aventada que prejudica a acuidade na dosagem tanto da creatinina quanto na proteinúria 24 horas está relacionada ao cotidiano da medicina laboratorial, por parte do paciente em manter a rotina ao longo do dia da dosagem e coletar corretamente a urina de 24 horas (Rosa, 2012). Situação verificada nesse estudo em que menos de 50% das pacientes do grupo total concluíram a coleta para o exame de urina de 24 horas.

Em relação a proteinúria de amostra isolada sabe-se que é menos confiável para ser utilizada como método diagnóstico de proteinúria significativa. Porém, o uso da proteinúria de fita para avaliações é recomendada na prática clínica diária, tanto em ambiente de pronto atendimento quanto em ambulatórios pré-natais, especialmente em locais de menores recursos financeiros (Gifford, 2000; Rosa, 2012).

O resultado da proteinúria pode ser dado em cruces 1+ corresponde a 30mg/dl, 2+ a 100mg/dl, 3+ a 500mg/dl e 4+ a 500mg/dl (Meyer *et al.*, 1994). Importante ressalva é que o resultado negativo do exame de fita não exclui a presença de proteinúria, sendo assim uma das razões que seu uso é largamente questionado na literatura (Meyer *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1997; Halligan *et al.*, 1999). Destaca-se que nesse estudo 15 das 38 grávidas que desenvolveram pré-eclâmpsia, tiveram resultado abaixo de 2+ ou 100mg/dl pela leitura da fita. Phelan *et al.* (2004) destacam em seu estudo que a fita reagente levou a diagnósticos incorretos de PE em 50% dos casos, quando se considerou somente a leitura da fita. Uma importante observação é que o teste é insensível a proteínas leves e que seu resultado é realizado por leitura visual e não automatizado (Saudan *et al.*, 1997; Phelan *et al.*, 2004). Estudos destacam que há interferências no resultado da fita reagente devido a fatores como: osmolaridade, pH urinário e glicosúria (Halligan *et al.*, 1999; Agarwal *et al.*, 2002).

#### **6.4- Potencial de utilização da cistatina C plasmática e urinária como marcador renal**

O grande potencial de utilização da dosagem sérica da cistatina C como marcador está relacionada com as suas principais qualidades que contribuem para uma avaliação a função renal eficaz. São elas: tamanho pequeno e alto ponto isoelétrico, características os quais propiciam que esta proteína seja naturalmente filtrada através da membrana glomerular, sendo reabsorvida no túbulo proximal em uma proporção significativa e, então, catabolizada de forma quase total neste sítio. Estas características justificam o uso da cistatina C como um marcador endógeno para estimar a TFG.

Outra vantagem da cistatina C é que não há variação significativa da faixa de referência para homens e mulheres, já que sua produção é constante em todos os tecidos do organismo, diferente da creatinina, que depende da massa muscular (Sodré *et al.*, 2007). A partir dessas vantagens, diversos estudos em pacientes com nefropatias têm sugerido que a cistatina C seja um marcador de disfunção renal superior a creatinina sérica (Magro e Vattimo, 2007; Acuña *et al.*, 2009). Outros, entretanto, não evidenciaram diferenças significativas entre estes dois biomarcadores (Medeiros, 2007; Neri *et al.*, 2010). Estudo comparativo entre a creatinina e a cistatina C plasmática submetido à revisão sistemática e meta-análise, a cistatina C teve desempenho melhor do que a creatinina sérica. Concluiu-se que, com os dados disponíveis na literatura, a cistatina C é claramente superior à creatinina na avaliação da função renal (Dharnidharka *et al.*, 2002).

Estudos atuais mostram que a cistatina C é capaz de detectar danos renais leves a moderados (Fliser e Ritz, 2001; Ozer *et al.*, 2005; Hojs *et al.*, 2006). A maioria das mulheres com pré-eclâmpsia tem diminuição na taxa de filtração glomerular e na perfusão renal. Uma concentração plasmática de 1mg/dl já significa uma diminuição significativa da função renal. Com isso, em pacientes com comprometimento na filtração glomerular os marcadores promissores como a cistatina C podem indicar essas pequenas diferenças (Gaber *et al.*, 1994).

Segundo Shlipak *et al.* (2013) é evidente que a cistatina C pode definir um importante período pré-clínico inicial quando ocorre decréscimo da função renal

antes que se possa diagnosticar a doença renal crônica (DRC) com a creatinina sozinha, e este período pode durar 1-2 anos, o autor acrescenta que no futuro a cistatina C poderá visar pacientes de alto risco para o tratamento a fim impedir a doença renal crônica. Acrescentando, o autor Salgado (2013) discute que em saúde pública, a cistatina C pode ser utilizada como marcador confiável para detectar tanto disfunções renais iniciais quanto para prevenir a morbidade e letalidade dos riscos cardiovasculares.

Outro ponto relevante é que a cistatina C funciona de forma semelhante como um marcador da função renal em negros e brancos (Shlipak *et al.*, 2013), ou seja, as concentrações de cistatina C não são afetadas por gênero, idade ou etnia, infecção, dieta, inflamação e nem pela maioria dos medicamentos. Portanto, avaliando o grupo amostral do presente estudo, provavelmente não houve viés quanto a influência dessas variáveis caracterizadoras da amostra.

Recentemente, a cistatina C sérica foi proposta como um novo marcador endógeno de função renal e várias equações baseadas nessa proteína tem sido desenvolvidas para estimar a filtração glomerular. Estudos tem sido publicados utilizando a cistatina C determinada por testes laboratoriais que empregam metodologias como nefelometria, turbidimetria ou imunoensaios enzimáticos objetivando seu uso como marcador de função renal em vários grupos de pacientes, como portadores de DRC, diabetes melitus, transplantados, idosos e crianças (Neri *et al.*, 2010). Sabe-se então, a partir da literatura consultada, que há escassos estudos que usaram a cistatina C com teste de ELISA. E com isso, viu-se que há uma tendência das equações desenvolvidas para estimar a filtração glomerular empregando a metodologia de nefelometria e turbidimetria.

De acordo com a meta-análise realizada por (Zhang *et al.*, 2011) a dosagem sérica de cistatina C aponta a proteína como bom marcador de comprometimento da TFG. Contudo, algumas situações podem modificar as concentrações séricas de cistatina C. O uso de glicocorticoides em altas doses pode levar um aumento da cistatina C, assim como hipertireodismo e tumores.

Investigações indicaram que a cistatina C sérica é bom marcador para TFG em particular para indivíduos com pequenos decréscimos a alterações moderadas da TFG (Kyhse-Andersen *et al.*, 1994; Newman *et al.*, 1995; Fliser e Ritz, 2001;

Watanabe *et al.*, 2003; Babay *et al.*, 2005; Hojs *et al.*, 2006), há publicações pontuais relevantes que investigaram os níveis de cistatina C na gravidez (Strevens, 2001; Strevens *et al.*, 2002; Babay *et al.*, 2005; Kristensen, Lindström, *et al.*, 2007; Padma *et al.*, 2013) e escassos estudos especificamente, quando ocorre a PE (Strevens *et al.*, 2003; Franceschini *et al.*, 2008; Thilaganathan *et al.*, 2009).

Devido a essa lacuna científica obstétrica foi proposto a investigação do presente estudo que já conseguiu mostrar que tanto o nível sérico médio quanto urinário da cistatina C foram superiores no grupo de grávidas com PE, além de estatisticamente significante,  $p=0,001$  e  $p=0,012$  respectivamente. Esse achado está corroborando com trabalhos já publicados (Strevens, 2001; Franceschini *et al.*, 2008). Outro resultado do presente estudo de destaque é a probabilidade da grávida que desenvolveu PE dada às concentrações da cistatina C plasmática e urinária, em ambas as dosagens o percentual encontrado foi em torno de 80%.

Ressalta-se que encontramos concentrações séricas creatinina e uréia no grupo de grávidas com PE, sugerindo que em gestações complicadas por essa condição, a glomeruloendoteliose e o vasoespasmo podem causar uma redução de 30% na taxa de filtração glomerular, resultando em aumento das concentrações séricas desses metabólitos (August, 2013).

#### **6.5- Avaliação e comparação dos resultados dos marcadores uréia e creatinina**

No decorrer de uma gravidez normal, o fluxo sanguíneo renal eleva-se, assim como há o aumento da taxa de filtração glomerular, e conseqüentemente uma redução das concentrações séricas de ureia e creatinina, em média 9,0 e 0,5 mg/dL, respectivamente (Chang e Streitman, 2012). Nesse estudo que teve o foco mulheres com PE, as concentrações de uréia do grupo de PE apresentaram diferença significativa quando comparado ao grupo controle. Ressalta-se também que os valores médios encontrados da uréia e creatinina do grupo com PE foram 17,00mg/dL e 0.69 m/dL, resultados superiores aos observados no estudo supracitado de Chang e Streitman, o que pode sugerir um grupo em que houve grávidas com PE que tiveram algum comprometimento renal.

Embora não haja diferença estatisticamente significativa nos valores da creatinina sérica entre os dois grupos de estudo, o valor médio da concentração de creatinina nas grávidas com PE foi superior daquele do grupo controle, sendo tal achado semelhante ao encontrado por Malik (2015). Esses resultados podem assinalar que em gestações complicadas por essa condição, a glomeruloendoteliose e o vasoespasma resultam em aumento das concentrações séricas desses metabólitos (Chang e Streitman, 2012). Nesta condição, a avaliação de marcadores do RFG pode definir a intensidade da lesão renal (Strevens *et al.*, 2003).

### **6.6- Avaliação e comparação dos resultados da cistatina C**

Na literatura, estudos que compararam a dosagem sérica da cistatina C e a creatinina concluíram que cistatina C avaliou melhor a função renal de gestantes com e sem pré-eclâmpsia (Tenstad *et al.*, 1996; Grubb, 2001; Strevens, 2001; Gynaecology *et al.*, 2002) porém, esta opinião não é unânime (Strevens *et al.*, 2002; Moodley *et al.*, 2004; Akbari *et al.*, 2005)

A partir da literatura consultada, há indicativos que essas contradições são originárias da grande variação de valores de referência da cistatina C plasmática, que pode ser justificada pelos diferentes tipos de reagentes e métodos. Observa-se que valores médios variando entre 0,18 a 1,60 mg / L através do ensaio imunoturbidimétrico, imunonefelometria e imunoensaio (Ix *et al.*, 2007; Ge *et al.*, 2009; Neri *et al.*, 2010; Salgado, 2010; Sai *et al.*, 2016). Os resultados deste estudo foram semelhantes aos citados acima e valor de referência obtido ficou no intervalo de 0,57 mg/L a 1,29mg/L.

De acordo com Uzun *et al.* (2005) para determinar valores de referências da cistatina C plasmática devem ser realizados estudos com maior número de indivíduos, em diferentes regiões utilizando o mesmo procedimento analítico para que assim ,futuramente, seja possível ter maior aplicabilidade médica.

Dentro desse contexto, algumas questões devem ser enfatizadas: primeiramente: nesse estudo não foi possível fazer comparação com um padrão-ouro, devido aos altos custos para sua realização. Como já discutido acima, as diferentes padronizações dos testes laboratoriais de estudos anteriores para

determinação de cistatina C e seus diferentes métodos analíticos, calibração, anti-soros e distribuição de idades se tornou um fator limitante para direcionar as comparações com presente estudo .

Rigalleau *et al.* (2008) verificaram e destacaram a necessidade de normalização dos valores de referências para que este biomarcador seja usado na prática clínica, e Salgado (2010) observaram que a variação destes resultados é uma grande desvantagem para sua utilização no cotidiano. Como podemos observar ainda não há uma conduta consensual sobre os valores de referência e parâmetros referenciais já que existem diferentes métodos utilizados.

Outra ponderação a ser feita, está relacionada aos parâmetros encontrados no presente estudo: os níveis séricos e urinários de cistatina C foram significativos estatisticamente; nos quais as concentrações dessas substâncias nas grávidas que desenvolveram PE estavam aumentados quando comparadas com o grupo controle; esse importante achado corrobora com estudos anteriores (Stevens, 2001; Niraula *et al.*, 2017)

Kristensen, Lindström, *et al.* (2007) investigaram os níveis de cistatina C sérica durante o primeiro, segundo e terceiro trimestre de gravidez quando comparados aos níveis de cistatina C de mulheres não grávidas. No último trimestre de gravidez ocorreu um aumento entre 29% a 39% dos níveis de cistatina C quando comparados ao segundo trimestre.

Thilaganathan *et al.* (2009) salientam que esse nível fica elevado nas últimas semanas e/ou meses antes do evento preeclâmpico, esse aumento é um reflexo de dano na função renal, e aumento da cistatina C produzida pela placenta. Essa relação da placenta e a cistatina C foi revelada quando se investigou o aumento da expressão de proteínas em casos com pré-eclâmpsia grave e ainda confirmou a presença de cistatina C em amostras de líquido amniótico placenta. (Kristensen, Larsson, *et al.*, 2007). A partir disso, no presente estudo, pode-se hipotetizar que as gestantes com PE que estavam no último trimestre tiveram o pico máximo da concentração sérica da cistatina C durante toda a gravidez.

Corroborando com dados exatos no final da gestação, um estudo com 100 gestantes consideradas saudáveis, investigou a concentração sérica da cistatina C que foi medida após a 37ª semana de gestação e a média calculada de 1,05mg/dL

com desvio padrão  $\pm 0,19$  enquanto as 45 mulheres com PE (24 delas com PE grave) previamente saudáveis, sem hipertensão arterial e diabetes mellitus, a média dos valores de cistatina C no termo da gestação foi de  $1,55\text{mg/dL} \pm 0,29$  (Strevens, 2001).

Está sendo bem delineado, que achados provam que as concentrações da cistatina C sérica estão elevadas nas grávidas com PE e sugerem que seria um marcador fidedigno (Strevens, 2001; Kristensen, Larsson, *et al.*, 2007; Kristensen, Lindström, *et al.*, 2007). Essas concentrações aumentadas estão correlacionadas a alteração renal e aumento da sua síntese pela placenta (Kristensen, Larsson, *et al.*, 2007). Niraula *et al.*, 2017 fizeram pareamento de grávidas com pré-eclâmpsia versus grávidas normotensas para cistatina sérica C e obtiveram média de  $1,15 \pm 0,37$  e  $0,55 \pm 0,12$ , respectivamente. Tais dados, reforçam o presente estudo em que houve diferença significativa entre os grupos estudados.

Por fim, Yalcin *et al.* (2013) investigaram também o nível de cistatina C sérica em grávidas diagnosticadas com PE grave e relacionou com fator de estresse oxidativo após o parto. Esse autor concluiu que com a retirada da placenta, houve menor produção de radicais livre no pós-operatório e portanto menor formação de cistatina C.

Por fim, sabe-se que geralmente, as concentrações de cistatina C na urina de indivíduos saudáveis são extremamente baixas e variam de 0,03 a 0,3mg/dL (KęPka *et al.*, 2013). A detecção da cistatina C na urina é um achado anormal e pode ser um indicador de falha na absorção e degradação pelas células epiteliais tubulares proximais (De Loor *et al.*, 2013). A presença dela na urina faz com que a cistatina C seja um potencial biomarcador para insuficiência renal aguda por especificar o local (células epiteliais tubulares) e, mediante uma lesão tubular mínima, pode indicar alta sensibilidade (Konvalinka, 2014). Nos grupos do nosso estudo a cistatina C urinária além de apresentar diferença significativa, também encontramos os valores da média do grupo com PE (0,58mg/dL) superiores ao grupo controle (0,42mg/dL). Trifonova *et al.* (2016) demonstraram maior concentração de cistatina C urinária em grávidas durante primeiro trimestre. Mas esses autores não encontraram diferença significativa estatisticamente entre os diferentes grupos de pacientes grávidas; e dentre suas ponderações eles

consideraram que a cistatina C urinária não seria um bom marcador aplicável em distúrbios com PE. Houve também diferenças significativas observadas nos níveis de cistatina C na urina entre a 16ª e 20ª semana gestacional em grávidas com PE. A análise ROC revelou que cistatina c urinária na 16ª semana gestacional apresentou a maior área sob a curva ROC (0,758) valor considerado como bom para indicar resultado de teste preditivo.

### **6.7- Avaliação da função renal: uso da fórmula de Hoek empregando Cistatina C sérica**

Várias equações têm sido desenvolvidas para estimar o RFG utilizando os níveis plasmáticos de cistatina C. De uma forma geral, independente da equação utilizada, a precisão é maior do que a das equações baseadas na creatinina (Macisaac *et al.*, 2006). Utilizamos fórmula Hoek para a estimativa do RFG nas gestantes, e destacamos que foi de forma inédita. Sabe-se que até o atual momento, não existem fórmulas acuradas para calcular RFG tanto em gestantes tão pouco com ou sem doença renal crônica (Vellanki, 2013). É possível que a fórmula do Hoek cistatina C seja a mais sensível para a detecção de perda de função renal neste grupo, embora não podemos afirmar, devido a ausência de um marcador padrão-ouro para comparação no presente estudo. Dentro desse contexto, é importante também destacar a ausência de estudos prévios utilizando a fórmula de Hoek para correlacionar com os dados encontrados dentro desse estudo.

De fato, segundo alguns autores, as equações de um modo geral baseadas no uso da cistatina C sérica têm valores mais confiáveis na aferição da RFG com altíssima acurácia e habilidade de predizer doença renal crônica e RFG inferior a 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (Hojs *et al.*, 2008). No entanto, dados mais recentes tem mostrado substancial variabilidade dar TFG estimada entre diferentes populações (Marques *et al.*; Stevens *et al.*, 2009).

Stevens *et al.* (2008) associaram informações relativas a pacientes com DRC obtidos de três pesquisas clínicas e um estudo populacional e compararam equações de estimativa da TFG que empregaram creatinina sérica, cistatina C ou



ambas. O estudo agrupou 3418 pacientes e ensaios de dosagem de creatinina calibrada e medidas da cistatina C em um mesmo laboratório e um conjunto externo de validação dos dados. Os autores investigaram que, em populações com DRC, a cistatina C sozinha fornece estimativas de TFG mais precisas que a creatinina sérica, e quase tão precisas quanto a creatinina sérica, idade, sexo e raça. A cistatina C fornece uma estimativa alternativa da TFG quando não está ligada a creatinina sérica e massa muscular.

Considera-se que a cistatina C pode ser uma alternativa promissora na avaliação da função renal em grávidas portadores de PE. Neste estudo, tal marcador aplicado a fórmula de Hoek para a estimativa de TFG glomerular foi capaz de distinguir gestantes com PE daquelas do grupo controle, sendo assim um importante achado.

#### **6.8- Análise da acurácia para teste preditivo dos marcadores estudados**

A acurácia de um marcador pode ser avaliada utilizando a análise da AUC ROC que é uma representação gráfica do desempenho dos testes quanto aos parâmetros de sensibilidade e especificidade (Beaglehole et al. 1993). A AUC ROC pode assumir valores entre 0,50 a 1,0 ou 50% a 100%. Quando a área engloba o valor de 0,5, o marcador não é capaz de diferenciar entre pacientes doentes e pessoas sem a doença. Não há nenhum valor que defina um marcador como bom ou ruim, porém um mínimo de AUC ROC de 0,70 é necessário. É importante destacar que nesse estudo todos os marcadores tiveram a AUC ROC maior que 0,7, mas foi na AUC ROC da cistatina C plasmática com valor de 0,917 que teve melhor desempenho entre os marcadores indicando nesse caso como excelente teste preditivo para grávidas com PE.

Estudos que analisaram e validaram a performance diagnóstica da cistatina C sérica tiveram valores semelhantes ao encontrado no nosso estudo da área da curva ROC. Dois estudos encontraram coincidentemente 90% de área da curva ROC para cistatina C sérica (Kristensen, Lindström, *et al.*, 2007; Kolialexi *et al.*, 2015)

E por fim, ratificando a excelência da cistatina C plasmática como marcador, Yong *et al.* (2017) recentemente fizeram uma metanálise com 30 estudos de coorte

prospectivos em adultos e compilaram dados de sensibilidade e especificidade, e concluíram que a cistatina C apresentou uma excelente acurácia ao obter uma AUC ROC de 0,89 para o diagnóstico de lesão renal aguda.

Sabe-se que quanto mais específico um teste, maior seu valor preditivo positivo, ou seja, maior a segurança do médico de que a pessoa com teste positivo tenha a doença, observou-se que entre os marcadores estudados a cistatina C plasmática teve o maior valor para especificidade de todos marcadores e VPP para diagnóstico de grávidas com PE. Testes preditivos como o realizado nesse estudo com a cistatina C plasmática indicam que a alta especificidade contribui para confirmar o diagnóstico sugerido por outros exames que apresentam menor especificidade.

Outro importante achado que indica a qualidade para o resultado do teste preditivo nesse estudo, está relacionado aos valores da razão de verossimilhança positiva que podem variar de zero ao infinito, sendo que resultados  $> 1$  indicam associação positiva do exame ou teste diagnóstico da doença de interesse, isto é, quanto maior o valor encontrado, maior a probabilidade diagnóstica do teste (Nunes *et al.*, 2015). Nos achados do presente estudo, isso significa dizer que a chance de resultados positivos do teste da cistatina c plasmática ser proveniente de grávidas com PE é infinitamente maior daquela encontrada no grupo de grávidas normotensas.

#### **6.9- Propostas de novos estudos potenciais a partir deste estudo inicial**

É importante ressaltar a necessidade de investigações mais detalhadas que busquem relação consistente da função renal durante toda gestação das grávidas com PE utilizando a cistatinaC, tanto plasmática quanto urinária. Observou também nesse estudo e na literatura consultada que as concentrações da cistatina C, uréia e creatinina no grupo de PE estão aumentadas, considerando o último trimestre gestacional. E a partir disso, pode-se propor estudos vindouros que consigam comparar essas concentrações com os outros trimestres, para uma possível sinalização de predição precoce da função renal ou não. Assim pode-se também

definir decerto em qual momento há o pico plasmático desses marcadores, para apontar qual deles sinaliza precocemente uma possível deterioração renal.

Outra proposta é a possibilidade de emprego e comparação das equações que utilizam cistatina C sérica e creatinina isolada e/ou conjugadas em grávidas que desenvolveram PE, para o reconhecimento da equação mais sensível para a população estudada. Sabe-se que é improvável que uma única equação funcione igualmente bem para todas as populações. Atualmente, existem cerca de 10 equações para estimativa do RFG pela cistatina C. Os estudos foram realizados em diferentes populações e com diferentes tipos de padrão ouro, sendo que esses resultados não podem ser generalizados, não sendo aplicáveis nas mais diversas condições clínicas.

Nesse estudo proveu-se dados consistentes sendo possível as devidas comparações com estudos anteriores, mas observou-se algumas limitações. O estudo apesar do seu tamanho modesto obteve resultados efetivos, porém poderia possuir um  $n$  amostral mais elevado. Outra limitação já destacada, anteriormente é a falta de padrão-ouro para assegurar o máximo de acertos de forma a estabelecer o diagnóstico mais próximo da realidade clínica.

## 7.0 Conclusões

1 – A cistatina C mostra-se um bom marcador de lesão glomerular em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, comparável aos marcadores tradicionais uréia e creatinina. Sua vantagem sobre estes marcadores refere-se a sua menor influência de diversos aspectos biológicos não relacionados a doença gestacional propriamente dita.

2- A cistatina C tem potencial de vir a ser utilizada como preditor de pré-eclâmpsia, mostrando neste estudo uma boa correlação neste sentido. Este aspecto deverá ser melhor estudado com modelos de predição mais específicos para esta validação.

## 8.0 BIBLIOGRAFIA

ABRAHAMSON, M. et al. Human cystatin C. Role of the N-terminal segment in the inhibition of human cysteine proteinases and in its inactivation by leucocyte elastase. *Biochem J.*, 1991, 273(3): 621-626.

ACOG Committee on Obstetric Practice. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. American College of Obstetricians and Gynecologists. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics.* 2002. 77(1): 67. Number 33, January 2002. [acesso 15 mai 2020]. Disponível em: [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12094777/>]

ACOG. Emergent Therapy for Acute-Onset, Severe Hypertension During Pregnancy and the Postpartum Period. Guidelines developed by the Committee on Obstetrics Practice for providers., 767, 2017. [acesso 15 mai 2020]. Disponível em: [<https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/committee-opinion/articles/2019/02/emergent-therapy-for-acute-onset-severe-hypertension-during-pregnancy-and-the-postpartum-period>]

ACUÑA, J. M. G. et al. Cystatin C provides more information than other renal function parameters for stratifying risk in patients with acute coronary syndrome. *Rev Esp Cardiol.* 2009, 6 (5): 510-519. .

AGARWAL, R.; PANESAR, A.; LEWIS, R. R. J. Dipstick proteinuria: can it guide hypertension management. *American Journal of Kidney Diseases.* 2002. 39(6): 1190-1195.

AKBARI, A. et al. Cystatin-C and beta trace protein as markers of renal function in pregnancy. *BJOG : an International Journal of Obstetrics and Gynaecology,* 2005 112(5): 575-578.

AKOLEKAR, R. et al. Maternal serum placental growth factor at 11+ 0 to 13+ 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008. 32(6): 732-739.

ALMEIDA, L. T. Hipertensão na gestação. *Journal Article.* 20. 2017. [acesso 15 mai 2020]. Disponível em: [<https://ares.unasus.gov.br/acervo/handle/ARES/79111>]

AMARAL, W. T.; PERAÇOLI, J. C. J. Fatores de risco relacionados à pré-eclâmpsia. *Comun. ciênc. saúde* 2011 ;22(sup. esp. 1): 161-168.

AMORIM M. M. R, SOUZA, A. S. R. , NORONHA NETO.C Tratamento da pré-eclâmpsia baseado em evidências. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2010; 32(9): 459-468. [acesso 15 mai 2020].Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v32n9/v32n9a08.pdf>

AUGUST, P. J. A. I. Preeclampsia: a “nephrocentric” view. *Advances in Chronic Kidney Disease.* 2013. 20(3): 280-286.

BABAY, Z. et al. Serum cystatin C in pregnant women: reference values, reliable and superior diagnostic accuracy. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2005. 32(3): 175-179.

BACCHETTA, J. et al. Which creatinine and cystatin C equations can be reliably used in children? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011. 6(3): 552-560.

BARRA, S. et al. Hipertensão arterial na grávida: o atual estado da arte. *Revista Portuguesa de Cardiologia.* 2012 . 31(6): 425-432.

BEAUFILS, M. et al. Metabolism of uric acid in normal and pathologic pregnancy. . Contrib Nephrol.In: (Ed.). Kidney and Pregnancy: Karger Publishers,1981. 25.132-136.

BELL, S. et al. The diagnosis of pre-eclampsia: effect of alternative methods for the detection of proteinuria. Hypertens Preg . 1997. 16: 138.

BÖKENKAMP, A. et al. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. Pediatr Nephrol. 1998. 12 (2): 125-129.

BOUVET, Y. et al. GFR is better estimated by considering both serum cystatin C and creatinine levels. Pediatr Nephrol. 2006. 21 (9): 1299-1306.

BOWERS, L. D. J. Kinetic serum creatinine assays I. The role of various factors in determining specificity. Clin Chem. 1980. 26(5): 551-554.

BROWN, M. A.; WHITWORTH, J. A. Management of hypertension in pregnancy. J Clinical Experimental Hypertension. 1999. 21(5-6): 907-916.

CATALDI, L. et al. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. J American journal of perinatology. 1999. 16(06): 287-295.

CHANG, J.; STREITMAN, D. J. Physiologic adaptations to pregnancy. Neurol. Clin. 2012. 30(3): 781-789.

CHESLEY, L. C.; WILLIAMS, L. O. Renal glomerular and tubular function in relation to the hyperuricemia of pre-eclampsia and eclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1945. 50(4): 367-375.

COELHO, T. M. et al. Proteinuria in hypertensive syndrome of pregnancy: maternal and perinatal outcome. *Rev. Assoc. Med. Bras*. 2004. 50(2): 207-213.

CRISPI, F. et al. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2006. 195(1): 201-207.

CUNNINGHAM, F. et al. Distúrbios hipertensivos na gravidez. *Williams obstetrícia*. 2000. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 20ed. cap. 10, 607-52..

DALTON, R. N. Creatinina sérica e taxa de filtração glomerular: percepção e realidade. *Bras Patol Med Lab*. 2011.47(1): 8-11.

DE LOOR, J. et al. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *Journal Veterinary Internal Medicine*. 2013. 27(5): 998-1010, 2013. ISSN 0891-6640.

DE SOUZA BRITO, T. N.; DE ARAÚJO OLIVEIRA, A. R.; DA SILVA, A. K. C. Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas. *RBAC* 2016. 48(1):7-12. [acesso 15 mai 2020]. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/03/RBAC-volume-48-1-2016-completa-1.pdf>

DEKKER, G. et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995. 173(4): 1042-1048.



DEKKER, G. A.; SIBAI, B. M. The immunology of preeclampsia. *Seminars in perinatology*, Elsevier. 1999. p.24-33.

DHARNIDHARKA, V. R.; KWON, C.; STEVENS, G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *American Journal of Kidney*. 2002. 40(2) 221-226.

DO RIO, S. M. et al. O. Alterações ultra-estruturais do glomérulo na pré-eclâmpsia. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 2004. 26(3): 185-192.

DUSSE, L. M. S. et al. Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2016.

ELSHEIKH, A. et al. The renin-aldosterone system during normal and hypertensive pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics*.2001. 264(4) 182-185.

ERICHSEN, E. S. et al. *Medicina laboratorial para o clínico*. 2009. 1 ed. Editora Coopmed.

ERLANDSEN, E. J. et al. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1998. 36(6), 393-397.

FACCA, T. A.; KIRSZTAJN, G. M.; SASS, N. Preeclampsia (marker of chronic kidney disease): from genesis to future risks. *J Bras Nefrol*. 2012. 34(1): 87-93.

FILLER, G. et al. Cystatin C as a marker of GFR—history, indications, and future research. *Clinical Biochemistry*. 2005. 38(1): 1-8.

FINNEY, H.; NEWMAN, D. J.; PRICE, C. P. J. A. O. C. B. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Annals of clinical biochemistry*. 2000. 37(1), 49-59.

FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W.; FLETCHER, G. S. *Clinical epidemiology: the essentials*. Lww. 2012. Edição: Fifth Lippincott Williams & Wilkins.

FLISER, D.; RITZ, E. J. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *American journal of kidney diseases*. 2001. 37(1): 79-83.

FRANCESCHINI, N. et al. Cystatin C and preeclampsia: a case control study. *Renal Failure*. 2008, 30(1): 89-95.

FROISSART, M. et al. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *Am Soc Nephrol*. 2005. 16(3): 763-773.

GABER, L. W. et al. 12 Renal pathology in pre-eclampsia. *Bailliere's clinical obstetrics and gynaecology*. 1994. 8(2): 443-468.

GABRIEL, I. C.; NISHIDA, S. K.; MASTROIANNI KIRSZTAJN, G. J. Cistatina C sérica: uma alternativa prática para avaliação de função renal? *Brazilian Journal of Nephrology*, 2011. 33(2): 261-267.

GAROVIC, V. D. et al. Urinary podocyte excretion as a marker for preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2007. 196(4). e-1-320.

GE, C. et al. Clinical prognostic significance of plasma cystatin C levels among patients with acute coronary syndrome *Clinical Cardiology: An International Indexed and Peer-Reviewed Journal for Advances in the Treatment of Cardiovascular Disease*. 2009. 32(11): 644-648.

GIFFORD, R. J. Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2000. 183(1), s1-s22.

GRUBB, A. et al. A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2005. 65(2): 153-162.

GRUBB, A. et al. 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. *Clinical chemistry*. 2005. 5(8): 1420-1431.

GRUBB, A. O. Cystatin C-properties and use as diagnostic marker. *Advances in clinical chemistry*, 2001. 35: 63-99.

GUPTA, S. et al. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstetrical & gynecological survey*. 2005. 60 (12): 807-816.

HAHN, H. et al. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatric Nephrology*. 2001. 20(1): 75-79.

HALLIGAN, A.W. et al. The role of observer error in antenatal dipstick proteinuria analysis." *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1999. 106(11): 1177-1180

HERGET-ROSENTHAL, S.; BÖKENKAMP, A.; HOFMANN, W. J. C. B. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? *Clinical biochemistry*. 2007. 40 (3-4):153-161.

HOEK, F. J.; KEMPERMAN, F. A.; KREDIET, R. T. comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003. 18(10): 2024-2031.

HOJS, R. et al. Serum cystatin C-based equation compared to serum creatinine-based equations for estimation of glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. *Clinical nephrology* . 2008. 70(1):10-17.

HOJS, R. et al. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with mild to moderate impairment of kidney function. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2006. 21(7):1855-1862.

HOLT, J. L.; MANGOS, G. J.; BROWN, M. A. J. N. Measuring protein excretion in pregnancy. *Nephrology*. 2007. 12(5):425-430.

IX, J. H. et al. Association of cystatin C and estimated GFR with inflammatory biomarkers: the Heart and Soul Study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2007. 22(4), 1087-1092.

JACOBS, D. S.; BERNARD JR, L. *Laboratory test handbook*. 1996. Lexi-Comp Hudson.

JIM, B. et al. Hypertension in pregnancy: a comprehensive update. *Cardiology in review* .2010. 18(4) 178-189.

KAHHALE, S. et al. Proteinúria como ator de risco no prognóstico da gestação associada à síndrome hipertensiva. *Rev Ginecol Obstet São Paulo* 1992; 3:122-9.

KEPKA, A. et al. Utility of urinary biomarkers in kidney transplant function assessment. *Current Issues Future Direction Kidney Transplant*, 2013. 3: 61-77.

KHAN, F. et al. Changes in endothelial function precede the clinical disease in women in whom preeclampsia develops. *Hypertension*. 2005. 46(5): 1123-1128.

KHARFI, A. et al. Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines. *Clinical biochemistry*. 2003. 36(5): 323-331.

KIRSZTAJN, G. M. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*.2007. 43(4) 257-264.

KOLIALEXI, A. et al. Validation of serum biomarkers derived from proteomic analysis for the early screening of preeclampsia. *Disease markers*. 2015 ( 2015).

KONVALINKA, A. J. Urine proteomics for acute kidney injury prognosis: another player and the long road ahead. *Kidney international*. 2014. 85(4): 735-738,

KRISTENSEN, K.; LARSSON, I.; HANSSON, S. J. Increased cystatin C expression in the pre-eclamptic placenta. *MHR: Basic science of reproductive medicine* 2007. 13(3):189-195.

KRISTENSEN, K. et al. Temporal changes of the plasma levels of cystatin C,  $\beta$ -trace protein,  $\beta$ 2-microglobulin, urate and creatinine during pregnancy indicate continuous alterations in the renal filtration process. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2007. 67(6): 612-618.

KYHSE-ANDERSEN, J. et al. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clinical chemistry*. 1994. 40(10): 1921-1926

LARSSON, A. et al. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2004. 64 (1): 25-30.

LAURENTI, R.; JORGE, M. H. P. D. M.; GOTLIEB, S. L. D. A mortalidade materna nas capitais brasileiras: algumas características e estimativa de um fator de ajuste. *Revista Brasileira de Epidemiologia* 2004. 7(4): 449-460.

LEVINE, R. J. et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 2006. 355(10): 992-1005.

LIU, X.-L.; ZHANG, W.-Y. J. Effect of maternal age on pregnancy: a retrospective cohort study. *Chinese medical journal*.2014. 127(12): 2241-2246.

MA, Y.-C. et al. Improved GFR estimation by combined creatinine and cystatin C measurements. *Kidney international*.2007 . 72(12): 1535-1542.

MACISAAC, R. J. et al. Estimating glomerular filtration rate in diabetes: a comparison of cystatin-C-and creatinine-based methods. *Diabetologia*, 2006. 49(7): 1686-1689.

MAGRO, M. C. D. S.; VATTIMO, M. D. F. F. Evaluation of renal function: creatinine and other biomarkers. *Revista Brasileira de terapia intensiva* 2007. 19(2) 182-187.

MALIK, S. M.; EDRIS. O. F. Evaluation of serum cystatin C compared with creatinine: a study in patients with pre-eclampsia. *International Journal of Pharmacological Research*. 2015. 5(11): 273.

MARQUES, L. P. J. et al. Consequências da interação Gravidez-Glomerulopatias. [acesso 15 maio 2020]. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Luiz\\_Paulo\\_Marques/publication/283487069\\_Consequencias\\_da\\_Interacao\\_Gravidez\\_e\\_Nefropatias/links/563a04e508ae337ef2981917.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Luiz_Paulo_Marques/publication/283487069_Consequencias_da_Interacao_Gravidez_e_Nefropatias/links/563a04e508ae337ef2981917.pdf)

MAYNARD, S. E. et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of clinical investigation*. 2003. 111(5): 649-658.

MEADS, C. et al. Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modelling. 2008.

MEDEIROS, F. S. R. Avaliação da dosagem sérica de cistatina C para detecção precoce de alterações na função do enxerto após o transplante renal. 2007. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo

MEYER, N. L. et al. Urinary dipstick protein: a poor predictor of absent or severe proteinuria. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1994. 170(1): 137-141.

MOODLEY, J. et al. Serum cystatin C for assessment of glomerular filtration rate in hypertensive disorders of pregnancy. Hypertension in pregnancy. 2004. 23(3): 309-317.

NERI, L. A. L. et al. Cystatin C measurement as renal function marker. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2010. 46(6): 443-453.

NETO, A.; DE SOUZA, J. Cistatina C plasmática como biomarcador de lesão renal aguda em idosos após correção de fratura de fêmur. 2017.

NEWMAN, D. J. et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. Kidney international. 1995. 47(1): 312-318.

NIRAULA, A. et al. Cystatin-C as a marker for renal impairment in preeclampsia.v. 2017, 2017.



NUNES, A. A. et al. Testes diagnósticos contexto da avaliação de tecnologias em saúde: abordagens, métodos e interpretação. Medicina (Ribeirão Preto). 2015. 48(1): 8-18.

OZER, B. A. et al. Can cystatin C be a better marker for the early detection of renal damage in primary hypertensive patients? Renal failure 2005. 27(3): 247-253.

PADMA, Y. et al. Renal markers in normal and hypertensive disorders of pregnancy in Indian women: a pilot study. International journal of reproduction, contraception, obstetrics and gynecology.2013. 2(4):514.

PAYNE, B. A. et al. A risk prediction model for the assessment and triage of women with hypertensive disorders of pregnancy in low-resourced settings: the miniPIERS (Pre-eclampsia Integrated Estimate of RiSk) multi-country prospective cohort study. PLoS Med.2014. 11(1) p. e1001589.

PEREIRA, M. G. Epidemiologia: teoria e prática. 1995 Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 583p.

PERRONE, R. D.; MADIAS, N. E.; LEVEY, A. S. J. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. Clinical chemistry 1992. 38 (10): 1933-1953.

PHELAN, L. K. et al. A prospective study of the impact of automated dipstick urinalysis on the diagnosis of preeclampsia. Hypertension in Pregnancy. 2004. 23 (2):135-142.

PIJNENBORG, R. et al. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta*. 1983. 4(4): 397-413.

PLASENCIA, W. et al. Uterine artery Doppler at 11+ 0 to 13+ 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2007. 30 ( 5): 742-749.

POON, L. et al. First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and pre-eclampsia. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2009. 33(1): 23-33.

REDMAN, C.; SARGENT, I. L. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response—a review. *Placenta*. 2003. 24, p. S21-S27.

REDMAN, C. W. et al. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999. 180 (2): 499-506.

REDMAN, C. W.; SARGENT, I. L. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005. 308 (5728): 1592-1594.

REIS, Z. S. N. et al. Early-onset preeclampsia: is it a better classification for maternal and perinatal outcomes? *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2010. 32(12): 584-590.

RIGALLEAU, V. et al. Cystatin C improves the diagnosis and stratification of chronic kidney disease, and the estimation of glomerular filtration rate in diabetes. *Diabetes & metabolism*,. 2008. 34(5): 482-489.

ROBERTS, J. et al. American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2013. 122(5): 1122-1131.

ROBERTS, J. M. et al. Uric acid is as important as proteinuria in identifying fetal risk in women with gestational hypertension. *Hypertension*, 2005. 46(6):1263-1269.

RODRIGUES, É. B. B. Estudo da dosagem da cistatina C urinária, como biomarcador da função renal, em fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa. 2017. [acesso 15 mai 2020]. Disponível em: [https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUOS-AQ5PQP]

ROSA, P. S. D. Correlação do clearance de creatinina e dos eletrólitos medidos na urina coletada em 12 e 24 horas em nefropatas. 2012. Universidade Federal do Espírito Santo [acesso 15 mai 2020]. Disponível em: [http://repositorio.ufes.br/handle/10/5480]

RULE, A. et al. Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney international*. 2006. 69 (2):399-405. .

SAI, E. et al. Increased cystatin C levels as a risk factor of cardiovascular events in patients with preserved estimated glomerular filtration rate after elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents. *Heart and vessels*. 2016. 31 (5): 694-701.

SALES, P. C. D. A.; FRANCO, N. T. Anestesia na gestante com pré-eclampsia e eclampsia. *Rev Med Minas Gerais*. 2009. 19(4 Supl 1), S3-S12.

SALGADO, J. V. L. Avaliação da cistatina C como marcador de função renal de pacientes com hipertensão arterial primária. 2010.

SAUDAN, P. J. et al. Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 1997. 104(10): 1159-1164.

SCHWARTZ, G. J. et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2009. 20(3): 629-637.

SECO, M. et al. Determination of serum cystatin C in patients with essential hypertension. *Nephron*. 1999. 81(4): 446-447.

SHAN, H. Y. et al. Use of circulating antiangiogenic factors to differentiate other hypertensive disorders from preeclampsia in a pregnant woman on dialysis. *American journal of kidney diseases*. 2008. 51(6): 1029-1032.

SHILPAK, M.G. et al. Cystatin C and the Risk of Death and Cardiovascular Events Among Elderly Persons. *New England Journal of Medicine*. 2005. 9(14): 23-24.

SHLIPAK, M. G. et al. Rate of kidney function decline in older adults: a comparison using creatinine and cystatin C. *American journal of nephrology*. 2009. 30(3): 171-178.

SHLIPAK, M. G. et al. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Annals of internal medicine*. 2006. 145(4):.237-246.

SHLIPAK, M. G.; MATTES, M. D.; PERALTA, C. A. Update on cystatin C: incorporation into clinical practice. *American Journal of Kidney Diseases* 2013. 62 (3): 595-603.

SIBAI, B.; DEKKER, G.; KUPFERMINC, M. Pre-eclampsia. *The Lancet*, 2005. 365 ( 9461): 785-799.

SIBAI, B. M.; BARTON, J. R. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: patient selection, treatment, and delivery indications. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2007.196(6): e1-514.

SIBAI, B. M. et al. Severe preeclampsia-eclampsia in young primigravid women: subsequent pregnancy outcome and remote prognosis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1986. 155(5):1011-1016.

SIBAI, B. M. et al. Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women: a prospective multicenter study. *American journal of obstetrics and gynecology*.1995. 172.(2): 642-648.

SIBAI, B. M. et al. Acute renal failure in hypertensive disorders of pregnancy: pregnancy outcome and remote prognosis in thirty-one consecutive cases. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1990. 162(3): 777-783.

SIBAI, B. M. Maternal and uteroplacental hemodynamics for the classification and prediction of preeclampsia. 2008. 805-806.

+

SIMAS, T. A. M. et al. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women American journal of obstetrics and gynecology. 2007.197(3): 244 e-1..

SINGH, D. et al. Association of cystatin C and estimated GFR with inflammatory biomarkers: the Heart and Soul Study. Nephrology Dialysis Transplantation. 2007. 22(4) 1087-1092.

SJOSTROM, P.; TIDMAN, M.; JONES, I. J. N. D. T. S-cystatin C formulae or combination of s-cystatin C and s-creatinine formulae do not improve prediction of GFR-Reply. Nephrology Dialysis Transplantation. 2008. 23(7):2426-2427.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial . 2007. 43(5): 329-337

SPENCER, K. J. A. O. C. B. Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of creatinine. Annals of clinical biochemistry. 1986. 23(1):1-25.

STEEGERS, E. A. et al. Pre-eclampsia. The Lancet. 2010. 376(9741): 631-644.

STEVENS, L. A. et al. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. American journal of kidney diseases . 2008. 51(3):395-406.

STEVENS, L. A.; LEVEY, A. S. J. M. C. Measurement of kidney function. *Medical Clinics*. 2005. 89 (3): 457-473.

STEVENS, L. A. et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney international*. 2009. 75(6): 652-660.

STILLMAN, I. E.; KARUMANCHI, S. A. J. J. O. T. A. S. O. N. The glomerular injury of preeclampsia. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2007. 18(8): 2281-2284.

STREVENSON, D. W.-S., A. GRUBB, H., Serum cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*,. 2001. 61(7): 575-580.

STREVENSON, H. et al. Serum cystatin C for assessment of glomerular filtration rate in pregnant and non-pregnant women. Indications of altered filtration process in pregnancy. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2002. 62(2): 141-147.

STREVENSON, H. et al. Serum cystatin C reflects glomerular endotheliosis in normal, hypertensive and pre-eclamptic pregnancies. *BJOG: an international journal of Obstetrics and Gynaecology* . 2003. 110(9): 825-830.

SUGIMOTO, H. et al. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *Journal of Biological Chemistry*. 2003. 278(15): 12605-12608.

SURESH, M. S. HELLP syndrome: An anesthesiologist's perspective. *Anesthesiology Clinics of North America*.1998. 16 (2): 331-348.

TAN, G. et al. 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): 2004-2009.

TENSTAD, O. et al. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* . 1996. 56(5): 409-414.

THILAGANATHAN, B. et al. Raised maternal serum cystatin C: an early pregnancy marker for preeclampsia.2009. 16(8):788-793.

TIETZ, N. W. *Clinical guide to laboratory tests*. WB Saunders Co, 1995.

TRIFONOVA A. N. , OSTROVSKIY O. V., VEROVSKIY V. E. A., K. Analytical and clinical aspects of measuring urinary cystatin C levels in pregnant women. *Journal of VolgSMU*. 2016. 4 (60):121-123.

URBANIAK, J. et al. S-cystatin C formulae or combination of s-cystatin C and s-creatinine formulae do not improve prediction of GFR. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2008. 23(7): 2425-2426.

UZUN, H. et al. Serum cystatin C level as a potentially good marker for impaired kidney function *Clinical biochemistry* 2005. 38(9): 792-798.



VALÉRIO, E. G. Variação da razão proteinúria/creatininúria em gestantes com hipertensão arterial em momentos diferentes do dia. 2005 [acesso 15 maio 2020]. Disponível:[<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/5169/000466187.pdf?sequence=1>]

VELLANKI, K. Pregnancy in chronic kidney disease. *Advances in chronic kidney disease*. 2013. *Hypertension in Pregnancy*. 20(3): 223-228.

VON DADELSZEN, P.; MAGEE, L. A.; ROBERTS, J. M. Subclassification of preeclampsia. *Hypertension in pregnancy*. 2003. 22(2): 143-148.

WATANABE, S. et al. Serum cystatin C level is a marker of end-organ damage in patients with essential hypertension. *Hypertension Research*. 2003. 26(11): 895-899.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia: evidence base. World Health Organization, 2011.

WOITAS, R. P. et al. Correlation of serum concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in liver cirrhosis. *Clinical chemistry*. 2000. 46(5): 712-715.

YALCIN, S. et al. Relationship between oxidative stress parameters and cystatin C levels in patients with severe preeclampsia. *Medicina*. 2013. 49 (3):19.

YONG, Z. et al. Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials . *Scientific reports*. 2017. (7): 41012.

YOSHIMURA, A. et al. Significance of uric acid clearance in preeclampsia. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 1990. 162(6): 1639-1640.

ZHANG, Z. et al. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis. American Journal of Kidney Diseases. 2011. 58(3) 356-365.

## 9.0 ANEXOS

### 9.1 TERMO DE CONSENTIMENTO

#### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

##### **Avaliação da Cistatina C no sangue e urina de gestantes com risco de desenvolverem pré-eclâmpsia como preditor da função renal.**

- 1- Nesse momento, nossa equipe de pesquisadores está convidando a senhora para um estudo científico sobre pré-eclâmpsia. A pré-eclâmpsia é uma condição que pode acarretar problemas tanto para a mãe quanto para o bebê e que ainda não tem causa definida.
- 2- A pré-eclâmpsia é caracterizada pelo aumento da pressão arterial na gravidez, e pode causar complicações maternas, como crise convulsiva, lesão no rim e cérebro
- 3- e no sistema de coagulação. Entre as complicações para o bebê, podemos citar a prematuridade, a diminuição do fluxo de sangue para a placenta fazendo com que o bebê tenha dificuldade de ganhar peso.
- 4- Acredita-se que algumas substâncias encontradas no sangue e urina da mãe, como a CISTATINA C, podem ajudar na identificação, mais cedo, do acometimento dos rins. Essas substâncias são marcadoras da função do rim, que é órgão acometido pela pré-eclâmpsia.
- 5- Para provar se essa hipótese está correta, é preciso coletar uma amostra de sangue e urina da senhora que está com a pré-eclâmpsia na gravidez, para análise em laboratório.
- 6- A punção da veia do seu braço, para realizar o exame, pode provocar dor de leve intensidade e às vezes levar a formação de um pequeno hematoma (coloração arroxeadada) no local, e muito raramente vermelhidão. A coleta de urina aparentemente não causa dano.
- 7- A dosagem da CISTATINA C não faz parte da rotina do Hospital das Clínicas e você deve estar ciente que os objetivos estão ligados somente à pesquisa, que têm como objetivo encontrar um marcador de lesão renal na pré-eclâmpsia, que seja melhor que os exames realizados até o momento.
- 8- Não há vantagens diretas para você caso aceite participar; e se você recusar, o seu tratamento no Hospital das Clínicas não será de forma alguma alterado. Seu nome ou do seu filho (a) não serão divulgados em resultados e publicações e só os

pesquisadores terão acesso a seus dados. Você poderá desistir de participar desse estudo a qualquer momento.

9- Caso seja de seu interesse, os resultados estarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar.

10- Eu.....  
 .., portadora de documento de identidade.....  
 expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a retirada de uma amostra de meu sangue e urina para pesquisa. Participo voluntariamente deste estudo e estou ciente de que os exames realizados não trarão prejuízo à minha saúde ou do meu filho.

11- Uma via de tudo que está escrito acima ficará com você.

**Nome da pesquisadora:** Patrícia Gonçalves Teixeira.

Assinatura: \_\_\_\_\_

**Endereço:** Alfredo Balena, 190, quarto andar, Santa Efigênia, Belo Horizonte, MG – HC-UFMG 190

**Telefone:** 3490-9763 ou 3246-8028

#### **Comitê de Ética em Pesquisa – COEP**

Av. Antônio Carlos, 6627

Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005- Tel:31-34094592

Campus Pampulha - Belo Horizonte, MG- Brasil. CEP: 31270-091

## 9.2 ARTIGO PUBLICADO

HYPERTENSION  
IN  
PREGNANCY

Hypertension in Pregnancy



VOLUME 39  
NUMBER 3  
2020

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/ihp20>

### Cystatin C as an indicator of renal damage in pre-eclampsia

Hellen Cássia Dos Santos Gomes , Antônio Carlos Vieira Cabral , Silvia Passos Andrade , Henrique Vítor Leite , Patrícia Gonçalves Teixeira , Paula Peixoto Campos & Jaqueline Amorim Arantes Gomes

To cite this article: Hellen Cássia Dos Santos Gomes , Antônio Carlos Vieira Cabral , Silvia Passos Andrade , Henrique Vítor Leite , Patrícia Gonçalves Teixeira , Paula Peixoto Campos & Jaqueline Amorim Arantes Gomes (2020) Cystatin C as an indicator of renal damage in pre-eclampsia, *Hypertension in Pregnancy*, 39:3, 308-313, DOI: [10.1080/10641955.2020.1766488](https://doi.org/10.1080/10641955.2020.1766488)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/10641955.2020.1766488>



Published online: 19 May 2020.



[Submit your article to this journal](#)



Article views: 13



[View related articles](#)



[View Crossmark data](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at  
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ihp20>



## Cystatin C as an indicator of renal damage in pre-eclampsia

Hellen Cássia Dos Santos Gomes<sup>a</sup>, Antônio Carlos Vieira Cabral<sup>b</sup>, Silvia Passos Andrade<sup>c</sup>, Henrique Vitor Leite<sup>a</sup>, Patrícia Gonçalves Teixeira<sup>a</sup>, Paula Peixoto Campos<sup>d</sup>, and Jaqueline Amorim Arantes Gomes<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, Federal University of Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil; <sup>b</sup>High Risk Pregnancy Study Group, Federal University of Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil; <sup>c</sup>Department of Physiology and Biophysics, Federal University of Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil; <sup>d</sup>Department of Pathology, Federal University of Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil

### ABSTRACT

**Objective:** To assess the predictive abilities of serum and urinary cystatin C levels for glomerular lesions in pregnant women with pre-eclampsia.

**Methods:** In this study, kidney function markers were compared between 38 pregnant women with pre-eclampsia and 22 healthy pregnant women.

**Results:** The serum and urine levels of cystatin C and urea were significantly higher in the pre-eclampsia group than in the control group. Receiver operating characteristic curve analysis demonstrated that the serum cystatin C level (91.7%) had a superior diagnostic accuracy for pre-eclampsia than the other markers.

**Conclusion:** Serum cystatin C level maybe a significant marker of pre-eclampsia.

### ARTICLE HISTORY

Received 22 April 2019  
Accepted 4 May 2020

### KEYWORDS

Serum cystatin C; urine cystatin C; pregnancy; pre-eclampsia

### Introduction

Pre-eclampsia (PE) presents a greater risk for both the mother and fetus, and when present, the incidence of severe obstetric complications is 25 times higher than that when absent. It is one of the most common complications in pregnancy and contributes significantly to maternal and perinatal morbidity and mortality (1,2). In Brazil, the hypertensive disorders lead as causes of this type of death, which represents 25% of maternal deaths investigated (3). The disease is also associated with an increased risk of fetal death, neonatal death, intrauterine growth restriction, and premature delivery (4).

The etiology of PE is not fully discerned, and its rapid progression and multisystem involvement challenges the understanding of both the pathogenesis of PE and the development of preventative measures (5). PE is classically defined as hypertension ( $\geq 140/90$  mmHg) associated with proteinuria and onset after 20 weeks of gestation (1). Recently, the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy accepts, in the absence of proteinuria, the diagnosis of PE may be based on the presence of headache, abdominal pain, visual disturbances, or altered laboratory tests, such as thrombocytopenia (less than  $150,000/\text{mm}^3$ ), hepatic enzyme elevation (double the basal levels), renal impairment ( $>1.0$  mg/dL) or double the baseline condition, or pulmonary edema, and visual or brain disorders, such as headache, scotomas, or convulsions (6).

Regardless of the presence or absence of proteinuria, there is damage to the glomerular filtration barrier, mainly reflected by podocytopathy, which may be the first sign of permanent renal damage (7,8).

Although improvements have been achieved and incorporated into laboratory practice, no available biomarker is completely effective in indicating early renal changes in pregnant women with PE. Currently, creatinine and urea are the endogenous markers widely studied in the various pathologies affecting the kidneys. However, it is known that these traditional markers are influenced by a number of factors in terms of their production, such as muscle mass and protein intake.

Current studies have shown cystatin C to be a good marker capable of detecting mild-to-moderate kidney damage (9–11). Most women with PE have a decreased glomerular filtration rate (GFR) and renal perfusion, and a plasma concentration of 1 mg/dl indicates a significant decrease in renal function. Thus, in patients with compromised glomerular filtration, promising markers, such as cystatin C, may detect these small differences (12).

A study in children, which analyzed the accuracy of cystatin C in the prediction of the GFR, showed that cystatin C had an equal or better correlation with GFR compared to creatinine (13). The authors defined, for the first time, the reference intervals for the serum concentration of cystatin C in a pediatric group, noting

**CONTACT** Hellen Cássia dos Santos Gomes  hellenuff@hotmail.com  Department of Gynecology and Obstetrics, Medical School, Federal University of Minas Gerais, 190 Alfredo Balena Avenue, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP 30130-100, Brazil

© 2020 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



that its concentration was not altered by the influence of anthropometric variables, such as weight and muscle mass, in children's development (14). Conversely, the concentration of serum creatinine increases with age, until the beginning of adolescence, because of the gain of muscle mass that occurs with growth (15).

A few studies have examined the importance of cystatin C during pregnancy and in PE. Cataldi *et al.* found higher levels of cystatin C in pregnant women at term compared to the controls, and still showed cystatin C serum levels in newborns are not significantly correlated with the respective maternal levels. The authors conclude that cystatin C does not cross the placental passage (16). Strevens *et al.* showed a better diagnostic performance for cystatin C than for serum creatinine (17). They also showed that the correlation between cystatin C and GFR was defined at different levels in pregnant and non-pregnant women. Cystatin C levels increase progressively from the second to third trimesters of pregnancy without complications (18). Cystatin C has received much attention in recent years as a promising alternative to assess glomerular injury; therefore, the occurrence of renal damage in women who have a pregnancy affected by should be discussed. To date, cystatin C levels represent an important clinical signal to detect early renal insufficiency and thus allow early observation of small renal modifications.

We hypothesized that the serum and urinary cystatin C levels possibly indicate glomerular injury in pregnant women with PE.

## Material and methods

### Study participants

This is a cross-sectional study, carried out over a period of 2 years, for the determination of serum and urinary levels of Cystatin C in women diagnosed with PE and in normotensive women. We selected 51 pregnant women diagnosed with PE (ACOG, 2013) and 30 normotensive women recruited at the time of prenatal care.

From Otto Cirne Maternity Hospital and Hospital of Clinics at Federal University of Minas Gerais (UFMG), all pregnant women were already in the second trimester of pregnancy. However, the analysis of the results was performed with 60 pregnant women who completed the study, 38 cases with PE and 22 normotensive controls eligible with gestational age  $\geq 21$  weeks for comparisons of the parameters of the variables.

Exclusion criteria were as follows for all pregnant women in the study: smoking, multiple gestations, fetuses with structural abnormalities, and medical history of proteinuria or renal disease.

Participants in the case group with PE would have to have high blood pressure ( $\geq 140/90$  mmHg) on two occasions, with visible proteinuria ( $\geq$  "+"), meeting the laboratory and clinical severity criteria, in addition to having at least one of the following risk factors for the development of PE: obstetric history, nulliparity, primipaternity, history of PE in previous pregnancy, obesity (muscle mass index [BMI]  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), age  $\geq 35$  years, nonwhite race, and chronic hypertension.

Written informed consent was obtained from all participants. The study was approved by the Research Ethics Committee of UFMG (CNAE 54429715.3.0000.5149/PlataformaBrasil)

### Detection of markers

The creatinine values from the samples were determined using the modified Jaffé method (19,20). Plasma urea levels were measured and determined by enzymatic colorimetric assay. Both markers were measured at the UFMG. The enzyme-linked immunosorbent assay for cystatin C was standardized according to the existing protocol in kit Human Cystatin C Duo Set (1 S Plate, DY 1196, R&D Systems, Minneapolis, UK). The dosage of cystatin C was determined in partnership with collaborators of the Laboratory of the UFMG. The curve was plotted according to the manufacturer's guidelines, and the dilutions of the standards and antibodies were adjusted to enable the detection of cystatin C levels in urine and plasma.

### Formula for GFR calculation

The plasma cystatin C level and body surface area were used in the Stevenson and Hoek's formula to estimate the GFR (21,22).

### Statistical analysis

The Anderson Darling test for normality verified the normal distribution of the continuous numerical variables. For the hypothesis tests,  $p < 0.05$  was considered significant. All analyses were performed using SPSS software version 20.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0; IBM Corp., Armonk, New York, USA)

Student's t-test was used to compare the means of variables with parametric distribution, and in the case of non-parametric variables, we used the Chi-square test for nominal variables and the Mann-Whitney test for continuous variables for comparisons between the two groups.

To evaluate the sensitivity and specificity of the plasma and urinary cystatin C levels in terms of predictive ability, we used receiver operating characteristic (ROC) curve analysis; this analysis was also performed for urea and plasma creatinine. The cutoff values of creatinine and urea (for maximizing the quality of the predictive test results) to classify pregnant woman with PE were adjusted according to logistic regression analysis (23).

## Results

No differences were found between the two groups in relation to gestational age, mother's age, race, family history of PE, and parity (Table 1).

The reference value obtained from this study for the serum level of cystatin C was 0.57–1.29 mg/L. The mean urinary cystatin C level in pregnant women with PE (0.58 mg/dL) was higher than that in the control group (0.42 mg/dL). The mean plasma cystatin C level in pregnant women with PE (0.64 mg/dL) was also higher than that in the control group (0.52 mg/dL) (Table 2).

No differences were found in the markers with between the affected and control group creatinine levels ( $0.69 \pm 0.04$  mg/dL vs.  $0.61 \pm 0.02$  mg/dL,  $p = 0.165$ ), while a significant difference was found in urea ( $17.0 \pm 0.95$  mg/dL vs.  $13.54 \pm 0.72$  mg/dL,  $p = 0.021$ ).

The ROC curve analysis, applied on the marker values, showed that plasma cystatin C had the best

diagnostic profile with an AUC of 91.7%, followed by urea (AUC = 78.9%), creatinine (AUC = 75.7%), and urine cystatin C levels (Table 3). The cutoff points obtained from this analysis were urine cystatin C, 0.828 mg/L; plasma cystatin C, 0.646 mg/L; creatinine, 0.905 mg/dL; and urea, 22.87 mg/dL. On applying these cutoffs, plasma cystatin C was found to be the best predictor of PE with a specificity of 100.0%, sensitivity of 76.3%, AUC of 91.7%, positive predictive value of 1.0, and negative predictive value of 0.7.

Figure 1 is exhibiting a moderate correlation of the Plasma Cystatin C concentration in the case group with PE, visualized due to the proximity of the points in the case group. The concentration of Plasma Cystatin C slightly increasing, that is, there was a slight increase in the concentration of Plasma Cystatin C according to the gestational age variable.

## Discussion

PE remains a challenging disease for specialists and researchers because of its diagnostic difficulty and complexity in the cases of suspect and because adequate studies are lacking. The possibility of using new isolated and/or conjugated markers as well as early PE prevention and screening techniques will revolutionize prenatal monitoring and help avoid deleterious effects in pregnant women.

Our study showed that the mean serum level of cystatin C was higher in the group of pregnant women with PE. Our results are consistent with those of other studies (18,24–26). The concentration of cystatin C was increased and correlated with renal damage and increased placental synthesis, because in the final months of gestation the placenta increases in size and weight to be able to meet the increasing demands from the fetus, coinciding with a gradual increase in the maternal serum concentration of cystatin C (27). In the present study, serum and urinary cystatin C levels were significantly higher in pregnant women with PE. Conversely, serum creatinine levels did not show significant differences between the two groups. These results confirm the previous observation of the superiority of cystatin C levels over serum creatinine levels in the estimation of renal function in patients with PE.

Pregnant women with PE are at an increased risk of renal impairment, which, if remains undiagnosed, can progress to renal failure. Biochemical markers, such as cystatin C, are considered to be superior to traditional renal markers, including creatinine and urea, for evaluation of renal function and GFR, as seen in this study, as the former are not affected by age, sex, race, ethnicity, mass muscle, and diet (28).

**Table 1.** Quantitative variables of study participants from both groups.

Variables		Group		<i>p</i> -value <sup>a</sup>
		Pre-eclampsia	Control	
Gestational age (weeks)	26–30	10.5% (4)	22.7%(5)	0.185
	31–34	21.1% (8)	36.4%(8)	
	35–37	52.6% (20)	36.4% (8)	
Age group (years)	>38	15.8% (6)	4.5% (1)	0.632
	>21	26.3% (10)	22.7% (5)	
	21–27	36.8% (14)	27.3% (6)	
	28–34	13.2% (5)	27.3% (6)	
By parity	>35	23.7% (9)	22.7% (5)	0.071
	G1	68.4% (26)	59.1% (13)	
	G2	13.2% (5)	36.4% (8)	
Race	>G3	18.5% (7)	4.5% (1)	0.455
	White	34.3% (13)	40.9% (9)	
	Other, nonwhite	65.8% (25)	59.1% (13)	
Family history of PE	No	65.8% (25)	81.8% (18)	0.186
	Yes	34.3% (13)	18.2% (4)	

<sup>a</sup>Fisher's exact test



**Table 2.** Comparison of the quantitative variables between both groups.

Variables	Pre-eclampsia	Control	p-value
Maternal age (years)	26.97 ± 6.37	27.77 ± 6.3	0.916 <sup>a</sup>
Number of pregnancies	1.87 ± 3.1	1.46 ± 2.5	0.270 <sup>a</sup>
Weight (kg)	82.45 ± 10.9	72.50 ± 9.8	0.082 <sup>a</sup>
Height (m)	1.61 ± 0.8	1.62 ± 0.78	0.422 <sup>a</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	36.4 ± 6.5	35.3 ± 5.8	0.243 <sup>a</sup>
Creatinine (mg/dL)	0.69 ± 0.21	0.61 ± 0.18	0.165 <sup>a</sup>
Urea (mg/dL)	17.00 ± 5.8	13.54 ± 2.5	<b>0.021</b> <sup>a**</sup>
UrineCystatin C (mg/L)	0.58 ± 0.35	0.42 ± 0.4	<b>0.012</b> <sup>a**</sup>
Plasma Cystatin C (mg/L)	0.64 ± 0.17	0.52 ± 0.3	<b>0.001</b> <sup>a**</sup>
GFR	1275.91	2261.35	<b>0.022</b> <sup>a**</sup>

<sup>a</sup>Student's t-test; <sup>a</sup>Mann-Whitney test; <sup>\*\*</sup>p value <0.05 is considered to be significant.

BMI, body mass index; GFR, glomerular filtration rate

No significant differences were found in the concentration of the creatinine marker between the affected and control groups (0.69 ± 0.04 mg/dLvs. 0.61 ± 0.02 mg/dL, p = 0.165), whereas onedifference was found in urea (17.0 ± 0.95 mg/dLvs. 13.54 ± 0.72 mg/dL, p = 0.021).

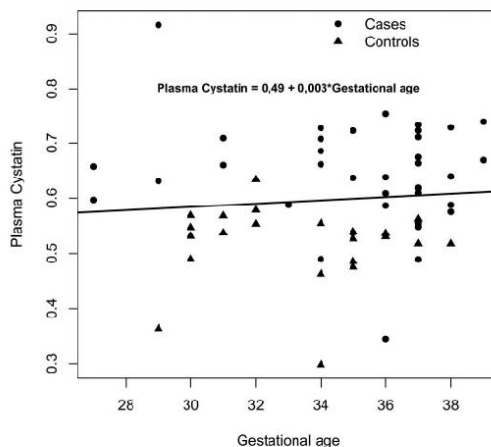
**Table 3.** Predictive characteristics of markers in relation to their cutoffs in pregnant women with PE.

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV	NPV	LR+	Diagacc	AUC(%)	95%CI	p- value	Cutoffs
UrineCystatin C (mg/L)	52.6%	86.3%	0.87	0.51	3.8	0.65	74.7	[62.3; 87.2]	0.001	0.828
PlasmaCystatin C (mg/L)	76.3%	100.0%	1.0	0.71	Infinity	/	91.7	[84.8; 98.6]	0.0001	0.646
Creatinine(mg/dL)	81.1%	62.5%	0.83	0.59	2.1	30.2	75.7	[62.1; 89.5]	0.004	0.905
Urea(mg/dL)	57.8%	87.5%	0.92	0.47	4.6	22.3	78.9	[66.6; 91.1]	0.004	22.87

PE, pre-eclampsia; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; LR+, positive likelihood ratio; Diag acc, diagnostic accuracy; AUC, area under the curve, CI, confidence interval.

Although we obtained reference values of serum cystatin C in this study, there is no consensus on these values because of the variations in analytical methods, calibration, and antisera age analysis. In previous studies, the mean values ranged from 0.18 to 1.60 mg/L, according to immunoturbidimetric assay, immunonephelometry, and immunoassay (29–32). Rigalleau *et al.* verified the need for normalization of reference values for this

biomarker in clinical practice, and Salgado *et al.* reported that the variation in results is a disadvantage in terms of the daily use of the biomarker (32,33). The plasma and urinary levels of cystatin C in pregnant women with PE in this study were significantly increased compared to those in the control group. In the last trimester of pregnancy, there was an increase of 29–39% in the cystatin C level when compared to that in the second trimester. In our

**Figure 1.** Scatterplot on the influence of gestational age in relation to the concentration of plasma Cystatin C, case–control group.

study, the pregnant women who were in the last trimester had a higher serum cystatin C concentration compared to the previous trimester. This increase reflects damage to renal function and increased cystatin C produced by the placenta. This relationship between the placenta and cystatin C levels was revealed when increased protein expression was investigated in cases with severe PE and confirmed the presence of cystatin C in placental amniotic fluid samples (27).

The markers in our study had an AUC of >0.7, but plasma cystatin C, with an AUC of 0.917, performed better among the markers, indicating an excellent predictive ability of plasma cystatin C for PE in pregnant women. Confirming the excellence of plasma cystatin C as a marker, Yong *et al.* recently performed a meta-analysis with 30 prospective cohort studies in adults and compiled sensitivity and specificity data. The authors concluded that cystatin C showed excellent accuracy for the diagnosis of acute kidney injury, with an AUC of 0.89 (34).

The detection of cystatin C in urine is an abnormal finding (35) and may be an indicator of the failure of absorption and degradation by proximal tubular epithelial cells. Its presence in urine enables cystatin C to be a potential biomarker for acute renal failure and, through minimal tubular injury, may indicate high sensitivity (36).

This study had some limitations. The study had a small sample size. However, our data were consistent when compared with previously published works. Furthermore, we did not use the gold standard method of renal assessment as a reference.

### Conclusions

We recommend cystatin C as a good marker of glomerular lesions in pregnant women with and assert that it is comparable to traditional markers, including urea and creatinine levels. The advantage of cystatin C compared with other markers is the lower influence on its levels of several biological aspects unrelated to the actual gestational disease. Cystatin C has the potential to be used as a predictor of PE and showed a good correlation with PE in this study. This aspect should be further studied with more specific prediction models for validation of our results. Determination of serum cystatin C has been widely performed in clinical practice worldwide, with excellent prospects, as a marker in obstetric clinical practice. Cystatin C may contribute to the provision of appropriate preventive and therapeutic measures in order to prevent or delay the progression of renal disease and the appearance of complications.

### Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

### Funding

This work was funded by the Foundation for Research Support in the State of Minas Gerais (FAPEMIG-MG).

### Data availability statement

Data sharing is not applicable to this article as no new data were created or analyzed in this study.

### References

- [1] Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005;365(9461):785–799.
- [2] Khan KS, Wojdyla D, Say L, et al. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006;367(9516):1066–1074.
- [3] Laurenti R, Jorge MHPDM, Gotlieb SDL. Mortalidade Materna Nas Capitais Brasileiras: algumas Características E Estimativa De Um Fator De Ajuste. *Revista Brasileira De Epidemiologia*. 2004;7(4):449–460.
- [4] Payne BA, Hutcheon JA, Ansermino JM, et al. A risk prediction model for the assessment and triage of women with hypertensive disorders of pregnancy in low-resourced settings: the miniPIERS (Pre-eclampsia Integrated Estimate of Risk) multi-country prospective cohort study. *PLoS Med*. 2014;11(1):e1001589.
- [5] Snyder S. Major changes in diagnosis and management of preeclampsia. *J Midwifery Womens Health*. 2014;59(6):596–605.
- [6] American College of Obstetricians and Gynecologists. Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013;122(5):1122–1131.
- [7] Garovic VD, Wagner SJ, Turner ST, et al. Urinary podocyte excretion as a marker for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196(4):320.e1–7.
- [8] White VM, Garrett AT, Craici IM, et al. Persistent urinary podocyte loss following preeclampsia may reflect subclinical renal injury. *PLoS One*. 2014;9(3):e92693.
- [9] Fliser D, Ritz EJ. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis*. 2001;37(1):79–83.
- [10] Ozer BA, Dursun B, Baykal A, et al. Can cystatin C be a better marker for the early detection of renal damage in primary hypertensive patients? *Ren Fail*. 2005;27(3):247–253.
- [11] Hojs R, Bevc S, Ekart R, et al. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with mild to moderate impairment of kidney function. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(7):1855–1862.

- [12] Gaber LW, Spargo BH, Lindheiner MD. Renal pathology in pre-eclampsia. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1994;8(2):443–468.
- [13] Willens HL, Hilbrands LB, Calseyde JF, *et al.* Is serum cystatin C the marker of choice to predict glomerular filtration rate in pediatric patients? *Ann Clin Biochem.* 2003;40:60–64.
- [14] Finney H, Newman DJ, Thakkar H, *et al.* Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates and older children. *Arch Dis Child.* 2000;82(1):71–75.
- [15] Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, *et al.* Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol.* 1998;12:125–129.
- [16] Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, *et al.* Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinatol.* 1999;16(6):287–295.
- [17] Strevens H, Wide-Svensson D, Grubb A. Serum cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. *Scand J Clin Lab Invest.* 2001;61(7):575–580.
- [18] Strevens H, Wide-Svensson D, Torffvit O, *et al.* Serum cystatin C for assessment of glomerular filtration rate in pregnant and non-pregnant women. Indications of altered filtration process in pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest.* 2002;62(2):141–147.
- [19] Jacobs DS, Bernard L Jr. *Laboratory Test Handbook.* Hudson: Lexi-comp; 1990.
- [20] Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests.* Philadelphia: Wb Saunders Co.; 1995.
- [21] Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin c, Plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(10):2024–2031.
- [22] Stevenson PH. Height-weight-surface formula for the estimation of body surface area in Chinese subjects. *Chin J Physiol.* 1937;12:327–334.
- [23] Agresti A. *Categorical Data Analysis.* 2nd ed. New York(NY): John Wiley & Sons, Inc.; 2002. p. 320–332.
- [24] Kristensen K, Lindström V, Schmidt C, *et al.* Temporal changes of the plasma levels of cystatin c,  $\beta$ -trace protein,  $\beta$ 2-microglobulin, urate and creatinine during pregnancy indicate continuous alterations in the renal filtration process. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007;67(6):612–618.
- [25] Franceschini N, Qiu C, Barrow DA, *et al.* Cystatin C and preeclampsia: a case control study. *Ren Fail.* 2008;30(1):89–95.
- [26] Thilaganathan B, Ralph E, Papageorghiou AT, *et al.* Raised maternal serum cystatin c: an early pregnancy marker for preeclampsia. *Reprod Sci.* 2009;16(8):788–793.
- [27] Kristensen K, Larsson I, Hansson SR. Increased cystatin C expression in the pre-eclamptic placenta. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(3):189–195.
- [28] Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, *et al.* Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int.* 2004;65(4):1416–1421.
- [29] Ix JH, Shlipak MG, Chertow GM, *et al.* Association of cystatin C with mortality, cardiovascular events, and incident heart failure among persons with coronary heart disease: data from the heart and soul study. *Circulation.* 2007;115(2):173–179.
- [30] Neri LAL, Mendes ME, David-Neto E, *et al.* Cystatin C measurement as renal function marker. *J Bras Patol Med Lab.* 2010;46:443–453.
- [31] Sai E, Shimada K, Miyauchi K, *et al.* Increased cystatin C levels as a risk factor of cardiovascular events in patients with preserved estimated glomerular filtration rate after elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents. *Heart Vessels.* 2016;31(5):694–701.
- [32] Salgado JVL. Avaliação da cistatina C comomarcador de função renal de pacientes com hipertensão arterial primária. 2010.
- [33] Rigalleau V, Beauvieux MC, Le Moigne F, *et al.* 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):482–489.
- [34] Yong Z, Pei X, Zhu B, *et al.* Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials. *Sci Rep.* 2017;7(1):41012.
- [35] De Loor J, Daminet S, Smets P, *et al.* Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *J Vet Intern Med.* 2013;27(5):998–1010.
- [36] Konvalinka A. Urine proteomics for acute kidney injury prognosis: another player and the long road ahead. *Kidney Int.* 2014;85(4):735–738.