

## Associação entre taxa de filtração glomerular (medida por cromatografia líquida de alto desempenho com iohexol) e oxalato plasmático

Association between glomerular filtration rate (measured by high-performance liquid chromatography with iohexol) and plasma oxalate

### Autores

Luciano da Silva Selistre <sup>1</sup>

Pierre Cochat <sup>2</sup>

Dener Iizot Rech <sup>1</sup>

François Parant <sup>3</sup>

Vandréa Carla de Souza <sup>1</sup>

Laurence Dubourg <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Brasil.

<sup>2</sup> Université Claude-Bernard Lyon, Centre de Référence des Maladies Rénales Rares Néphrogones, Service de Néphrologie et Rhumatologie Pédiatriques, Lyon, France.

<sup>3</sup> Hospices Civils de Lyon, GHS - Centre de Biologie Sud, UMR Pharmacologie - Toxicologie, F-69495, Pierre Bénite, France.

<sup>4</sup> Université Claude-Bernard, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, UMR 5305, Rhône-Alpes, Lyon, France.

Data de submissão: 07/03/2017.

Data de aprovação: 31/08/2017.

### Correspondência para:

Luciano da Silva Selistre.

Instituição.

E-mail: lsselist@ucs.br

DOI: 10.1590/1678-4685-JBN-3743

### RESUMO

**Introdução:** A hiperoxalemia secundária é uma doença multifatorial que afeta vários órgãos e tecidos em pacientes com rins nativos ou transplantados. O oxalato plasmático pode aumentar durante a insuficiência renal porque é eliminado do corpo pelos rins. No entanto, há evidências escassas sobre a associação entre taxa de filtração glomerular e oxalato plasmático, especialmente nos estágios iniciais da doença renal crônica (DRC). **Métodos:** uma casuística centrada na descrição das variações na apresentação clínica. Foi realizado um estudo piloto a partir da análise transversal com 72 indivíduos. As taxas de filtração glomerular (TFG) e os níveis plasmáticos de oxalato foram medidos para todos os pacientes. **Resultados:** A TFG mediana (IIQ) foi de 70,50 [39,0; 91,0] mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. O nível plasmático de oxalato foi < 5,0 µmol/L em todos os pacientes com TFG > 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Entre os 14 pacientes com DRC grave (TFG < 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>), apenas quatro apresentaram ligeiro aumento do nível plasmático de oxalato (entre 6 e 12 µmol/L). **Conclusão:** Na hiperoxalúria não primária, a concentração plasmática de oxalato aumenta quando TFG < 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> e, em nossa opinião, valores superiores a 5 µmol/L com TFG > 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> sugerem presença de hiperoxalúria primária. Estudos adicionais são necessários para confirmar o aumento do oxalato plasmático em pacientes com níveis baixos de TFG (< 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>).

**Palavras-chave:** Taxa de filtração glomerular; Hiperoxalúria; Doença renal crônica.

### INTRODUÇÃO

O oxalato, a forma iônica do oxalato plasmático (POx), é um produto final insolúvel do metabolismo de alimentos derivados de

### ABSTRACT

**Introduction:** Secondary hyperoxalemia is a multifactorial disease that affects several organs and tissues in patients with native or transplanted kidneys. Plasma oxalate may increase during renal failure because it is cleared from the body by the kidneys. However, there is scarce evidence about the association between glomerular filtration rate and plasma oxalate, especially in the early stages of chronic kidney disease (CKD). **Methods:** A case series focuses on the description of variations in clinical presentation. A pilot study was conducted using a cross-sectional analysis with 72 subjects. The glomerular filtration rate (GFR) and plasma oxalate levels were measured for all patients. **Results:** Median (IQR) GFR was 70.50 [39.0; 91.0] mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. Plasma oxalate was < 5.0 µmol/L in all patients with a GFR > 30 mL/min/1.73m<sup>2</sup>. Among the 14 patients with severe CKD (GFR < 30 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) only 4 patients showed a slightly increased plasma oxalate level (between 6 and 12 µmol/L). **Conclusion:** In non-primary hyperoxaluria, plasma oxalate concentration increases when GFR < 30mL/min/1.73 m<sup>2</sup> and, in our opinion, values greater than 5 µmol/L with a GFR > 30 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> are suggestive of primary hyperoxaluria. Further studies are necessary to confirm plasma oxalate increase in patients with low GFR levels (< 30mL/min/1.73 m<sup>2</sup>).

**Keywords:** Glomerular Filtration Rate; Hyperoxaluria; Chronic kidney disease.

várias fontes animais e vegetais. Elevações de POx e oxalose, isto é, deposição de oxalato de cálcio nos tecidos, pode levar a hiperoxalúria primária (HP) ou secundária (HS).<sup>1,2</sup> As HPs são um grupo de raros

distúrbios metabólicos recessivos autossômicos que resultam na superprodução de oxalato,<sup>3</sup> causadas pela deficiência de três diferentes enzimas e que afetam uma organela intracelular diferente;<sup>1,2</sup> os distúrbios são classificados em HP tipos 1, 2 e 3.

A HS pode ocorrer quer como em consequência da ingestão excessiva de oxalato ou precursores de oxalato, como o etilenoglicol, ou pela diminuição da excreção de oxalato pelos rins.<sup>1</sup> A ingestão excessiva ou a absorção aumentada (distúrbios intestinais) de oxalato são causas generalizadas de aumento da excreção urinária de oxalato e urolitíase. As duas são raramente associadas a elevações de POx e ocorrem na presença de taxa de filtração glomerular normal (TFG).<sup>3-5</sup> Assim, ele não pode ser processado e acaba sendo eliminado através da filtração normal pelos rins. Em pacientes com doença renal crônica (DRC), o POx acumula-se de 10 a 30 vezes acima dos níveis normais em função da sua excreção reduzida. Nem a hemodiálise nem a diálise peritoneal conseguem normalizar os níveis de POx em pacientes com DRC; espera-se reduções de 60% após um procedimento de hemodiálise normal, mas o POx retorna a níveis pré-dialíticos em 48 horas.<sup>7</sup> Em comparação à HP, manifestações clínicas de oxalose urêmica, tais como nefrolitíase, fraturas e dor óssea, são incomuns.<sup>1,7</sup>

Não obstante, quedas na TFG podem aumentar o POx e levar a complicações cardiovasculares.<sup>1,2,6,7</sup> Salye e cols. relataram que HS, ou seja, deposição renal e miocárdica de oxalato de cálcio, em associação com insuficiência renal é frequente e muitas vezes extensa.<sup>8</sup> Além disso, os autores demonstraram que a incidência e gravidade da deposição de oxalato estão relacionadas à duração da insuficiência renal.<sup>8,9</sup> Rechet e cols. descreveram uma associação entre altos níveis de POx e lesão endotelial levando a efeitos aterogênicos por elevação de cálcio intracelular em células endoteliais.<sup>7</sup> Em rins transplantados, POx pode sobrecarregar o enxerto com potencial dano tubular, afetando sua função.<sup>3,6,11</sup>

Portanto, foi elaborado um estudo piloto com POx medido, TFG medida (TFGm, depuração de iohexol) e TFG estimada (TFGe, creatinina plasmática) em pacientes com vários estágios de DRC.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### PACIENTES

Para este estudo piloto, 72 pacientes com DRC sem HP foram recrutados entre outubro de 2014 e

novembro de 2014 para serem submetidos a medição de TFG (depuração de iohexol). Dez pacientes apresentavam DRC grave (estágio IV-V) e POx sem TFGm. A amostra foi dividida em grupos de acordo com a TFG segundo a classificação KDIGO.<sup>12</sup>

### OXALATO

O POx foi medido num analisador Pentra 400 (HORIBA) por ensaio colorimétrico modificado sensível para oxalato e oxidase conforme descrito por Petrarulo e cols. Em resumo, o oxalato é convertido em peróxido de hidrogênio, que, na presença de peroxidase, reage (POD) com cloridrato da hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) e 3-(dimetilamino) ácido benzoico (DMAB), formando um composto de quinona azul. A intensidade da cor é proporcional à concentração de POx na amostra e é lida a 600 nm com 700 nm como comprimento de onda de referência. A otimização do ensaio incluiu a desproteinização do plasma pelo método do ácido sulfossalicílico (ASS) e por tratamento com carvão vegetal. Os valores de referência são < 5 µmol/L.<sup>13</sup>

### MEDIÇÃO DA TFG POR DEPURAÇÃO DE IOHEXOL

A depuração de iohexol foi realizada por meio de técnica padrão com injeção em bolus única. Em resumo, foi administrada uma injeção endovenosa de 6 mL (Omnipaque, 300 mg/mL) e três amostras de sangue foram colhidas do braço contralateral após 120, 180 e 240 minutos. A TFGm foi calculada a partir da inclinação das concentrações plasmáticas por meio de um modelo de um compartimento corrigido pela fórmula de Bröchner-Mortensen.<sup>13</sup> A concentração plasmática de iohexol foi determinada pelo método adaptado de CLAE descrito por Cavalier e cols. (15). Os resultados foram relatados em mL/min/1,73 m<sup>2</sup>.

### ESTIMATIVA DA TFG

A creatinina plasmática (PCr) foi medida pelo método enzimático padronizado IDMS e a TFGe foi calculada pela equação CKD-EPI.<sup>12</sup>

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Avaliamos a distribuição das variáveis contínuas calculando média ± desvio padrão e das variáveis categóricas por número (porcentagem) em todo o conjunto de dados, assim como em subgrupos definidos em função das características da população do estudo e dos candidatos a doação com doador vivo. O erro

foi calculado subtraindo TFG<sub>e</sub> de TFG<sub>m</sub> (TFG<sub>m</sub> - TFG<sub>e</sub>) para cada indivíduo; o erro percentual foi esta diferença em relação ao TFG<sub>m</sub>, isto é, (TFG<sub>m</sub>-TFG<sub>e</sub>)/TFG<sub>m</sub>. Calculamos o viés como o erro médio, que era apropriado para a distribuição.

O viés, uma expressão de erro sistemático na TFG estimada, é definido como a mediana ou média das diferenças entre TFG estimada e medida. A análise foi realizada no R para Windows, versão 3.1.1 (R-Cran project, <http://cran.r-project.org/>).

#### APROVAÇÃO ÉTICA

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os padrões éticos dos comitês de pesquisa institucionais e/ou nacionais e em conformidade com a Declaração de Helsinque de 1964 e suas alterações posteriores ou padrões éticos comparáveis. Formulários de consentimento informado foram assinados por todos os participantes ou seus representantes legais. O formulário de consentimento continha informações sobre o próprio procedimento, bem como sobre a possível utilização dos dados para fins de pesquisa. De acordo com as leis francesas atuais, um estudo observacional que não altera a administração de rotina dos pacientes não precisa ser declarado ou submetido a um conselho de ética de pesquisa (Lei Huriet-Sérusclat 88-1138 de 20 de dezembro de 1988 e suas subsequentes emendas; texto disponível em <http://www.chu-toulouse.fr/IMG/pdf/loihuriel.pdf>).

#### RESULTADOS

As características clínicas dos pacientes encontram-se listadas na Tabela 1. A média de idade e IMC foram de 50,0 [IIQ, 40,0-63,0] anos e 25,3 [IIQ, 22,3-32,0] kg/m<sup>2</sup>, respectivamente.

A Tabela 1 e a Figura 1 mostram o desempenho da equação de CKD-EPI em relação ao iohexol. A equação CKD-EPI apresentou erro médio de -3,0 (IC 95%, -7,0 a -0,5) mL/min/1,73 m<sup>2</sup> sem diferença estatística para TFG. Portanto, o uso da CKD-EPI em pacientes sem TFG<sub>m</sub> foi considerado adequado para a avaliação dos níveis de PO<sub>x</sub>.

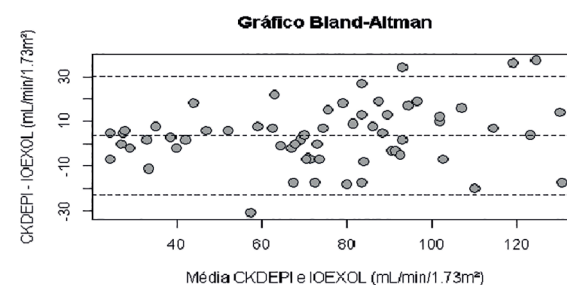
Com a exceção de um paciente com TFG<sub>m</sub>, todos apresentaram concentração de PO<sub>x</sub> < 5 µmol/L. Um paciente apresentou valores anormais de PO<sub>x</sub> (7 µmol/L) com TFG<sub>m</sub> de 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Dos 14 pacientes com DRC grave (TFG < 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>), quatro apresentaram PO<sub>x</sub> ligeiramente aumentado (entre 6 e 12 µmol/L) (Tabela 1).

**TABELA 1** CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES

Número de participantes	72
Idade (anos)	50 [40; 63]
Homens	40 (56,3)
Diagnóstico	
DRC	60 (83)
Candidato a doação com doador vivo	12 (17)
Peso (kg)	72,0 [60,5; 90,0]
Estatura (cm)	168,0 [160,0; 174,5]
Superfície corporal (m <sup>2</sup> )	1,83 [1,63; 2,01]
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	25,3 [22,3; 32,0]
TFG <sub>m</sub> (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> ) (n = 62)	74,5 [53,0; 91,0]
TFG <sub>e</sub> (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	70,0 [39,0; 96,0]
TFG <sub>m</sub> -TFG <sub>e</sub> média (IC 95%), mL/min/1,73 m <sup>2</sup> (N = 62)	-3,8 (-7,0; -0,5)
Oxalato plasmático	
Oxalato plasmático < 5 µmol/L	67 (93,0)
Oxalato plasmático ≥ 5 µmol/L	5 (7,0)
Estágios da DRC	
Estágio I	16 (22,2)
Estágio II	28 (38,9)
Estágio IIIa	4 (5,5)
Estágio IIIb	10 (13,9)
Estágio IV	11 (15,3)
Estágio V	3 (4,0)

Os valores são medianas (IIQ) ou n (%), salvo indicação em contrário DRC: doença renal crônica; TFG: taxa de filtração glomerular; IIQ: intervalo interquartil. Os estágios de DRC foram determinados segundo a TFG<sub>m</sub> ou a TFG<sub>e</sub> quando a primeira não estivesse disponível.

**Figura 1.** Filtração glomerular por iohexol e idade (anos) dos participantes do estudo.



#### DISCUSSÃO

O PO<sub>x</sub> pode se elevar na DRC em função da redução da TFG e da secreção dos túbulos renais proximais.<sup>1,2,15-18</sup> No entanto, poucos autores estudaram especificamente a correlação entre PO<sub>x</sub> e estágio da TFG.<sup>7,15-20</sup> Além disso, alguns autores estabeleceram um limiar de PO<sub>x</sub> que diferencia a HP das outras causas de elevações do PO<sub>x</sub>.<sup>1,2</sup>

Constable e cols. relataram que o POx elevou-se por um fator de 10 em indivíduos com HP que ainda possuíam boa função renal.<sup>18</sup> Comparativamente, Morgan e cols. demonstraram em pacientes com DRC não-HP que a retenção de oxalato é aumentada quando a TFG é inferior a 20 mL/min/1,73m<sup>2</sup>.<sup>20</sup> Do mesmo modo, Constable e cols. relataram que o pool metabólico de oxalato se expande rapidamente quando a TFG está abaixo de 25 mL/min/1,73m<sup>2</sup>,<sup>19</sup> o que está de acordo com nossos resultados. Barratt e cols. descobriram que o POx também está aumentado na doença renal terminal (DRT).<sup>19</sup> Bhasin e cols. relataram que o POx era superior a 80 µmol/L em pacientes com DRT (1,2). Elgstoen e cols. relataram que o POx médio antes de transplante renal era de 35,0 µmol/L (IC 95%: 10,4 a 93,9) e que 98% dos valores estavam acima dos limites normais.<sup>11</sup>

No presente estudo, encontramos POx ligeiramente aumentado com TFG < 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, bem acima do nível em que terapia renal substitutiva é necessária. Contudo, não foi possível demonstrar uma correlação entre TFG e POx.

Os pontos fortes do presente estudo são: i) o método de referência (iohexol) para a medição direta de TFG para a maioria dos pacientes; e ii) o amplo intervalo dos níveis de TFG (7 a 139 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>).

As limitações do estudo são: i) a amostra populacional incluiu poucos pacientes com TFG < 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, o que não permitiu estabelecer uma correlação entre POx e TFG.

## CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que o POx pode se elevar apenas em estágios avançados de DRC. Em nossa opinião, valores superiores a 5 µmol/L com TFG > 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> são sugestivos de HP. No entanto, novos estudos devem determinar a cinética do POx em pacientes com DRC avançada e em indivíduos em diálise.

## DECLARAÇÕES

**Conflito de interesses:** Os autores não têm conflito de interesses a relatar.

## REFERÊNCIAS

- Bhasin B, Ürekli HM, Atta MG. Primary and secondary hyperoxaluria: Understanding the enigma. *World J Nephrol* 2015;4:235-44.
- Cochat P, Rumsby G. Primary hyperoxaluria. *N Engl J Med* 2013;369:649-58.
- Bagnasco SM, Mohammed BS, Mani H, Gandolfo MT, Haas M, Racusen LC, et al. Oxalate deposits in biopsies from native and transplanted kidneys, and impact on graft function. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1319-25.
- Rankin AC, Walsh SB, Summers SA, Owen MP, Mansell MA. Acute oxalate nephropathy causing late renal transplant dysfunction due to enteric hyperoxaluria. *Am J Transplant* 2008;8:1755-8.
- Gregoriou S, Kalapothakou K, Kontochristopoulos G, Belyayeva H, Chatziolou E, Rigopoulos D. Subungual oxalate deposits in a patient with secondary hyperoxaluria. *Acta Derm Venereol* 2011;91:195-6.
- Truong LD, Yakupoglu U, Feig D, Hicks J, Cartwright J, Sheikh-Hamad D, et al. Calcium oxalate deposition in renal allografts: morphologic spectrum and clinical implications. *Am J Transplant* 2004;4:1338-44.
- Pinheiro HS, Câmara NO, Osaki KS, De Moura LA, Pacheco-Silva A. Early presence of calcium oxalate deposition in kidney graft biopsies is associated with poor long-term graft survival. *Am J Transplant* 2005;5:323-9.
- Recht PA, Tepedino GJ, Sieck NW, Buckley MT, Mandeville JT, Maxfield FR, et al. Oxalic acid alters intracellular calcium in endothelial cells. *Atherosclerosis* 2004;173:321-8.
- Salyer WR, Salyer DC. Oxaluric renal failure. *N Engl J Med* 1973;288:913.
- Salyer WR, Keren D. Oxalosis as a complication of chronic renal failure. *Kidney Int* 1973;4:61-6.
- Elgstoen KB, Johnsen LF, Woldseth B, Morkrid L, Hartmann A. Plasma oxalate following kidney transplantation in patients without primary hyperoxaluria. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:2341-5.
- Group KDIGO. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.
- Petrarulo M, Cerelli E, Marangella M, Cosseddu D, Vitale C, Linari F. Assay of plasma oxalate with soluble oxalate oxidase. *Clin Chem* 1994;40:2030-4.
- Bröchner-Mortensen J. A simple method for the determination of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1972;30:271-4.
- Cavalier E, Rozet E, Dubois N, Charlier C, Hubert P, Chappelle JP, et al. Performance of iohexol determination in serum and urine by HPLC: validation, risk and uncertainty assessment. *Clin Chim Acta* 2008;396:80-5.
- Sikora P, Beck B, Zajackowska M, Hoppe B. Plasma oxalate level in pediatric calcium stone formers with or without secondary hyperoxaluria. *Urol Res* 2009;37:101-5.
- Kadlec AO, Greco KA, Fridirici ZC, Gerber D, Turk TM. Effect of renal function on urinary mineral excretion and stone composition. *Urology* 2011;78:744-7.
- Kasidas GP, Nemat S, Rose GA. Plasma oxalate and creatinine and oxalate/creatinine clearance ratios in normal subjects and in primary hyperoxaluria. Evidence for renal hyperoxaluria. *Clin Chim Acta* 1990;191:67-77.
- Constable AR, Joekes AM, Kasidas GP, O'Regan P, Rose GA. Plasma level and renal clearance of oxalate in normal subjects and in patients with primary hyperoxaluria or chronic renal failure or both. *Clin Sci (Lond)* 1979;56:299-304.
- Barratt TM, van't Hoff WG. Are there guidelines for a strategy according to glomerular filtration rate, plasma oxalate determination and the risk of oxalate accumulation? *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:22-3.
- Morgan SH, Maher ER, Purkiss P, Watts RW, Curtis JR. Oxalate metabolism in end-stage renal disease: the effect of ascorbic acid and pyridoxine. *Nephrol Dial Transplant* 1988;3:28-32.