


## Razão albumina/proteína em amostras isoladas de urina para análise da seletividade de proteinúria na doença renal crônica


Albumin-to-protein ratio in spot urine samples for analysis of proteinuria selectivity in chronic kidney disease

### Autores

Miguel Augusto Martins Pereira<sup>1</sup> 

Roger Freitas Ramirez Jordan<sup>1</sup> 

Jorge Paulo Strogoff de Matos<sup>2</sup> 

José Carlos Carraro-Eduardo<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Universidade Federal Fluminense, Escola de Medicina, Niterói, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal Fluminense, Escola de Medicina, Departamento de Nefrologia, Niterói, RJ, Brasil.

Data de submissão: 03/05/2022.

Data de aprovação: 04/08/2022.

Data de publicação: 03/10/2022.

### Correspondência para:

José Carlos Carraro-Eduardo.  
E-mail: carraroeduardo@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.1590/10.1590/2175-8239-JBN-2022-0079pt>

### RESUMO

**Introdução:** A utilização da razão albumina/creatinina e da razão proteína total/creatinina em amostras isoladas de urina já foram validadas como substitutos para a albuminúria e proteinúria em 24 horas. Assim, nossa hipótese é que o tipo de proteinúria, dado pelo padrão eletroforético da urina de 24 horas, poderia ser previsto pela simples proporção de albumina no conteúdo total de proteínas na urina, utilizando a razão albumina/proteína (RAP). O presente estudo procurou validar o uso da RAP como um substituto mais prático e de menor custo da eletroforese de proteínas urinárias (EPU). **Métodos:** Foram utilizados diferentes modelos matemáticos a fim de comparar a fração de albumina pela eletroforese em amostras de urina de 24 horas e a RAP em amostras isoladas em 42 pacientes ambulatoriais com doença renal crônica. **Resultados:** Foi observada uma forte correlação logarítmica  $r = 0,84$  (0,75–0,92; 95% CI,  $p = 0,001$ ) entre a RAP e a fração de albumina pela EPU. **Conclusão:** A RAP pode substituir a eletroforese urinária em pacientes renais crônicos ambulatoriais.

**Descritores:** Urina; Proteinúria; Eletroforese; Albuminúria; Insuficiência Renal Crônica.

### INTRODUÇÃO

A proteinúria é um dos principais achados laboratoriais na nefrologia, e a elevada excreção urinária de proteína está associada a um risco aumentado de eventos adversos cardiovasculares e renais em indivíduos com doença renal crônica (DRC). Sua identificação é essencial na

### ABSTRACT

**Introduction:** The albumin-to-creatinine ratio and total protein-to-creatinine ratio in spot urine samples have already been validated as surrogates for 24-hour albuminuria and proteinuria measurements. Thus, we hypothesized that the type of proteinuria, detected by the electrophoretic pattern of 24-hour urine, could be predicted by the simple proportion of albumin in the total urine protein content, using the albumin-to-protein ratio (APR). Our study sought to validate the use of APR as a cheaper substitute for urinary protein electrophoresis (UPE). **Methods:** Using different mathematical models, we compared, the albumin fraction in 24-hour urine samples by electrophoresis and the APR ratio in spot samples from 42 outpatients with chronic kidney disease (CKD). **Results:** A strong log-order correlation  $r = 0.84$  (0.75–0.92; 95% CI,  $p = 0.001$ ) was observed between APR and the albumin fraction in the UPE. **Conclusion:** The APR can substitute electrophoresis in CKD outpatients.

**Keywords:** Urine; Proteinuria; Electrophoresis; Albuminuria; Renal Insufficiency, Chronic.

avaliação e tratamento da DRC, como em outras doenças<sup>1,2</sup>. No entanto, não existe um método universalmente aceito para avaliar a proteinúria, e as diretrizes são inconsistentes sobre se a medição da excreção total de proteína na urina ou apenas da excreção urinária de albumina deve ser recomendada para avaliação de risco e decisões terapêuticas<sup>1,2</sup>.



Atualmente, existem diversos métodos para medir a proteína urinária. Os mais comuns na prática clínica são as tiras reagentes (avaliação semiquantitativa), a precipitação e a eletroforese<sup>3</sup>. Testes para quantificação de proteinúria podem ser realizados em urina de 24 horas ou em amostras isoladas. Embora os testes de urina de 24 horas para quantificar proteinúria e albuminúria sejam considerados mais confiáveis, são mais propensos a erros relacionados à coleta de urina (erros pré-analíticos). Dadas estas limitações, as principais diretrizes recomendam o uso de amostras isoladas de urina para cuidados de rotina<sup>2,3</sup>. Foi proposta uma avaliação simultânea de proteinúria e albuminúria em amostras randomizadas de urina através da razão proteína/creatinina (RPC) e razão albumina/creatinina (RAC), respectivamente. Tanto a RPC quanto o RAC em uma amostra de urina estão estreitamente relacionados à excreção diária de proteína ou albumina em gramas<sup>2-4</sup>.

Em 1983, Ginsberg et al.<sup>4</sup> foram os primeiros a descrever uma forte correlação entre a RPC e a proteinúria da urina de 24 h. Desde então, esta correlação também foi verificada por outros estudos em pacientes com DRC (diabéticos ou não diabéticos), receptores de transplante renal e gestantes<sup>5,6</sup>. Do mesmo modo, estudos indicam um alto grau de concordância entre a RPC e a excreção de albumina na urina de 24 horas em diferentes perfis de pacientes<sup>7,8</sup>. Em 2009, um estudo utilizando a análise da curva característica de operação do receptor (ROC, por sua sigla em inglês) comprovou a precisão da RAC e RPC para a avaliação de albuminúria e proteinúria em pacientes ambulatoriais.<sup>9</sup> Assim, há evidências substanciais para suportar o uso da RAC e RPC como substitutos válidos para medições de urina de 24 horas e, conseqüentemente, as conclusões que podem ser obtidas a partir delas, como no estudo em questão.

Em 1964, a seletividade de proteínas (índice de seletividade) foi relatada pela primeira vez para indicar a resposta à terapia com esteroides na síndrome nefrótica em adultos. Mais tarde, o valor prognóstico da seletividade foi estendido para prever a remissão clínica em outras doenças glomerulares, incluindo glomerulonefrite membranosa, e mais recentemente a resposta ao tratamento e a presença de lesões crônicas na biópsia renal de pacientes diagnosticados com nefrite lúpica<sup>10</sup>.

A eletroforese de proteínas urinárias (EPU), outro método para avaliação da proteinúria (em amostras

de 24 horas), não é apenas quantitativa, mas também qualitativa. Fornece informações sobre de onde vem a maior parte da proteína e sua seletividade<sup>11,12</sup>. No entanto, outros autores já levantaram a hipótese de que o tipo de proteinúria, dado pelo padrão eletroforético e imunofixação, pode ser previsto pela simples proporção de proteínas de maior peso molecular, como a albumina, no conteúdo total de proteínas na urina, ou seja, o índice RAP<sup>12</sup>.

Assim, procuramos validar a RAP como um substituto de menor custo e prontamente disponível para a EPU em pacientes ambulatoriais.

## MÉTODOS

Este foi um estudo de centro único, transversal, retrospectivo e observacional. Todos os participantes eram pacientes adultos com DRC admitidos no Ambulatório de Nefrologia de um hospital universitário no Brasil, entre Janeiro de 2018 e Dezembro de 2019.

### SELEÇÃO DE PACIENTES

Todos os pacientes com DRC maiores de 18 anos foram elegíveis para participar deste estudo. Não houve restrição quanto a gênero, etnia ou presença de comorbidades. Foi estabelecido um limite de corte de 18 mg de proteinúria, através do qual é possível a separação eletroforética de frações proteicas. Foram excluídos os pacientes abaixo do limite de corte. As amostras de urina foram obtidas aleatoriamente de uma clínica ambulatorial com cerca de 200 pacientes com DRC, durante o período de disponibilidade da EPU no hospital. Foram alocados todos os pacientes que preencheram os critérios de inclusão que concordaram em participar do estudo.

### COLETA DE DADOS

As amostras de urina de 24 horas e as amostras isoladas de urina foram coletadas de 42 pacientes elegíveis. As amostras foram coletadas em momentos diferentes, mas todas foram coletadas no prazo de um mês. As concentrações de albumina, proteína e creatinina foram medidas em amostras aleatórias de urina, e a razão albumina/creatinina (RAC), razão proteína/creatinina (RPC), e razão albumina/proteína (RAP) foram calculadas a partir dessas variáveis. Além disso, a eletroforese de proteínas urinárias (EPU) foi realizada em urina de 24 horas e usada como referência.

A concentração de albumina na urina foi determinada por imunoenensaio turbidimétrico e a concentração de proteína na urina foi medida com um complexo de molibdato e vermelho de pirogalol em um analisador automático. A concentração de creatinina na urina foi determinada pelo método cinético de Jaffé. A RAC (mg/g) foi calculada usando a concentração de albumina (mg/dL) dividida pela concentração de creatinina (mg/dL) e a RPC (mg/g) foi calculada pela concentração de proteína (mg/dL) dividida pela concentração de creatinina (mg/dL). Por fim, a RAP é a divisão entre a RAC e a RPC.

A taxa de filtração glomerular foi estimada usando a equação CKD-EPI e seguiu os critérios propostos pelo KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) para a classificação de DRC<sup>2</sup>. Os registros de pacientes elegíveis foram revisados para dados clínicos e demográficos relevantes para o estudo.

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis categóricas foram analisadas pelos softwares SPSS® versão 20.0 (IBM®, Chicago, IL, Estados Unidos) e Python versão 3.7 (Python Software Foundation Inc. – EUA). O teste de Shapiro-Wilk e a análise de histograma foram utilizados para testar a normalidade. A correlação entre as variáveis foi obtida através da correlação de Spearman. A regressão linear que gerou os resíduos foi otimizada com base no método dos mínimos quadrados. A não violação da heterocedasticidade foi analisada usando o teste de Breusch-Pagan. A regressão não linear foi otimizada utilizando o resíduo da soma dos quadrados. Foram considerados estatisticamente significativos os valores de  $P < 0,05$ .

#### APROVAÇÃO ÉTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense sob o número CAE 14399513.2.0000.5243.

#### RESULTADOS

Foi analisado um total de 42 pacientes, dos quais metade eram homens, a maioria não brancos, e a idade mediana foi de 56,4 anos. A maioria deles era hipertenso (Tabela 1). A taxa de filtração glomerular mediana estimada foi de 24,9 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> com um desvio padrão de 39,7 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (Tabela 1). Os pacientes foram estratificados em diferentes estágios da DRC durante o estudo: 9 no

**TABELA 1** CARACTERÍSTICAS DOS PARTICIPANTES (N = 42)

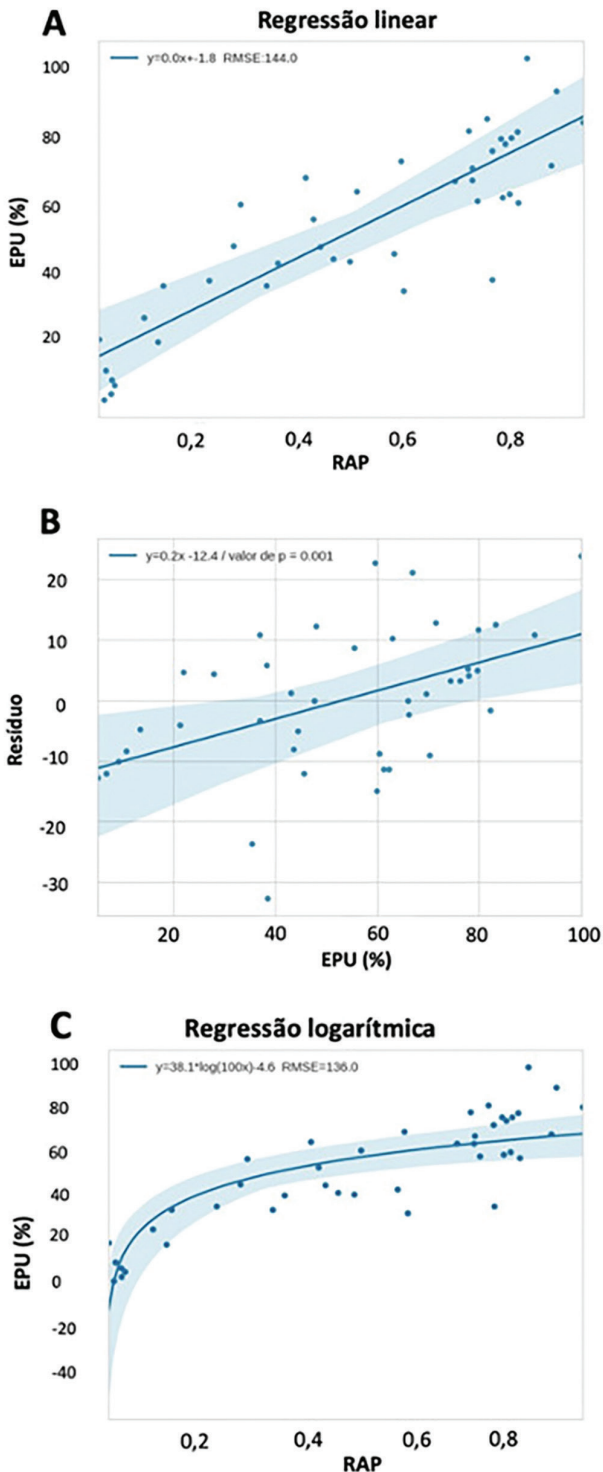
Masculino, n (%)	21 (50,0)
Idade (anos)	56,4 (49,2–60,0)
Cor da pele não branca, n (%)	38 (90,5)
Hipertensão, n (%)	31 (73,8)
TFGe (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	24,9 (16,5–76,3)
Razão albumina/proteína	0,504 (0,411–0,596)
Fração de albumina usando EPU (%)	53,1 (45,3–60,7)

Os valores são expressos como frequência (%) ou mediana (intervalo interquartil). TFGe: taxa de filtração glomerular estimada; EPU: eletroforese de proteínas urinárias.

estágio G1, 4 no estágio G2, 1 no estágio G3a, 5 no estágio G3b, 13 no estágio G4, e 10 no estágio G5 da doença. Quanto à RAP, a mediana foi de 0,504 (intervalo interquartil: 0,411–0,596). Por fim, a fração de albumina na mediana da EPU foi de 53,1% (intervalo interquartil: 45,3–60,7).

Quanto às doenças subjacentes dos pacientes do estudo: 12 tinham nefropatia diabética ou hipertensiva, 5 tinham doença reumatológica (lúpus, doença mista do tecido conjuntivo e síndrome de Sjögren), 3 tinham amiloidose renal, 4 tinham doença hematológica (mieloma múltiplo e linfoma), e houve também 3 casos de glomeruloesclerose segmentar focal, 1 doença renal devido ao uso abusivo de anti-inflamatórios não esteroidais, 1 doença renal policística, 1 DRC devido a infecções repetidas do trato urinário, e 12 permaneceram com o diagnóstico de DRC não especificada ou diagnóstico síndrome (síndrome nefrítica ou nefrótica) porque ainda estavam sob investigação diagnóstica.

O modelo de regressão linear com o método dos mínimos quadrados ordinários com a EPU como variável dependente e a RAP como variável independente demonstrou um coeficiente angular de 72,1 e constante de -4,6, ambos significativos no teste t bicaudal  $< 0,001$ , amostra *bootstrap*. O modelo de regressão foi representado pela seguinte equação:  $y = 72,1x - 4,6$ . O teste de Breusch-Pagan para heterocedasticidade apresentou um valor de  $p$  de 0,397, e a hipótese nula de homocedasticidade não pôde ser rejeitada; além disso, os resíduos mostraram normalidade e independência de acordo com o teste de Durbin-Watson. Apesar da não rejeição da homocedasticidade dos resíduos, observou-se uma



**Figura 1.** (A) A linha azul indica a regressão linear simples obtida usando o método dos mínimos quadrados. A região sombreada representa o intervalo de confiança de 95% da regressão. (B) Regressão linear entre o resíduo obtido da regressão entre a RAP e a EPU e com a própria EPU. Este gráfico mostra um certo grau de dependência entre o erro e a porcentagem obtida a partir da eletroforese. (C) Regressão logarítmica entre a fração de albumina utilizando a eletroforese de proteínas urinárias e a RAP. EPU = eletroforese de proteínas urinárias; RAP = razão ou índice albumina/proteína.

dependência deste erro na EPU, já que a linha de regressão linear apresentou um coeficiente angular de 0,2 e um valor constante de  $-12,4$ , com valor de  $p$  de 0,001 no teste  $t$  bicaudal (Figura 1).

O modelo de regressão logarítmica otimizado pelo resíduo da soma dos quadrados apresentou um beta de 38,1 e um valor alfa de  $-4,6$ , ambos significativos no teste  $t$  bicaudal ( $P < 0,001$ ), *bootstrap* de 1000 amostras. O modelo foi representado pela seguinte equação:  $y = 38,1*\log(100x) - 46$ . O mesmo apresentou um valor menor da raiz do erro quadrático médio (REQM), 136,0, em comparação ao da regressão linear com REQM de 144, mostrando um melhor ajuste aos dados, mas esta tendência não pode ser generalizada devido ao pouco poder estatístico na detecção de pequenas diferenças. (Figura 1).

Em relação às análises inferenciais, observou-se uma forte correlação de Spearman de ordem não linear entre a RAP e a fração de albumina pela EPU;  $r = 0,84$  (intervalo de confiança de 95% 0,75–0,92),  $p = 0,001$ . Tanto a regressão logarítmica quanto a linear mostraram bom ajuste aos dados, mas a regressão logarítmica mostrou melhor suporte visual e maior correlação nas tentativas anteriores em comparação com a regressão linear (Figura 1C).

## DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que os valores de RAP tiveram uma forte correlação estatística com a fração de albumina na EPU. Assim, um conteúdo maior de albumina como proporção do conteúdo total de proteína na urina pode refletir um padrão predominantemente glomerular, enquanto um conteúdo menor de albumina pode refletir um padrão tubulointerstitial de perda de proteína na urina. Estudos em populações pediátricas encontraram um índice RAP significativamente mais baixo associado à doença glomerular tubular e não primária<sup>13,14</sup>. Estes foram os primeiros estudos a apontar o uso da RAP na determinação do tipo de proteinúria, o que também nos inspirou a usá-la como substituto da EPU.

Em 2012, Smith et al.<sup>12</sup> examinaram a relação entre RAC, RPC e RAP com padrões de EPU em uma coorte de amostras de urina. Na análise da curva ROC, a área sob a curva da RAP foi de 0,84 para prever o padrão de proteinúria tubular na EPU. A RAP apresentou uma previsão igual à EPU, um padrão tubular de proteína na urina. Nesta coorte de validação, um ponto de corte da RAP  $<0,40$  apresentou sensibilidade de 88% e



especificidade de 99% para o diagnóstico de distúrbios tubulointersticiais primários na biópsia renal<sup>12</sup>.

No entanto, um estudo coreano de 2016 envolvendo pacientes diagnosticados com doença renal crônica em múltiplos estágios obteve resultados opostos. Hong et al.<sup>15</sup> compararam a utilidade diagnóstica do índice RAP em comparação com a EPU. A correlação entre estas variáveis foi avaliada, mas o resultado não foi muito significativo, provavelmente devido ao perfil dos pacientes, com uma correlação  $r^2 = 0,33$  e um valor de  $p < 0,0001$ .

## CONCLUSÃO

Existe uma relação de ordem logarítmica entre a RAP e a EPU e, mais importante, existe também uma correlação muito forte entre a fração de albumina observada na EPU e a razão RAP em pacientes ambulatoriais. Portanto, o tipo de proteinúria (seletividade) pode ser inferido por meio desta RAP, que é um método de menor custo e prontamente disponível quando comparado com a EPU. No entanto, são necessárias análises mais robustas para validar o uso da RAP como alternativa à EPU e seu uso em outras populações.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

JCCE idealizou o estudo e esteve envolvido no desenvolvimento do protocolo e aprovação ética. MAMP foi responsável pela revisão da literatura, coleta de dados e redação. RFRJ contribuiu para a análise dos dados. JPSM forneceu uma revisão especializada. Todos os autores revisaram e editaram o manuscrito e aprovaram sua versão final.

## CONFLITO DE INTERESSES

Todos os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

- Weaver R, James M, Ravani P, Weaver CGW, Lamb EJ, Tonelli M, et al. Estimating urine albumin-to-creatinine ratio from protein-to-creatinine ratio: development of equations using same-day measurements. *J Am Soc Nephrol*. 2020;31(3):591-601. doi: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2019060605>. PubMed PMID: 32024663.
- Kidney Disease Improving Global Outcomes. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2013;3(1):1-150.
- Viswanathan G, Upadhyay A. Assessment of proteinuria. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2011;18(4):243-8. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ackd.2011.03.002>. PubMed PMID: 21782130.
- Ginsberg J, Chang B, Matarese R, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med*. 1983;309(25):1543-6. doi: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198312223092503>. PubMed PMID: 6656849.
- Ruggenenti P, Gaspari F, Perna A, Remuzzi G. Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein: creatinine ratio, 24-hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *BMJ*. 1998;316(7130):504-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.316.7130.504>. PubMed PMID: 9501711.
- Torng S, Rigatto C, Rush DN, Nickerson P, Jeffery JR. The urine protein to creatinine ratio (P/C) as a predictor of 24-hour urine protein excretion in renal transplant patients. *Transplantation*. 2001;72(8):1453-6. doi: <http://dx.doi.org/10.1097/00007890-200110270-00021>. PubMed PMID: 11685120.
- Neithardt AB, Dooley SL, Borensztajn J. Prediction of 24-hour protein excretion in pregnancy with a single voided urine protein-to-creatinine ratio. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(5):883-6. doi: <http://dx.doi.org/10.1067/mob.2002.123055>. PubMed PMID: 12015502.
- Zelmanovitz T, Gross J, Oliveira J, Paggi A, Tatsch M, Azevedo MJ. The receiver operating characteristics curve in the evaluation of a random urine specimen as a screening test for diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 1997;20(4):516-9. doi: <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.20.4.516>. PubMed PMID: 9096972.
- Guy M, Borzomato J, Newall R, Kalra PA, Price CP. Protein and albumin-to-creatinine ratios in random urines accurately predict 24 h protein and albumin loss in patients with kidney disease. *Ann Clin Biochem*. 2009;46(Pt 6):468-76. doi: <http://dx.doi.org/10.1258/acb.2009.009001>. PubMed PMID: 19729498.
- Hasegawa T, Suzuki K, Kaneko Y, Takeuchi T. Proteinuria selectivity index as a prognostic biomarker in lupus nephritis. *Lupus*. 2017;26(6):656-60. doi: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203316676383>. PubMed PMID: 27831538.
- Brocklebank T, Cooper EH, Richmond K. Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis patterns of proteinuria in various renal diseases of childhood. *Pediatr Nephrol*. 1991;5(4):371-5. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF01453654>. PubMed PMID: 1911105.
- Smith ER, Cai MM, McMahon LP, Wright DA, Holt SG. The value of simultaneous measurements of urinary albumin and total protein in proteinuric patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(4):1534-41. doi: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfr708>. PubMed PMID: 22193048.
- Abitbol CL, Chandar J, Onder AM, Nwobi O, Montané B, Zilleruelo G. Profiling proteinuria in pediatric patients. *Pediatr Nephrol*. 2006;21(7):995-1002. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-006-0103-9>. PubMed PMID: 16773413.
- Lun A, Suslovych M, Drube J, Ziebig R, Pavicic L, Ehrlich JH. Reliability of different expert systems for profiling proteinuria in children with kidney diseases. *Pediatr Nephrol*. 2008;23(2):285-90. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-007-0661-5>. PubMed PMID: 18038159.
- Hong D, Oh I, Park JS, Lee CH, Kang CM, Kim GH. Evaluation of urinary indices for albuminuria and proteinuria in patients with chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res*. 2016;41(3):258-66. doi: <http://dx.doi.org/10.1159/000443429>. PubMed PMID: 27160690.