U.PORTO

MESTRADO INEGRADO EM MEDICINA

Novos Biomarcadores no Doente Crítico

Tiago Ferreira Neves

M

2018



Artigo de Investigação Médica de Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Título: Novos Biomarcadores no Doente Crítico

Estudante

Nome Completo: Tiago Ferreira Neves

Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Nº de aluno: 201203307

Correio eletrónico: seven5.tiago@gmail.com

Orientador

Nome Completo: Aníbal Defensor Moura de Sousa Marinho

Grau académico: Professor Associado Convidado do MIM do ICBAS/HGSA-CHP

Título profissional: Responsável pela Unidade Central de Cuidados Intensivos I do HGSA-CHP

Afiliação

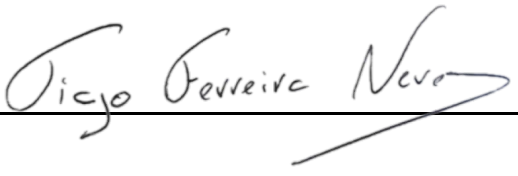
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar- Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto, Portugal

Maio, 2018

Data: 29/05/2018

Assinatura do autor - Tiago Ferreira Neves



Agradecimentos

Devo os meus agradecimentos ao meu orientador Dr. Aníbal Marinho, a quem recorri, muitas das vezes fora de horas, para me ajudar não só na colheita e interpretação de dados como também na elaboração e no aperfeiçoamento deste trabalho.

Fico em dívida, também, para com o Dr. Ricardo Marinho por me ter dado a valiosa ajuda na organização dos dados e de ter entrado em contacto com o Dr. Bruno Oliveira, professor responsável pela análise estatística deste trabalho.

Por fim, resta-me agradecer a colaboração do Professor Dr. Bruno Oliveira, professor de estatística na Faculdade de Ciências da Nutrição da Universidade do Porto, e do Dr. Álvaro Moreira da Silva pelo seu importante papel, na interpretação estatística dos dados.

Resumo

Introdução

A creatinina plasmática é o marcador habitualmente usado para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) na rotina clínica. Existem diversas equações para estimar a TFG que foram introduzidas e validadas. Ultimamente, a proteína de baixo peso molecular, cistatina C, foi introduzida e indicada, em muitos estudos, como sendo um melhor marcador do que a creatinina para estimar a TFG. No entanto, há estudos conflituosos no que diz respeito a esta superioridade. O objetivo do estudo foi comparar as equações disponíveis utilizadas para estimar a TFG em doentes críticos e determinar qual a melhor fórmula e qual o melhor biomarcador. Para além da Cistatina C, também tem sido utilizado, cada vez com mais frequência a procalcitonina como marcador inflamatório/infecioso. O segundo objetivo deste trabalho será perceber se existem diferenças significativas entre a Proteína-C Reativa (PCR), Procalcitonina (PCT) e escala SOFA como indicador de gravidade num doente crítico.

Métodos

Foram avaliados 69 doentes críticos (59.4% homens, 40.6% mulheres, idade média 65.28±14.03 anos, taxa de mortalidade de 29%). Procedeu-se à colheita, em cada doente, dos valores de creatinina, cistatina C, procalcitonina, PCR e dados relativos à escala SOFA. Calculou-se a TFGe usando a Equação *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD), *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI), Cockcroft-Gault, Equação Cistatina C (Scys) e CKD-EPI Creatinina-Cistatina C. Elaboraram-se correlações estatísticas e curvas de ROC para as equações referidas e para os biomarcadores PCR, PCT e escala SOFA. A análise estatística foi elaborada usando o software MedCalc e o software SPSS® 23.0.

Resultados

Os valores médios obtidos foram: creatinina sérica 1.23±0.89mg/dl (mediana=0.83), cistatina C 1.6±1.23mg/L (mediana=1.06), procalcitonina 16.89±92.35ng/mL (mediana=0.79), PCR 144.36±127.34mg/dL (mediana=98.49) e escala SOFA 5.74±3.08 (mediana=6). Os valores médios das TFG estimadas, para as diferentes fórmulas avaliadas foram: Equação MDRD de 94.13 ± 68.95 mL/min/1,73m^2, CKD-EPI de 73.87 ± 36.61 mL/min/1,73m^2; Cockcroft-Gault de 85.69 ± 60.56 mL/min/1,73m^2; Scys de 67.17 ±37.75 mL/min/1,73m^2; CKD-EPI Creatinina-Cistatina C de 67.87 ± 35.86 mL/min/1,73m^2. Nas

curvas de ROC, os valores das áreas abaixo da curva (AAC), são de: 0.555 na Equação MDRD; 0.544 na CKD-EPI; 0.530 na Cockcroft-Gault; 0.624 na Scys; 0.577 na CKD-EPI Creatinina-Cistatina; 0.625 para a escala SOFA; 0.522 para a Procalcitonina e de 0.531 para a Proteína-C Reativa.

Conclusão

As curvas de ROC demonstraram que a fórmula Scys, que usa apenas a cistatina C como biomarcador da função renal é a que apresenta melhor acuidade para estimar a TFG em doentes críticos. Ficou também demonstrado, no presente estudo, que a escala SOFA é o indicador com maior acuidade para avaliar a gravidade no doente crítico.

Palavras-chave

Cistatina C, Creatinina, TFG, Procalcitonina, Proteína-C Reativa, escala SOFA

Abstract

Introduction

Plasma creatinine is the most commonly used marker in estimating glomerular filtration rate (GFR) in the clinical routine. There are several equations for estimating GFR that have been introduced and validated. Recently, the low molecular weight protein, cystatin C has been introduced and indicated in many studies as being a better marker than creatinine for estimating GFR. However, there are conflicting reports regarding this superiority. The aim of the study was to compare the available equations used to estimate GFR in critically ill patients and to determine the best formula and the best biomarker. In addition to cystain C, procalcitonin has also been increasingly used as an inflammatory/infectious marker. The second objective of this study will be to determine if there are significant differences between C-Reactive Protein (CRP), Procalcitonin and SOFA score as an indicator of severety in a critical ill patient.

Methods

69 critically ill patients (59,4% men, 40.6% women, mean age 65,28±14,03 years, 29% mortality rate) were evaluated. The values of creatinine, cystatin C, procalcitonin, CRP and data related to the SOFA score were collected at each patient. The GFR was calculated using Modification of Diet in Renal Disease (MDRD), Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), Cockcroft-Gault, Cystatin C Equation (Scys). Statistical correlations and ROC curves were calculated for the above equations and for the biomarkers PCR, PCT and SOFA scale. Statistical analysis was performed using MedCalc software and SPSS® software 23.0.

Results

The mean values obtained were: serum creatinine 1.23±0.89mg/dL (median=0.83), cystatin C 1.6±1.23mg/L (median=1.06), procalcitonin 16.89±92.35ng/mL (median=0.79), PCR 144.36±127.34mg/dL (median=98.49) and SOFA score 5.74±3.08 (median=6). The mean values of the estimated GFR for the different formulas evaluated were: MDRD Equation of 94.13±68.95mL/min/1.73m2, CKD-EPI of 73.87±36.61 mL/min/1.73m2; Cockcroft-Gault 85.69±60.56mL/min/1.73m2; Scys of 67.17±37.75mL/min/1.73m2; CKD-

EPI Creatinine-Cystatin C Equation 67.87±35.86mL/min/1.73m2. In the ROC curves, the values of the areas under the curve (AUC) are: MDRD equation is 0.555, CKD-EPI is 0.544; Cockcroft-Gault is 0.530; Scys is 0.624; CKD-EPI Creatinine-Cystatin C is 0.577; SOFA score is 0.625; Procalcitonin is 0.522; C-reactive protein is 0.531.

Conclusion

ROC curves have demonstrated that the Scys formula, which uses only cystatin C as a biomarker of renal function, is the one that has the best accuracy for estimating GFR in critically ill patients. It was also demonstrated in the present study that the SOFA scale is the most accurate indicator to assess the severity of the critical patient.

Key Words

Cystatin C, Creatinin, GFR, Procalcitonin, C-Reactive Protein, SOFA score

Índice

- **Introdução teórica**……..…….....**1**
  - Taxa de filtração glomerular…….1
  - Cistatina C…….……..……...1
  - Equações de avaliação da função renal…..……..2
  - Proteína C- Reativa, Procalcitonina e escala SOFA……3
- **Materiais e métodos**…….…….....**4**
  - Desenho do estudo……4
  - Cálculo da TFGe..……..……4
  - Análise estatística……..5
- **Resultados**……..…….……..**6**
  - Características da amostra…….……6
  - Análise dos resultados relativos aos biomarcadores
    - Creatinina e Cistatina C…….……..……..6
    - Proteína-C Reativa, Procalcitonina e escala SOFA……...…….7
- **Discussão……..**…….…….....**8**
- **Conclusão…….**…….... **14**
- **Apêndice…**…….…….…….**15**
- **Referências Bibliográficas**……..**22**

Lista de abreviaturas

AAC- Área Abaixo da Curva

AUC- *Area Under the Curve*

CKD-EPI- Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

DRC- Doença Renal Crónica

IMC- índice de massa corporal

MDRD- *Modicfication of Diet in Renal Disease*

PCR- Proteína C Reativa

PCT- Procalcitonina

ROC- *Receiver Operating Characteristic*

Scys- Equação Cistatina C

SOFA- *Sequential Organ Failure Assessement*

TFG- Taxa de Filtração Glomerular

TFGe- Taxa de filtração glomerular estimada

UCI- Unidade de Cuidados Intensivos

Introdução teórica

A doença renal crónica é um problema de saúde a nível mundial com cada vez maior prevalência, tendo como causa, uma série de diferentes etiologias que afetam a estrutura e função renal. (1) Esta disfunção traduz-se numa TFGe<60mL/min/1.73m^2 durante, pelo menos, 3 meses. Uma vez diagnosticada, a DRC deve ser classificada tendo em conta os níveis de albuminúria e TFG, a fim de ser possível estratificar o risco. (2)

Taxa de filtração glomerular

A TFG é aceite como sendo a melhor forma de avaliação da função renal em indivíduos doentes e saudáveis, (2) sendo considerada o melhor reflexo desta. (3)

A determinação da TFG requer a utilização de uma substância que seja livremente filtrada pelos glomérulos e que não seja reabsorvida nem secretada pelos túbulos renais. A inulina é um polissacarídeo que possui estas mesmas características e, inicialmente, era usada para este efeito. Administrava-se por via endovenosa, uma vez que é pouco absorvida de outra forma. Este método possuía várias desvantagens, nomeadamente a necessidade de ser administrada por infusão contínua. Por esta razão, pesquisaram-se possíveis substitutos à inulina, tendo o 125I-iotalamato demonstrado ser um bom marcador. Esta substância apresentava vantagens, já que podia ser administrada por via subcutânea num único bólus. (4) Atualmente, usam-se marcadores como a creatinina e a cistatina C para determinar a TFG.

A creatinina sérica é o biomarcador renal mais usado quando se pretende estimar a TFG, mas apresenta algumas limitações, pois observa-se com frequência que, apesar de ocorrer uma redução da TFG para um valor inferior a 60 mL/min/1.73m2, os níveis de creatinina mantêm-se dentro do intervalo de referência. Estes valores são influenciados por determinantes que não a TFG, como a massa muscular, idade e género, dificultando a interpretação dos resultados. (5) Desta forma, propôs-se a utilização de outros biomarcadores séricos além da creatinina, a fim de estimar com mais precisão a TFG, diminuindo a influência dos fatores externos para a determinação desta variável. (2)

Cistatina C

A cistatina C é considerada uma boa alternativa à creatinina plasmática. Trata-se de uma proteína de baixo peso molecular não glicosilada, pertencente à família dos inibidores da cisteína protease (6) e é mais sensível do que a creatinina, no que se refere à identificação das pequenas diminuições iniciais da função renal, num contexto de doença

renal (7). Além disso, é produzida a uma taxa constante por todas as células nucleadas, não é afetada por fatores como o sexo ou massa muscular e é filtrada ao nível dos glomérulos, atravessando livremente a membrana glomerular (8) sendo, virtualmente, toda reabsorvida e metabolizada pelas células do túbulo proximal.

A comunidade científica tem realizado diversos estudos no sentido de perceber, entre a creatinina e a cistatina C, qual o melhor biomarcador da função renal. No entanto estes estudos têm tido resultados conflituosos. (9)

Equações de avaliação da função renal

Dependendo do método, a medição da função renal pode ser muito dispendiosa ou demorada, sendo que a sua fiabilidade depende de muitos fatores. Por esta razão, desenvolveram-se fórmulas que estimavam a TFG através dos valores da creatinina sérica. As mais usadas são a MDRD, a CKD-EPI e a fórmula de Cockcroft-Gault. (1)

A equação MDRD, desenvolvida em 2000, é a mais utilizada na prática clínica. É bastante rigorosa para estimar TFG<60ml/min/1.73m^2, mas subestima a TFG quando os seus níveis >60ml/min/1.73m^2. (2)

A fórmula CKD-EPI foi criada em 2009, também se baseia na creatina sérica e apresenta menos vieses quando comparada com a equação MDRD em valores >60ml/min/1.73m^2. (2)

A equação Cockcroft-Gault foi desenvolvida usando a média dos valores da creatinina, na urina de 24 horas e estima a *clearance* da creatinina. Porém, esta não só é filtrada pelos glomérulos, como também é secretada pelos túbulos, o que significa que, através desta fórmula, a TFG é sobrestimada. É de salientar que, ao contrário das anteriores, esta fórmula tem em conta o peso do doente. (10), (3)

Mais tarde, desenvolveram-se e validaram-se duas novas equações, uma que usava apenas a cistatina C (Scys) e outra que usava a cistatina C e a creatinina combinadas (CKD-EPI Creatinina-Cistatina C). Procedeu-se à comparação destas equações com as equações pré-existentes, tendo-se testado a sua utilidade na classificação de doentes crónicos renais. (11)

No presente trabalho, procuramos determinar qual o melhor marcador da função renal em doentes críticos, utilizando estas diferentes fórmulas. Ao mesmo tempo que se começou a utilizar a cistatina C na avaliação da função renal do doente crítico, foi também introduzido um novo biomarcador, a procalcitonina, a fim de avaliar o grau de inflamação/infeção no doente crítico.

Proteína C- Reativa, Procalcitonina e escala SOFA

Até essa altura, a proteína C reativa era um dos biomarcadores mais utilizados na clínica para estudar a inflamação. Cerca de 4 a 6 horas após o estímulo inflamatório, começa a observar-se a elevação da PCR. Estes níveis duplicam ao fim de 8 horas, atingindo o seu pico entre as 36 e 50 horas após o início da infeção (12), mantendo-se elevado durante 3 a 7 dias. (13)

A procalcitonina, por sua vez, é uma pré-hormona proveniente da calcitonina que é segregada pelas células C da tiroide em resposta à hipercalcemia e em condições normais os níveis de PCT são negligenciáveis. Qualquer valor acima de 0.5ng/mL indica que o doente se encontra em risco de desenvolver choque sético. Para além disso, a PCT tem demonstrado ser um marcador com diferentes utilidades, sendo usada com frequência para avaliar a gravidade, prognóstico e curso da doença. (14)

Em doentes críticos, a sépsis é uma condição prevalente, traduzida por uma resposta desregulada do organismo perante uma determinada infeção, podendo, consequentemente, conduzir a uma disfunção multissistémica grave, originando um estado de hipotensão refratária, designado por choque sético. (15)

A utilização de biomarcadores neste contexto, como a PCR e a procalcitonina permitem-nos avaliar a gravidade do estado clínico do doente, bem como a sua resposta à terapêutica.

Apesar de ambos serem considerados bons biomarcadores, são influenciados por outras causas de disfunção sistémica não infeciosas. (14) Neste trabalho, procedeu-se, também, à comparação destes biomarcadores com a escala SOFA, que é um método simples e objetivo que permite calcular a falência multiorgânica e a sua severidade através da avaliação de seis sistemas: respiratório (PaO2, FiO2), hepático (bilirrubina), cardiovascular (nível da hipotensão), renal (creatinina), neurológico (escala de Glasgow) e coagulação (número de plaquetas). (16)

Materiais e Métodos

Desenho do estudo

Efetuou-se um estudo observacional, transversal e retrospetivo, realizado no serviço de cuidados intensivos do Centro Hospitalar do Porto.

Foram colhidos os dados, de uma forma aleatória, relativos a 79 doentes que estiveram internados no serviço em questão durante seis meses que correspondeu ao período entre novembro de 2017 e abril de 2018. Os doentes que permaneceram internados na UCI por mais do que uma semana (32 doentes dos 79) foram avaliados para os mesmos dados, na segunda semana.

Estes dados foram obtidos através da consulta dos processos clínicos eletrónicos dos doentes, preservando sempre a sua identidade.

Consultou-se os processos clínicos de cada doente internado na semana pretendida e posteriormente escolheram-se aqueles aos quais tinham sido realizadas análises bioquímicas na qual constassem os valores da creatinina e cistatina C. Uma vez preenchidos estes requisitos, cumpriu-se a recolha de variáveis que incluem o género, peso, atura, idade, diagnóstico à admissão, antecedentes pessoais, data de admissão ao hospital, data de admissão ao serviço, data de alta e estado à saída. Todos os doentes eram caucasianos. Quanto às variáveis que dizem respeito às análises bioquímicas, foram colhidas os valores séricos da creatinina à admissão, creatinina 48 horas após a admissão, creatinina basal, creatinina na data da colheita, valores de ureia, cistatina C, a presença ou ausência de noradrenalina ou dobutamina na terapêutica, a relação entre a pressão parcial de O2 e a fração inspirada de O2 (paO2/fiO2), bilirrubina total, valor da escala de *Glasgow*, procalcitonina, proteína C reativa, a contagem de plaquetas e o cálculo da escala SOFA.

Dos 79 doentes avaliados inicialmente, foram excluídos da amostra 10 doentes por não ter sido possível colher todos os dados pretendidos. Ficaram, no final deste processo 69 doentes críticos com todos as variáveis colhidas (59.4% homens, 40,6% mulheres, média de idade de 65.28±14.026 anos, havendo, à saída do serviço, uma taxa de mortalidade de 29%).

Cálculo da TFGe

Procedeu-se ao calculo a TFGe usando os valores da creatinina sérica para as três diferentes fórmulas utilizadas no estudo, a fórmula MDRD, CKD-EPI e a fórmula de

Cockroft-Gault. Calculou-se também a TFGe recorrendo a duas fórmulas que foram desenvolvidas e descritas por Lesley A. Inker, *et al* (11), publicado em 2012. Neste estudo, foi usada a Equação Cistatina C (Scys), que apresentava menos vieses em comparação às outras equações e foi criada uma fórmula que usa a creatinina e a cistatina C combinadas designada por Equação CKD-EPI Creatinina-Cistatina C. (11)

Análise estatística

De seguida, procedeu-se à análise de todas as variáveis, tendo-se pedido a colaboração do Dr. Bruno Oliveira, professor auxiliar da Faculdade de Ciências da Nutrição da Universidade do Porto. Esta análise foi feita usando o software MedCalc e o SPSS® 23.0.

Na caracterização da amostra foi utilizada estatística descritiva. As variáveis contínuas foram expressas com a média ± desvio padrão e mediana. A fórmula de distribuição das variáveis foi analisada através do seu histograma para verificação da probabilidade da distribuição normal das mesmas.

A correlação efetuada entre as equações supracitadas, os biomarcadores PCT, PCR e escala SOFA é uma correlação linear bivariável, através do método do coeficiente de correlação de *Pearson*.

A análise da acuidade para as variáveis em estudo foi obtida com o recurso à curva de ROC e ao valor da área abaixo da curva.

Resultados

Características da amostra

As características dos doentes em estudo estão representadas na **tabela I e II**. Na **tabela I** pode-se verificar que cerca de 59.4% da população em estudo é do género masculino, 40.6% é do género feminino e que, cerca de 29% dos doentes faleceu durante o período de internamento na unidade de cuidados intensivos. Na **tabela II** é importante realçar, numa primeira fase, a idade média dos doentes internados, que é de 65 anos e o tempo de internamento, que foi de 14 dias e a mediana de 9 dias. Em relação aos valores analíticos da primeira medição, cujas médias também estão representados na **tabela II**, podemos ver a média da creatinina (1.23mg/dL±0.891, mediana=0.83), ureia (68.86mg/dL±44.062, mediana=54), cistatina C (1.61mg/L±1.227, mediana=1.06), escala SOFA (5.74±3.076, mediana=6), procalcitonina (16.89ng/mL±92.351, mediana=0.78), proteína C reativa (144.36 mg/dL±127.343, mediana=98,49).

Numa segunda fase do estudo, foram calculados os mesmos parâmetros durante a segunda semana de internamento, a fim de perceber a evolução dos mesmos. Os resultados desta análise estão presentes na **tabela III**. Aqui, a média da creatinina é de 1.57mg/dL±1.72 (mediana=0.93), ureia de 95.66mg/dL±80.18 (mediana=66.5), a cistatina C tem uma média de 2.15 mg/L±1.45 (mediana=1.66), escala SOFA de 4.81±3.08 (mediana=4), procalcitonina de 14,20ng/mL±48.26 (mediana=0.82) e a proteína C reativa tem média de 105.23 mg/dL±77.99 (mediana=75.26).

Análise dos resultados relativos aos biomarcadores: Creatinina e Cistatina C

Na **tabela IV** estão representadas as médias e os desvio-padrão do cálculo da TFGe usando as cinco fórmulas em estudo, relativamente à 1ª semana de internamento dos doentes internados na UCI. Analisando os valores das médias, podemos inferir que, comparando as cinco fórmulas, as mais semelhantes são a Equação Cistatina C e a CKD-EPI Creatinina-Cistatina C já que as suas médias são respetivamente 67.17ml/min/1.73m^2±37.75 e 67.87ml/min/1.73m^2±35.86. A média da TFGe calculada pelas fórmulas MDRD, Equação de Cockcroft-Gault e CKD-EPI é, respetivamente 94.13ml/min/1.73m^2±68.95, 85.69ml/min/1.73m^2±60.56 e 73.87ml/min/1.73m^2±36.61. Na segunda semana de internamento, representada na **tabela V**, o número de doentes observados foi apenas 32, tendo-se observado um decréscimo do valor médio das TFGe, sendo os valores médios das fórmulas, os seguintes: 91.50 ml/min/1.73m^2±68.21 da

fórmula MDRD, 69.75 ml/min/1.73m^2±39.47 da CKD-EPI, 79.81ml/min/1.73m^2±58.52 da fórmula Cockcroft-Gault, 50.59 ml/min/1.73m^2±35.13 da Scys e 56.81 ml/min/1.73m^2±36.75 da fórmula CKD-EPI Creatinina-Cistatina C.

Procurou-se avaliar se havia diferenças significativas entre as fórmulas que se baseiam na creatinina e a que se baseia na cistatina C, tendo-se correlacionado as quatro fórmulas (**tabela VI).** Pode-se notar que, a relação entre as três fórmulas que usam os valores da creatinina sérica é, em todos os casos, muito próxima de 1 (0.868, 0.863, 0.824). No entanto, o mesmo não acontece quando se compara a Scys com as fórmulas baseadas na creatinina. Neste caso, o valor da correlação da Scys com a fórmula CKD-EPI, MDRD e Cockcroft-Gault é de, respetivamente 0.778, 0.607 e de 0.646. Já a correlação entre a fórmula CKD-EPI Creatinina-Cistatina C com as fórmulas CKD-EPI, MDRD, Cockcroft-Gault e Sycs é de 0.941, 0.775, 0.812 e de 0.938, respetivamente.

A curva de ROC representada no **gráfico I** está descrita numericamente na **tabela VII**. Da análise efetuada verificámos que, a área abaixo da curva de ROC que representa a Equação Cistatina C é a que apresenta um maior valor numérico de 0.624, enquanto o valor relativo às áreas abaixo das curvas referentes às fórmulas de Cockcroft-Gault, CKD-EPI, MDRD e CKD-EPI Creatinine-Cystatin C é de 0.530, 0.544, 0.555 e 0.577, respetivamente. No seguimento, representado pela **tabela VIII** e pelo **gráfico II**, esta tendência mantém-se, apesar de, no geral, a diferença entre os valores ser menor.

Análise dos resultados relativos aos parâmetros: Proteína-C Reativa, Procalcitonina e escala SOFA

No que diz respeito aos indicadores de gravidade e de falência multiorgânica, procedeu-se a correlação entre a PCR e a PCT na primeira e segunda semana de internamento (**tabela IX**) e constatou-se que, enquanto na primeira semana a relação entre os dois biomarcadores é de 0.515, na segunda medição, o valor desta relação diminui, sendo de 0.224.

Da mesma forma que se procedeu no caso anterior, também se elaboraram as curvas de ROC relativamente à PCT, PCR e escala SOFA. Como se pode verificar pela análise da **tabela X** e na curva de ROC representada no **gráfico III**, a área maior pertence à linha que representa o escala SOFA, com um valor numérico de 0.625, enquanto o valor das áreas abaixo das curvas referentes à PCT e PCR é de 0.522 e 0.531, respetivamente. Na medição de seguimento, o valor desta área aumenta ligeiramente, sendo de 0.645, que continua a ser superior à área entre as linhas que representam a PCT (0.577) e a PCR (0.495) e o eixo das abcissas (**tabela XI** e **gráfico IV**).

Discussão

A estimativa da TFG é uma medida essencial no diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença renal. Para otimizar o cálculo da TFG foram-se, ao longo dos anos, desenvolvendo fórmulas para este fim. As primeiras fórmulas que surgiram tinham como base os valores da creatinina sérica, no entanto, durante a última década, têm-se publicados vários estudos que colocam a possibilidade da cistatina C ser um melhor biomarcador do que a creatinina. Desenvolveram-se, por isso, novas fórmulas para estimar a TFG através dos níveis plasmáticos de cistatina C e uma fórmula que combina os dois biomarcadores.

Em relação aos resultados obtidos apresentados nas **tabelas II e III,** comparando os resultados da primeira e da segunda medição, concluímos que, de uma forma geral, os doentes melhoraram durante internamento, o que se traduz pela diminuição das médias dos valores dos marcadores inflamatórios (PCT e PCR) e da escala SOFA.

Relativamente à função renal, verificou-se exatamente o oposto, já que se verificou um agravamento dos valores plasmáticos de creatinina, ureia e cistatina C, o que se traduziu numa diminuição da TFG. Os motivos que, provavelmente, estão na base desta discrepância são:

- Os doentes críticos internados na UCI, nas primeiras 24/48 horas de internamento, quando muito instáveis, encontram-se na maior parte das situações hiperhidratados, o que leva a uma diminuição, por hemodiluição dos valores analíticos.
- Os marcadores inflamatórios têm uma subida mais acentuada numa fase inicial da doença, já que é o processo inflamatório que domina o quadro inicial destes doentes. Pelo contrário, o rim costuma ser um “espectador inocente” em todo este processo, sendo, na maioria das situações, envolvido numa fase mais tardia, já depois de ter ocorrido um quadro de disfunção/falência respiratória associado a um quadro de disfunção/falência do sistema cardiovascular.
- Para além disso, muitos das intervenções diagnósticas e terapêuticas efetuadas para controlar o quadro clínico do doente, acabam por ter impacto negativo tardio na função renal destes doentes. Quer isto dizer que, associado a um quadro de instabilidade hemodinâmica, que tem sempre um reflexo negativo na função renal, a utilização de antibióticos nefrotóxicos e de exames imagiológicos com contraste, acabam por ter um impacto renal tardio na função renal destes doentes.

No que diz respeito à avaliação do grau da função renal, verificamos (**tabela IV e VI**) que existe uma correlação bastante significativa entre as fórmulas MDRD, Cockcroft-Gault e CKD-EPI. Quanto mais próximo de 1 for o valor da correlação, mais forte é a correlação existente entre as fórmulas. Logo, através da análise da correlação entre as fórmulas em estudo (**tabela VI**), verificamos que existe uma correlação forte entre as três fórmulas baseadas na creatinina, já que, os valores da correlação entre elas, encontra-se entre 0.824 e 0.868. Isto significa que as fórmulas baseadas na creatinina estimam a TFG de uma forma bastante semelhante, levando-nos a concluir que não existe uma diferença estatisticamente significativa entre elas no que diz respeito à sua exatidão no cálculo da TFGe.

Em 2010, foi realizado um estudo por Wieneke Michels (17) que comparava entre si, as três fórmulas baseadas na creatinina. Este estudo foi efetuado, comparando os resultados de cada fórmula com o cálculo da TFG obtido através de um método considerado *gold standard* na altura deste estudo, que consistia em usar o 125I-iotalamato em constante infusão a fim de determinar o valor real da TFG. Desta forma, era possível identificar quais as fórmulas cujo resultado estava mais longe do real. Esta investigação demonstrou que, para valores entre 15 e 29 ml/min/1.73m^2, o valor mais próximo do real foi obtido através da fórmula MDRD, enquanto para valores de TFG>90 ml/min/1.73m^2, a fórmula que estimava o valor da TFG mais próximo do real é a CKD-EPI. A diferença entre cada uma destas fórmulas não foram, no entanto estatisticamente significativas. Por outro lado, ficou demonstrado que doentes com um baixo IMC, a fórmula de Cockcroft-Gault mantém-se uma boa alternativa, dado que neste subgrupo de indivíduos, a fórmula de Cockcroft-Gault é a que apresentava maior fiabilidade (80%) (17). Isto acontece porque, esta fórmula tem em conta a variável do peso, sem diferenciar o peso relativo à massa muscular e não muscular, associando qualquer diferença de peso com uma diferença na função renal, levando a uma sobrestimativa da TFG, em doentes obesos e a uma estimativa mais fidedigna em doentes com um IMC baixo. (18)

Nas fórmulas MDRD e CKD-EPI, é incorporada a área de superfície corporal, enquanto na fórmula Cockcroft-Gault, o que mais a distingue das restantes é que, nesta, inclui-se o peso do individuo como uma estimativa da massa muscular, sendo este, determinante na formação de creatinina. O aumento da idade é também um fator de viés na fórmula de Cockcroft-Gault. A idade avançada encontra-se associada a um baixo índice de massa muscular e um alto índice de tecido adiposo, fazendo com que o peso do indivíduo idoso resulte, maioritariamente do peso do seu tecido adiposo. Estas alterações resultantes da idade têm, assim, uma importância fulcral na clearance da creatinina, o que

influencia os resultados da fórmula de Cockcroft-Gault. (3) Estas, são as razões prováveis da pequena diferença entre a exatidão das fórmulas.

Para além da grande correlação que verificámos entre as três fórmulas da creatinina, pela análise da **tabela VI**, observámos a existência de uma correlação, também muito significativa, entre a fórmula da cistatina C e a CKD-EPI Creatinine-Cystatin C equation (0.938), que se deve ao facto de estar presente, em ambas as formas, a variável cistatina C. Além disso, verificou-se, também a existência de uma alta correlação entre a fórmula CKD-EPI Creatinine-Cystatin C equation e a fórmula CKD-EPI (0.941), porém, já seria de esperar, dado que algumas das variáveis usadas em ambas as fórmulas são semelhantes.

Quanto às diferenças entre fórmulas fundamentadas na creatinina e a fórmula da cistatina C, estas foram também comprovadas (**tabela VI**). Neste caso, o valor da correlação entre a Scys e as fórmulas EPI-CKD, MDRD e Cockcroft-Gault é, respetivamente, 0.778, 0.607 e 0.640, o que indica que a equação que estima a TFG usando apenas os valores da cistatina C, é a que nos fornece um resultado mais díspar, comparativamente com as que se baseiam na creatinina.

Ainda que possa estar comprovado que, a diferença entre estimar a TFG através da cistatina C e da creatinina é estatisticamente significativa, até então, não provamos qual dos marcadores é o melhor para esta estimativa. Desta maneira, recorreu-se às curvas de ROC referentes a cada fórmula, a fim de tentar perceber qual a que melhor nos informa acerca da função renal.

Uma curva considerada favorável situar-se-á entre a linha diagonal e a linha perfeita e quanto mais afastada se encontrar da linha diagonal melhor é o marcador. Ou seja, quanto maior for a área entre esta linha e o eixo das abcissas, mais acuidade tem o sistema. Neste caso, quer no **gráfico I** e **tabela VII**, como no **gráfico II** e **tabela VIII**, a maior área corresponde à curva que representa a equação que usa apenas a cistatina C (Scys), seguida da curva que define a CKD-EPI Creatinina-Cistatina C. Isto permite-nos concluir que a cistatina C é o marcador com a melhor acuidade para estimar a TFG em doentes críticos.

Como é referido em diversos outros estudos, a cistatina C é um marcador da função renal que é produzido a uma taxa constante por todas as células nucleadas. Além disso, a cistatina C é filtrada ao nível dos glomérulos, é virtualmente, toda reabsorvida e metabolizada pelas células do túbulo proximal e a sua produção não é afetada por fatores tais como a idade, género ou massa muscular. (9) Desta forma, assumindo a sua produção

constante, a cistatina C tem o potencial de ser uma excelente alternativa à creatinina, com uma acuidade superior, como biomarcador da função renal, como se verificou neste estudo.

No artigo publicado por Lesley A. Inker, *et al* (11), referido neste trabalho, está descrito um estudo que teve o intuito de, tal como no nosso, perceber qual o melhor biomarcador, tendo-se para isso, desenvolvido e validado duas equações para estimar a TFG, uma que usava apenas a cistatina C e outra que usava a cistatina C e a creatinina, equações essas, usadas no presente trabalho. Avaliaram-se estas equações em comparação às equações pré-existentes e testou-se a sua utilidade na classificação de doentes crónicos renais. Concluiu-se que, as equações que usam apenas a cistatina C como único marcador de filtração renal, não são mais precisas do que as que usam a creatinina, isto, por sua vez, sugeriu aos autores que existem vários determinantes da cistatina C desconhecidos e que têm a mesma importância no que diz respeito à cistatina C, como a importância que a massa muscular e a dieta têm nos valores de creatinina. No entanto, há vantagens em usar a equação baseada na cistatina C em relação à equação baseada na creatinina e isto deve-se ao facto da cistatina C estar menos sujeita aos efeitos da idade, sexo e raça. Demonstrou-se também que, a equação que combina a cistatina C e a creatinina constitui a forma mais precisa de estimar a TFG independentemente da gama de TFG. Esta equação combinada conseguiu ser mais exata, mesmo em indivíduos com um baixo IMC, subgrupo onde as equações baseadas apenas na creatinina não são tão fidedignas. Teoriza-se que, esta exatidão, seja justificada pelo facto dos determinantes da cistatina C e da creatinina serem independentes e insignificantes o suficiente ao ponto de poderem ser desconsiderados numa equação que englobe ambos os marcadores. (11)

O resultado do nosso estudo, relativamente ao apresentado neste artigo, é distinto. Apesar de termos usado as fórmulas desenvolvidas pelos autores deste artigo no nosso estudo, a população usada é bastante diferente, já que, aqui, o número de doentes cujos dados foram aproveitados foi de 69, enquanto no artigo foi de 5352. Além disso, a média de idades do artigo citado é de 47 anos± 5, enquanto no nosso trabalho a idade média é muito superior (65 anos±14.03, mediana=65) (**tabela II**), existindo variações dos valores dos biomarcadores com a idade, que são necessárias ter em conta, como já descrito anteriormente.

Estas desigualdades podem ter contribuído para o resultado distinto entre os dois estudos, para além disso, o facto de usarmos apenas doentes internados na UCI pode, também, ter contribuído para o resultado, já que este tipo de doentes, para além de, na sua maioria serem idosos, têm uma reduzida massa muscular e muitas vezes estão

malnutridos, não sendo, de todo, semelhante à população abrangida pelo artigo citado, que usou doentes com as mais diversas características clínicas, generalizando, desta forma, os resultados. Contudo, ao usar apenas doentes da UCI estamos a restringir a população direcionando o estudo e focando os resultados apenas em doentes críticos. Tal como referimos, a cistatina C não é influenciada pela massa muscular, ou seja, neste tipo de doentes em que esta está reduzida, o cálculo da TFGe, usando este marcador, poderá oferecer uma melhoria substancial da precisão e exatidão da estimativa em detrimento do cálculo feito através da creatinina, sendo esta uma razão plausível para a diferença de resultados que se verificou, entre os dois trabalhos de investigação.

Assim, conclui-se que, considerar o uso mais recorrente da cistatina C, como único biomarcador ou aliado à creatinina, é benéfico para a clínica. Não se deve, no entanto, deixar que a creatinina seja, totalmente, substituída pela cistatina C, mas sim usa-la, tendo em conta as características clínicas de cada doente, com a finalidade de obter resultados mais exatos.

Uma vez que o uso da cistatina C está relacionada com o aumento dos custos de laboratório, as diretrizes para o seu uso na prática clínica diária necessitam de ser desenvolvidas com a finalidade de ser possível usar este biomarcador de uma forma rentável, passando apenas a usar a cistatina C em situações específicas em que esteja provado a mais valia do seu uso em detrimento de outros biomarcadores, nomeadamente da creatinina. Além disso, é necessário ter em conta os padrões de prática clínica de cada hospital, os seus custos, benefícios e sobretudo a que tipo de pacientes estamos a pedir os valores da cistatina C, uma vez que, é mais indicado pedir este valor em doentes idosos com baixo peso.

Em 2004, foi publicado um estudo por Eric L. Knight, *et al.* (9*)* que concluiu que, altos níveis de PCR são fatores que estão, independentemente, associados a altos níveis de cistatina C. O facto dos níveis de cistatina C estarem relacionados com os valores de PCR pode indicar que a cistatina C poderá também ter alguma utilidade como biomarcador da inflamação (9), corroborando a elevação dos níveis deste biomarcador em doentes críticos internados na UCI, enviesando, assim, o nosso estudo.

No que concerne aos biomarcadores de inflamação PCT, PCR e à escala SOFA, com o objetivo de avaliar qual o melhor biomarcador na estratificação da gravidade, numa primeira fase, realizou-se uma correlação entre a PCT e a PCR na primeira e segunda semana de internamento (**tabela IX**). Quanto mais próximo, o valor de uma correlação for de 1, menos significativa é a diferença entre as duas variáveis. Neste caso, o valor da primeira medição é de 0.515, o que significa que existe uma correlação pouco significativa

entre estes dois marcadores. O facto deste valor ter diminuído no seguimento (0.224), deixando de haver correlação, corrobora este resultado. A razão por de trás desta diferença de valores, da primeira para a segunda medição, pode ser o facto de, o que predomina na doença, poder ser um componente infecioso ou um componente inflamatório, tendo, cada um destes biomarcadores, uma reação diferente, dependendo do processo predominante na fase do doseamento. Ainda assim, verifica-se um decréscimo de ambos os marcadores ao longo do internamento o que, aparentemente se traduz numa melhoria do quadro clínico do doente.

Desta forma, não é possível, apenas através de uma correlação saber qual o melhor marcador na estratificação da gravidade. Pelas curvas de ROC, usando a PCR, PCT e escala SOFA para cada semana, observou-se, através da análise dos **gráficos III** e **IV** e **tabelas X** e **XI,** que, como marcador de gravidade quer a PCR, quer a PCT têm uma acuidade semelhante, sendo inferiores à escala SOFA, que por sua vez, apresenta maior acuidade, já que, no seu cálculo, engloba parâmetros respiratórios, hepáticos, cardiovasculares, renais, neurológicos e de coagulação.

A maioria da literatura disponível, evidencia a PCT como sendo um melhor marcador do que a PCR, no entanto, esta realidade está relacionada com uma maior facilidade da PCT em prever um processo infecioso, objetivo este, que não foi avaliado no nosso estudo.

As limitações mais importantes deste estudo foram o pequeno número da amostra, tendo sido, na primeira medição, validado 69 doentes e apenas 32, os doentes seguidos na semana seguinte. A outra limitação do nosso estudo foi o facto de apenas termos envolvidos doentes críticos, que é uma população muito grave do ponto de vista clínico e muito heterogénea, sendo, por essa razão necessário, que se procedam a estudos com uma amostra significativamente superior, para que se possam tirar resultados mais conclusivos. Este facto, por um lado, pode ser considerado uma menos valia no nosso estudo, uma vez que há valores que se encontram frequentemente alterados em doentes críticos, porém, por outro lado, pode ser considerado uma mais valia, já que enquadra os resultados em doentes da UCI, permitindo que as conclusões tiradas, sejam específicas para este grupo.

Conclusão

No nosso estudo, a cistatina C parece ser o melhor biomarcador para estimar a TFG em doentes críticos, porém, a sua implementação na prática clínica de rotina está limitada pelos custos económicos inerentes, pelo o que é previsível que, num futuro recente, não se deva menosprezar a utilização da creatinina na avaliação da função renal na maioria das situações clínicas. Concluímos também que, não existe uma correlação significativa entre a PCR e a PCT, agravando-se, esta correlação, ao longo do internamento. Quando utilizados como estratificadores de gravidade, juntamente com o SOFA, a comparação entre estes marcadores, mostrou-nos que a escala SOFA é a que apresenta maior acuidade em doentes críticos.

Apêndice

Tabela I: Características da população em estudo

Característica	Frequência	Percentagem
N= 69		
Género		
Masculino	41	59,40%
Feminino	28	40,60%
Estado à saída do serviço		
Falecido	20	29%
Melhoria	49	71%

Tabela II: Valores analíticos da 1ª medição

Variáveis	Média	Desvio Padrão	Mediana
N=69 (1ª medida)			
Idade	65,28	14,03	65
Temp. Interna	13,83	13,65	9
Creatinina	1,23	0,89	0,83
Ureia	68,86	44,06	54
Cistatina C	1,61	1,23	1,06
SOFA	5,74	3,08	6
Procalcitonina	16,89	92,35	0,79
Proteína C reativa	144,36	127,34	98,49

Tabela III: Valores analíticos da 2ª medição

Variáveis	Média	Desvio Padrão	Mediana
N= 32 (2ªmedida)			
Creatinina	1.57	1.72	0,93
Ureia	95,66	80,18	66,5
Cistatina C	2,15	1,45	1,66
SOFA	4,81	3,08	4
Procalcitonina	14,2	48,26	0,82
Proteína C reativa	105,23	77,99	75,26

Tabela IV: Média e Desvio Padrão da 1ª medida das fórmulas Cockcroft-Gault, CKD-EPI, MDRD, Equação Cistatin C (2012), CKD-EPI Creatinina- Cistatina C (2012)

1ª Medida	N		Média	Desvio Padrão
	Valid	Missing		
TFG- EQ DE Cockcroft-Gault	69	0	85.69	60.56
TFG - CKD- EPI	69	0	73.87	36.61
TFG- MDRD	69	0	94.13	68.95
CISTATIN C EQUATION (2012)	69	0	67.17	37.75
CKD-EPI CREATININE-CYSTATIN EQUATION (2012)	69	0	67.87	35.86

Tabela V: Média e Desvio Padrão da 2ª medida das fórmulas Cockcroft-Gault, CKD-EPI, MDRD, Equação Cistatin C (2012), CKD-EPI Creatinina- Cistatina C (2012)

2ª Medida	N		Média	Desvio Padrão
	Valid	Missing		
TFG- EQ DE Cockcroft-Gault	32	37	79.81	58.52
TFG - CKD-EPI	32	37	69.75	39.47
TFG- MDRD	32	37	91.50	68.21
CISTATIN C EQUATION (2012)	32	37	50.59	35.13
CKD-EPI CREATININE-CYSTATIN EQUATION (2012)	32	37	56.81	36.75

Tabela VI: Correlação entre as fórmulas: Cockcroft-Gault, CKD-EPI, MDRD, Equação Cistatina C (2012), CKD-EPI Creatinina-Cistatina C (2012)
* : A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral)

Correlação	CKD-EPI	MDRD	Cockcroft-Gault	Scys	CKD-EPI Creatinina-Cistatina C
CKD-EPI	/	0,868*	0,863*	0,778*	0,941*
MDRD	0,868*	/	0,824*	0,607*	0,775*
Cockcroft-Gault	0,863*	0,824*	/	0,646*	0,812*
Scys	0,778*	0,607*	0,646*	/	0,938*
CKD-EPI Creatinina-Cistatina C	0,941*	0,775*	0,812*	0,938*	/

Tabela VII: Tabela demonstrativa da curva de ROC relativa à 1ª medida da TFGe usando as diferentes fórmulas em estudo

1ª Medida

Test Result Variable(s)	AUC
TFG- EQ DE Cockcroft-gault	0.530
TFG - CKD-EPI	0.544
TFG- MDRD	0.555
CYSTATIN C EQUATION (2012)	0.624
CKD-EPI CREATININE-CYSTATIN EQUATION (2012)	0.577

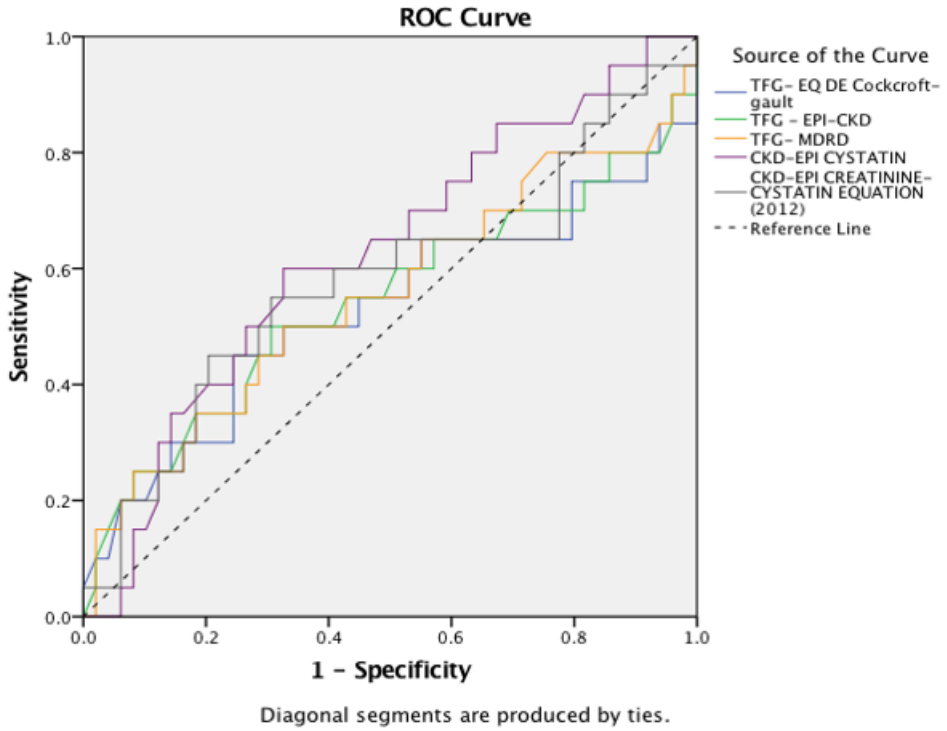


Gráfico I: Curva de ROC relaciona as fórmulas de cálculo da TFGe em estudo na 1º medida

Tabela VIII: Tabela demonstrativa da curva de ROC relativa à 2ª medida da TFGe usando as diferentes fórmulas em estudo

2ª Medida

Test Result Variable(s)	AUC
TFG- EQ DE Cockcroft-gault	0.509
TFG - CKD- EPI	0.566
TFG- MDRD	0.570
CYSTATIN C EQUATION (2012)	0.630
CKD-EPI CREATININE-CYSTATIN EQUATION (2012)	0.609

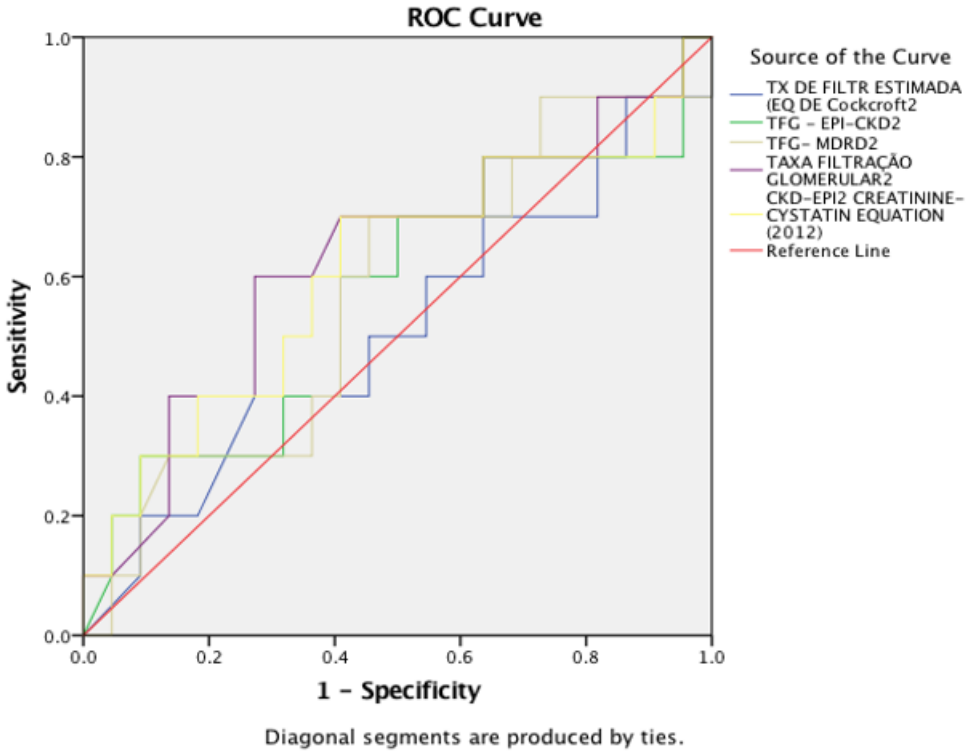


Gráfico II: Curva de ROC relaciona as fórmulas de cálculo da TFGe em estudo na 2º medida

Tabela IX : Correlação entre a PTC e a PCR relativa à 1ª e 2ª medição

* : A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral)

Correlação (1ª medida)	**Procalcitonina**	**PCR**
Procalcitonina	/	0,515*
PCR	0,515*	/
Correlação (2ª medida)	**Procalcitonina**	**PCR**
Procalcitonina	/	0,224
PCR	0,224	/

Tabela X: Tabela demonstrativa da curva de ROC relativa à 1ª medida da escala SOFA, PCT e PCR

1ª Medida

Test Result Variable(s)	AUC
escala SOFA	0.625
Procalcitonina (ng/mL)	0.522
PCR (mg/L)	0.531

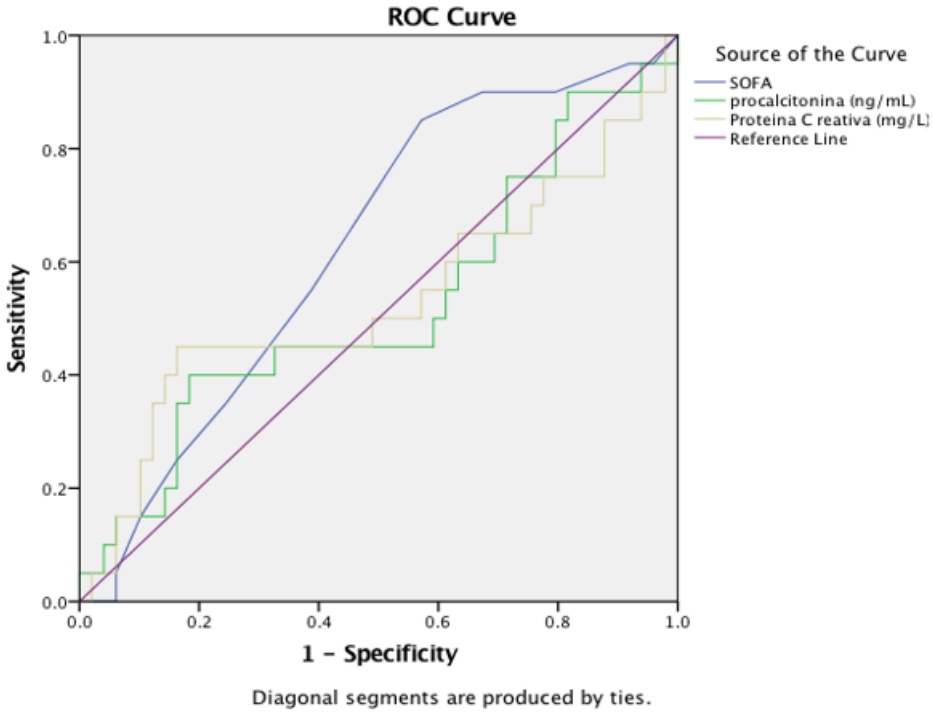


Gráfico III: Curva de ROC relaciona a 1ª medida do SOFA, procalcitonina e PCR

Tabela XI: Tabela demonstrativa da curva de ROC relativa à 2ª medida da escala SOFA, PCT e PCR

2ª Medida

Test Result Variable(s)	AUC
escala SOFA	0.645
Procalcitonina (ng/mL)	0.577
PCR (mg/L)	0.495

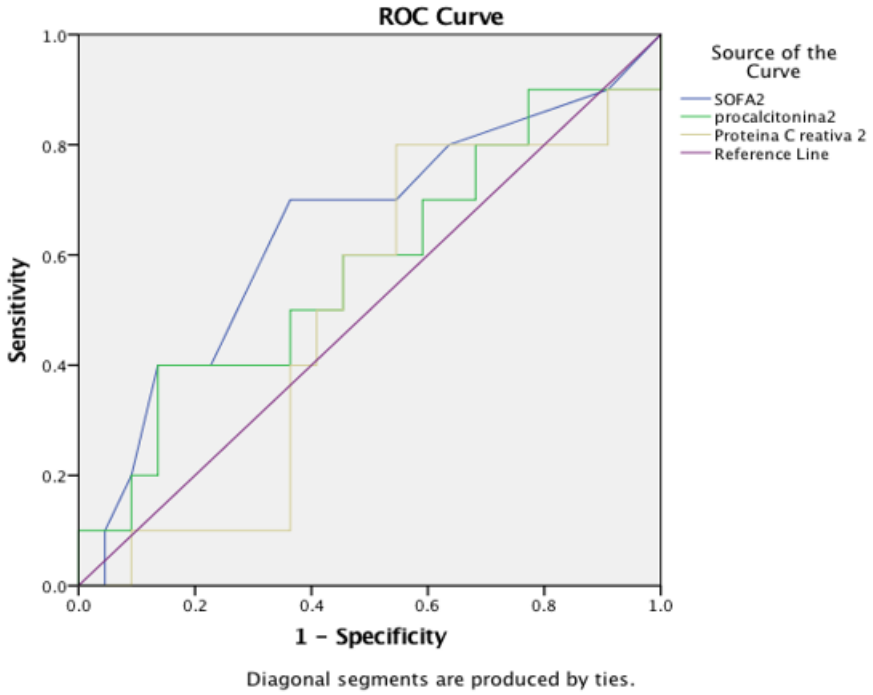


Gráfico IV: Curva de ROC relaciona a 2ª medida do SOFA, procalcitonina e PCR

Referências Bibliográficas

(1) Anke Schwandt, Michael Denkinger, Peter Fasching, et al. "*Comparison of MDRD, CKD-EPI, and Cockcroft-Gault equation in relation to measured glomerular filtration rate among a large cohort with diabetes*". Journal of Diabetes and Its Complications 2017; 31;1376–1383

(2) Amy B. Karger, Lesley A. Inker, Josef Coresh, Andrew S. Levey, John H. Eckfeldt. "*Novel filtration markers for GFR estimation".* The Journal of the International Federation of Clinical Chemestry and Laboratory Medicine: TF-CKD sepcial issue: The laboratory diagnostics of chronic kidney diseases. 2017

(3) Jorien M Willems, Tom Vlasveld, Wendy PJ den Elzen, et al. "*Performance of Cockcroft-Gault, MDRD, and CKD-EPI in estimating prevalence of renal function and predicting survival in the oldest old*". Willems et al. BMC Geriatrics, 2013; 13:113

(4) Galen Barbour, Charles K. Crumb, Charles M. Boyd, Robert D. Reeves, Shiva P. Rastogi, Rodney M. Patterso. "*Comparison of inulin, iothalamate and ^{99m}Tc-DTPA for measurement of glomerular filtration rate*". J Nucl Med 1976, vol. 17 no. 4 317-320

(5) Hans Pottel, Laurence Dubourg, Elke Schaeffner, Bjørn Odvar Eriksen, Toralf Melsom, Edmund J. Lamb, Andrew D. Rule, Stephen T. Turner, et al. "*The diagnostic value of rescaled renal biomarkers serum creatinine and serum cystatin C and their relation with measured glomerular filtration rate"*. Clinica Chimica Acta 2017; 471; 164-170.

(6) Ah Young Leem, Moo Suk Park, Byung Hoon Park, et al. "*Value of Serum Cystatin C Measurement in the diagnosis of Sepsis-Induced Kidney Injury and Prediction of Renal Function Recovery*". Yonsei Med 2017; J;58(3):604-6124

(7) M.A. Ramos-Barron, I. Hernandez Bejarano, E. Rodrigo, et al. "*Assessment of Kidney Graft Function Evolution Measured by Creatinine and Cystatin C".* Transplantation Proceedings, 2016; 48, 2913e2916

(8) Juliana F. Roos, Jenny Doust, Susan E. Tett, Carl M.J. Kirkpatrick. (2007) *"Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children—A meta-analysis".* Clinical Biochemistry 40 383–391

(9) Eric L. Knight, Jacobien C. Verhave, Donna Spiegelman, et al*. "Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement".* Kidney International, Vol. 65, pp. 2004; 1416–1421

(10) Rossini Botev, Jean-Pierre Mallie, Cecilé Couchoud, et al. *"Estimating Glomerular Filtration Rate: Cockcroft–Gault and Modification of Diet in Renal Disease Formulas*

Compared to Renal Inulin Clearance". Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2009; 899-906

(11) Lesley A. Inker, M.D., Christopher H. Schmid, Ph.D., Hocine Tighiouart, et al. "Estimating Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine and Cystatin C". The New England Journal of Medicine. 2012

(12) Hong-Xiang Li, Zhong-Min Liu, Shu-Jie Zhao, Dong Zhang, Shi-Ji Wang and Yu-Shan Wang. "*Measuring both procalcitonin and C-reactive protein for a diagnosis of sepsis in critically ill patients".* Journal of International Medical Research, Vol. 42(4) 2014; 1050–1059

(13) Waheeda Nargis, Md. Ibrahim, Borhan Uddin Ahamed. *"Procalcitonin versus C-reactive protein: Usefulness as biomarker of sepsis in ICU patient"*. International Journal of Critical Illness and Injury Science Vol. 4, Issue 3, 2014

(14) Gian Paolo Castelli, Claudio Pognani, Michael Meisner, Antonio Stuani, Daniela Bellomi, Laura Sgarbi. *"Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction"* Critical Care, 2004; 8: R234-R242

(15) Yi Yang, Jianfeng Xie, Fengmei Guo, et al. "*Combination of C-reactive protein, procalcitonin and sépsis-related organ failure score for the diagnosis of sépsis in critical patients".* Yang et al. Ann. Intensive Care 2006; 6:51

(16) Alan E. Jones, MD, Stephen Trzeciak, MD, MPH, Jeffrey A. Kline, MD. *"The equential Organ Failure Assessment score for predicting outcome in patients with severe sepsis and evidence of hypoperfusion at the time of emergency department presentation"* Crit Care Med; 2009; 37(5): 1649–1654

(17) Wieneke Marleen Michels, Diana Carina Grootendorst, Marion Verduijn, Elise Grace Elliott, Friedo Wilhelm Dekker, Raymond Theodorus Krediet. **"***Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and New CKDEPI Formulas in Relation to GFR, Age, and Body Size*". Clin J Am Soc Nephrol 2010*;* 5: 1003–1009

(18) Massimo Cirillo, Pietro Anastasio, Natale G. de Santo. "*Relationship of gender, age, and body mass index to errors in predicted kidney function". Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 20, Issue 9, 1 Setembro 2005, Pages 1791–1798.