



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Marcela Haas Pizarro

**Influência dos fatores de risco tradicionais e não tradicionais na prevalência da doença renal do diabetes no diabetes tipo 1**

Rio de Janeiro

2019

Marcela Haas Pizarro

**Influência dos fatores de risco tradicionais e não-tradicionais na prevalência da doença renal do diabetes no diabetes tipo 1**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Marília de Brito Gomes

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

P695 Pizarro, Marcela Haas.

Influência dos fatores de risco tradicionais e não-tradicionais na prevalência da doença renal do diabetes no diabetes tipo 1 / Marcela Haas Pizarro. – 2019.

71 f.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Marília de Brito Gomes

Doutorado (Tese) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Rins – doença – Teses. 2. Diabetes mellitus tipo. 3. Nefropatias diabéticas. 4. Ácido úrico – Teses. 5. Genética de populações. I. Gomes, Marília de brto. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.466

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira - CRB/7 - 5302

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Marcela Haas Pizarro

**Influência dos fatores de risco tradicionais e não-tradicionais na prevalência da doença renal do diabetes no diabetes tipo 1**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 10 de setembro de 2019.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Marília de Brito Gomes  
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dra. Rachel Bregman  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Porto  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. João Regis Ivar Carneiro  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Rubens Antunes da Cruz Filho  
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2019

## **DEDICATÓRIA**

À minha família, pelo apoio incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Ao Diego, sem seu apoio, paciência e companheirismo, nada disso seria possível. Obrigada por sempre cuidar de mim.

Ao Daniel, que você venha ao mundo com a certeza de que já é muito amado e de que a educação é um dos maiores legados que podemos deixar para você.

À minha família, principalmente aos meus pais e irmão, pelo incentivo em todas as etapas desse processo e por sempre me estimularem a alcançar meus objetivos. Ao Carlos, pela sua imensa ajuda na reta final da tese.

Aos meus amigos, pela compreensão nos momentos de ausência e por sempre me incentivarem nos meus projetos. Às minhas queridas amigas, Deborah, Bianca e Laura que participaram do meu lado nessa longa caminhada e tornaram esse processo mais leve. Deborah, obrigada por ter sido a pessoa que me incentivou a começar o doutorado e que me ajudou imensamente em todas as etapas desse processo. Ao amigo Cyro, por toda a sua ajuda, desde o início com verdadeiras aulas de estatística até o final, com incentivos para a tese.

À Marília, minha orientadora, por todo aprendizado desde a época da residência até hoje, por me mostrar com sua incrível trajetória que é possível se superar cada vez mais e que devemos sempre continuar estudando. Sou profundamente grata pela confiança que você depositou em mim.

Ao Vitor, Elisângela e Eliete por toda ajuda, disponibilidade e paciência durante todas as etapas do doutorado.

Aos pesquisadores do Brazdiab que participaram da organização e coleta de dados do estudo multicêntrico: Carlos Antonio Negrato, Roberta Cobas, Lucianne Tannus, Melanie Rodacki, Lenita Zajdenverg, Joana Rodrigues Dantas, Maria Lúcia Cardillo Corrêa-Giannella, Sharon Nina Admoni, Daniele Pereira dos Santos, Maria de Fatima Guedes, Sergio Atala Dib, Celso Ferreira de Camargo Sallum Filho, Elizabeth João Pavin, Caroline Takano, Rosângela Roginski Rea, Nicole Balster Romanzini, Mirela Azevedo, Luis Henrique Canani, Hermelinda Cordeiro Pedrosa, Monica Tolentino, Cejana Hamu Aguiar, Reine Marie Chaves Fonseca, Ludmila Chaves Fonseca, Raffaele Kasprowicz, Adriana Costa e Forti, Angela Delmira Nunes Mendes, Renan Montenegro Junior, Virgínia Oliveira Fernandes, João Soares Felício e Flavia Marques Santos. Aos oftalmologistas, que também participaram do estudo multicêntrico: Paulo Henrique Morales, Karla Guerra Drumond, Fernando Malerbi, Ricardo Perez, Felipe Mallmann, Franz Schubert Leal, Tessa Matos e André Pinheiro. Aos

professores, Luís Cristóvão Porto e Dayse Silva pela análise e coordenação dos dados genéticos. À Maria de Fátima Bevilacqua pela coordenação de análises bioquímicas.

A FAPERJ (Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento para realização do estudo multicêntrico.

Não é o conhecimento, mas o ato de aprender, não a posse,  
mas o ato de chegar lá, que concede a maior satisfação.

*Carl Friedrich Gauss*



## RESUMO

PIZARRO, Marcela Haas. *Influência dos fatores de risco tradicionais e não-tradicionais na prevalência da doença renal do diabetes no diabetes tipo 1*. 2019. 71 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Esse estudo analisa a associação entre a presença de doença renal crônica e níveis séricos mais elevados de ácido úrico, cor auto-referida e ancestralidade em pacientes com diabetes tipo 1. A tese inclui dois artigos, ambos com dados de estudos multicêntricos, com pacientes de todas as regiões geográficas do Brasil. Inicialmente, 1760 pacientes compuseram a amostra dos dois estudos. Os indivíduos responderam a questionários com dados clínicos e realizaram exames laboratoriais e avaliação médica com coleta de dados antropométricos. Esse estudo usou a fórmula de CKD-EPI para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) em adultos e avaliou a albuminúria através de uma amostra isolada de urina coletada pela manhã, classificando os pacientes em: normoalbuminúria (albumina urinária <30mg/dl) e presença de albuminúria (albumina urinária  $\geq$  30mg/dl). Dois subgrupos compõem o estudo: Pacientes com função renal normal (TFG  $\geq$  60 ml/min e ausência de albuminúria) e pacientes com função renal alterada (TFG <60ml/min ou presença de albuminúria). O estudo avaliou as etnias através de da cor auto-referida e a ancestralidade genômica através do uso de Ancestry Informative Markers (AIMs). No primeiro artigo, a análise dos dados mostra que níveis mais elevados de ácido úrico foram associados a menor TFG mesmo quando avaliados os pacientes do grupo da função renal normal. Cada aumento de 1mg/dl nos valores de ácido úrico sérico resultavam em uma diminuição de 4.11ml/min da TFG. No segundo artigo, mais pacientes se auto-declararam negros e pardos no grupo com disfunção renal, mas a análise multivariada não encontrou nenhuma associação entre categorias de cor auto-referida e a presença de doença renal crônica. A análise univariada demonstrou que um maior percentual de ancestralidade africana foi associado a uma chance mais elevada de apresentar doença renal crônica, mas a análise multivariada não confirmou essa associação após o ajuste por fatores de confundimento. A conclusão do primeiro artigo foi de que existe uma associação entre níveis mais elevados de ácido úrico sérico e uma menor TFG, mesmo em pacientes com função renal ainda normal. Isso sugere que os níveis séricos elevados de ácido úrico não devem ser totalmente atribuídos à diminuição da TFG. O segundo artigo concluiu que não existe associação entre nenhuma categoria de cor auto-referida ou entre uma maior ancestralidade africana e uma maior chance do paciente apresentar doença renal crônica. Os pacientes são extremamente miscigenados, com baixa porcentagem de ancestralidade africana em comparação com outras populações, o que pode justificar essa ausência de associação. Novos estudos sobre a associação de novos fatores de risco ou sobre fatores de risco já previamente estudados são extremamente importantes pois auxiliam na prevenção ou na diminuição da progressão de uma das complicações do diabetes com maior morbimortalidade, que é a doença renal do diabetes.

Palavras-chave: Diabetes tipo 1. Ácido úrico. Cor auto-referida. Ancestralidade genômica. Doença renal do diabetes.

## ABSTRACT

PIZARRO, Marcela Haas. *The influence between traditional and non traditional risk factors and the prevalence of diabetic kidney disease in type 1 diabetes*. 2019. 71 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

This dissertation analyses the association between the presence of chronic kidney disease (CKD) and elevated serum uric acid levels, self-reported color race, and genomic ancestry in patients with type 1 diabetes. This dissertation includes two articles, both analyzing data from multicenter, cross-sectional studies, with patients from all geographic areas of Brazil, that initially included 1760 patients. The studies used questionnaires to collect clinical data of the patients, as well as a clinical examination with the evaluation of anthropometric data and laboratory tests. Renal function was estimated by the CKD-EPI formula in adults and was expressed as the glomerular filtration rate (GFR). Albuminuria concentration was measured from a morning urine sample. The presence of albuminuria was defined as albuminuria  $\geq 30\text{mg/dl}$ . The studies divided the patients into two groups: Normal renal function group (GFR  $\geq 60\text{ ml/min}$  and the absence of albuminuria) and the CKD group (GFR  $<60\text{ml/min}$  and/or the presence of albuminuria). The second study classified patients according to self-reported color race and used autosomal Ancestry Informative Markers (AIMs) to infer the genomic ancestry (GA). The GA was expressed as percentages, with the sum of European, African and Native Amerindians equaling 100%. In the first study, the multivariate analysis revealed an association between higher levels of uric acid and lower GFR, even in patients in the normal renal function group. Every  $1\text{mg/dl}$  increase in the levels of serum uric acid was associated with a decrease in  $4.11\text{ml/min}$  in the GFR. The second study revealed that more patients self-reported themselves as Black and Brown in the CKD group than in the normal renal function group. However, self-reported color-race was not associated with CKD in the multivariate analysis. The binary logistic regression used to evaluate the relationship between African GA and renal function showed a significant association between a higher African ancestry and CKD. However, a multivariate logistic regression between African GA and CKD, after the adjustment for confounding factors, did not confirm this association. The conclusion of the first study is that higher levels of serum uric acid were associated with a lower GFR, even in patients from the normal function group. The second study concluded that self-reported color race or a higher African GA were not associated with CKD after adjustments. This can possibly be explained, at least in part, by the low percentage of African ancestry that the study encountered, indicating that our population is extremely admixed and should be compared to other populations with caution. Further studies should be conducted to better evaluate the relationship between new risk factors and even between known risk factors associated with diabetic kidney disease since it is a complication associated with an elevated morbi-mortality, high cardiovascular risk, and an excessive burden to the health care system.

Keywords: Type 1 diabetes. Uric acid. Self-reported color race. Genomic ancestry. Diabetic kidney disease.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Mecanismos que possivelmente justificam a fisiopatologia do aumento de ácido úrico sérico levando à doença renal do diabetes.....	23
Figura 2 –	Boxplot representando a ancestralidade genômica nas categorias de cor auto-referida.....	27

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGEs	Produtos de glicação avançada
AIMs	Ancestry Informative Markers
APOL1	Apolipoproteína L1
DAG	Diacilglicerol
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRC	Doença renal crônica
EDIC	Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications
FCM/UERJ	Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro
GLUT 9	Transportador de glicose 9
HbA1c	Hemoglobina glicada
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INDELS	Insertion Deletion Polymorphisms
LDL	Low-density lipoprotein
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido Nítrico
OR	Odds Ratio
PKC	Proteína kinase C
RNA	Ácido ribonucleico
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TFG	Taxa de filtração glomerular
TGF-beta	Fator de transformação do crescimento beta
TNF	Fator de necrose tumoral
URAT1	Urate transporter 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
1	<b>OBJETIVOS</b> .....	13
2	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	14
2.1	<b>Introdução a doença renal do diabetes e DM1</b> .....	14
2.2	<b>Fisiopatologia das complicações microvasculares</b> .....	15
2.2.1	<u>Aumento no fluxo das vias dos polióis</u> .....	16
2.2.2	<u>Aumento intracelular dos produtos finais de glicação avançada</u> .....	16
2.2.3	<u>Ativação da proteína quinase C</u> .....	17
2.2.4	<u>Aumento do fluxo pela via das hexosaminas</u> .....	18
2.3	<b>Fatores de risco tradicionalmente associados a doença renal do diabetes</b> .....	18
2.4	<b>Ácido úrico sérico</b> .....	19
2.5	<b>Ancestralidade e doença renal do diabetes</b> .....	24
3	<b>RESULTADOS</b> .....	29
3.1	<b>Artigo 1: Serum uric acid and renal function in patients with type 1 diabetes: a nationwide study in Brazil (Artigo publicado)</b> .....	29
3.2	<b>Artigo 2: Influence of genomic ancestry and self-reported color-race in CKD in a nationwide admixed sample of Brazilian patients with type 1 diabetes (Artigo publicado)</b> .....	36
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	46
	<b>CONCLUSÕES</b> .....	54
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	55
	<b>APÊNDICE A</b> - Supplementary material of serum uric acid and renal function in patients with type 1 diabetes: a nationwide study in Brazil.....	62
	<b>APÊNDICE B</b> -Tabela Suplementar 1.....	64
	<b>APÊNDICE C</b> - Tabela Suplementar 2.....	65
	<b>APÊNDICE D</b> - Tabela Suplementar 3.....	66
	<b>APÊNDICE E</b> - Figura Suplementar 1.....	67
	<b>ANEXO A</b> - Aprovação do Comitê de Ética.....	68

## INTRODUÇÃO

Diabetes tipo 1 é uma doença autoimune, com aumento de prevalência mundial nos últimos anos. Trata-se de uma patologia que atinge principalmente crianças e adolescentes, apresentando difícil controle glicêmico, mesmo em países com um maior grau de desenvolvimento.

Uma das complicações microvasculares mais prevalentes e com maior morbimortalidade associada ao diabetes é a doença renal do diabetes. Diabetes é a maior causa de doença renal crônica que necessita de terapia de substituição renal no mundo, apresentando elevada morbimortalidade, principalmente relacionada a doença cardiovascular. A fisiopatologia da doença renal do diabetes ainda não está totalmente esclarecida, mas existem fatores de risco comprovadamente relacionados ao aumento dessa complicação.

O estudo desses fatores de risco é extremamente relevante pois estudos comprovam que mesmo com um bom controle glicêmico e controle de outros fatores como hipertensão, a incidência dessa complicação não reduziu nos últimos anos.

Um fator de risco que vem sendo estudado nos últimos anos é o ácido úrico sérico. Níveis elevados ou até no limite superior da normalidade foram associados a maior chance de desenvolvimento e até progressão da doença renal do diabetes. Sendo um fator de risco potencialmente modificável, o estudo da relação entre níveis séricos de ácido úrico e essa complicação torna-se importante para aumentar a chance de evitar uma complicação com tamanha morbimortalidade associada.

Outro fator de risco historicamente associado com a doença renal do diabetes são diferentes etnias, como negros e asiáticos. Estudos revelam que pacientes africanos, afro-americanos e asiáticos apresentam uma maior incidência de doença renal do diabetes. Porém, esses estudos foram realizados com base na cor auto-referida e não com ferramentas para avaliação de ancestralidade genômica.

A principal finalidade desse trabalho é estudar a associação de dois fatores de risco relacionados com o desenvolvimento e progressão da doença renal do diabetes em pacientes com diabetes tipo 1, que são: os níveis séricos de ácido úrico e diferentes etnias (descritas como cor auto-referida e ancestralidade genômica).

## **1. OBJETIVOS**

- 1.1.** Avaliar a associação entre níveis séricos de ácido úrico e a presença de doença renal crônica, avaliada pela taxa de filtração glomerular e presença de albuminúria, em pacientes com diabetes tipo 1 de um estudo multicêntrico no Brasil.
  
- 1.2.** Avaliar a associação entre etnias (avaliadas através de cor auto-referida e ancestralidade genômica) e a presença de doença renal crônica, avaliada pela taxa de filtração glomerular e pela presença albuminúria, em pacientes com diabetes tipo 1 em um estudo multicêntrico no Brasil.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Introdução a doença renal do diabetes e DM1

O diabetes tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune que acomete principalmente crianças e adolescentes e que cursa com uma destruição das células beta no pâncreas, culminando com uma deficiência na produção de insulina. Corresponde a cerca de 10-15% dos casos de diabetes no mundo (International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas.* , 2017).

A prevalência mundial do DM1 vem gradativamente aumentando nos últimos anos. Cerca de 7-12% dos pacientes com diabetes em populações com elevado perfil econômico apresentam DM1 e a cada ano 132.600 novos casos de DM1 são diagnosticados no mundo (International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas.* , 2017). Dados europeus predizem que entre 2005 e 2020 novos casos de DM1 em crianças com menos de 5 anos de idade vão dobrar e em crianças e adolescentes até 15 anos, vão aumentar em até 70%. Esse aumento excede o que havia sido previsto de aumento e está acontecendo tanto em países de alto risco, como a Finlândia e Suécia, como em países com menor risco (Dabelea, 2009).

Pacientes com DM1 podem apresentar complicações relacionadas ao diabetes. Essas complicações podem ser classificadas em micro e macrovasculares. As complicações microvasculares são: doença renal do diabetes, neuropatia diabética e retinopatia diabética (American Diabetes Association, 2018).

Em relação ao rastreamento para doença renal do diabetes, os pacientes com DM1 com 5 anos ou mais de doença devem ter anualmente uma avaliação da função renal, que envolve medida de albuminúria (preferencialmente spot urinário com relação de albumina/creatinina) e dosagem de creatinina sérica para o estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) (American Diabetes Association, 2018).

Um estudo foi realizado nos Estados Unidos revelou um aumento de 1,16 para 3,44% na prevalência anual de doença renal do diabetes em crianças e adolescentes no período de 2002 até 2013 (Li *et al.*, 2016). Esse estudo não incluiu somente pacientes com DM1. Outro estudo envolvendo pacientes com DM1 na Suécia mostrou uma baixa incidência cumulativa da doença renal do diabetes que evoluiu para terapia de substituição renal, de 3,3% com 30 anos de doença (Möllsten *et al.*, 2010). No Brasil, a prevalência de DRC em pacientes com



DM1 ainda é elevada, com 30.6% apresentando TFG <60ml/min ou TFG  $\geq$  60ml/min com a presença de albuminúria (Pizarro *et al.*, 2018).

Tradicionalmente, a microalbuminúria (excreção de albumina  $\geq$  30mg/24 horas) era considerada o primeiro marcador de disfunção renal, sendo rastreada de rotina nos pacientes diabéticos. A evolução esperada seria a progressão para a presença de macroalbuminúria (excreção de albumina urinária > 300mg/24 horas) e, eventualmente, para disfunção renal com queda da TFG (Williams, 2005). Porém, é importante ressaltar que alguns estudos revelam que a microalbuminúria pode regredir espontaneamente e nem sempre seria um marcador inicial de doença renal do diabetes. Ela pode ser totalmente revertida e retornar a normoalbuminúria em cerca de 58% dos casos (Perkins *et al.*, 2003). A evolução tradicional de microalbuminúria para macroalbuminúria e posteriormente para uma TFG <60ml/min nem sempre é a evolução natural da doença renal do diabetes. Existem casos em que a TFG declina mesmo em pacientes com microalbuminúria ou até mesmo naqueles que não apresentam perda de albumina na urina, sendo classificados como perda precoce de TFG (Perkins *et al.*, 2019).

A doença renal do diabetes é uma das complicações mais prevalentes. A doença renal crônica está associada a elevada morbimortalidade, principalmente relacionada ao risco cardiovascular e ao elevado custo para o sistema de saúde (Mcbrien *et al.*, 2013; US Renal Data System: 2018 Annual Data Report, 2018). Diabetes é a principal causa de doença renal crônica no mundo e está relacionada ao dobro de mortalidade, quando comparado com pacientes que não apresentam doença renal crônica (US Renal Data System: 2018 Annual Data Report, 2018).

## **2.2. Fisiopatologia das complicações microvasculares**

A fisiopatologia das complicações microvasculares é complexa e é mediada por inúmeros mecanismos causados pela hiperglicemia crônica. As complicações microvasculares na retina, glomérulo e vasa nervorum apresentam fisiopatologia semelhantes. Uma das primeiras alterações causadas pela hiperglicemia é o aumento do fluxo sanguíneo e da pressão intracapilar como consequência da diminuição do óxido nítrico nos capilares renais do lado eferente, aumento de substâncias vasoconstrictoras (como angiotensina II e endotelina-1) e da liberação de fatores que aumentam a permeabilidade vascular como VEGF (vascular

endothelial growth factor) (Brownlee, 2001; Papadopoulou-Marketou *et al.*, 2017). Alterações quantitativas e qualitativas na matriz extracelular também ocorrem e contribuem para um aumento permanente da permeabilidade vascular.

Com o passar do tempo, ocorre perda celular por apoptose, obstrução capilar progressiva por superprodução de matriz extracelular induzida por fatores de crescimento e depósito periódico de algumas proteínas plasmáticas. Essas alterações levam a edema, isquemia e neovascularização na retina, proteinúria, expansão da matriz mesangial e glomeruloesclerose nos rins (Brownlee, 2001).

Três vias principais foram descritas como as principais responsáveis pelo desenvolvimento da doença renal do diabetes: anormalidades de vias intracelulares como a ativação das vias dos polióis e proteína kinase C; formação dos produtos de glicação avançada (AGEs) induzido pela hiperglicemia, com consequente disfunção das células glomerulares e ativação da macrófagos; e hipertensão glomerular induzida pela hiperfiltração glomerular (Wada e Makino, 2013). Essas vias promovem a liberação de moléculas inflamatórias, como adipocinas, citocinas e moléculas de adesão que levam a dano das células endoteliais glomerulares e infiltração de macrófagos nos tecidos renais (Rivero *et al.*, 2009).

Existem 4 hipóteses principais de como a hiperglicemia seria responsável pelas complicações diabéticas. São elas: aumento no fluxo nas vias dos polióis, aumento na formação dos AGEs, ativação da proteína kinase C (PKC) e aumento do fluxo nas vias das hexosaminas.

### 2.2.1. Aumento no fluxo nas vias dos polióis

A aldolase redutase é a primeira enzima da via dos polióis, ela catalisa uma redução dependente de NADPH de vários compostos incluindo a glicose. Em um ambiente com hiperglicemia, o aumento da glicose intracelular resulta em um aumento do fluxo por essa via, com maior conversão da glicose em sorbitol com consequente diminuição do NADPH. A maior ativação dessa via gera efeitos deletérios através do aumento do estresse osmótico pelo aumento do sorbitol, que não é facilmente difusível através de membranas celulares e através da diminuição citosólica do NADPH. O NADPH é necessário para regenerar a glutathione reduzida e sua diminuição pode induzir ou exacerbar o estresse oxidativo intracelular (Brownlee, 2001; Papadopoulou-Marketou *et al.*, 2017).

### 2.2.2. Aumento intracelular dos produtos finais de glicação avançada:

A hiperglicemia intracelular parece ser a grande responsável pela geração dos AGEs intra e extracelulares. Esses AGEs são substâncias formadas por reações não enzimáticas entre açúcares redutores, como a glicose, com proteínas, ácidos nucleicos ou lipídeos. (Huebschmann *et al.*, 2006).

Existem inúmeros mecanismos pelos quais os AGEs causam lesões celulares. Esses produtos de glicação avançada alteram a matriz extracelular e ela passa a interagir de forma anormal com outros componentes da matriz extracelular ou com receptores celulares para a matriz, que são as integrinas. A formação de AGEs altera as propriedades funcionais de inúmeras moléculas da matriz, alterando a interação matriz-matriz, mas também a interação matriz-célula. Por exemplo, a modificação pelos AGEs dos domínios celulares do colágeno IV aumentam a adesão celular endotelial (Brownlee, 2001).

Além disso, as proteínas plasmáticas modificadas pelos AGEs se ligam a receptores de AGE nas células endoteliais, mesangiais e nos macrófagos, induzindo a produção de espécies reativas de oxigênio. Essa ligação dos receptores de AGE é responsável pela ativação da transcrição do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), causando alterações na expressão gênica (Brownlee, 2001).

### 2.2.3. Ativação da proteína kinase C:

A proteína kinase C corresponde a uma família de serina/treonina kinases que engloba 11 isoformas, sendo que algumas, as chamadas convencionais ( $\alpha$ ,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\gamma$ ), são ativadas pelo segundo mensageiro lipídico diacilglicerol (DAG). A hiperglicemia intracelular aumenta a quantidade de DAG na retina e glomérulo de animais diabéticos, ativando a PKC. As isoformas mais ativadas nos glomérulos de ratos diabéticos são as: PKC  $\alpha$ ,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\delta$ , and  $\epsilon$  (Koya *et al.*, 1997; Huebschmann *et al.*, 2006).

Ativação anormal da PKC está relacionada com a diminuição na produção de óxido nítrico (NO) glomerular, aumento da ativação do NF- $\kappa$ B e com o acúmulo de proteínas de

matriz pela indução da expressão de TGF-beta 1, fibronectina e colágeno tipo IV (Brownlee, 2001).

Um estudo realizado com roedores (db/db), simulando animais com diabetes tipo 2 (DM2) mostrou que o uso de inibidores da PKC- $\beta$  reduziu as taxas de excreção de albumina e inibiu a ativação da PKC glomerular. Além disso, o uso desses inibidores diminuiu a expansão mesangial encontrada nesses roedores, provavelmente por uma atenuação do aumento da matriz extracelular (Koya *et al.*, 2000). Esse estudo corrobora a hipótese que a ativação da PKC é uma das principais vias responsáveis pelo desenvolvimento da doença renal do diabetes. Um estudo realizado em pacientes com DM2 e albuminúria persistente revelou que pacientes que usaram um inibidor da PKC- $\beta$  (Ruboxistaurin) tiveram menores níveis de albumina urinária e continuaram com a TFG estável, ao contrário dos pacientes que não receberam a medicação que apresentaram piora da albuminúria e da TFG (Tuttle *et al.*, 2005).

#### 2.2.4. Aumento do fluxo pela via das hexosaminas:

O excesso de glicose intracelular pode ser desviado para a via das hexosaminas, o que pode ser um dos responsáveis pelas complicações microvasculares. Nessa via, a frutose 6 fosfato é desviada da glicólise e é convertida em glucosamina-6-fosfato pela enzima glutamina:frutose-6-fosfato aminotransferase (Brownlee, 2001).

A ativação excessiva da via das hexosaminas está relacionada ao aumento da expressão gênica do TGF-beta e fibronectina, expansão mesangial, hipertrofia celular e espessamento da membrana basal glomerular (Huebschmann *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2008).

### 2.3. **Fatores de risco tradicionalmente associados a doença renal do diabetes**

Apesar de ser uma complicação associada com elevada morbimortalidade e ser responsável por cerca de 30-50% dos casos de doença renal crônica (DRC) no mundo (Webster *et al.*, 2017), sua fisiopatologia não está totalmente esclarecida. Inúmeros fatores de

risco já são conhecidos e são classicamente associados ao desenvolvimento e progressão da doença renal do diabetes.

Um controle glicêmico inadequado (com consequente aumento da HbA1c) é um dos principais fatores de risco estudados e bem documentados na literatura. O DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) e o estudo de follow-up EDIC (Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications) já demonstraram a importância de um controle glicêmico intensivo (alvo de HbA1c menor que 6,05%) na prevenção e no retardo do desenvolvimento de micro e macroalbuminúria (Nathan *et al.*, 1993; Group, 2003). Estudos mostram que o controle glicêmico inadequado seria um dos principais fatores de risco relacionado ao desenvolvimento da doença renal do diabetes (Perkins *et al.*, 2019).

Outros fatores de risco já estudados e descritos na literatura incluem hipertrigliceridemia, presença de hipertensão arterial, idade do paciente, maior tempo de duração do diabetes e a presença de outras complicações microvasculares (em especial a retinopatia diabética) (Radcliffe *et al.*, 2017; Perkins *et al.*, 2019).

Entretanto, apesar do aumento do uso de terapias nefroprotetoras e um controle e tratamento mais agressivos da hipertensão e do diabetes, o risco de doença renal do diabetes não se alterou nos últimos anos, segundo um estudo envolvendo pacientes caucásicos que frequentavam a clínica Joslin nos Estados Unidos (Rosolowsky *et al.*, 2011). Isso reforça a necessidade de estudos de outros fatores de risco potencialmente modificáveis relacionados ao desenvolvimento e progressão da doença renal do diabetes, já que ela está relacionada com tamanha morbimortalidade para os pacientes acometidos.

## **2.4. Ácido úrico sérico**

Além dos fatores de risco classicamente relacionados com o desenvolvimento e progressão da doença renal do diabetes que já foram citados anteriormente, novos estudos sugerem que o ácido úrico sérico também poderia ser um fator de risco para o desenvolvimento dessa complicação.

O ácido úrico é o produto final da degradação de purinas (guanidina e adenina). As purinas apresentam várias funções, sendo a mais importante ser um precursor dos ácidos nucleicos (DNA e RNA). Ele é produzido pelo fígado, a maior parte é eliminada pelos rins

(cerca de 2/3) e o restante é eliminado pela via intestinal. Níveis séricos normais variam de 2,6–6mg/dl em mulheres e 3,5–7,2 mg/dl em homens.

Quase todo o ácido úrico é filtrado pelos glomérulos. O túbulo contorcido proximal é o grande responsável pela reabsorção e secreção de ácido úrico, sendo que 90% do ácido úrico sérico é reabsorvido nesse segmento. A hiperuricemia pode resultar do aumento da produção de ácido úrico, da dificuldade na excreção ou de ambas as causas (Maiuolo *et al.*, 2016). A solubilidade do ácido úrico na água é baixa, então quando seus níveis séricos estão elevados, podem-se formar cristais de urato monossódico que se depositam nos tecidos.

Existem estudos discordantes se o ácido úrico apresenta propriedades anti-oxidantes ou oxidantes. Estudos *in vitro* sugerem que o ácido úrico sérico funcionaria fazendo uma varredura de substâncias oxidantes como radicais peroxil e hidroxila. O urato circulante no sangue era considerado uma vantagem evolutiva em relação a outras espécies, já que funcionaria como uma potente substância antioxidante, diminuindo o estresse oxidativo e aumentando a sobrevivência da nossa espécie (Sautin e Johnson, 2008). Estudos sugerem que o ácido úrico poderia ser um grande responsável por evitar a peroxidação de membranas lipídicas, principalmente de hemácias (Ames *et al.*, 1981).

Um dos locais mais estudados em relação aos efeitos anti-oxidantes do ácido úrico é o sistema nervoso central. Alguns estudos envolvendo acidente vascular cerebral já foram publicados e o ácido úrico foi descrito como uma substância neuroprotetora. Um estudo mostrou que a administração de ácido úrico 24 horas antes da oclusão da artéria cerebral média em roedores adultos diminuiu drasticamente a área de isquemia induzida pela oclusão (Yu *et al.*, 1998). Uma meta-análise realizada em 2016 mostrou que níveis mais elevados de ácido úrico estavam associados a um melhor prognóstico em pacientes que tiveram um acidente vascular cerebral, sugerindo que o ácido úrico teria um efeito protetor na fase aguda da isquemia cerebral (Wang *et al.*, 2016).

Outros estudos sugerem o oposto, que o ácido úrico sérico não teria efeito benéfico e sim que funcionaria como uma substância pró-oxidante. Ele reagiria com outros oxidantes e esses radicais resultantes reagiriam especialmente com lipídeos presentes nas membranas celulares e LDL (low-density lipoprotein) colesterol, sugerindo que o efeito anti-oxidante do ácido úrico poderia ser restrito a um ambiente hidrofílico e não hidrofóbico (Bagnati *et al.*, 1999).

Essa hipótese de uma ação pró-oxidante do ácido úrico é corroborada por estudos que mostram que o aumento dos níveis séricos de ácido úrico promove disfunção endotelial, hipertensão arterial e síndrome metabólica. Um estudo com roedores, em que a síndrome

metabólica foi induzida pela alta ingestão de frutose, ajudou a comprovar essa hipótese (Nakagawa *et al.*, 2006). Os roedores desse estudo que recebiam uma dieta com altas concentrações de frutose e também recebiam alopurinol apresentavam menor ganho de peso, menor hiperinsulinemia e menor pressão arterial sistólica em comparação com roedores com dieta rica em frutose mas sem uso de alopurinol. O uso do alopurinol reverteu ou preveniu o aparecimento da síndrome metabólica nesses roedores, reforçando a hipótese de uma forte associação entre níveis de ácido úrico sérico e a síndrome metabólica.

Outro estudo com roedores mostrou que o uso de uma substância que inibe a enzima uricase, usada para diminuir níveis séricos de ácido úrico, também apresentava efeitos benéficos como a diminuição da hipertensão arterial sistêmica, da hipertensão glomerular e da expansão mesangial (Sánchez-Lozada *et al.*, 2008).

Estudos em humanos também comprovam essa teoria de que o ácido úrico teria principalmente efeitos oxidantes, já que elevados níveis de ácido úrico sérico também estão associados à hipertensão arterial sistêmica (Buzas *et al.*, 2018), ao desenvolvimento de DM2 e de síndrome metabólica (Yadav *et al.*, 2013) e à presença de doença hepática gordurosa não-alcóolica (Lanaspa *et al.*, 2012). Alguns estudos demonstraram que níveis séricos elevados de ácido úrico seriam um fator de risco independente para o desenvolvimento de DM2 e pré-diabetes, mesmo após correção por fatores de confundimento como os componentes da síndrome metabólica, idade e história familiar para diabetes (Krishnan *et al.*, 2012; Lv *et al.*, 2013). Para cada aumento de 1mg/dl nos níveis séricos de ácido úrico, houve um aumento de 6% da chance de desenvolvimento de DM2 (Lv *et al.*, 2013).

Através de mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, pacientes com DM1 geralmente apresentam níveis mais baixos de ácido úrico sérico em comparação com pacientes saudáveis ou mesmo com os pacientes com DM2. Um estudo comparando pacientes com DM1 e controles demonstrou que os pacientes com DM1 apresentavam menores níveis séricos de ácido úrico após correção para a presença de hipertensão, idade e uso de diuréticos. Esses pacientes com DM1 também apresentavam uma maior excreção de ácido úrico na urina de 24 horas, sugerindo que a hipouricemia estaria relacionada a um aumento na excreção de ácido úrico e não à diminuição da produção (Gołembiewska *et al.*, 2005).

Cerca de 90% do ácido úrico filtrado é reabsorvido pelo segmento S1 do túbulo contorcido proximal. Essa reabsorção ocorre principalmente por dois transportadores iônicos que são o Urate transporter 1 (URAT 1) e o transportador de glicose 9 (GLUT 9) isoforma 2. O GLUT 9 isoforma 2 secreta ácido úrico em troca da absorção da glicose no túbulo proximal e reabsorve ácido úrico no ducto coletor. Uma das possíveis explicações para hipouricemia

nesses pacientes com DM1 seria a glicosúria, que conseqüentemente causaria uma uricosúria, mediada pela ativação do GLUT 9 isoforma 2 no túbulo proximal do glomérulo. A explicação para níveis séricos baixos de ácido úrico em pacientes com DM1 normoglicêmicos ainda não está bem estabelecida (Lytvyn *et al.*, 2015).

Alguns estudos revelam que níveis elevados ou próximos do limite superior de normalidade de ácido úrico sérico em pacientes com DM1 estão associados a uma maior prevalência de doença renal do diabetes. Um estudo realizado com pacientes com DM1 recém diagnosticados seguidos durante 18 anos mostrou uma associação entre maiores níveis séricos de ácido úrico ao diagnóstico e uma maior chance de desenvolvimento de macroalbuminúria (Hovind *et al.*, 2009). Outro estudo também corroborou essa teoria e avaliou a presença de doença renal do diabetes em 652 pacientes com DM1 que foram revistos após 6 anos. A doença renal do diabetes nesses pacientes foi definida como a presença de albuminúria (relação albumina/creatinina  $\geq 30$ mg/dl em amostra isolada de urina) e/ou a presença de uma queda abrupta da TFG (diminuição maior do que 3,3% ao ano). A TFG foi estimada pelo CKD-EPI usando a cistatina C. Os níveis séricos de ácido úrico foram relacionados com a presença de albuminúria e a rápida queda da TFG, independente da idade, tempo de duração do diabetes, níveis pressóricos ou níveis de HbA1c (Bjornstad *et al.*, 2014).

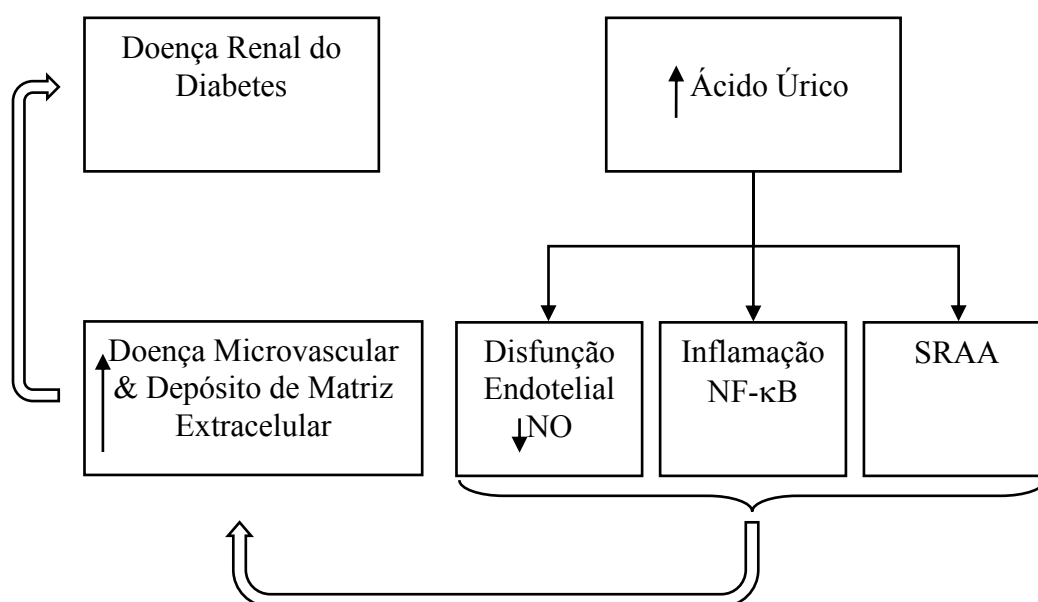
Níveis elevados de ácido úrico sérico também foram associados a uma redução da TFG em outro estudo que usou a cistatina C para estimar a TFG. Esse estudo foi realizado em adolescentes, que apesar de apresentarem níveis séricos de ácido úrico mais baixos do que os encontrados nos controles, apresentavam uma associação entre níveis séricos mais elevados de ácido úrico e uma menor TFG, mesmo após a correção por idade, níveis pressóricos e outros fatores de confundimento (Lytvyn, Mahmud, *et al.*, 2016).

O mecanismo pelo qual os níveis mais elevados de ácido úrico, mesmo ainda dentro dos limites de normalidade, teriam associação com doença renal do diabetes ainda não foi totalmente esclarecido. Um estudo com pacientes com DM1 avaliou os efeitos da elevação de ácido úrico sérico na hemodinâmica glomerular através da avaliação da pressão de filtração, pressão hidrostática glomerular e resistências das arteríolas aferentes e eferentes (Lytvyn, Škrtić, *et al.*, 2016). Esse estudo mostrou que níveis séricos de ácido úrico podem influenciar na resistência da arteríola aferente, resultando na diminuição da pressão de filtração e da pressão glomerular hidrostática. Esse aumento da resistência da arteríola aferente pode estar relacionado a um aumento do tônus ou ao espessamento da arteríola aferente. Ainda são necessários mais estudos para uma melhor elucidação dessa associação.



Outros estudos sugerem que níveis elevados de ácido úrico sérico estariam associados à doença renal do diabetes através de inúmeras vias (Figura 1). Existem estudos que sugerem que níveis aumentados de ácido úrico sérico estão relacionados a uma diminuição de NO, tanto pela diminuição da produção pelas células endoteliais, quanto por uma reação com o NO inativando-o. Essa diminuição dos níveis de NO levaria a uma disfunção endotelial (Jalal *et al.*, 2011). Um estudo com roedores, em que a hiperuricemia era induzida em alguns animais, comprovou que eles apresentavam hipertensão glomerular e sistêmica, arteriopatía da arteríola aferente e uma diminuição na síntese de NO (Sánchez-Lozada *et al.*, 2007). O tratamento desses roedores com a administração de L-arginina (de forma aguda ou crônica), que estimula a produção de NO pelo endotélio, preveniu a hipertensão glomerular e sistêmica, principalmente no grupo com tratamento crônico. Esse estudo corrobora a hipótese de que níveis baixos de NO estariam associados a uma disfunção endotelial e ao desenvolvimento da doença renal do diabetes.

Figura 1: Mecanismos que possivelmente justificam a fisiopatologia do aumento de ácido úrico sérico levando à doença renal do diabetes.



Fonte: Adaptado do Jalal *et al.*, 2011.

Uma outra via que também está associada ao desenvolvimento da nefropatia relacionada a hiperuricemia é a arteriopatía da arteríola aferente e fibrose tubulointersticial. Essa disfunção da arteríola aferente pode estar relacionada a ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA). Um estudo com roedores com hiperuricemia induzida dividiu os animais em dois grupos: um que recebeu enalapril (que bloqueia o SRAA) e outro que recebeu o diurético tiazídico, que reduz os níveis pressóricos, sem interferir no SRAA (Mazzali *et al.*, 2002). Apesar do grupo que recebeu diuréticos tiazídicos apresentar uma diminuição dos níveis pressóricos, ele não foi suficiente para prevenir a arteriopatía nesses roedores, como aconteceu no grupo que recebeu enalapril. Essa hipótese também foi testada com o uso de losartana, que também preveniu o desenvolvimento da arteriopatía, mas esse efeito pode ser mediado em parte pela característica uricosúrica da medicação. Níveis elevados de ácido úrico também podem induzir inflamação intersticial e aumento da liberação de citocinas, como TNF-alfa (Jalal *et al.*, 2011).

Essa associação entre hiperuricemia e disfunção renal pode ser confirmada através de estudos que avaliam o uso de medicações que reduzem os níveis séricos de ácido úrico, como o alopurinol. Um estudo com 176 pacientes com DM2 e hiperuricemia assintomática concluiu que o uso de alopurinol durante 3 anos resultou em menores níveis séricos de ácido úrico, menor pressão sistólica e diastólica e uma maior TFG em comparação com o grupo controle (Liu *et al.*, 2015). Quando esse estudo avaliou a chance de progressão para doença renal do diabetes desses pacientes, o grupo que recebeu alopurinol teve um menor número de casos de doença renal do diabetes em comparação com o grupo controle, mas o resultado não foi significativo.

Um estudo multicêntrico, duplo-cego está sendo conduzido com o uso de alopurinol em pacientes com DM1 para avaliar se a diminuição dos níveis de ácido úrico sérico estaria associada a uma menor chance desses pacientes desenvolverem doença renal do diabetes (Maahs *et al.*, 2013).

Portanto, o estudo da associação entre níveis séricos de ácido úrico e a doença renal do diabetes em pacientes com DM1 é importante pois trata-se de um fator de risco potencialmente modificável, através de dieta e medicações que diminuem os níveis séricos de ácido úrico, para uma complicação associada a elevada morbimortalidade e que acomete tantos pacientes com diabetes.

## 2.5. Ancestralidade e doença renal do diabetes

Historicamente, pacientes negros, hispânicos ou asiáticos eram considerados como grupos de risco por apresentarem uma maior chance de desenvolvimento de doença renal do diabetes em comparação com pacientes diabéticos caucásicos. Um dos primeiros estudos publicados sobre o tema mostra que pacientes negros com diabetes apresentavam uma incidência de doença renal crônica 2,6 vezes maior em comparação com pacientes caucásicos. Esse estudo foi realizado com pacientes do estado de Michigan nos Estados Unidos com doença renal crônica presumivelmente atribuída ao diabetes (Cowie *et al.*, 1989). Outro estudo envolvendo pacientes com DM2 de 33 países também mostrou que pacientes hispânicos e asiáticos apresentavam maior prevalência de macroalbuminúria quando comparados com pacientes caucásicos (Parving *et al.*, 2006).

A associação entre diferentes grupos étnicos e a maior chance de desenvolvimento da doença renal do diabetes está presente mesmo após o ajuste por fatores socioeconômicos, controle glicêmico e diferenças na prevalência do diabetes. Estudos sugerem que existem genes de susceptibilidade para o desenvolvimento da doença renal do diabetes. Um estudo realizado com 965 pacientes afro-americanos com DM2 e 1029 controles afro-americanos sem diabetes foi realizado na tentativa de identificar genes de susceptibilidade para a doença renal do diabetes. Foram identificados 8 loci de susceptibilidade em pacientes com DM2 (Palmer *et al.*, 2014), sugerindo que o desenvolvimento da doença renal do diabetes é multifatorial, envolvendo tanto uma maior predisposição genética como relacionada a outros fatores de risco como tempo de duração da doença, níveis de HbA1c e a presença de hipertensão. Outro estudo envolvendo pacientes com DM1 também corroborou essa hipótese de que o desenvolvimento da doença renal do diabetes seria multifatorial, já que encontrou dois outros Single nucleotide polymorphisms (SNPs) relacionados com a presença de doença renal crônica nesses pacientes (Sandholm *et al.*, 2012).

O Brasil tem uma população extremamente heterogênea e miscigenada. Ela é formada principalmente por três grupos, os Europeus (em especial os Portugueses), os Ameríndios e os Africanos. Nosso país inicialmente era ocupado pela população nativa indígena, os ameríndios. Posteriormente, ocorreu a colonização pelos portugueses em 1500 com a vinda de cerca de 500.000 portugueses e depois em torno de 4 milhões de africanos foram trazidos como escravos. Por volta de 1910 e 1950, ocorreu uma segunda onda de imigração, porém em

menor número. Nesse período, o Brasil recebeu muitos espanhóis, italianos e alemães. Nossa população, como resultado, é extremamente heterogênea e reflete o cruzamento de diversos grupos étnicos, em especial de Ameríndios, Europeus e Africanos (Bernardo *et al.*, 2014).

A maioria dos estudos já publicados que associam alguma etnia a uma maior chance de desenvolvimento de doença renal do diabetes foram realizados com cor auto-referida e não com avaliação de ancestralidade. O censo do IBGE classifica os brasileiros por cor auto-referida como: Branco, Preto, Pardo, Amarelo e Indígena (IBGE- Características étnico-raciais da população: um estudo das categorias de classificação de cor ou raça, 2008). Entretanto, a maioria dos estudos envolvendo cor auto-referida foi realizado em populações mais homogêneas, diferente da população encontrada no Brasil.

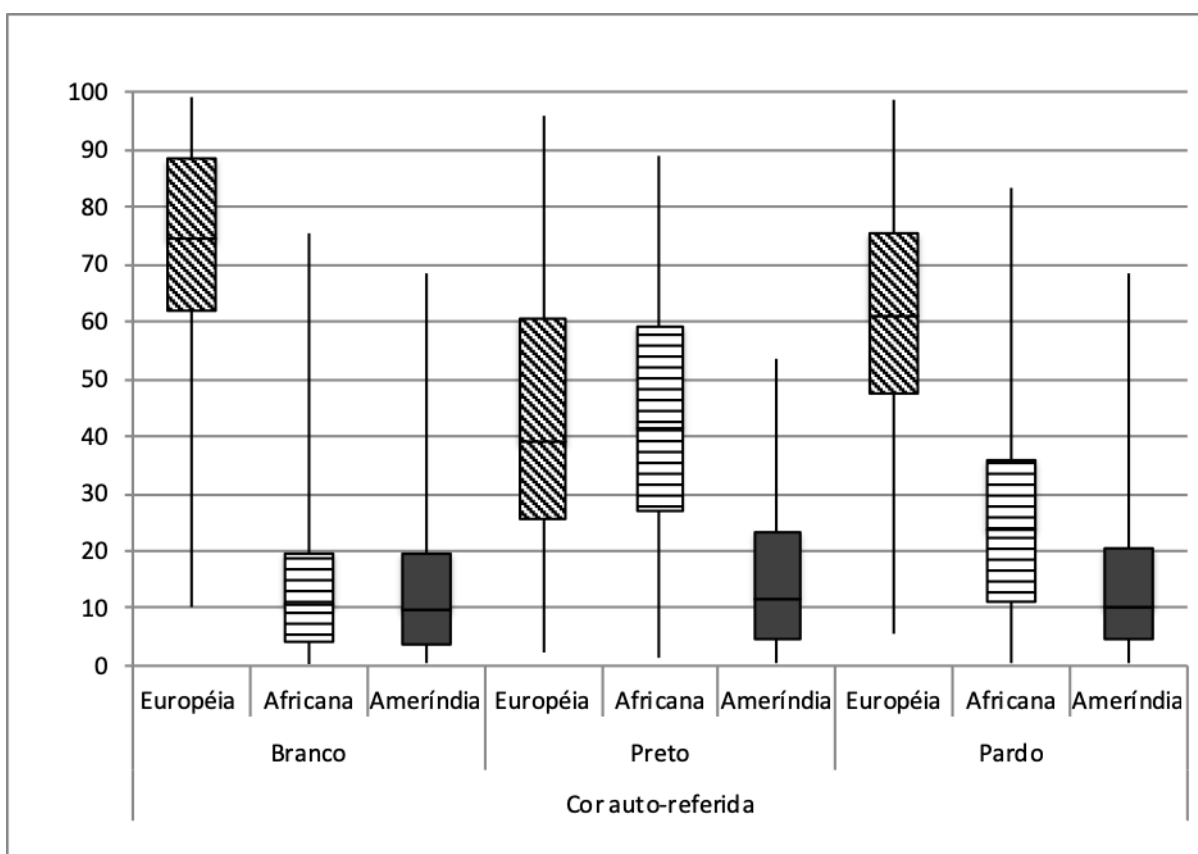
A cor auto-referida leva em consideração apenas a percepção do indivíduo em relação ao grupo étnico ao qual pertence, não necessariamente levando em consideração características fenóticas do indivíduo, como cor da pele, tipo de cabelo, formato da boca e nariz. Um estudo realizado no Brasil com 86 pares de irmãs (172 indivíduos) utilizou um dermaspectômetro para avaliação de pigmentação cutânea que estimava a quantidade de melanina na pele. Eles também realizaram a avaliação de ancestralidade através de 21 Ancestry Informative Markers (AIMs), avaliando o grau de contribuição da ancestralidade europeia, africana e ameríndia desses indivíduos. A proporção de cada ancestralidade era parecida entre as irmãs, porém 30 dos 86 pares de irmãs se autodeclararam com dor diferente entre si e isso não estava diretamente relacionado com a quantidade de melanina encontrada pelo dermaspectômetro (Leite *et al.*, 2011). Outro trabalho que avaliou se o fenótipo do indivíduo tinha relação com a quantidade de ancestralidade genômica africana também concluiu que características fenóticas como cor não apresentam boa correlação com a ancestralidade africana (Parra *et al.*, 2003). Um outro estudo publicado em 2014 avaliou se alguns SNPs relacionados à pigmentação da pele em humanos poderiam ser usados para prever a cor de indivíduos estudados no Rio de Janeiro e São Paulo. Quatro SNPs eram significativamente associados a pigmentação cutânea, porém eles não conseguiam prever a cor auto-declarada desses indivíduos estudados (Durso *et al.*, 2014). Esses estudos ajudam a concluir que o uso de cor auto-referida na nossa população, extremamente miscigenada, pode não ser a melhor ferramenta para a classificação e estudo de etnias.

Já que existe uma baixa correlação entre cor auto-referida e ancestralidade genômica, o estudo de ancestralidade genômica através de métodos genéticos seria o ideal para realmente avaliar se existe uma associação entre etnias e a doença renal do diabetes. Existem várias formas de avaliar a ancestralidade genômica. Os AIMs mostram as diferenças entre

populações distintas do ponto de vista geográfico ou ancestral e são extremamente úteis para inferir a origem ancestral de um indivíduo e calcular a proporção de ancestralidade em indivíduos de populações muito miscigenadas (Pereira *et al.*, 2012).

O nosso grupo realizou previamente um estudo de ancestralidade genômica nos pacientes com DM1 de todas as regiões geográficas do Brasil. Nós encontramos uma maior contribuição de ancestralidade genômica europeia em indivíduos com DM1 quando comparados com controles (67,8% vs 56,3%), o que se manteve mesmo subdividindo os pacientes de acordo com as 5 regiões geográficas. Mesmo pacientes que se auto-declaravam pardos ou negros apresentavam uma elevada proporção de ancestralidade europeia (figura 2), comprovando que nossa população, incluindo pacientes com DM1, é extremamente miscigenada (Gomes *et al.*, 2018).

Figura 2: Boxplot representando a ancestralidade genômica nas categorias de cor auto-referida.



Legenda: Mediana (linha sólida), caixa corresponde ao primeiro e terceiro quartis. Medianas: Branco (74.6% ancestralidade europeia, 10.7% africana e 9.8% ameríndia), Preto (39.1% europeia, 41.4% africana e 11.7% ameríndia) e Pardo (61.1% europeia, 23.7% africana e 10.4% ameríndia).

Fonte: Adaptado de Gomes *et al.*, 2018.

Ainda existem poucos estudos que avaliam a ancestralidade em pacientes diabéticos levando em consideração a ancestralidade genômica e não a cor auto-referida. Um estudo publicado em 2015 nos Estados Unidos, com 9048 pacientes que eram acompanhados em um centro, avaliou o percentual de ancestralidade genômica africana desses pacientes e correlacionou com a TFG estimada pela fórmula do CKD-EPI (Udler *et al.*, 2015). Nesses pacientes, o aumento da ancestralidade africana estava relacionado a uma diminuição da TFG. Porém, esse estudo não foi realizado em pacientes com DM1 e somente cerca de 16-32% dos pacientes em cada subgrupo apresentavam DM2.

Como existem poucos estudos avaliando ancestralidade genômica e a doença renal do diabetes, principalmente em pacientes com DM1, novos estudos são necessários para confirmar ou não a associação de diferentes grupos étnicos, como negros e asiáticos, a uma maior prevalência dessa complicação, principalmente em populações altamente miscigenadas como a população encontrada no Brasil.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Artigo 1: Serum uric acid and renal function in patients with type 1 diabetes: a nationwide study in Brazil (Artigo Publicado)

Pizarro *et al. Diabetol Metab Syndr* (2018) 10:22  
<https://doi.org/10.1186/s13098-018-0324-7>

Diabetology &  
 Metabolic Syndrome

RESEARCH

Open Access



## Serum uric acid and renal function in patients with type 1 diabetes: a nationwide study in Brazil

Marcela Haas Pizarro<sup>1\*</sup>, Deborah Conte Santos<sup>1</sup>, Bianca Senger Vasconcelos Barros<sup>1</sup>,  
 Laura Gomes Nunes de Melo<sup>2</sup> and Marilia Brito Gomes<sup>1</sup>

### Abstract

**Background:** Diabetes nephropathy is a microvascular complication associated with high morbidity and mortality in patients with type 1 diabetes, and its pathogenesis is not fully understood. Our aim was to evaluate the association between levels of serum uric acid and renal function assessed by glomerular filtration rate (GFR) and albuminuria in patients with type 1 diabetes.

**Methods:** This is a multicenter, cross-sectional, observational study with 1686 patients, conducted between August 2011 and August 2014 in 14 public clinics from ten Brazilian cities. Renal function was estimated by CKD-EPI (adults) and by Schwartz (adolescents).

**Results:** We analyzed 1686 patients, aged  $30.1 \pm 12.0$ , with  $15.4 \pm 9.3$  years of duration of diabetes; 55.8% were female and 54.0% were Caucasians. Serum uric acid was related to renal function, with a mean of  $4.8 \pm 1.4$  (in the normal renal function group) vs  $5.2 \pm 2.0$  (GFR  $\geq 60$  ml/min and albuminuria) vs  $6.5 \pm 2.6$  mg/dl (GFR  $< 60$  ml/min). In the pooled group, multivariate analysis showed an inverse correlation between serum uric acid and GFR ( $r = -0.316$ ,  $p < 0.001$ ) with a decrease of 4.11 ml/min in the GFR for every increase of 1 mg/dl in serum uric acid. Considering only patients with normal renal function ( $n = 1170$ ), a decrease of 2.04 ml/min in the GFR for every increase of 1 mg/dl in Serum uric acid was noted using multivariate analysis.

**Conclusions:** Patients with higher levels of serum uric acid have worse renal function, independently of HbA1c or duration of diabetes, which persisted even in patients with normal renal function. Further prospective studies are necessary to establish if patients with higher serum uric acid may have an elevated risk for developing chronic kidney disease.

**Keywords:** Type 1 diabetes, Serum uric acid, Glomerular filtration rate, Chronic renal disease, Albuminuria

### Background

Type 1 diabetes (T1D) is a chronic autoimmune disease which incidence is increasing worldwide [1]. Diabetes-related chronic complications resulting in elevated morbidity and mortality is still a concern in these patients

[2]. Even though diabetic nephropathy (DN) is one of the most prevalent of such complications, its pathogenesis is not fully understood. Diabetes is responsible for 30–50% of all chronic kidney disease (CKD) [2] and is the main cause of renal failure requiring renal replacement therapy worldwide. This leads to a significant burden to public health [3]. Additionally, in T1D, the presence or severity of end-stage kidney disease was the main determinant of excess mortality, mainly from cardiovascular disease, independently of the use of statins or inhibitors of the renin-angiotensin system [4].

\*Correspondence: marcelahpizarro@gmail.com

<sup>1</sup> Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article  
 Brazilian Type 1 Diabetes Study Group (BrazDiab1SG). Membership of the Brazilian Type 1 Diabetes Study Group is provided in the Acknowledgments section

The physiopathology of chronic microvascular complications of T1D is complex, involving the interaction between genetic susceptibility, metabolic, and environmental factors. Many risk factors have already been associated with the development and progression of diabetic nephropathy, such as elevated HbA1c, duration of diabetes, presence of concomitant microvascular complications (especially retinopathy [5]) and elevated albumin excretion rate [6]. However, despite the increase in the use of renoprotective treatment and a more aggressive treatment of hypertension and diabetes, the risk of end-stage renal disease did not change over the years in a population of Caucasians patients with T1D that attended the Joslin Clinic [7].

Recent studies reveal that high serum uric acid (SUA) could also be a risk factor for DN [8, 9]. Studies disagree on whether uric acid has oxidant or antioxidant properties. In vitro studies show that uric acid may have antioxidant properties. SUA works as a scavenger of free radicals, reacting with a series of oxidants, especially peroxynitrite [10]. Other studies, both in vitro and in vivo, suggest that high levels of SUA may promote endothelial dysfunction [11], hypertension, and metabolic syndrome by inducing oxidative stress [10]. In fact, there is evidence that the use of drugs that lower serum uric acid can revert these conditions [12, 13].

Due to mechanisms not yet fully understood, patients with T1D usually have lower levels of SUA compared with healthy individuals or patients with T2D [14, 15]. One possible cause is glycosuria, leading to uricosuria mediated by activation of glucose transporter 9 (GLUT 9) isoform 2 on the apical membrane of the proximal tubule [14]. However, high-normal levels of SUA in patients with T1D have been recently associated to higher prevalence of DN [8, 9]. Studies found an 80% elevation in the risk of developing albuminuria per 1 mg/dl increase in SUA concentration, even in high-normal ranges of SUA [16]. Higher levels of SUA were also associated with a reduced glomerular filtration rate (GFR) estimated by serum Cystatin C [17]. Another study showed that the use of allopurinol was associated with a reduction of SUA, systolic and diastolic blood pressure, and urinary albumin excretion rate in patients with T2D [18], supporting the association between elevated SUA and DN. Studies with the use of allopurinol are still being conducted in patients with T1D [19]. Since SUA is a potentially modifiable risk factor for DN, a complication associated with high morbimortality, further investigation is needed.

The goal of this study is to examine the association between levels of SUA and the presence of CKD, determined by the GFR and albuminuria, in patients with T1D in a multicenter, cross-sectional, observational study.

## Methods

This is a multicenter, cross-sectional, observational study performed by the Brazilian type 1 Diabetes Study Group (BrazDiab1SG) with 1760 patients with T1D, from 14 public clinics of the secondary and tertiary care levels located in ten cities among all geographical areas of Brazil. Data were collected between August 2011 and August 2014. The methods have been described previously [20].

Briefly, all patients received health care from the National Brazilian Health Care System. Each clinic provided data from at least 50 patients with T1D that attended the center. An endocrinologist followed all patients in secondary or tertiary centers. Inclusion criteria were: patients with 13 years of age or older, medical follow-up for at least 6 months at the respective center, patients with at least 5 years of diagnosis of T1D, and diagnosis of T1D by a physician. T1D was diagnosed based on the presence of classic clinical presentation at the moment of the diagnosis, such as polyuria, weight loss, polydipsia, and the need for continuous insulin use since the moment of the diagnosis. Exclusion criteria were: pregnancy or lactation at the moment of inclusion, history of renal transplant, and acute infection or ketoacidosis in the 3 months before the recruitment.

Patients between 13 and 19 years of age were classified as adolescents, and patients older than 19 years were considered adults, based on the American Diabetes Association (ADA) criteria [21].

The study was approved by the ethics committee of Pedro Ernesto University Hospital (State University of Rio de Janeiro) and by the local ethics committee of each center. All participants or their parents signed the informed consent form.

Patients with disease duration greater than or equal to 5 years were submitted to a screening of chronic complications related to T1D, such as screening for microvascular disease (retinopathy, nephropathy, and peripheral neuropathy).

The following variables were obtained using a questionnaire during a clinical visit: gender, current age (years), race, age at diagnosis of T1D, duration of diabetes (years), smoking status, consumption of alcohol, daily dose of insulin, use of other medications, and associated diseases.

The following clinical variables were evaluated: weight (kg), height (m), body mass index [BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )], systemic blood pressure, heart frequency, and abdominal circumference.

Fasting plasma glucose, levels of HbA1c, creatinine, urea, triglycerides, total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels measured during the last clinical visit were obtained from the patient's medical record. The levels of HbA1c and SUA were measured in a single center.



HbA1c was measured using high-performance liquid chromatography (HPLC, Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, USA). Fasting plasmatic glucose, HDL cholesterol, total cholesterol, triglycerides, and SUA were measured using enzymatic techniques. SUA was measured using an uricase-based commercial kit (BioSystem) with results expressed in milligrams per deciliter (mg/dl) and normal range between 3.5–7.2 mg/dl in men and 2.6–6.0 mg/dl in women. Friedewald's equation was used to calculate LDL cholesterol values [22]. Creatinine was measured using a colorimetric assay kit (Biosystems).

Albuminuria was measured from a morning urine sample. This procedure was repeated twice with a minimal interval of 1 week and maximal of 6 months between each collected sample. The dosage of urinary albumin was evaluated by immunoturbidimetry and the results were expressed as mean (mg/dl). Albuminuria was defined as albuminuria  $\geq 30$  mg/dl [2]. Samples with hematuria or urinary infection were excluded based on a urinalysis performed before the collection of urine for albuminuria. All patients were instructed to avoid physical exercise before the collection of the urine sample.

Renal function was estimated by the CKD-EPI equation [23] in adults and by the Schwartz formula in adolescents [24] and expressed as glomerular filtration rate (GFR) in milliliters per minute per  $1.73 \text{ m}^2$  (ml/min). Patients were divided according to levels of renal function into three groups for comparison purposes. Group 1 included patients with a  $\text{GFR} \geq 60$  ml/min with absence of albuminuria. Group 2 included patients with a  $\text{GFR} \geq 60$  ml/min and the presence of albuminuria. Finally, patients in group 3 had a  $\text{GFR} < 60$  ml/min with or without albuminuria.

#### Statistical analysis

Continuous variables are presented as the means  $\pm$  standard deviations (SD), and medians and interquartile range (IQR) that were also used to perform a boxplot graph. Frequencies and percentages were used to present categorical variables. Differences between categorical variables were assessed using Chi square and differences between independent continuous variables were assessed using Student's *t* tests or ANOVA with Sidak correction. A Pearson's correlation coefficient was calculated when applicable. A partial correlation was run to determine the relationship between SUA and GFR while controlling for mean albuminuria in the pooled group. All variables included in the multivariate analysis had a significant Pearson coefficient, except for economic status, smoking, and HDL cholesterol (data not shown). We performed a multivariate linear regression using Generalized Linear Models (GLM) to explore the association between SUA and renal function expressed in GFR as the dependent

variable. Adjustments were made for potential confounders, such as: HbA1c, BMI, gender, duration of diabetes, ethnicity, years of education, economic status, smoking, systolic and diastolic blood pressure, use of diuretics, statin or inhibitors of the renin-angiotensin system, LDL and HDL cholesterol, and mean albuminuria. The result was not adjusted for age because age is already included in the CKD-EPI equation. The tests were performed initially in all patients (pooled group) and then in a subgroup with normal renal function. All statistical analyses were performed with Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 24.0 for Mac. Confidence intervals (95%) were expressed when indicated. A two-sided *p* value less than 0.05 was considered significant.

## Results

### Participants' demographic and clinical characteristics according to levels of renal function

Among 1760 patients, we excluded 62 patients because data were not available, and twelve because they had a history of renal transplant. The study, therefore, included 1686 (96%) patients. Clinical characteristics of the patients included in the study are summarized in Table 1. Clinical and demographic data of the studied population stratified into levels of renal function are summarized in Table 2.

The duration of diabetes was longer and the diagnoses of hypertension and dyslipidemia were more prevalent in patients with albuminuria or lower renal function ( $p < 0.001$ ). The distribution of gender varied according to different levels of renal function, with the percentage of female patients increasing from 53.9 to 69% when comparing patients with normal renal function and  $\text{GFR} < 60$  ml/min, respectively ( $p < 0.001$ ).

### Serum uric acid and renal function in the pooled group

Higher SUA was observed in patients with  $\text{GFR} < 60$  ml/min in comparison to patients in other levels of renal function. A box plot graph (Fig. 1) illustrates the medians of SUA levels in groups, stratified by renal function. Median SUA was  $4.8 \pm 1.4$  mg/dl in the group with normal renal function,  $5.2 \pm 2.0$  mg/dl in patients with a  $\text{GFR} \geq 60$  ml/min and micro or macroalbuminuria, and  $6.5 \pm 2.6$  mg/dl in patients with  $\text{GFR} < 60$  ml/min ( $p < 0.001$ ). A negative correlation was observed between the levels of SUA and GFR ( $r = -0.316$ ,  $p < 0.001$ ). There was a negative partial correlation between SUA and GFR while controlling for mean albuminuria ( $-0.302$ ,  $p < 0.001$ ).

### Multivariate analysis in the pooled group

A multivariate regression analysis revealed that levels of SUA were negatively correlated with the GFR, even after

**Table 1 Clinical and demographic data of patients in the pooled group**

Variables	All patients
N	1686
Gender, n (% female)	942 (55.8)
Age, year	30.1 ± 12.0
Duration of diabetes, year	15.4 ± 9.3
Years of study	12.2 ± 3.8
Ethnicity, n (%)	
Caucasian	911 (54)
Non-caucasian	774 (46)
Economic status, n (%)	
High	52 (3.1)
Medium	764 (45.3)
Low	815 (48.3)
Very low	55 (3.3)
Geographic region, n (%)	
Southeast	787 (46.7)
South	223 (13.2)
North/Northeast	470 (27.9)
Mid-West	206 (12.2)
Diabetes management and glycemic control	
Insulin dose (units/kg/day)	0.8 ± 0.4
HbA1c (%)	9.0 ± 2.1
HbA1c (mmol/mol)	75 ± 23
Cardiovascular risk factors	
Cigarette smoking, n (%)	89 (5.3)
Hypertension, n (%)	294 (17.4)
Dyslipidemia, n (%)	359 (21.3)
Systolic blood pressure (mmHg)	121.6 ± 16.2
Diastolic blood pressure (mmHg)	75.0 ± 10.4
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	24.1 ± 4.1
Serum uric acid (mg/dl)	5.1 ± 1.9
Mean albuminuria (mg/dl)	59.3 ± 309.4
Waist circumference (cm)	82.7 (11.5)

y years, data are presented as number (percentage) or mean ± SD

adjustment for the confounding factors ( $p < 0.001$ ). Every 1 mg/dl increase in SUA was associated with a decrease of 4.11 ml/min in the GFR. The final adjusted model using Generalized Linear Models is described in Additional file 1: Table S1.

#### Serum uric acid in patients with normal renal function

These 1170 patients had very similar clinical and demographic characteristics when compared to the pooled population. No difference was noted in the HbA1c, with  $9.0 \pm 2.1\%$  ( $75 \pm 23$  mmol/mol) in the overall studied population and  $8.9 \pm 2.0\%$  ( $73.2 \pm 22.2$  mmol/mol) in the group with normal renal function. Patients with normal renal function had a lower prevalence of hypertension

(11.1% vs 17.4%) and dyslipidemia (17.4% vs 21.3%), and a lower SUA ( $4.8 \pm 1.4$  vs  $5.1 \pm 1.9$  mg/dl) when compared to patients in the pooled group. SUA had a negative correlation with the levels of renal function ( $r = -0.093$ ,  $p: 0.001$ ) in these patients with normal renal function.

#### Multivariate analysis in the group of patients with normal renal function

In patients with normal renal function, every 1 mg/dl increase in SUA was associated with a decrease in 2.04 ml/min in the GFR. This association persisted even when corrected by the confounding factors. The final adjusted model using Generalized Linear Models is described in Additional file 1: Table S2.

#### Discussion

Our cross-sectional study indicates that patients, from an admixed and multi-ethnic population, with worse renal function have higher levels of SUA, independent of HbA1c, duration of diabetes and other demographic and clinical variables. Patients with normal GFR ( $\text{GFR} \geq 60$  ml/min) and the presence of albuminuria have a higher SUA when compared to those with absence of albuminuria. The partial correlation used to determine the relationship between SUA and GFR while controlling for mean albuminuria showed that albuminuria had very little influence in the relationship between SUA and GFR. This association of SUA and GFR persists even in patients with normal renal function without albuminuria, suggesting that patients with an elevated SUA may have a higher chance of developing CKD.

The causality relationship between SUA and DN is still controversial. Some studies have already confirmed the association between high-normal SUA and the development or progression of DN. A study conducted with adolescents with T1D showed that a higher SUA was correlated with a lower GFR, even when corrected for gender, HbA1c, duration of diabetes, and other confounding factors [25]. This is relevant because adolescents had lower levels of SUA when compared to healthy control subjects [25] and generally don't have other comorbidities such as hypertension or dyslipidemia that are also related to the development of diabetic nephropathy. In our study, the majority of patients were adults. As expected, we found a higher prevalence of comorbidities such as hypertension and dyslipidemia. However, similar results concerning the relationship between SUA and GFR were observed despite correction for these and other confounding factors.

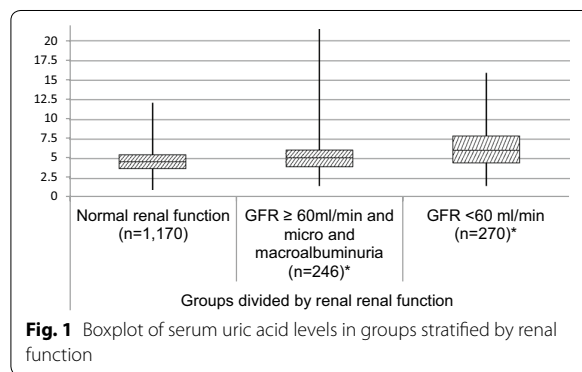
A study conducted with 355 patients with T1D, with 6 years of follow-up, revealed that for each 1 mg/dl increase in serum uric acid, there was a 40% increase in the risk of developing early GFR loss. They defined

**Table 2 Characteristics of patients with type 1 diabetes according to groups of renal function**

Variables	Groups			p value
	Normal renal function	GFR $\geq$ 60 ml/min and albuminuria	GFR < 60 ml/min	
<b>n = 1686</b>	<b>1170</b>	<b>246</b>	<b>270</b>	
Age, (year)	28.7 $\pm$ 11.7	28.1 $\pm$ 10.0	37.9 $\pm$ 11.7*	p < 0.001
Gender, (% female)	631 (53.9)	125 (50.8)	186 (68.8)*	p < 0.001
Duration of diabetes, (year)	14.1 $\pm$ 9.1	15.2 $\pm$ 7.5	20.8 $\pm$ 9.8*	p < 0.001
Years of study, (year)	12.3 $\pm$ 3.9	11.9 $\pm$ 3.5	11.8 $\pm$ 3.8	p = 0.086
Insulin dose, (units/kg/day)	0.86 $\pm$ 0.36	0.94 $\pm$ 0.46*	0.79 $\pm$ 0.36*	p < 0.001
Cigarette smoking, (%)	58 (5.0)	15 (6.1)	16 (5.9)	p = 0.233
Hypertension, (%)	130 (11.1)	45 (18.3)*	119 (44)*	p < 0.001
Dyslipidemia, (%)	203 (17.4)	51 (20.8)	105 (39)*	p < 0.001
Systolic blood pressure (mmhg)	119.1 $\pm$ 14.1	124.2 $\pm$ 16.1*	129.5 $\pm$ 20.7*	p < 0.001
Diastolic blood pressure (mmhg)	73.3 $\pm$ 9.4	78.1 $\pm$ 10.6*	79.6 $\pm$ 12.3*	p < 0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.0 $\pm$ 4.0	24.1 $\pm$ 4.0	24.9 $\pm$ 4.3	p = 0.005
HbA1c (%)	8.9 $\pm$ 2.0	9.9 $\pm$ 2.5*	8.9 $\pm$ 2.0	p < 0.001
HbA1c (mmol/mol)	73.2 $\pm$ 22.2	84.8 $\pm$ 27.2*	73.5 $\pm$ 21.3	p < 0.001
Serum uric acid (mg/dl)	4.8 $\pm$ 1.4	5.2 $\pm$ 2.0*	6.5 $\pm$ 2.6*	p < 0.001

GFR Glomerular filtration rate (ml/min), SD standard deviation, y years, data are presented as number (percentage), mean  $\pm$  SD. ANOVA was used for continuous variables and Chi square test for categorical variables

\* p < 0.05 vs Normal Renal function group



progressive renal decline as a loss higher than 3.5 ml/min/year of estimated GFR measured by cystatin. There was a linear increase in this risk of early GFR loss across the normal range of SUA levels [9]. Our study showed similar results, even considering that it is a cross-sectional study. There was a decrease of 4.11 ml/min with every increase in 1 mg/dl in SUA, and even patients with normal renal function had a decrease in the GFR with an elevation of SUA. However a recent FINISH cohort study with a follow-up of 3895 patients during 7 years have suggested that serum uric acid was not causally related to diabetic nephropathy but instead, appears to be a downstream marker of kidney damage [26].

Studies show conflicting results as to whether uric acid is a biomarker of renal dysfunction or if it has an etiologic role in the progression of CKD. For instance, patients with CKD that were randomized to receive treatment with allopurinol 100 mg/day had a slower progression of renal disease in comparison with the control group, independently of age, gender, and albuminuria. They also had lower risk of cardiovascular events [27]. Another study showed that hyperuricemic rats had a worse renal function, a higher prevalence of proteinuria, hypertension, and thickening of preglomerular vessels, mediated by the activation of the renin angiotensin system by uric acid. This system could be responsible for an increased glomerular and systemic pressure and also for a direct fibrogenic effect on renal and vascular cells [28]. These effects can be attenuated with the use of their inhibitors [29]. However, in our study, SUA was correlated with a worse GFR, despite the use of inhibitors of the renin angiotensin system, suggesting that other mechanisms could be involved in the renal dysfunction associated with a high SUA. Another possible mechanism could be an impaired nitric oxide production, associated with endothelial dysfunction. Previous data from our group showed similar results, with SUA, even in the upper limit of normality, functioning as a strong predictor of impaired microvascular endothelial function in patients with T1D [30].

A particular strength of our study is the population-based ascertainment of diabetes cases in a large sample of Brazilian patients with T1D, from a wide range of ethnic

groups, from all geographic regions of the country. All participating centers followed a uniform and standardized protocol. Similar to other population-based studies, we used a clinical definition of T1D assigned by health-care providers that was applicable to all patients.

We found that patients with a normal GFR but with the presence albuminuria had a higher SUA when compared to those with normal renal function. However, the difference between the two groups was modest and should be interpreted with caution.

Our study has some limitations. First, it was a cross-sectional study so we cannot establish causality between levels of SUA and CKD. We cannot determine if elevated SUA is only a biomarker of the decline of renal function or is also a risk factor for CKD. SUA is eliminated mainly by the kidneys, so it increases as a result of the decline in the GFR. However, the rise in SUA in CKD is generally mild because of enhanced uric acid enteric excretion and a decrease in its production, by reduced xanthine oxidase activity [31]. In the subgroup of patients with normal renal function, without albuminuria, we still found an independent relationship between higher levels of SUA and GFR. This suggests that the elevation of SUA cannot be entirely attributed to the decrease of uric acid filtration rate that accompanies the worsening of renal function. Second, we only included patients that were followed in secondary and tertiary centers, so patients treated in primary clinics were excluded. This probably had little impact in our study since the majority of patients with T1D are followed in secondary and tertiary centers in Brazil. Third, we used the measurement of albumin concentration from a morning sample of urine instead of measurement in urine collected in 24 h. However, studies show that the urinary albumin concentration in a random spot urine is a reliable predictor of diabetic nephropathy and cardiovascular events [32]. Finally, we evaluated albuminuria with a spot urine sample measuring albumin alone, without simultaneously measuring urine creatinine, consequently elevating the risk of false-negative and false-positive results. We decided to measure only the albumin concentration because it is less expensive considering the large sample group analyzed in this study and because it has already been described as a reliable measure in previous studies [32].

## Conclusions

To our knowledge, this is the first study to establish the association between levels of SUA and renal function in patients with T1D in Brazil. We found an association between a decrease in GFR and higher levels of SUA, even when patients had a normal renal function, independently of other confounding factors such as HbA1c, gender, and duration of diabetes. Further prospective

studies are necessary to establish if patients with a higher SUA may have an elevated risk for developing CKD. Ongoing randomized, controlled trials with drugs that lower SUA in T1D will establish the relationship between SUA and renal function.

## Additional file

**Additional file 1: Table S1.** Adjusted regression model for GFR in the pooled group (n=1686). **Table S2.** Adjusted regression model for GFR in patients with normal renal function (n=1170).

## Authors' contributions

All authors have made substantial contributions to conception and design, analysis and interpretation of data. MP performed the statistical analyses, interpreted the data and drafted the manuscript. DC, BB, LM, and MG made substantial contributions to the discussion, assisted with the data analysis and revised the manuscript critically before submission. All authors read and approved the final manuscript.

## Author details

<sup>1</sup> Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. <sup>2</sup> Department of Ophthalmology, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

## Acknowledgements

Marília Brito Gomes (chair), Carlos Antonio Negrato—Brazilian Type 1 Diabetes Study Group BrazDiab1SG Executive steering committee; Marília Brito Gomes\* (mariliabgomes@gmail.com)—Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, State University of Rio de Janeiro, Brazil; Roberta Cobas (robertacobas@gmail.com), Lucianne Righeti Monteiro Tannus (luciannetannus@ig.com.br)—Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, State University of Rio de Janeiro, Brazil; Melanie Rodacki\*, M.D. (mrodacki2001@yahoo.com.br), Lenita Zajdenverg, M.D. (lenitazaj@gmail.com), Joana Rodrigues Dantas, M.D. (joanardantasp@ig.com.br)—Federal University Hospital of Rio de Janeiro; Maria Lúcia Cardillo Corrêa-Giannella\*, M.D. (malugia@lim25fm.usp.br), Sharon Nina Admoni, M.D. (sharonadmoni@gmail.com), Daniele Pereira dos Santos, M.D. (dps.daniele@hotmail.com)—Diabetes Unit, University Hospital of São Paulo, São Paulo; Carlos Antonio Negrato\*, M.D. (carlosnegrato@uol.com.br), Maria de Fatima Guedes, M.D. (tatiguedeses@hotmail.com)—Bauru's Diabetics Association, Bauru, São Paulo; Sergio Atala Dib\*, M.D. (sergio.dib@unifesp.br), Celso Ferreira de Camargo Sallum Filho, M.D. (celsosallum@superig.com.br)—Diabetes Unit, Federal University of São Paulo State, São Paulo; Elisabeth João Pavin\*, M.D. (ejpavin@fcm.unicamp.br), Caroline Takano, M.D. (caroline.takano@gmail.com)—Diabetes Unit, University of Campinas, São Paulo; Rosângela Roginski Rea\*, M.D. (rosangelarea@uol.com.br), Nicole Balster Romanzini, M.D. (nikbr@hotmail.com)—Clinical Hospital of the Federal University of Paraná; Mirela Azevedo\*, M.D. (mirelajobimizevedo@gmail.com), Luis Henrique Canani, M.D. (luishenriquecanani@gmail.com)—Clinical Hospital of Porto Alegre, Rio Grande do Sul; Hermelinda Cordeiro Pedrosa\*, M.D. (pedrosa.hc@globo.com), Monica Tolentino (monicatolentino@uol.com.br), Cejana Hamu Aguiar, M.D.—Regional Hospital of Taguatinga, Brasília; Reine Marie Chaves Fonseca\*, M.D. (reinemar@terra.com.br), Ludmila Chaves Fonseca M.D., Raffaele Kasprovicz, M.D. (raffaellebarros@hotmail.com)—Diabetes and Endocrinology Center of Bahia; Adriana Costa e Forti\*, M.D. (adrianaforti@uol.com.br), Angela Delmira Nunes Mendes, M.D. (angeladelmira@terra.com.br)—Diabetes and Hypertension Center of Ceará; Renan Montenegro Junior\*, M.D. (renanjr@ufc.br), Virginia Oliveira Fernandes, M.D. (virginiafernande@hotmail.com)—Federal University of Ceará; João Soares Felício\*, M.D. (felicio.bel@terra.com.br), Flavia Marques Santos, M.D. (drafms@bol.com.br)—Federal University Hospital of Pará.

Principal investigators are indicated by an asterisk.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

#### Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

#### Consent for publication

Not applicable.

#### Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the ethics committee of Pedro Ernesto University Hospital (State University of Rio de Janeiro) and by the local ethics committee of each center. All participants or their parents signed the informed consent form.

#### Funding

This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil and Fundação do Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro.

#### Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Received: 17 January 2018 Accepted: 13 March 2018

Published online: 20 March 2018

#### References

- Atlas IDF: International Diabetes Federation, Brussels, 2015; 2015.
- Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic kidney disease. *Lancet*. 2017;389(10075):1238–52.
- McBrien KA, Manns BJ, Chui B, Klarenbach SW, Rabi D, Ravani P, Hemmelgarn B, Wiebe N, Au F, Clement F. Health care costs in people with diabetes and their association with glycemic control and kidney function. *Diabetes Care*. 2013;36:1172–80.
- Groop PH, Thomas MC, Moran JL, Wadèn J, Thorn LM, Mäkinen VP, Rosengård-Bärlund M, Saraheimo M, Hietala K, Heikkilä O, et al. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2009;58:1651–8.
- Klein R, Zinman B, Gardiner R, Suissa S, Donnelly SM, Sinaiko AR, Kramer MS, Goodyer P, Moss SE, Strand T, et al. The relationship of diabetic retinopathy to preclinical diabetic glomerulopathy lesions in type 1 diabetic patients: the Renin-Angiotensin System Study. *Diabetes*. 2005;54:527–33.
- Radcliffe NJ, Seah JM, Clarke M, MacIsaac RJ, Jerums G, Ekinci EI. Clinical predictive factors in diabetic kidney disease progression. *J Diabetes Investig*. 2017;8(1):6–18.
- Rosolowsky ET, Skupien J, Smiles AM, Niewczas M, Roshan B, Stanton R, Eckfeldt JH, Warram JH, Krolewski AS. Risk for ESRD in type 1 diabetes remains high despite renoprotection. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22:545–53.
- Hovind P, Rossing P, Tarnow L, Johnson RJ, Parving HH. Serum uric acid as a predictor for development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: an inception cohort study. *Diabetes*. 2009;58:1668–71.
- Ficociello LH, Rosolowsky ET, Niewczas MA, Maselli NJ, Weinberg JM, Aschengrau A, Eckfeldt JH, Stanton RC, Galecki AT, Doria A, et al. High-normal serum uric acid increases risk of early progressive renal function loss in type 1 diabetes: results of a 6-year follow-up. *Diabetes Care*. 2010;33:1337–43.
- Nakagawa T, Kang DH, Feig D, Sanchez-Lozada LG, Srinivas TR, Sautin Y, Ejaz AA, Segal M, Johnson RJ. Unearthing uric acid: an ancient factor with recently found significance in renal and cardiovascular disease. *Kidney Int*. 2006;69:1722–5.
- Sautin YY, Johnson RJ. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2008;27:608–19.
- Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Soto V, Avila-Casado C, Franco M, Zhao L, Johnson RJ. Treatment with the xanthine oxidase inhibitor febuxostat lowers uric acid and alleviates systemic and glomerular hypertension in experimental hyperuricaemia. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23:1179–85.
- Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig D, Block ER, Herrera-Acosta J, et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;290:F625–31.
- Lytvyn Y, Škrtić M, Yang GK, Yip PM, Perkins BA, Cherney DZ. Glycosuria-mediated urinary uric acid excretion in patients with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2015;308:F77–83.
- Golembiewska E, Ciechanowski K, Safranow K, Kedzierska K, Kabat-Koperska J. Renal handling of uric acid in patients with type 1 diabetes in relation to glycemic control. *Arch Med Res*. 2005;36:32–5.
- Bjornstad P, Maahs DM, Rivard CJ, Pyle L, Rewers M, Johnson RJ, Snell-Bergeon JK. Serum uric acid predicts vascular complications in adults with type 1 diabetes: the coronary artery calcification in type 1 diabetes study. *Acta Diabetol*. 2014;51:783–91.
- Rosolowsky ET, Ficociello LH, Maselli NJ, Niewczas MA, Binns AL, Roshan B, Warram JH, Krolewski AS. High-normal serum uric acid is associated with impaired glomerular filtration rate in nonproteinuric patients with type 1 diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3:706–13.
- Liu P, Chen Y, Wang B, Zhang F, Wang D, Wang Y. Allopurinol treatment improves renal function in patients with type 2 diabetes and asymptomatic hyperuricemia: 3-year randomized parallel-controlled study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;83:475–82.
- Maahs DM, Caramori L, Cherney DZ, Galecki AT, Gao C, Jalal D, Perkins BA, Pop-Busui R, Rossing P, Mauer M, et al. Uric acid lowering to prevent kidney function loss in diabetes: the preventing early renal function loss (PERL) allopurinol study. *Curr Diab Rep*. 2013;13:550–9.
- Gomes MB, Negrato CA. Adherence to insulin therapeutic regimens in patients with type 1 diabetes. A nationwide survey in Brazil. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;120:47–55.
- American Diabetes Association. Standards of medical care 2015. *Diabetes Care*. 2015;38(Suppl. 1):S41–8.
- Friedewald WTLR, Fredrickson DS. Estimations of serum low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499–502.
- Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150:604–12.
- Schwartz GJ, Work DF. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4:1832–43.
- Lytvyn Y, Mahmud FH, Daneman D, Deda L, Dunger DB, Deanfield J, Dalton RN, Elia Y, Har R, Bradley TJ, et al. Association between plasma uric acid levels and cardiorenal function in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39:611–6.
- Ahola AJ, Sandholm N, Forsblom C, Harjutsalo V, Dahlström E, Groop PH, FinnDiane Study G. The serum uric acid concentration is not causally linked to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Kidney Int*. 2017;91:1178–85.
- Goicoechea M, de Vinuesa SG, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincón A, Arroyo D, Luño J. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:1388–93.
- Kang DH, Nakagawa T, Feng L, Watanabe S, Han L, Mazzali M, Truong L, Harris R, Johnson RJ. A role for uric acid in the progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:2888–97.
- Menè P, Punzo G. Uric acid: bystander or culprit in hypertension and progressive renal disease? *J Hypertens*. 2008;26:2085–92.
- Matheus AS, Tibiriçá E, da Silva PB, de Fátima Beviláqua da Matta M, Gomes MB. uric acid levels are associated with microvascular endothelial dysfunction in patients with Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2011;28:1188–93.
- Bjornstad P, Lanasa MA, Ishimoto T, Kosugi T, Kume S, Jalal D, Maahs DM, Snell-Bergeon JK, Johnson RJ, Nakagawa T. Fructose and uric acid in diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2015;58:1993–2002.
- Viana LV, Gross JL, Camargo JL, Zelmanovitz T, da Costa Rocha EP, Azevedo MJ. Prediction of cardiovascular events, diabetic nephropathy, and mortality by albumin concentration in a spot urine sample in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Complicat*. 2012;26:407–12.



### 3.2. Artigo 2 :Influence of genomic ancestry and self-reported color-race in CKD in a nationwide admixed sample of Brazilian patients with type 1 diabetes (artigo publicado)

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Dovepress




open access to scientific and medical research

 Open Access Full Text Article

ORIGINAL RESEARCH

# Influence of genomic ancestry and self-reported color-race in CKD in a nationwide admixed sample of Brazilian patients with type I diabetes

This article was published in the following Dove Press journal:  
*Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*

Marcela Haas Pizarro <sup>1</sup>  
Deborah Conte Santos<sup>1</sup>  
Laura Gomes Nunes Melo<sup>2</sup>  
Bianca Senger Vasconcelos Barros<sup>1</sup>  
Luiza Harcar Muniz<sup>1</sup>  
Luís Cristóvão Porto <sup>3</sup>  
Dayse Aparecida Silva <sup>4</sup>  
Marília Brito Gomes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>3</sup>Histocompatibility and Cryopreservation Laboratory (HLA), Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>4</sup>DNA Diagnostic Laboratory (LDD), Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

**Aims:** Patients with diabetes that are African-Americans or Asians have a higher chance of developing diabetic nephropathy than Caucasian. Our objective was to evaluate the association between self-reported color-race, genomic ancestry, and the presence of chronic kidney disease (CKD), assessed by glomerular filtration rate and albuminuria in patients with type 1 diabetes.

**Methods:** This is a multicenter, observational, cross-sectional study with 1564 patients, conducted between August 2011 and August 2014 in 14 public clinics from 10 Brazilian cities. The ethnic aspects of the patients were evaluated using self-reported color-race and genomic ancestry (divided in European, African, and Amerindian). We divided the patients into groups: normal renal function and CKD.

**Results:** More patients self-declared themselves as black and brown in the group with CKD. The multivariate logistic analysis revealed that self-reported color-race was not associated with CKD and that a higher African ancestry was also not associated with CKD ( $p=0.06$ ). Patients with an African ancestry of 50% or higher had an association with CKD that did not persist after the multivariate analysis.

**Conclusion:** In our patients, from an admixed, multi-ethnic population, we did not find an association between self-reported color-race, genomic ancestry and CKD. It is important to note that despite the fact that we did not find a significant  $p$ -value in the multivariate analysis concerning African ancestry and CKD, we found a narrow confidence interval (0.961–3.98) with an OR of 1.956. Further studies should be conducted to confirm the lack of association between African ancestry and CKD, especially from populations with higher African or Amerindian ancestries to better understand the association between self-reported color-race and genomic ancestry with CKD.

**Keywords:** Self-reported color-race, genomic ancestry, Chronic kidney disease, Ethnicity

## Plain language summary

Our study was conducted with people that have type 1 diabetes, that is a type of diabetes that is diagnosed generally in children and adolescents and that is always treated with insulin. Patients that have diabetes have a risk of developing a chronic complication that affects the kidney function. We already know some of the risk factors that cause a higher risk of developing this complication, such as high blood pressure and high glucose levels. Some studies show that patients that are Black or Asians have a higher chance of developing this complication, but there are few studies that investigate this relationship with genetic testing to calculate the percentage of our ancestry. Our study tested the relationship between African ancestry (the amount of our ancestry that is from African heritage) and the kidney complication. We did not

Correspondence: Marcela Haas Pizarro  
Department of Internal Medicine,  
Diabetes Unit, Rio de Janeiro State  
University (UERJ), Boulevard 28 de  
Setembro, 77- 3º andar - Vila Isabel, Rio  
de Janeiro, RJ 20551-030, Brazil  
Tel +55 212 868 8224  
Email marcelahpizarro@gmail.com

find a clear association between having a higher African ancestry and a lower kidney function. More studies are necessary to study this association in a highly admixed population such as the one in Brazil, where the study was done.

## Introduction

Diabetic nephropathy is one of the most common microvascular complications that occur in patients with type 1 diabetes (T1D). Currently, 40% of the patients with chronic kidney disease (CKD) have diabetes in the USA.<sup>1</sup> CKD is associated with an elevated morbi-mortality, high cardiovascular risk, and an excessive burden to the health care system.<sup>2</sup> Patients with CKD have more than double the mortality rate when compared with patients without CKD, even when corrected for gender, age and different ethnicities.<sup>1</sup> This excessive mortality is especially related to cardiovascular disease.

Despite the fact that diabetes is the main cause of CKD worldwide,<sup>3</sup> the physiopathology of diabetic nephropathy is still not fully understood. It seems to result from the interaction between several genetic and environmental factors. Known risk factors for the development and progression of diabetic nephropathy include high HbA1c, the presence of other microvascular complications,<sup>4</sup> the duration of diabetes, and the presence of hypertension.<sup>5</sup>

Diabetic patients that are African-Americans, Hispanics, and Asians, have a higher chance of developing diabetic nephropathy when compared with Caucasians.<sup>6-8</sup> This fact cannot be completely explained by social economic differences, differences in the prevalence of diabetes, or in their glycemic control. Genetic factors can account for a higher prevalence of diabetic nephropathy in these groups, as studies indicate the presence of diabetic nephropathy susceptibility genes in these patients.<sup>9</sup> Most of these studies use self-reported color-race to study different ethnicities and the association to CKD. However, it is important to note that the majority of these studies were performed in homogenous populations, and not in a highly admixed population, such as the Brazilian population.

The Brazilian population is formed by three main ancestral contributions: Europeans (EUR), Africans (AFR) and Native Amerindians (NAM). Originally, Brazil was occupied by Native Amerindians and was colonized by Europeans, especially the Portuguese. The Portuguese-Amerindian admixture started soon after their arrival. After that, in the 16th century, Africans were brought in great numbers as slaves. The Brazilian population is heterogeneous as a result of five centuries of interethnic miscegenation among these

three groups.<sup>10</sup> The Brazilian census uses self-reported color-race and separates them into five categories: White, Black, Brown (*parda*), Asian (*amarelo*) and Indigenous (*indígena*).<sup>11</sup>

However, studies show that there is a poor correlation between self-reported color-race and genomic ancestry in the Brazilian population and in patients with T1D in Brazil.<sup>12,13</sup> The study of genomic ancestry (GA), with methods such as autosomal Ancestry Informative Markers (AIMs), can be used to better stratify these patients from a highly admixed population, providing a lower risk of misclassification. A more precise stratification has a better chance of identifying groups that have a higher risk for developing CKD.

So far, there are few studies about CKD and ethnicity in patients with T1D in highly admixed populations such as the one encountered in Brazil. Our study aimed to evaluate the association between GA, self-reported color-race, and CKD in patients with T1D in Brazil.

## Materials and methods

This is a cross-sectional, observational, multicenter study performed by the Brazilian type 1 Diabetes Study Group (BrazDiab1SG). Initially, 1760 patients with T1D were included. Data were collected between August 2011 and August 2014. The patients were from all geographical areas of Brazil, from 14 public clinics of the secondary and tertiary care levels located in ten cities. The methods have been described previously.<sup>14</sup>

Briefly, all patients received health care from the National Brazilian Health Care System. All patients were followed by an Endocrinologist in secondary and tertiary centers. Patients that were included had at least 13 years of age, medical follow-up of six months or more at the respective center, at least five years of diagnosis of T1D, and diagnosis of T1D by a physician based on the presence of classic clinical presentation at the moment of the diagnosis. Patients that were pregnant or lactating at the moment of inclusion, had an acute infection or ketoacidosis in the three months before the recruitment, or had a history of renal transplant were excluded from the study. Patients between 13 and 19 years of age were classified as adolescents, and patients older than 19 years were considered adults, based on the American Diabetes Association criteria.<sup>15</sup>

The following variables were obtained using a questionnaire during a clinical visit: gender, current age (years), duration of diabetes (years), associated diseases, self-reported color-race, and other variables of interest.

The following clinical variables were evaluated: weight (kg), height (cm), body mass index BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), systemic blood pressure, and abdominal circumference.

Socioeconomic status was defined according to the Brazilian economic classification criteria and was divided in high, middle, low, and very low socioeconomic status. This classification takes in consideration the household income, possession of certain home appliances, and the level of educational status.<sup>16</sup>

The study was approved by the ethics committee of Pedro Ernesto University Hospital (State University of Rio de Janeiro), and by the local ethics committee of each center. All participants or their parents signed the informed consent form.

HbA1c was measured in a single center, using high-performance liquid chromatography (HPLC, Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, USA). Serum creatinine, urea, urinary albumin concentration, serum uric acid were also measured in a single center.

### Evaluation of renal function

Creatinine was measured using a colorimetric assay kit (Biosystems). Renal function was estimated by the CKD-EPI equation<sup>17</sup> in adults and by the Schwartz formula in adolescents<sup>18</sup> and was expressed as glomerular filtration rate (GFR) in milliliters per minute per  $1.73 \text{ m}^2$  ( $\text{mL}/\text{min}$ ). We considered all patients as non-African-American in the CKD-EPI equation, since our patients had a low percentage of AFR ancestry, even the ones that self-reported as Blacks. Albuminuria concentration was measured from a morning urine sample. Patients were instructed to avoid physical exercise before collecting the urine sample, and samples with urinary infection or hematuria were excluded. This procedure was repeated twice with a minimal interval of one week and maximal of six months between each sample. The dosage of urinary albumin was evaluated by immunoturbidimetry. The presence of albuminuria was defined as albuminuria  $\geq 30 \text{ mg}/\text{dl}$ . The dosage of albuminuria was only considered if patients collected at least two urine samples and the mean of the samples was calculated to classify the patients as having albuminuria or not.

Patients were divided into two groups: Normal renal function and CKD. Patients with normal renal function had a GFR  $\geq 60 \text{ mL}/\text{min}$  and the absence of albuminuria. CKD was defined as a GFR  $< 60 \text{ mL}/\text{min}$  and/or the presence of albuminuria.<sup>19</sup>

### DNA extraction and AIM-Indel genotyping

We used the commercial kit SP QIA symphony by automation with QIA symphony equipment, following manufacturer's instructions (Qiagen, USA) to extract Genomic DNA from peripheral blood. The global and individual GA were inferred using a panel of 46 AIM-INDEL, with a protocol described by Pereira et al.<sup>20</sup> Genotyping was done by multiplex PCR followed by capillary electrophoresis with the ABI 3500 sequencer. The software Gene Mapper V.4.1 (Life Technologies, USA) was used for Allele naming. We used the Structure V.2.3.3 software to estimate ancestry and the HGDP-CEHP diversity panel (Sub-Set H952) as reference data of ancestral populations. Genotyping was carried out independently by two analysts using GeneMapper Analysis Software v.4.1 (Applied Biosystems) and results were compared for consistency. GA was expressed as percentages, with the sum of EUR, AFR and NAM equaling 100%.

### Statistical analysis

Continuous variables are presented as the medians [Interquartile range (IQR)] and frequencies and percentages were used to present categorical variables. Differences between categorical variables were assessed using chi-squared and between independent continuous variables were assessed using Mann-Whitney U test.

We performed a binomial logistic regression using Generalized Linear Models (GLM) to explore the association between self-reported color-race and renal function as the dependent variable. Renal function was divided into normal renal function and CKD. We repeated a binary logistic regression using GLM to explore the association between genomic ancestry and renal function. We included only the AFR ancestry as a continuous variable to study GA. A third analysis was performed dividing the patients into two groups: the first with an AFR ancestry of 50% or higher and the second with less than 50% of AFR ancestry. A binomial logistic regression using GLM was also performed.

Adjustments were made for potential confounders, such as: HbA1c, hypertension, dyslipidemia, gender, duration of diabetes, BMI, years of education, and economic status. These variables were included in all multivariate analyses and were selected since they were significant in the exploratory analysis. Estimates of individual and global ancestry were performed with the Structure software v2.3.3.<sup>21</sup> Structure ran with 100,000 burning steps followed by 100,000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC)



interactions using the “Admixture MODEL” default correlating allele frequencies and the number of populations ( $K = 3$ ), designated as EUR, AFR and NAM. All statistical analyses were performed with Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 24.0. Confidence intervals (95%) were expressed when indicated. A two-sided  $p$ -value less than 0.05 was considered significant.

## Results

### Participants’ demographic and clinical characteristics according to levels of renal function

Among 1760 patients, we excluded 184 that had less than 5 years of diabetes, had a history of receiving a renal transplant or lacked data on GA or renal function. The study, therefore, included 1564 (89%) patients. Clinical and demographic data of the studied population stratified into levels of renal function are summarized in [Table 1](#).

The median EUR ancestry in our sample was 68.0 [30.9], AFR was 16.3 [23.1] and NAM was 10.2 [15.9]. [Figure 1](#) shows the global admixture distribution per individual considering the proportion of EUR, AFR and NAM ancestries and dividing the patients into normal renal function group and CKD group.

CKD was encountered in 417 (26.7%) of the patients in our study. Patients with CKD had a higher prevalence of hypertension and dyslipidemia and had a longer duration of diabetes ( $p < 0.001$ ).

More patients self-declared themselves as Black (11.3% vs 6.6%) and Brown (36.7% vs 35.1%) in the CKD group than in the normal renal function group ( $p < 0.001$ ). The percentage of EUR, AFR and NAM ancestries did not differ between the two groups.

### Multivariate analysis concerning self-reported color-race

When we analyzed self-reported color-race and the groups of renal function using a binary logistic regression, self-reported color-race was not associated with CKD ( $p = 0.486$ ). A multivariate logistic regression was used to correct this possible association for social factors and comorbidities. This second analysis revealed that self-reported color-race was still not associated with CKD, even when corrected by the confounding factors as shown in [Table 2](#). The variables that had a significant association with the presence of CKD were: the duration of diabetes, female gender, HbA1c, a lower economic

status, and the presence of hypertension. The final adjusted data are described in [Table 2](#).

### Multivariate analysis concerning genomic ancestry

The binary logistic regression used to evaluate the relationship between African GA and renal function showed a significant association between a higher African ancestry and CKD, with an OR of 2.387 (1.247–4.572),  $p = 0.009$ . However, a multivariate logistic regression between African GA and CKD, after the adjustment for confounding factors, such as HbA1c, hypertension, and social economic aspects, did not confirm this association ( $p = 0.064$ ). The final adjusted data are described in [Table 3](#).

### Multivariate analysis concerning two groups of AFR ancestry

Only 96 patients in our study had a percentage of AFR ancestry higher or equal to 50%. We compared them with the 1468 patients that had a percentage of AFR ancestry  $< 50\%$ . When we analyzed the group with AFR ancestry  $\geq 50\%$  in a binary logistic regression, there was an association between higher percentages of AFR ancestry and the presence of CKD (OR: 1.7,  $p = 0.014$ ). However, a multivariate logistic regression between African genomic ancestry groups and CKD, after the adjustment for confounding factors, was not significant ( $p = 0.213$ ). The final adjusted data are described in [Table 4](#).

## Discussion

Our study indicates that in our patients with T1D, from an admixed, multi-ethnic population, self-reported color-race and a higher AFR GA were not associated with CKD after adjustments. There was also an association between patients with AFR ancestry  $\geq 50\%$  and CKD, which did not persist after the correction for the confounding factors, possibly due to the small number of patients with an AFR ancestry  $\geq 50\%$ .

It is important to note that despite the fact that we did not find a significant  $p$ -value in the multivariate analysis concerning AFR GA and CKD, we found a narrow confidence interval (0.961–3.98) with an OR of 1.956. This suggests that further studies should be conducted to confirm the lack of association between AFR ancestry and CKD, especially in admixed populations, such as the one encountered in Brazil.

It is important to identify groups that have a higher risk of developing chronic complications, especially diabetic nephropathy, so we can intensify the treatment of diabetes and of other risk factors associated with the development and progression of diabetic nephropathy

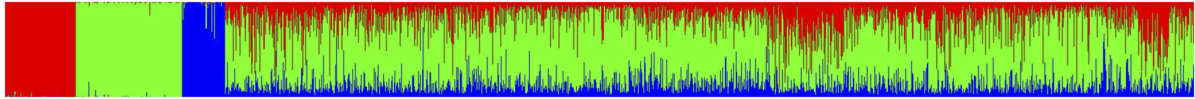
**Table 1** Characteristics of patients with type 1 diabetes according to groups of renal function

Variables	Normal renal function	CKD*	p-value
n=1,564	1,147	417	
Age, (y)	27.0 [17.0]	33.0 [18.0]	<0.001
Gender, (% female)	625 (54.5)	260 (62.4)	0.006
Duration of diabetes, (y)	13.0 [11.0]	18.0 [13.0]	<0.001
Years of study, (y)	12.0 [3.0]	12 [4.0]	0.019
<b>Geographic Region, n (%)</b>			0.121
Southeast	540 (47)	215 (51.6)	
South	137 (11.9)	58 (13.9)	
North/Northeast	330 (28.8)	105 (25.2)	
Mid-West	140 (12.2)	39 (9.4)	
<b>Economic Status, n (%)</b>			0.001
High	44 (3.8)	5 (1.2)	
Medium	545 (47.5)	179 (42.9)	
Low	527 (45.9)	210 (50.4)	
Very low	31 (2.7)	23 (5.5)	
Insulin dose, (units/kg/day)	0.82 [0.44]	0.80 [0.44]	0.623
Cigarette smoking, (%)	58 (5.1)	29 (7.0)	0.149
Hypertension, (%)	139 (12.1)	147 (35.3)	<0.001
Dyslipidemia, (%)	212 (18.5)	138 (33.2)	<0.001
Systolic blood pressure (mmhg)	118.7 [17.7]	125.0 [25.0]	<0.001
Diastolic blood pressure (mmhg)	73.8 [12.0]	78.7 [14.7]	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.6 [5.0]	24.2 [5.1]	0.03
HbA1c (%)	8.4 [2.4]	8.8 [2.8]	<0.001
HbA1c (mmol/mol)	68.3 [25.7]	72.7 [30.6]	<0.001
<b>Self-reported color-race</b>			0.015
White	644 (56.1)	213 (51)	
Black	76 (6.6)	47 (11.3)	
Brown	403 (35.1)	153 (36.7)	
Asian	14 (1.2)	2 (0.48)	
Indigenous	10 (0.9)	2 (0.48)	
<b>Genomic Ancestry</b>			
European ancestry	68.2 [29.7]	66.2 [32.6]	0.293
African ancestry	16.4 [21.8]	15.7 [28.3]	0.098
Amerindian ancestry	10.6 [16.2]	9.1 [14.2]	0.088

**Note:** \*Chronic Kidney Disease defined as a GFR <60ml/min and/or the presence of albuminuria.

and try to avoid their disproportionate progression to CKD. There are some risk factors that are modifiable, such as the glycemic control, hypertension, and dyslipidemia, and others that we cannot alter, such as GA and family history. Rosolowsky et al showed that despite the

efforts to control these modifiable risk factors with the use of renoprotective treatments, a stricter glycemic control, and the treatment of hypertension, the risk of end-stage renal disease did not change over the years in a population of patients with T1D.<sup>22</sup>



**Figure 1** Individual ancestry estimates obtained for the HGDP-CEPH reference samples (POPFLAG =1) and T1D participants tested from the Brazilian population (POPFLAG =0) using 46 AIMs-INDELS. Ancestry estimates were obtained using STRUCTURE, with the following options: MAXPOPS =3; BURNIN =50.000; NUMREPS =50.000; NOADMIX =0; USEPOPINFO =1; PFROMPFOPLAGONLY =1.

**Abbreviations:** AFR, African; EUR, European; NAM, Native Amerindian.

**Table 2** Final adjusted regression model according to self-reported color-race

Parameter	B	Std. Error	OR	95% confidence interval for OR		Sig.
				Lower	Upper	
<b>Self-reported color-race</b>						
White	0.98	0.8131	2.663	0.541	13.107	0.228
Black	1.514	0.8306	4.547	0.893	23.159	0.068
Brown	1.175	0.8133	3.238	0.658	15.942	0.149
Asian	0.382	1.1179	1.465	0.164	13.101	0.733
Indigenous	0 <sup>a</sup>		1			
<b>Economic status</b>						
High	-1.808	0.611	0.164	0.05	0.543	0.003
Middle	-0.674	0.3371	0.51	0.263	0.986	0.045
Low	-0.579	0.3245	0.56	0.297	1.058	0.074
Very low	0 <sup>a</sup>		1			
Hypertension	1.084	0.1613	2.955	2.154	4.054	0.000
Dyslipidemia	0.218	0.1496	1.243	0.927	1.667	0.146
Gender, female	0.282	0.1267	1.325	1.034	1.699	0.026
Duration of diabetes, y	0.037	0.0074	1.037	1.022	1.052	0.000
Years of study, y	0.008	0.0176	1.008	0.974	1.043	0.647
HbA1c (%)	0.145	0.0299	1.156	1.09	1.226	0.000
BMI	-1.8E-05	0.0157	1	0.97	1.031	0.999

**Note:** 0<sup>a</sup>, reference.

**Abbreviations:** SD, standard deviation; OR, Odds Ratio; y, years.

The disparities in the incidence of CKD in patients with diabetes according to different ethnicities have been described for a long time. One of the first studies to identify this difference was published in 1989 and revealed that Black patients with diabetes had a 2.6 fold increase in risk of CKD when compared to Caucasian patients.<sup>6</sup> Other studies were performed to verify if the improvements in the treatment of diabetes changed those disparities between ethnicities. One study showed that patients with diabetes that were Black, Latino, or Asian had a higher risk of CKD when compared with diabetic patients that were White. This association persisted even after the correction for social factors such as annual income and

educational levels.<sup>7</sup> Another study showed that Asian and Hispanic patients with type 2 diabetes (T2D) had a higher prevalence of micro and macroalbuminuria, when compared to Caucasian patients.<sup>23</sup> There are few studies that evaluate the association between diabetic nephropathy and self-reported color-race, in a highly admixed population, especially studies involving patients with T1D. We did not find a significant association between any category of self-reported color-race and CKD.

In Brazil, color is a poor predictor of GA, especially of AFR ancestry.<sup>12</sup> The self-reported color-race is based primarily in phenotype, taking into account skin color, hair type, shape of the nose and mouth. In a study involving

**Table 3** Final adjusted regression model concerning genomic ancestry

Parameter	B	Std. Error	OR	95% confidence interval for OR		Sig.
				Lower	Upper	
African genomic ancestry	0.671	0.3624	1.956	0.961	3.98	0.064
<b>Economic status</b>						
High	-1.827	0.6052	0.161	0.049	0.527	0.003
Middle	-0.658	0.3311	0.518	0.271	0.991	0.047
Low	-0.541	0.3191	0.582	0.311	1.088	0.09
Very Low	0 <sup>a</sup>		1			
Hypertension	1.085	0.1603	2.959	2.162	4.052	0.000
Dyslipidemia	0.216	0.1493	1.241	0.926	1.663	0.148
Gender, female	0.267	0.1263	1.306	1.02	1.673	0.034
Duration of diabetes,y	0.035	0.0073	1.036	1.021	1.051	0.000
Years of study, y	0.01	0.0175	1.01	0.976	1.045	0.561
HbA1c (%)	0.143	0.0299	1.154	1.088	1.223	0.000
BMI	0.001	0.0156	1.001	0.971	1.032	0.96

Note: 0<sup>a</sup>, reference.

Abbreviations: SD, standard deviation; OR, Odds Ratio; y, years.

**Table 4** Final adjusted regression model according to groups of AFR ancestry

Parameter	B	Std. Error	OR	95% confidence interval for OR		Sig.
				Lower	Upper	
Patients with 50% or more of AFR ancestry	0.302	0.2435	1.353	0.84	2.181	0.214
<b>Economic status</b>						
High	-1.85	0.6044	0.157	0.048	0.514	0.002
Middle	-0.686	0.3309	0.504	0.263	0.964	0.038
Low	-0.552	0.3194	0.576	0.308	1.077	0.084
Very low	0 <sup>a</sup>		1			
Hypertension	1.087	0.1604	2.966	2.166	4.063	0.000
Dyslipidemia	0.215	0.1492	1.239	0.925	1.66	0.15
Gender, female	0.269	0.1261	1.309	1.022	1.676	0.033
Duration of diabetes,y	0.035	0.0073	1.035	1.021	1.05	0.000
Years of study, y	0.009	0.0175	1.009	0.975	1.044	0.609
HbA1c (%)	0.145	0.0299	1.156	1.09	1.225	0.000
BMI	0	0.0156	1	0.97	1.031	0.984

Note: 0<sup>a</sup>, reference.

Abbreviations: SD, standard deviation; OR, Odds Ratio; y, years.

siblings, 35% of the siblings reported themselves in a different color category, despite having no significant difference in their skin pigmentation. This indicates that stratifying our population using self-reported color-race is not ideal.<sup>24</sup> To avoid this bias and avoid misclassifications, we performed the analyses of the GA, using AIMS.

In our study we found an association between AFR ancestry and CKD that did not persist after the correction by the confounding factors. This can possibly be explained by our low percentage of African ancestry in our highly admixed population. Patients that present a percentage of any ancestry higher than 95% are considered non-admixed

patients.<sup>25</sup> These patients were not encountered in our sample. Our group showed in a previous study that patients with T1D had a higher median EUR ancestry, and lower median AFR and NAM ancestries, when compared to controls in Brazil.<sup>26</sup> Another study, conducted in American patients from Manhattan revealed a mean African ancestry of 82% in African American patients<sup>27</sup> which is much higher than our median African ancestry in patients that self-reported as Blacks (41.8 [31.5]). However, the study mentioned above was not conducted with patients with T1D and had an average of only 16–30% of participants with diabetes.

Further studies in this area reveal that non-diabetic African-Americans have an elevated risk of developing CKD that is in great part associated with genetic variants in the apolipoprotein L1 gene (APOL1). Africans have a higher prevalence of this APOL1 risk variants, because it conferred protection against lethal *Trypanosoma brucei* infections. APOL1 variants are associated with an elevated risk of hypertension-attributable CKD, HIV-nephropathy, and lupus kidney disease.<sup>28</sup> However, the association between APOL1 and diabetic nephropathy is still controversial.<sup>29</sup> Studies in patients with T2D reveal that the risk for developing CKD is in fact, attributable to the combination of several genes,<sup>29</sup> and not just the APOL1 variant.

A particular strength of our study is the population-based ascertainment of diabetes cases in a large sample of Brazilian patients with T1D, from a wide range of ethnic groups, from all geographic regions of the country. To our knowledge, this is the first study to evaluate the association between ethnicity, studied as self-reported color-race and GA, and CKD in patients with T1D from a highly admixed population. This historical association between different ethnicities and CKD in patients with diabetes has not yet been studied using GA. Our study raises the question if patients from ethnic groups such as African-Americans and Asians should be screened earlier for this complication or have a stricter therapy as to prevent the development of CKD, since they were known as a group with a higher chance of developing this complication.

Our study has some limitations. First, we only included patients that were followed in secondary and tertiary centers, so patients treated in primary clinics were excluded. This probably had little impact in our study since the majority of patients with T1D are followed in secondary and tertiary centers in Brazil. Second, we used the measurement of albumin concentration from a morning sample of urine instead of measurement in urine collected in

24 hrs. However, studies show that the urinary albumin concentration in a random spot urine is a reliable predictor of diabetic nephropathy and cardiovascular events.<sup>30</sup>

## Conclusion

Our results did not confirm an association between self-reported color-race or AFR ancestry and CKD. However, as we studied patients from a highly admixed population, with a low proportion of AFR ancestry, further studies should be conducted to better establish if the historical association between ethnicity and CKD is confirmed, especially in patients with a higher percentage of AFR or NAM ancestries.

## Abbreviations

CKD, Chronic Kidney Disease; T1D, Type 1 diabetes; EUR, European; AFR, African; NAM, Native Amerindian; AIMS, Ancestry Informative Markers; GA, genomic ancestry; BMI, body mass index; GLM, Generalized Linear Models; T2D, Type 2 diabetes; APOL1, Apolipoprotein L1 gene.

## Ethics and consent

The study was approved by the ethics committee of Pedro Ernesto University Hospital (State University of Rio de Janeiro), and by the local ethics committee of each center. All participants or their parents signed the informed consent form. This study has been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

## Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the following:

Brazilian Type 1 Diabetes Study Group BrazDiab1SG Executive steering committee: Marília Brito Gomes (chair), Carlos Antonio Negrato.

Principal investigators are indicated by an asterisk.

Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, State University of Rio de Janeiro, Brazil: Marília Brito Gomes\*.

Department of Internal Medicine, Diabetes Unit, State University of Rio de Janeiro, Brazil: Roberta Cobas; Lucianne Righeti Monteiro Tannus.

Federal University Hospital of Rio de Janeiro: Melanie Rodacki\*, M.D.; Lenita Zajdenverg, M.D.; Joana Rodrigues Dantas, M.D.

Diabetes Unit, University Hospital of São Paulo, São Paulo: Maria Lúcia Cardillo Corrêa-Giannella\*, M.D.; Sharon Nina Admoni, M.D.; Daniele Pereira dos Santos, M.D.

Bauru's Diabetics Association, Bauru, São Paulo: Carlos Antonio Negrato\*, M.D.; Maria de Fatima Guedes, M.D.

Diabetes Unit, Federal University of São Paulo State, São Paulo: Sergio Atala Dib\*, M.D.; Celso Ferreira de Camargo Sallum Filho, M.D.

Diabetes Unit, University of Campinas, São Paulo: Elisabeth João Pavin\*, M.D.; Caroline Takano, M.D.

Clinical Hospital of the Federal University of Paraná: Rosângela Roginski Rea\*, M.D.; Nicole Balster Romanzini, M.D.

Clinical Hospital of Porto Alegre, Rio Grande do Sul: Mirela Azevedo\*, M.D.; Luis Henrique Canani, M.D.

Regional Hospital of Taguatinga, Brasília: Hermelinda Cordeiro Pedrosa\*, M.D.; Monica Tolentino; Cejana Hamu Aguiar, M.D.

Diabetes and Endocrinology Center of Bahia: Reine Marie Chaves Fonseca\*, M.D.; Ludmila Chaves Fonseca M.D., Raffaele Kasprovicz, M.D.

Diabetes and Hypertension Center of Ceará: Adriana Costa e Forti\*M.D.; Angela Delmira Nunes Mendes, M.D.

Federal University of Ceará: Renan Montenegro Junior\*, M.D.; Virgínia Oliveira Fernandes, M.D.

Federal University Hospital of Pará: João Soares Felício\*, M.D.; Flavia Marques Santos, M.D.

This article was funded by FAPERJ (Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro), grant number: E-26/110.170/2013 and by CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), grant number: 563753/2010-2.

## Disclosure

The authors declare that they have no conflicts of interest in this work.

## References

1. United States Renal Data System 2017. Annual data report. Available from: <https://www.usrds.org/adr.aspx>. Accessed September 02, 2019.
2. McBrien KA, Manns BJ, Chui B, et al. Health care costs in people with diabetes and their association with glycemic control and kidney function. *Diabetes Care*. 2013;36(5):1172–1180. doi:10.2337/dc12-0862
3. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic kidney disease. *Lancet*. 2016;389(10075):1238–1252.
4. Klein R, Zinman B, Gardiner R, et al. The relationship of diabetic retinopathy to preclinical diabetic glomerulopathy lesions in type 1 diabetic patients: the renin-angiotensin system study. *Diabetes*. 2005;54(2):527–533. doi:10.2337/diabetes.54.2.527
5. Radcliffe NJ, Seah JM, Clarke M, MacIsaac RJ, Jerums G, Ekinci EI. Clinical predictive factors in diabetic kidney disease progression. *J Diabetes Investig*. 2016;8(1):6–18. ISSN 2040-1124.
6. Cowie CC, Port FK, Wolfe RA, Savage PJ, Moll PP, Hawthorne VM. Disparities in incidence of diabetic end-stage renal disease according to race and type of diabetes. *N Engl J Med*. 1989;321(16):1074–1079. doi:10.1056/NEJM198910193211603
7. Karter AJ, Ferrara A, Liu JY, Moffet HH, Ackerson LM, Selby JV. Ethnic disparities in diabetic complications in an insured population. *JAMA*. 2002;287(19):2519–2527. doi:10.1001/jama.287.19.2519
8. Bhalla V, Zhao B, Azar KM, et al. Racial/ethnic differences in the prevalence of proteinuric and nonproteinuric diabetic kidney disease. *Diabetes Care*. 2013;36(5):1215–1221. doi:10.2337/dc12-0951
9. Iyengar SK, Sedor JR, Freedman BI, et al. Genome-wide association and trans-ethnic meta-analysis for advanced diabetic kidney disease: Family Investigation of Nephropathy and Diabetes (FIND). *PLoS Genet*. 2015;11(8):e1005352. ISSN 1553-7404. doi:10.1371/journal.pgen.1005352
10. Alves-Silva J, Da Silva Santos M, Guimarães PE, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet*. 2000;67(2):444–461. doi:10.1086/303004
11. IBGE. *Características Étnico-raciais Da População: Um Estudo Das Categorias De Classificação De Cor Ou Raça*. Rio de Janeiro; 2008. Available from: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-cat-alogo?view=detalhes&id=249891>.
12. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(1):177–182. doi:10.1073/pnas.0126614100
13. Gomes KF, Santos AS, Semzecz C, et al. The influence of population stratification on genetic markers associated with type 1 diabetes. *Sci Rep*. 2017;7:43513. doi:10.1038/srep43513
14. Gomes MB, Negrato CA. Adherence to insulin therapeutic regimens in patients with type 1 diabetes. A nationwide survey in Brazil. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;120:47–55. doi:10.1016/j.diabres.2016.07.011
15. American Diabetes Association. Standards of medical care. *Diabetes Care* 2015. 2015;38(Suppl. 1):S41–8. doi:10.2337/dc15-S010
16. Criterio Brasil - ABEP. 2015. Available from: <http://www.abep.org/criterio-brasil>. Accessed May 13, 2016.
17. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604–612. doi:10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006
18. Schwartz GJ, Work DF. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(11):1832–1843. doi:10.2215/CJN.01640309
19. Kidney Disease: improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2013;1–150. Available from: <http://kdigo.org/guidelines/ckd-evaluation-and-management/>.
20. Pereira R, Phillips C, Pinto N, et al. Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. *PLoS One*. 2012;7(1):e29684. doi:10.1371/journal.pone.0029684
21. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155(2):945–959.
22. Rosolowsky ET, Skupien J, Smiles AM, et al. Risk for ESRD in type 1 diabetes remains high despite renoprotection. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(3):545–553. doi:10.1681/ASN.2010040354
23. Parving HH, Lewis JB, Ravid M, Remuzzi G, Hunsicker LG, Investigators D. Prevalence and risk factors for microalbuminuria in a referred cohort of type II diabetic patients: a global perspective. *Kidney Int*. 2006;69(11):2057–2063. doi:10.1038/sj.ki.5000377
24. Leite TK, Fonseca RM, de França NM, Parra EJ, Pereira RW. Genomic ancestry, self-reported “color” and quantitative measures of skin pigmentation in Brazilian admixed sibs. *PLoS One*. 2011;6(11):e27162. doi:10.1371/journal.pone.0027162
25. Homburger JR, Moreno-Estrada A, Gignoux CR, et al. Genomic insights into the ancestry and demographic history of South America. *PLoS Genet*. 2015;11(12):e1005602. doi:10.1371/journal.pgen.1005602
26. Gomes MB, Gabrielli AB, Santos DC, et al. Self-reported color-race and genomic ancestry in an admixed population: a contribution of a nationwide survey in patients with type 1 diabetes in Brazil. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018;140:245–252. doi:10.1016/j.diabres.2018.03.021

27. Udler MS, Nadkarni GN, Belbin G, et al. Effect of genetic african ancestry on eGFR and kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(7):1682–1692. doi:10.1681/ASN.2014050474
28. Friedman DJ, Pollak MR. Apolipoprotein L1 and kidney disease in African Americans. *Trends Endocrinol Metab.* 2016;27(4):204–215. doi:10.1016/j.tem.2016.02.002
29. Palmer ND, Freedman BI. Insights into the genetic architecture of diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep.* 2012;12(4):423–431. doi:10.1007/s11892-012-0279-2
30. Viana LV, Gross JL, Camargo JL, Zelmanovitz T, Da Costa Rocha EP, Azevedo MJ. Prediction of cardiovascular events, diabetic nephropathy, and mortality by albumin concentration in a spot urine sample in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Complications.* 2012;26(5):407–412. doi:10.1016/j.jdiacomp.2012.04.014



#### 4. DISCUSSÃO

As características dos pacientes dos dois estudos divididos por regiões geográficas do Brasil estão descritas na tabela suplementar 1 (APÊNDICE B).

Nosso primeiro estudo incorporado nos resultados é um estudo multicêntrico, transversal, que estudou a associação dos níveis séricos de ácido úrico e a presença de doença renal crônica em pacientes com DM1. Ele revelou que pacientes com DM1 de uma população altamente heterogênea, multiétnica, que apresentavam níveis mais elevados de ácido úrico sérico tinham uma pior função renal, independente da duração do diabetes, HbA1c e outros fatores de confundimento. Pacientes incluídos no subgrupo com TFG normal ( $\geq 60$ ml/min) mas com a presença de albuminúria apresentavam ácido úrico mais elevado do que pacientes que apresentavam TFG normal e ausência de albuminúria. Porém, a correlação parcial realizada para determinar a relação entre níveis séricos de ácido úrico e TFG controlando por albuminúria revelou que a albuminúria teve pouca influência na relação entre níveis séricos do ácido úrico e a TFG. Essa associação entre níveis séricos mais elevados de ácido úrico e uma menor TFG também está presente mesmo em pacientes com função renal normal, sugerindo que os níveis séricos mais elevados de ácido úrico poderiam estar associados a uma pior função renal.

Nós também realizamos a correção pelo sexo dos pacientes na análise multivariada, já que os níveis séricos de ácido úrico eram mais baixos nas mulheres incluídas no nosso estudo do que nos homens, com uma média de  $4,7 \pm 1,9$ mg/dl vs  $5,6 \pm 1,7$ mg/dl respectivamente. A tabela suplementar 2 (APÊNDICE C) inclui o resultado da análise multivariada realizada para avaliar a associação entre níveis séricos de ácido úrico e a TFG nos pacientes do sexo masculino da população total. A tabela suplementar 3 (APÊNDICE D) inclui o resultado da análise multivariada realizada para avaliar a associação entre níveis séricos de ácido úrico e a TFG nos pacientes do sexo feminino da população total. Em ambas as análises, mesmo separando por sexo, os níveis séricos de ácido úrico foram associados a uma diminuição da TFG.

Estudos publicados com pacientes com DM1 e ácido úrico sugerem que a hiperuricemia ou até níveis de ácido úrico próximos do limite superior da normalidade seriam um fator de risco tanto para o desenvolvimento quanto para a progressão da doença renal do diabetes. Um estudo conduzido com 355 pacientes com DM1 com um acompanhamento de 6 anos mostrou que para cada aumento de 1mg/dl nos níveis séricos de ácido úrico houve um



aumento de 40% no risco de desenvolver uma perda precoce da função renal. A perda precoce da função renal foi definida como uma diminuição maior que 3,3 ml/min/ano na TFG estimada pela cistatina C (Ficociello *et al.*, 2010). Houve também um aumento linear no aumento da chance de perda precoce da função renal conforme o aumento dos níveis séricos de ácido úrico, mesmo nos valores normais. Nosso estudo, apesar de transversal, também mostrou resultados semelhantes, com uma diminuição de 4,1 ml/min da TFG a cada aumento de 1mg/dl dos níveis de ácido úrico. Essa diminuição da TFG persistia mesmo nos pacientes do subgrupo de função renal normal.

Um outro estudo transversal, incluindo 675 pacientes com DM1, também demonstrou que níveis séricos nos limites superiores da normalidade apresentavam uma correlação inversa com a TFG calculada pela cistatina C. Essa correlação inversa foi encontrada tanto em pacientes com normoalbuminúria, quanto em pacientes com macroalbuminúria. Esse estudo, apesar de ser transversal, concluiu que existe uma associação entre maiores níveis de ácido úrico sérico (mesmo ainda dentro dos limites de normalidade) e uma menor TFG (Rosolowsky *et al.*, 2008). Nosso estudo, também transversal, encontrou resultados semelhantes, em uma população altamente miscigenada e distinta da população estudada no estudo anterior que incluiu uma amostra com cerca de 90% dos participantes brancos e todos oriundos do estado de Massachusetts.

Um estudo realizado com 188 adolescentes com DM1 e 65 adolescentes usados como controles também encontrou uma associação entre níveis séricos mais elevados de ácido úrico e uma menor TFG, mesmo após correção por HbA1c, idade, sexo e outras variáveis. Esses pacientes, já que são jovens, apresentam menor prevalência de outras comorbidades como hipertensão e dislipidemia, que atuam como fatores de confundimento e também estão associadas a presença de doença renal do diabetes (Lytvyn, Mahmud, *et al.*, 2016). Os pacientes incluídos no nosso estudo eram majoritariamente adultos, com uma pequena parcela de adolescentes, e conforme esperado nós encontramos uma maior prevalência de hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia do que as encontradas no estudo anterior. Porém, também encontramos uma associação negativa entre níveis séricos elevados de ácido úrico e a TFG.

Estudos com roedores com hiperuricemia provocada mostrou que esses animais apresentavam pior função renal, uma maior prevalência de hipertensão, proteinúria e fibrose renal intersticial. Esses achados não foram associados ao acúmulo de cristais de urato e podem ter sido parcialmente mediados pela ativação do SRAA, que resulta no aumento das pressões glomerular e sistêmica e em uma ação fibrinogênica direta nas células vasculares e renais (Kang *et al.*, 2002). O uso dos inibidores do SRAA atenua esses efeitos, reduzindo a

arteriopatía, independente do controle pressórico. Isso já foi demonstrado em um estudo com roedores em que parte dos animais receberam enalapril enquanto outro grupo recebeu hidroclorotiazida, que apresentava efeitos de redução dos níveis pressóricos, sem alterar o SRAA (Mazzali *et al.*, 2002). Entretanto, no nosso estudo os níveis séricos de ácido úrico foram correlacionados com uma pior função renal, mesmo corrigindo pelo uso de inibidores do SRAA. Isso sugere que outros mecanismos além da ativação excessiva do SRAA estão relacionados à disfunção renal associada ao aumento dos níveis de ácido úrico.

Um dos possíveis mecanismos, até previamente discutido na revisão da literatura, é a diminuição dos níveis de NO, que estaria associada a disfunção endotelial (Jalal *et al.*, 2011). Dados publicados anteriormente pelo nosso grupo corroboram essa teoria, mostrando que níveis séricos de ácido úrico nos limites superiores de normalidade funcionam como forte preditor de disfunção endotelial microvascular nos pacientes com DM1, o que poderia ser justificado pela diminuição da biodisponibilidade do NO (Matheus *et al.*, 2011).

Estudos ainda apresentam resultados conflitantes se os níveis elevados de ácido úrico sérico estariam realmente associados ao aparecimento e progressão da disfunção renal ou se seriam simplesmente um marcador da disfunção renal. Como o ácido úrico é eliminado principalmente pelos rins, ele aumenta no sangue como resposta a uma diminuição da sua filtração pela queda da TFG. Porém, a elevação dos níveis séricos de ácido úrico tende a ser discreta, devido ao aumento da excreção de ácido úrico pelo sistema digestivo e pela diminuição da sua produção pela diminuição da atividade da enzima xantina-oxidase (Vaziri *et al.*, 1995). Um outro estudo realizado com roedores, que foram submetidos a nefrectomia parcial para simular uma doença renal crônica, encontrou que os roedores nefrectomizados apresentavam uma diminuição da filtração do ácido úrico, mas não apresentavam um aumento do ácido úrico sérico (Yano *et al.*, 2014). Além disso, esses roedores apresentavam um aumento da expressão de um transportador de ácido úrico no íleo o que corrobora a hipótese de que o aumento da eliminação entérica do ácido úrico ajuda a compensar a diminuição da excreção renal, sendo um dos mecanismos pelos quais a diminuição da TFG não resultaria em níveis tão elevados de ácido úrico sérico.

Em 2016, Suliman *et al.* estudou pacientes com DRC que iriam iniciar o tratamento de substituição renal com hemodiálise (com TFG <15ml/min) e revelou que somente cerca de 50% desses pacientes apresentavam hiperuricemia (Suliman *et al.*, 2006), confirmando que nem todos os pacientes que evoluem para hemodiálise apresentam hiperuricemia. No nosso estudo, tivemos um baixo percentual de pacientes com TFG <15 ml/min, somente 23 pacientes, que foi a população estudada no estudo citado. Porém, esse estudo indica que nem

sempre pacientes com baixa TFG apresentariam níveis séricos elevados de ácido úrico, sugerindo que provavelmente o aumento de ácido úrico sérico que encontramos nos nossos pacientes com disfunção renal não seria totalmente explicado pela diminuição da TFG.

Para diminuir esse viés, fizemos a análise multivariada também nos pacientes com função renal normal, que não teriam a princípio uma diminuição tão importante da TFG a ponto de resultar em uma diminuição da filtração do ácido úrico. Mesmo nesse subgrupo com função renal normal, os níveis de ácido úrico também estavam associados a uma menor TFG, mesmo corrigindo pelos fatores de confundimento. Isso sugere que o aumento dos níveis séricos de ácido úrico não deve ser totalmente atribuído à diminuição da filtração do ácido úrico relacionada a uma menor TFG.

Ainda existem resultados discordantes se o tratamento com medicações que diminuem os níveis séricos de ácido úrico realmente diminuiriam a progressão da disfunção renal. Um estudo realizado em 113 pacientes com DRC que foram randomizados para receber tratamento com alopurinol 100mg/dia mostrou que esses pacientes tiveram uma progressão mais lenta da disfunção renal quando comparados ao grupo que não recebeu o alopurinol, independente de fatores de confundimento como idade, sexo e a presença ou não de albuminúria (Goicoechea *et al.*, 2010). Por outro lado, uma meta-análise publicada em 2014, incluindo 8 estudos, mostrou que não existe diferença significativa entre a TFG entre os grupos que usaram alopurinol e o grupo controle, e concluiu que ainda existem poucos dados envolvendo o tratamento com terapias que diminuem os níveis séricos de ácido úrico e o seu efeito na progressão da DRC (Bose *et al.*, 2014). Esse último estudo também sugere que o ácido úrico poderia ser somente um marcador da disfunção renal e não o responsável pelo desenvolvimento e progressão da disfunção renal nesses pacientes. Um estudo recente questiona se realmente o aumento dos níveis séricos de ácido úrico estariam relacionados ao desenvolvimento da doença renal do diabetes em pacientes com DM1 (Pilemann-Lyberg *et al.*, 2019). Ele conclui que pacientes com níveis séricos de ácido úrico no maior quartil teriam uma menor TFG em comparação com os pacientes nos três menores quartis de ácido úrico. Porém, ele não encontrou relação entre o maior quartil de ácido úrico e a presença de albuminúria e nem com a progressão da disfunção renal, que ele definiu como diminuição da TFG >3ml/min/ano. Um estudo envolvendo pacientes com DM1 e o uso de alopurinol ainda está em andamento e vai ajudar a esclarecer melhor a relação entre o ácido úrico e função renal nos pacientes com DM1 (Maahs *et al.*, 2013).

O segundo estudo incorporado na discussão revela que nos nossos pacientes vindos de uma população heterogênea, multiétnica, a cor auto-referida não estava associada à presença

de DRC após os ajustes para os fatores de confundimento. Em relação a associação entre uma maior ancestralidade africana e a presença de DRC, a maior ancestralidade africana também não foi significativa após ajustes pelos fatores de confundimento. Uma análise também foi realizada comparando pacientes com ancestralidade africana  $\geq 50\%$  e os com menos de 50%. Essa análise também não encontrou uma associação entre uma ancestralidade africana  $\geq 50\%$  com a presença de DRC, possivelmente pelo nosso baixo número de pacientes com ancestralidade  $\geq 50\%$ .

A disparidade na incidência da DRC nos pacientes com diabetes de acordo com etnia já foi descrita há muitos anos. Um dos primeiros estudos a abordar o tema foi publicado em 1989 e foi citado na revisão da literatura. O estudo revela que pacientes negros com diabetes apresentavam uma incidência 2,6 vezes maior de desenvolver DRC quando comparados com pacientes caucásicos com diabetes. Vale notar que esse estudo separava os pacientes diabéticos em não-insulinodependentes e insulinodependentes, sendo que a maioria dos pacientes do estudo eram não-insulinodependentes (Cowie *et al.*, 1989). Outro estudo sobre o tema, envolvendo 62.432 pacientes com diabetes, amostra composta principalmente por pacientes com DM2, também encontrou um aumento da incidência de DRC nos pacientes negros, latinos ou asiáticos, mesmo após correção por fatores sociais como renda anual e nível educacional (Karter *et al.*, 2002). Outro artigo envolvendo somente pacientes com DM2 mostrou que pacientes que eram asiáticos, hispânicos ou negros apresentavam maior prevalência de micro ou macroalbuminúria quando comparados com pacientes caucásicos (Bhalla *et al.*, 2013). Esses estudos foram realizados usando cor auto-referida. Entretanto, contrariamente aos achados descritos, nosso estudo não encontrou nenhuma associação entre nenhum grupo de cor auto-referida e a presença de DRC, nem na análise univariada e nem depois da correção por fatores de confundimento. Nossa amostra, porém, é extremamente heterogênea, já que a população brasileira é muito miscigenada, sendo difícil comparar com estudos envolvendo populações mais homogêneas. Outro ponto que deve ser ressaltado é que os estudos anteriores envolveram principalmente pacientes com DM2, não estudando a associação entre diferentes etnias e a presença de DRC nos pacientes com DM1 como o nosso.

Na figura suplementar 1 (APÊNDICE E) encontra-se um boxplot que mostra a porcentagem de cada ancestralidade para cada grupo de cor auto-referida, mostrando como os pacientes incluídos nesse estudo são muito miscigenados e como existe uma maior prevalência de ancestralidade europeia. Como já exposto anteriormente na revisão bibliográfica, a cor auto-referida não é um bom preditor de ancestralidade genômica no Brasil.

A cor auto-referida leva em consideração apenas a percepção do indivíduo em relação ao grupo étnico ao qual ele pertence, não necessariamente levando em consideração características fenóticas do indivíduo, como cor da pele, tipo de cabelo, formato da boca e nariz. Um estudo avaliou duas populações brasileiras distintas, uma delas envolvendo pacientes de uma região rural no Brasil, aonde avaliaram o fenótipo do indivíduo e separaram os indivíduos em brancos, negros e indeterminados. Ele também avaliou outra população que consistia em uma outra amostra de 200 indivíduos, das principais regiões geográficas do Brasil, que se auto-declaravam brancos. Eles realizaram a análise da ancestralidade genética desses pacientes e concluíram que a cor é um preditor fraco para ancestralidade africana (Parra *et al.*, 2003). Na nossa amostra, mais pacientes se auto-declaravam negros e pardos no grupo com DRC. Porém, na análise multivariada, a cor auto-declarada não apresentava associação com a presença de DRC.

Já que a classificação por cor auto-referida não é a melhor ferramenta para estratificar os nossos pacientes de acordo com etnia, também fizemos uma análise levando em consideração a ancestralidade genômica usando AIMS dos pacientes para tentar confirmar ou não a associação entre algumas etnias e a presença de DRC nos pacientes diabéticos. Nós encontramos uma associação entre uma maior ancestralidade africana e a presença de DRC na análise univariada, mas isso não persistiu após correção pelos fatores de confundimento. Nós encontramos um p de 0,06 com um intervalo de confiança estreito, com um OR de 1,956. Isso sugere que novos estudos devem ser realizados para realmente confirmar a ausência de associação entre uma maior ancestralidade africana e DRC em pacientes com DM1.

Um dos possíveis motivos pelo qual não encontramos uma associação entre uma maior ancestralidade africana e a presença de DRC pode ser o fato da nossa população apresentar uma baixa porcentagem de ancestralidade africana. Pacientes que apresentam uma ancestralidade maior que 95% são considerados não-miscigenados (Homburger *et al.*, 2015). Nós não encontramos nenhum paciente com ancestralidade africana maior que 95% na nossa amostra.

Nosso grupo demonstrou em um estudo anterior que nossos pacientes com DM1 apresentam uma maior ancestralidade europeia e menor ancestralidade africana e ameríndia em comparação com os pacientes controles no Brasil (Gomes *et al.*, 2018). Outro estudo, conduzido em pacientes afro-americanos revelou que esses pacientes apresentavam uma média de ancestralidade africana de 82% (Udler *et al.*, 2015). Essa média de ancestralidade africana é muito maior que a média de ancestralidade africana encontrada nos nossos pacientes que se auto-declaravam negros ( $42,0 \pm 21,0$ ), que ainda apresentavam um elevado

percentual de ancestralidade européia ( $42,7 \pm 21,5$ ). Esse estudo serve de comparação para demonstrar como nossos pacientes são altamente miscigenados em relação a outras populações e como uma comparação entre negros ou pacientes de outras etnias de diferentes regiões deve ser feita com cautela. Porém, o estudo anterior não foi conduzido em pacientes com DM1 e apresentava somente 16-30% dos pacientes do estudo com diabetes (Udler *et al.*, 2015).

Historicamente, outras complicações do diabetes também estariam associadas a afro-descendentes, como a retinopatia diabética (Emanuele *et al.*, 2005). Um estudo recente avaliou a associação entre a proporção de ancestralidade africana e a presença de retinopatia diabética proliferativa. Esse estudo encontrou inicialmente uma associação entre uma maior proporção de ancestralidade africana e a presença de retinopatia diabética proliferativa, mas ela não se manteve após o ajuste por fatores socioeconômicos e por outros fatores de risco relacionados ao desenvolvimento de retinopatia (Tandon *et al.*, 2015). Os autores sugerem que essa associação previamente demonstrada poderia estar sendo confundida por fatores clínicos e socioeconômicos e que novos estudos são necessários. Esse estudo, diferente do nosso, incluiu somente pacientes com DM2 que se auto-declaravam negros e que apresentavam um percentual elevado de ancestralidade africana (maior que 80%). Porém, ele também demonstra que a associação entre uma maior ancestralidade africana e uma complicação microvascular do diabetes não foi confirmada.

Estudos realizados sobre nefropatias em geral revelam que pacientes afro-americanos não diabéticos apresentam um risco elevado de desenvolver DRC, que está associada em grande parte com variações genéticas do gene da apolipoproteína L1 (APOL1). Pacientes africanos apresentam uma maior prevalência de variantes de risco APOL1 pois esse gene confere uma proteção contra uma infecção letal chamada doença do sono, que é causada pelo *Trypanosoma brucei*. Porém, pacientes com variantes do APOL1 apresentam risco elevado de desenvolver DRC atribuída a hipertensão, nefropatia pelo HIV, doença renal associada ao lúpus (Friedman e Pollak, 2016). Em relação a doença renal do diabetes, a associação com variantes do APOL1 ainda é controversa. Estudos sugerem que a doença renal diabética está associada a vários genes e não somente a uma variação do APOL1 (Palmer e Freedman, 2012). Um estudo envolvendo 1705 pacientes com DM1, todos de origem europeia, sendo que 820 desses pacientes apresentavam doença renal do diabetes, identificou 14 SNPs e 10 genes que poderiam estar relacionados à susceptibilidade para o desenvolvimento de doença renal do diabetes nesses pacientes com DM1 (Lee e Song, 2016).

Um dos pontos fortes do nosso estudo é o fato de ser um estudo multicêntrico, envolvendo uma amostra grande de pacientes com DM1, de uma população altamente miscigenada, de todas as regiões geográficas do país. No nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo realizado para avaliar a associação entre etnia, estudada com cor auto-declarada e com base na ancestralidade genômica, e a presença de doença renal crônica, em pacientes com DM1. Nosso estudo levanta um questionamento se pacientes de diferentes etnias deveriam ou não ser rastreados de forma mais precoce ou até mesmo receber um tratamento mais rigoroso, como forma de tentar prevenir ou retardar o aparecimento de uma complicação tão séria e com tamanha morbimortalidade.

Em conclusão, nossos resultados não encontraram uma associação entre cor auto-referida ou ancestralidade africana e a presença de DRC nos pacientes com DM1. Entretanto, como estudamos pacientes de uma população altamente miscigenada, com baixo percentual de ancestralidade africana, mais estudos são necessários para estabelecer melhor se realmente existe ou não uma associação entre diferentes grupos étnicos e a DRC.

Nossos estudos apresentam algumas limitações. Primeiramente, são estudos transversais, então não podemos estabelecer uma relação causal entre níveis séricos de ácido úrico, etnias e a DRC. Não conseguimos estabelecer se os níveis elevados de ácido úrico são um biomarcador da diminuição da função renal ou um fator de risco para o desenvolvimento da DRC. Segundo, nossos estudos incluíram somente pacientes acompanhados em clínicas secundárias e terciárias. Pacientes acompanhados em centros primários não foram incluídos. Porém, isso provavelmente teve pouco impacto na nossa amostra já que no Brasil a maioria dos pacientes com DM1 são acompanhados em centros secundários e terciários. Por último, nós avaliamos a albuminúria somente com uma amostra isolada de urina com medida somente de albumina, sem a dosagem concomitante de creatinina. Isso aumenta a quantidade de falsos positivos e negativos. Nós optamos pela medida isolada de albumina pois apresenta menor custo já que estamos lidando com uma grande amostra de pacientes de todas as regiões geográficas do Brasil.

## CONCLUSÕES

O objetivo dessa tese foi avaliar se existe uma associação entre alguns possíveis fatores de risco (níveis séricos elevados de ácido úrico, cor auto-referida e ancestralidade genômica) e uma das complicações do diabetes com elevada morbimortalidade.

Encontramos uma elevada prevalência de DRC nos nossos pacientes com DM1, com 30.6% apresentando TFG  $<60\text{ml/min}$  ou TFG  $\geq 60\text{ml/min}$  com a presença de albuminúria.

Encontramos uma associação entre níveis séricos elevados de ácido úrico e uma menor TFG, com cada aumento de  $1\text{mg/dl}$  nos níveis séricos de ácido úrico associados a uma diminuição de  $4,1\text{ml/min}$  na TFG desses pacientes. Essa associação negativa persiste mesmo em pacientes com função renal normal.

Não encontraram uma associação entre a presença de DRC e cor auto-referida e nem entre uma maior ancestralidade africana e a presença de DRC. Nossa amostra de pacientes é extremamente miscigenadas e apresenta baixo percentual de ancestralidade africana sugerindo que novos estudos, principalmente estudos prospectivos, devem ser realizados para realmente confirmar a ausência de associação entre uma maior ancestralidade africana e DRC em pacientes com DM1.



## REFERÊNCIAS

- AMES, B. N. et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 78, n. 11, p. 6858-62, Nov 1981. ISSN 0027-8424. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6947260> >.
- ASSOCIATION, A. D. 10. Microvascular Complications and Foot Care:. **Diabetes Care**, v. 41, n. Suppl 1, p. S105-S118, 01 2018. ISSN 1935-5548. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29222381> >.
- BAGNATI, M. et al. When and why a water-soluble antioxidant becomes pro-oxidant during copper-induced low-density lipoprotein oxidation: a study using uric acid. **Biochem J**, v. 340 (Pt1), p. 143-52, May 1999. ISSN 0264-6021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10229669> >.
- BERNARDO, S. et al. MtDNA ancestry of Rio de Janeiro population, Brazil. **Mol Biol Rep**, v. 41, n. 4, p. 1945-50, 2014. ISSN 1573-4978. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24420852> >.
- BHALLA, V. et al. Racial/ethnic differences in the prevalence of proteinuric and nonproteinuric diabetic kidney disease. **Diabetes Care**, v. 36, n. 5, p. 1215-21, May 2013. ISSN 1935-5548. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23238659> >.
- BJORNSTAD, P. et al. Serum uric acid predicts vascular complications in adults with type 1 diabetes: the coronary artery calcification in type 1 diabetes study. **Acta Diabetol**, v. 51, n. 5, p. 783-91, Oct 2014. ISSN 1432-5233. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24929955> >.
- BOSE, B. et al. Effects of uric acid-lowering therapy on renal outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Nephrol Dial Transplant**, v. 29, n. 2, p. 406-13, Feb 2014. ISSN 1460-2385. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24042021> >.
- BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 813-20, Dec 2001. ISSN 0028-0836. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11742414> >.
- BUZAS, R. et al. Serum uric acid and arterial hypertension-Data from Sephar III survey. **PLoS One**, v. 13, n. 7, p. e0199865, 2018. ISSN 1932-6203. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29966019> >.
- COWIE, C. C. et al. Disparities in incidence of diabetic end-stage renal disease according to race and type of diabetes. **N Engl J Med**, v. 321, n. 16, p. 1074-9, Oct 1989. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2797067> >.
- DABELEA, D. The accelerating epidemic of childhood diabetes. **Lancet**, v. 373, n. 9680, p. 1999-2000, Jun 2009. ISSN 1474-547X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19481250> >.

DURSO, D. F. et al. Association of genetic variants with self-assessed color categories in Brazilians. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e83926, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24416183> >.

EMANUELE, N. et al. Ethnicity, race, and baseline retinopathy correlates in the veterans affairs diabetes trial. **Diabetes Care**, v. 28, n. 8, p. 1954-8, Aug 2005. ISSN 0149-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16043738> >.

FICOCIELLO, L. H. et al. High-normal serum uric acid increases risk of early progressive renal function loss in type 1 diabetes: results of a 6-year follow-up. **Diabetes Care**, v. 33, n. 6, p. 1337-43, Jun 2010. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20332356> >.

FRIEDMAN, D. J.; POLLAK, M. R. Apolipoprotein L1 and Kidney Disease in African Americans. **Trends Endocrinol Metab**, v. 27, n. 4, p. 204-15, Apr 2016. ISSN 1879-3061. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26947522> >.

GOICOECHEA, M. et al. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 5, n. 8, p. 1388-93, Aug 2010. ISSN 1555-905X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20538833> >.

GOMES, M. B. et al. Self-reported color-race and genomic ancestry in an admixed population: A contribution of a nationwide survey in patients with type 1 diabetes in Brazil. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 140, p. 245-252, Mar 2018. ISSN 1872-8227. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29574106> >.

GOŁEMBIEWSKA, E. et al. Renal handling of uric acid in patients with type 1 diabetes in relation to glycemic control. **Arch Med Res**, v. 36, n. 1, p. 32-5, 2005 Jan-Feb 2005. ISSN 0188-4409. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15777992> >.

GROUP, W. T. F. T. D. C. A. C. T. E. O. D. I. A. C. R. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. **JAMA**, v. 290, n. 16, p. 2159-67, Oct 2003. ISSN 1538-3598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14570951> >.

HOMBURGER, J. R. et al. Genomic Insights into the Ancestry and Demographic History of South America. **PLoS Genet**, v. 11, n. 12, p. e1005602, Dec 2015. ISSN 1553-7404. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26636962> >.

HOVIND, P. et al. Serum uric acid as a predictor for development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: an inception cohort study. **Diabetes**, v. 58, n. 7, p. 1668-71, Jul 2009. ISSN 1939-327X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19411615> >.

HUEBSCHMANN, A. G. et al. Diabetes and advanced glycoxidation end products. **Diabetes Care**, v. 29, n. 6, p. 1420-32, Jun 2006. ISSN 0149-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16732039> >.

IBGE (2008) Características étnico-raciais da população: um estudo das categorias de classificação de cor ou raça. Rio de Janeiro 2008.

International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*. 2017.

JALAL, D. I. et al. Uric acid as a mediator of diabetic nephropathy. **Semin Nephrol**, v. 31, n. 5, p. 459-65, Sep 2011. ISSN 1558-4488. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22000654> >.

KANG, D. H. et al. A role for uric acid in the progression of renal disease. **J Am Soc Nephrol**, v. 13, n. 12, p. 2888-97, Dec 2002. ISSN 1046-6673. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12444207> >.

KARTER, A. J. et al. Ethnic disparities in diabetic complications in an insured population. **JAMA**, v. 287, n. 19, p. 2519-27, May 2002. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12020332> >.

KOYA, D. et al. Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes. **FASEB J**, v. 14, n. 3, p. 439-47, Mar 2000. ISSN 0892-6638. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10698958> >.

\_\_\_\_\_. Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanoids in the glomeruli of diabetic rats. **J Clin Invest**, v. 100, n. 1, p. 115-26, Jul 1997. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9202063> >.

KRISHNAN, E. et al. Hyperuricemia in young adults and risk of insulin resistance, prediabetes, and diabetes: a 15-year follow-up study. **Am J Epidemiol**, v. 176, n. 2, p. 108-16, Jul 2012. ISSN 1476-6256. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22753829> >.

LANASPA, M. A. et al. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. **J Biol Chem**, v. 287, n. 48, p. 40732-44, Nov 2012. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23035112> >.

LEE, Y. H.; SONG, G. G. Genome-wide pathway analysis for diabetic nephropathy in type 1 diabetes. **Endocr Res**, v. 41, n. 1, p. 21-7, 2016. ISSN 1532-4206. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26167956> >.

LEITE, T. K. et al. Genomic ancestry, self-reported "color" and quantitative measures of skin pigmentation in Brazilian admixed siblings. **PLoS One**, v. 6, n. 11, p. e27162, 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22073278> >.

LI, L. et al. Prevalence of Diabetes and Diabetic Nephropathy in a Large U.S. Commercially Insured Pediatric Population, 2002-2013. **Diabetes Care**, v. 39, n. 2, p. 278-84, Feb 2016. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26681728> >.

LIU, P. et al. Allopurinol treatment improves renal function in patients with type 2 diabetes and asymptomatic hyperuricemia: 3-year randomized parallel-controlled study. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 83, n. 4, p. 475-82, Oct 2015. ISSN 1365-2265. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25400252> >.

LV, Q. et al. High serum uric acid and increased risk of type 2 diabetes: a systemic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e56864, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23437258> >.

LYTVYN, Y. et al. Association Between Plasma Uric Acid Levels and Cardiorenal Function in Adolescents With Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 39, n. 4, p. 611-6, Apr 2016. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26895883> >.

\_\_\_\_\_. Plasma uric acid effects on glomerular haemodynamic profile of patients with uncomplicated Type 1 diabetes mellitus. **Diabet Med**, v. 33, n. 8, p. 1102-11, Aug 2016. ISSN 1464-5491. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26670339> >.

\_\_\_\_\_. Glycosuria-mediated urinary uric acid excretion in patients with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 308, n. 2, p. F77-83, Jan 2015. ISSN 1522-1466. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25377916> >.

MAAHS, D. M. et al. Uric acid lowering to prevent kidney function loss in diabetes: the preventing early renal function loss (PERL) allopurinol study. **Curr Diab Rep**, v. 13, n. 4, p. 550-9, Aug 2013. ISSN 1539-0829. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23649945> >.

MAIUOLO, J. et al. Regulation of uric acid metabolism and excretion. **Int J Cardiol**, v. 213, p. 8-14, Jun 2016. ISSN 1874-1754. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26316329> >.

MATHEUS, A. S. et al. Uric acid levels are associated with microvascular endothelial dysfunction in patients with Type 1 diabetes. **Diabet Med**, v. 28, n. 10, p. 1188-93, Oct 2011. ISSN 1464-5491. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21658123> >.

MAZZALI, M. et al. Hyperuricemia induces a primary renal arteriolopathy in rats by a blood pressure-independent mechanism. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 282, n. 6, p. F991-7, Jun 2002. ISSN 1931-857X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11997315> >.

MCBRIEN, K. A. et al. Health care costs in people with diabetes and their association with glycemic control and kidney function. **Diabetes Care**, v. 36, n. 5, p. 1172-80, May 2013. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23238665> >.

MÖLLSTEN, A. et al. Cumulative risk, age at onset, and sex-specific differences for developing end-stage renal disease in young patients with type 1 diabetes: a nationwide population-based cohort study. **Diabetes**, v. 59, n. 7, p. 1803-8, Jul 2010. ISSN 1939-327X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20424230> >.

- NAKAGAWA, T. et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 290, n. 3, p. F625-31, Mar 2006. ISSN 1931-857X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16234313> >.
- NATHAN, D. M. et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med**, v. 329, n. 14, p. 977-86, 09 1993. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8366922> >.
- PALMER, N. D.; FREEDMAN, B. I. Insights into the genetic architecture of diabetic nephropathy. **Curr Diab Rep**, v. 12, n. 4, p. 423-31, Aug 2012. ISSN 1539-0829. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22573336> >.
- PALMER, N. D. et al. Evaluation of candidate nephropathy susceptibility genes in a genome-wide association study of African American diabetic kidney disease. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e88273, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24551085> >.
- PAPADOPOULOU-MARKETOU, N.; CHROUSOS, G. P.; KANAKA-GANTENBEIN, C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: a review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 33, n. 2, 02 2017. ISSN 1520-7560. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27457509> >.
- PARRA, F. C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 1, p. 177-82, Jan 2003. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12509516> >.
- PARVING, H. H. et al. Prevalence and risk factors for microalbuminuria in a referred cohort of type II diabetic patients: a global perspective. **Kidney Int**, v. 69, n. 11, p. 2057-63, Jun 2006. ISSN 0085-2538. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16612330> >.
- PEREIRA, R. et al. Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e29684, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22272242> >.
- PERKINS, B. A. et al. Risk Factors for Kidney Disease in Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 42, n. 5, p. 883-890, May 2019. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30833370> >.
- \_\_\_\_\_. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. **N Engl J Med**, v. 348, n. 23, p. 2285-93, Jun 2003. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12788992> >.
- PILEMANN-LYBERG, S. et al. Uric acid is not associated with diabetic nephropathy and other complications in type 1 diabetes. **Nephrol Dial Transplant**, v. 34, n. 4, p. 659-666, Apr 2019. ISSN 1460-2385. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29660007> >.
- PIZARRO, M. H. et al. Serum uric acid and renal function in patients with type 1 diabetes: a nationwide study in Brazil. **Diabetol Metab Syndr**, v. 10, p. 22, 2018. ISSN 1758-5996. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29568334> >.

RADCLIFFE, N. J. et al. Clinical Predictive Factors in Diabetic Kidney Disease Progression. **J Diabetes Investig**, v. 8, n. 1, p. 6-18, Jan 2017. ISSN 2040-1124. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27181363> >.

RIVERO, A. et al. Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy. **Clin Sci (Lond)**, v. 116, n. 6, p. 479-92, Mar 2009. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19200057> >.

ROSOLOWSKY, E. T. et al. High-normal serum uric acid is associated with impaired glomerular filtration rate in nonproteinuric patients with type 1 diabetes. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 3, n. 3, p. 706-13, May 2008. ISSN 1555-905X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18272826> >.

\_\_\_\_\_. Risk for ESRD in type 1 diabetes remains high despite renoprotection. **J Am Soc Nephrol**, v. 22, n. 3, p. 545-53, Mar 2011. ISSN 1533-3450. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21355053> >.

SANDHOLM, N. et al. New susceptibility loci associated with kidney disease in type 1 diabetes. **PLoS Genet**, v. 8, n. 9, p. e1002921, Sep 2012. ISSN 1553-7404. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23028342> >.

SAUTIN, Y. Y.; JOHNSON, R. J. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. **Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids**, v. 27, n. 6, p. 608-19, Jun 2008. ISSN 1532-2335. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18600514> >.

SULIMAN, M. E. et al. J-shaped mortality relationship for uric acid in CKD. **Am J Kidney Dis**, v. 48, n. 5, p. 761-71, Nov 2006. ISSN 1523-6838. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17059995> >.

SÁNCHEZ-LOZADA, L. G. et al. Effects of acute and chronic L-arginine treatment in experimental hyperuricemia. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 292, n. 4, p. F1238-44, Apr 2007. ISSN 1931-857X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17190912> >.

\_\_\_\_\_. Treatment with the xanthine oxidase inhibitor febuxostat lowers uric acid and alleviates systemic and glomerular hypertension in experimental hyperuricaemia. **Nephrol Dial Transplant**, v. 23, n. 4, p. 1179-85, Apr 2008. ISSN 1460-2385. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18048425> >.

TANDON, A. et al. African Ancestry Analysis and Admixture Genetic Mapping for Proliferative Diabetic Retinopathy in African Americans. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 56, n. 6, p. 3999-4005, Jun 2015. ISSN 1552-5783. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26098467> >.

TUTTLE, K. R. et al. The effect of ruboxistaurin on nephropathy in type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 28, n. 11, p. 2686-90, Nov 2005. ISSN 0149-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16249540> >.



UDLER, M. S. et al. Effect of Genetic African Ancestry on eGFR and Kidney Disease. **J Am Soc Nephrol**, v. 26, n. 7, p. 1682-92, Jul 2015. ISSN 1533-3450. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25349204>>.

US Renal Data System: 2018 Annual Data Report. 2018. Disponível em: <<https://www.usrds.org/adr.aspx>>.

VAZIRI, N. D.; FREEL, R. W.; HATCH, M. Effect of chronic experimental renal insufficiency on urate metabolism. **J Am Soc Nephrol**, v. 6, n. 4, p. 1313-7, Oct 1995. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8589304>>.

WADA, J.; MAKINO, H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. **Clin Sci (Lond)**, v. 124, n. 3, p. 139-52, Feb 2013. ISSN 1470-8736. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23075333>>.

WANG, Z. et al. Serum Uric Acid Levels and Outcomes After Acute Ischemic Stroke. **Mol Neurobiol**, v. 53, n. 3, p. 1753-1759, Apr 2016. ISSN 1559-1182. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25744569>>.

WEBSTER, A. C. et al. Chronic Kidney Disease. **Lancet**, v. 389, n. 10075, p. 1238-1252, Mar 2017. ISSN 1474-547X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27887750>>.

WILLIAMS, M. E. Diabetic nephropathy: the proteinuria hypothesis. **Am J Nephrol**, v. 25, n. 2, p. 77-94, 2005 Mar-Apr 2005. ISSN 0250-8095. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15746541>>.

YADAV, D. et al. Hyperuricemia as a Potential Determinant of Metabolic Syndrome. **J Lifestyle Med**, v. 3, n. 2, p. 98-106, Sep 2013. ISSN 2234-8549. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26064845>>.

YANO, H. et al. Uric acid transporter ABCG2 is increased in the intestine of the 5/6 nephrectomy rat model of chronic kidney disease. **Clin Exp Nephrol**, v. 18, n. 1, p. 50-5, Feb 2014. ISSN 1437-7799. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23584883>>.

YU, Z. F. et al. Uric acid protects neurons against excitotoxic and metabolic insults in cell culture, and against focal ischemic brain injury in vivo. **J Neurosci Res**, v. 53, n. 5, p. 613-25, Sep 1998. ISSN 0360-4012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9726432>>.

ZHENG, J. M. et al. Rhein reverses the diabetic phenotype of mesangial cells over-expressing the glucose transporter (GLUT1) by inhibiting the hexosamine pathway. **Br J Pharmacol**, v. 153, n. 7, p. 1456-64, Apr 2008. ISSN 0007-1188. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18264122>>.

**APÊNDICE A:** Supplementary material of serum uric acid and renal function in patients with type 1 diabetes: a nationwide study in Brazil

Supplementary Table S1: Adjusted regression model for GFR in the pooled group (n=1,686)

Parameter	B	Std. Error	95% Confidence interval for B		p-value
			Lower	Upper	
(Intercept)	161.3	8.76	144.2	178.5	0.000
Gender, female	-14.17	1.43	-16.97	-11.37	0.000
Serum uric acid (mg/dl)	-4.11	0.39	-4.87	-3.35	0.000
Use of statins	-2.25	1.75	-5.68	1.18	0.198
Use of inhibitors of the renin-angiotensin system	-2.55	1.71	-5.90	0.79	0.134
Use of diuretics	-13.38	2.62	-18.51	-8.25	0.000
Non caucasian	1.14	1.34	-1.48	3.75	0.394
High economic status	10.17	5.51	-0.62	20.96	0.065
Medium economic status	4.43	4.00	-3.41	12.27	0.268
Low economic status	2.92	3.90	-4.72	10.57	0.453
Very low economic status	0 <sup>a</sup>				
Non- smokers or ex-smokers	0.40	2.88	-5.25	6.05	0.889
Educational years, y	-0.84	0.189	-1.21	-0.47	0.000
BMI	-0.17	0.17	-0.50	0.16	0.322
Mean systolic blood pressure (mmHg)	-0.21	0.064	-0.34	-0.09	0.001
Mean diastolic blood pressure (mmHg)	-0.05	0.09	-0.22	0.13	0.599
Duration of diabetes, y	-0.69	0.08	-0.85	-0.53	0.000
HbA1c (%)	1.21	0.33	0.58	1.85	0.000
LDL cholesterol	-0.036	0.016	-0.07	-0.004	0.027
HDL cholesterol	0.012	0.035	-0.056	0.081	0.723
Albuminuria (mg/dl)	-0.006	0.0021	-0.010	-0.002	0.599
(Scale)	582.405b	21.8419	541.132	626.827	

0a: reference ,SD: standard deviation, GFR: Glomerular filtration rate, BMI: body mass index, LDL: low-density lipoprotein, HDL: high-density lipoprotein



Supplementary Table S2: Adjusted regression model for GFR in patients with normal renal function (n=1,170)

Parameter	B	Std. Error	95% Confidence interval for B		p-value
			Lower	Upper	
(Intercept)	143.4	10.1	123.6	163.2	0.000
Gender, female	-9.77	1.54	-12.78	-6.76	0.000
Serum uric acid (mg/dl)	-2.04	0.52	-3.06	-1.01	0.000
Use of statins	-1.62	1.98	-5.51	2.27	0.414
Use of inhibitors of the renin-angiotensin system	-3.27	2.07	-7.33	0.78	0.113
Use of diuretics	-5.37	3.46	-12.15	1.4	0.120
Non caucasian	-0.15	1.39	-2.87	2.57	0.914
High economic status	3.81	5.71	-7.40	15.01	0.505
Medium economic status	3.12	4.39	-5.49	11.72	0.478
Low economic status	1.38	4.289	-7.03	9.79	0.747
Very low economic status	0 <sup>a</sup>				
Non- smokers or ex-smokers	-4.30	3.26	-10.70	2.10	0.188
Educational years, y	-0.81	0.198	-1.200	-0.422	0.000
BMI	-0.50	0.187	-0.865	-0.132	0.008
Mean systolic blood pressure (mmHg)	-0.141	0.068	-0.275	-0.007	0.039
Mean diastolic blood pressure (mmHg)	0.058	0.094	-0.127	0.243	0.537
Duration of diabetes, y	-0.523	0.085	-0.69	-0.36	0.000
HbA1c (%)	1.54	0.351	0.85	2.23	0.000
LDL cholesterol	-0.025	0.019	-0.06	0.011	0.178
HDL cholesterol	0.012	0.038	-0.063	0.086	0.762
(Scale)	487.149 <sup>b</sup>	20.8576	447.937	529.793	

0a: reference, SD: standard deviation BMI: body mass index, LDL: low-density lipoprotein, HDL: high-density lipoprotein

**APÊNDICE B:** Tabela suplementar 1:

Tabela suplementar 1:Características dos pacientes de acordo com as regiões do Brasil					
	Sudeste	Sul	Norte/Nordeste	Centro-Oeste	p valor
n = 1,564	755	195	435	179	
<b>Variáveis:</b>					
Idade (anos)	31,4 ± 12,4	35,6 ± 12,6	27,2 ± 9,8	30,8 ± 11,5	<0,002
Sexo feminino (n,%)	428 (56,7)	110 (56,4)	238 (54,7)	109 (60,8)	0,577
Duração do diabetes,(anos)	17,5 ± 9,3	19,2 ± 9,0	13,3 ± 7,4	15,9 ± 8,0	<0,001
Anos de educação, (anos)	12,1 ± 3,4	12,2 ± 3,9	12,3 ± 4,0	13,4 ± 4,5	<0,001
Hipertensão (n,%)	139 (18,4)	59 (30,3)	54 (12,4)	34 (19)	<0,001
Dislipidemia (n,%)	186 (24,7)	52 (26,7)	73 (16,8)	39 (21,8)	0,007
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,5 ± 4,3	24,8 ± 3,7	23,6 ± 3,5	24,3 ± 4,3	0,001
HbA1c (%)	8,8 ± 2,0	9,0 ± 2,0	9,3 ± 2,3	9,0 ± 1,9	<0,001
Ácido úrico sérico (mg/dl)	5,2 ± 1,9	4,7 ± 1,6	5,1 ± 1,8	5,6 ± 2,4	<0,001
Uso de diuréticos (n,%)	77 (10,3)	32 (16,4)	23 (5,3)	14 (7,8)	<0,001
<b>Cor auto-referida (n,%)</b>					<0,001
Branco	467 (61,9)	166 (85,1)	138 (31,7)	86 (48)	
Preto	55 (7,2)	12 (6,2)	49 (11,3)	7 (3,9)	
Pardo	221 (29,3)	16 (8,2)	234 (53,8)	85 (47,5)	
Amarelo	10 (1,3)	1 (0,5)	5 (1,2)	0 (0)	
Indígena	2 (0,3)	0 (0)	9 (2)	1 (0,6)	
<b>Ancestralidade genômica (n,%)</b>					
Ancestralidade europeia	65,8 ± 19,3	78,5 ± 17,9	61,2 ± 21,4	68,4 ± 19,7	<0,001
Ancestralidade africana	20,3 ± 15,8	11,6 ± 15,1	24,0 ± 18,5	19,2 ± 14,8	<0,001
Ancestralidade ameríndia	13,9 ± 11,2	9,9 ± 9,0	14,8 ± 12,2	12,4 ± 10,9	<0,001
<b>Grupos de função renal (n,%)</b>					0,121
Função renal normal	540 (71,5)	137 (70,3)	330 (75,9)	140 (78,2)	
Doença renal crônica	215 (28,5)	58 (29,7)	105 (24,1)	39 (21,8)	

## APÊNDICE C: Tabela suplementar 2

Tabela Suplementar 2: Modelo de regressão final para TFG em homens da população original					
Parâmetro	B	Erro padrão	Intervalo de confiança (95%)		p-valor
			Inferior	Superior	
(Intercept)	157,5	12,73	132,5	182,4	0,000
Ácido úrico sérico	-3,03	0,57	-4,15	-1,90	0,000
Uso de estatina	-7,30	2,71	-12,6	-1,99	0,007
Não tabagistas ou ex-tabagistas	-0,98	4,23	-9,07	7,09	0,811
Classe econômica alta	5,66	7,95	-9,92	21,23	0,477
Classe econômica média	3,57	5,67	-7,53	14,68	0,528
Classe econômica baixa	0,78	5,54	-10,08	11,64	0,888
Classe econômica muito baixa	0 <sup>a</sup>	.	.	.	.
Uso de diurético	-18,65	4,06	-26,62	-10,69	0,000
Uso de inibidor do SRAA	-0,43	2,51	-5,35	4,48	0,863
Não-caucásicos	0,53	1,95	-3,29	4,35	0,786
HbA1c	1,56	0,51	0,57	2,56	0,002
Níveis de LDL colesterol	-0,04	0,023	-0,08	0,009	0,120
Níveis de HDL colesterol	0,12	0,058	0,005	0,23	0,042
Albuminúria (mg/dl)	-0,01	0,003	-0,02	-0,004	0,001
Média pressão sistólica (mmHg)	-0,24	0,092	-0,42	-0,056	0,010
Média pressão diastólica (mmHg)	-0,09	0,129	-0,34	0,16	0,478
IMC	-0,097	0,268	-0,62	0,43	0,72
Anos de educação	-0,97	0,265	-1,49	-0,45	0,000
Duração do diabetes	-0,74	0,124	-0,98	-0,50	0,000

**APÊNDICE D:** Tabela suplementar 3

Tabela Suplementar 3: Modelo de regressão final para TFG em mulheres da população original

Parâmetro	B	Erro padrão	Intervalo de confiança (95%)		p-valor
			Inferior	Superior	
(Intercept)	146,7	11,85	123,5	169,9	0,000
Ácido úrico sérico	- 4,73	0,52	- 5,75	- 3,71	0,000
Uso de estatina	1,43	2,267	- 3,02	5,87	0,529
Não tabagistas ou ex-tabagistas	1,70	3,98	- 6,10	9,50	0,669
Classe econômica alta	14,10	7,52	- 0,63	28,84	0,06
Classe econômica média	6,90	5,53	- 3,95	17,74	0,21
Classe econômica baixa	5,93	5,373	- 4,60	16,46	0,270
Classe econômica muito baixa	0 <sup>a</sup>	.	.	.	.
Uso de diurético	-9,79	3,42	-16,48	-3,10	0,004
Uso de inibidor do SRAA	-3,12	2,31	-7,70	1,35	0,17
Não-caucásicos	1,51	1,81	- 2,02	5,05	0,40
HbA1c	0,93	0,42	0,11	1,75	0,027
Níveis de LDL colesterol	- 0,03	0,022	- 0,076	0,01	0,146
Níveis de HDL colesterol	- 0,04	0,043	- 0,13	0,04	0,336
Albuminúria (mg/dl)	- 0,01	0,003	- 0,016	- 0,005	0,000
Média pressão sistólica (mmHg)	- 0,24	0,089	- 0,41	- 0,06	0,008
Média pressão diastólica (mmHg)	0,033	0,125	- 0,21	0,28	0,789
IMC	- 0,20	0,22	- 0,63	0,23	0,35
Anos de educação	- 0,74	0,27	- 1,27	- 0,21	0,006
Duração do diabetes	- 0,67	0,108	- 0,88	- 0,46	0,000

APÊNDICE E: Figura suplementar 1

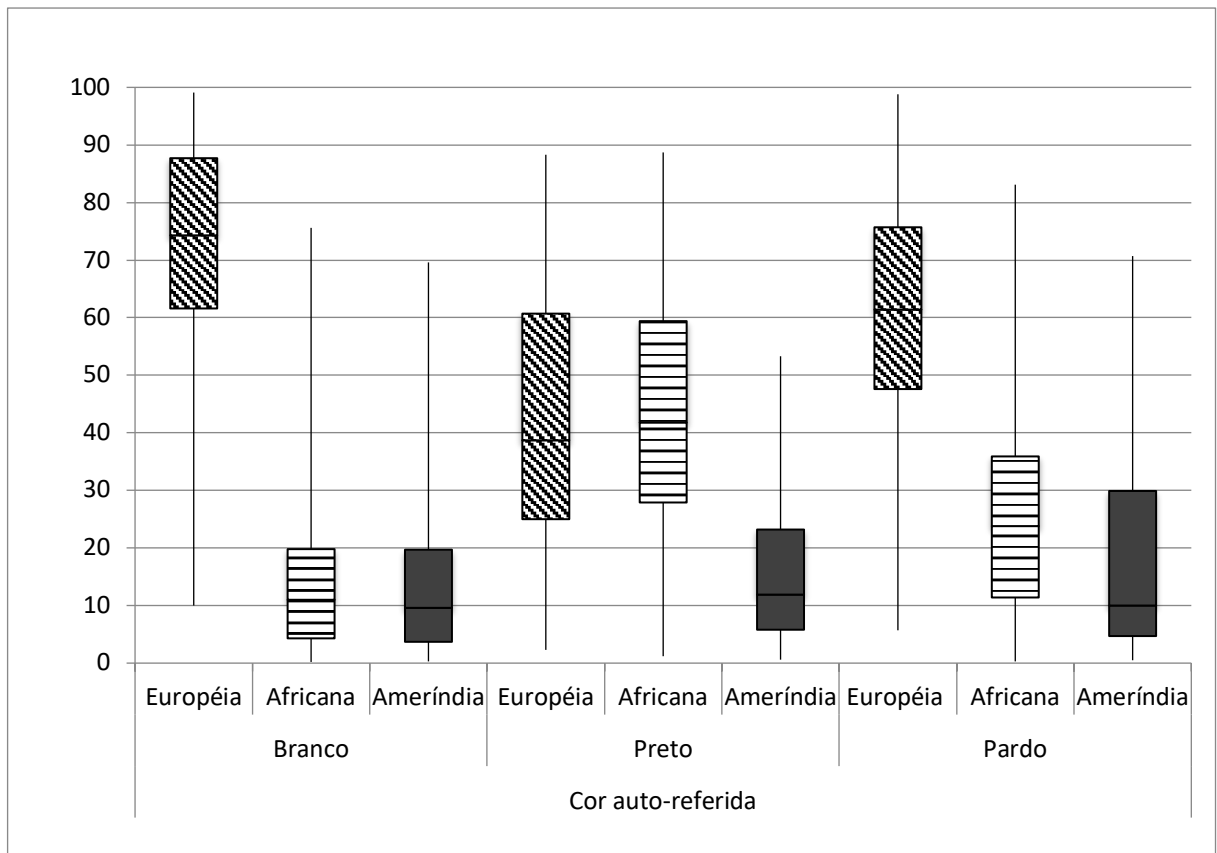
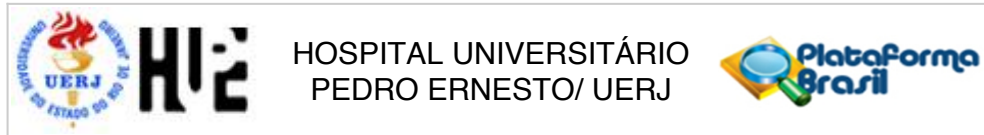


Figura Suplementar 1: Boxplot representando a ancestralidade genômica nas categorias de cor auto-referida do segundo artigo . Mediana (linha sólida), caixa corresponde ao primeiro e terceiro quartis. Medianas: Branco (74,3% ancestralidade européia, 11% africana e 9,6% ameríndia), Preto (38,7% européia, 41,8% africana 11,9% ameríndia) e Pardo ( 61,4% européia, 23,8% africana e 10% ameríndia).

## ANEXO A: Aprovação do Comitê de Ética



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Associação entre níveis plasmáticos de ácido úrico e filtração glomerular em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1: Estudo multicêntrico nacional, BrazDiab1SG.

**Pesquisador:** Marcela Haas Pizarro

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 53525815.3.0000.5259

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

**Patrocinador Principal:** FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.440.312

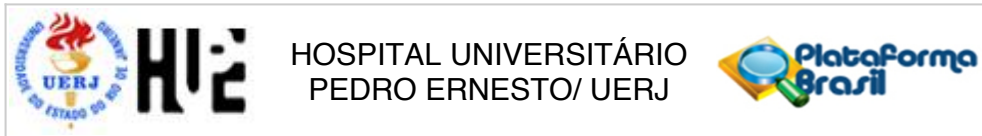
**Apresentação do Projeto:**

Pacientes com Diabetes Mellitus (DM) tipo 1 apresentam elevada morbidade e mortalidade por complicações micro e macrovasculares. A nefropatia diabética (ND) é uma das complicações mais prevalentes, acometendo 5-10% dos pacientes com DM tipo 1. Porém, sua patogênese ainda não foi totalmente esclarecida. Alguns artigos correlacionam o nível normal-alto do ácido úrico sérico com uma maior prevalência de ND, mostrando associação significativa e independente com o desenvolvimento de macroalbuminúria e a uma elevação de 80% do risco de desenvolver micro e macroalbuminúria nos pacientes com DM1 a cada aumento de 1mg/dl na dosagem sérica de ácido úrico 3. Por se tratar de um fator de risco potencialmente modificável para uma complicação associada a elevada morbidade e mortalidade, o estudo da associação dos níveis séricos de ácido úrico e a ND, no diabetes tipo 1, seria importante.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

<b>Endereço:</b> Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo	<b>CEP:</b> 20.551-030
<b>Bairro:</b> Vila Isabel	
<b>UF:</b> RJ	<b>Município:</b> RIO DE JANEIRO
<b>Telefone:</b> (21)2868-8253	<b>Fax:</b> (21)2264-0853
	<b>E-mail:</b> cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.440.312

**Objetivo geral:** Determinar a associação entre níveis séricos de ácido úrico e o desenvolvimento de nefropatia diabética em uma coorte multicêntrica de pacientes DM1 no Brasil.

**Objetivo Secundário:**

Secundário: Determinar a associação de ancestralidade e marcadores genéticos e o desenvolvimento de nefropatia diabética nesses pacientes DM1.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Esse estudo é observacional e não apresenta riscos para a população estudada.

**Benefícios:**

Complicações microvasculares acrescentam elevada morbidade e mortalidade aos pacientes diabéticos tipo 1. O estudo da associação dessas complicações com os níveis séricos de ácido úrico pode ser benéfico, pois trata-se de um fator de risco potencialmente modificável.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo coorte transversal, multicêntrico, com pacientes DM1 (BrazDiab1SG), desenvolvido de 2008 a 2010 em 28 clínicas públicas de atenção secundária e terciária, localizadas em 20 cidades distribuídas nas 5 regiões geográficas brasileiras. Pacientes com duração de doença igual ou maior que 5 anos foram submetidos a rastreamento de complicações crônicas relacionadas ao diabetes: microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia periférica) e macrovasculares (doença arterial coronariana, AVC, doença vascular periférica e pé diabético).

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

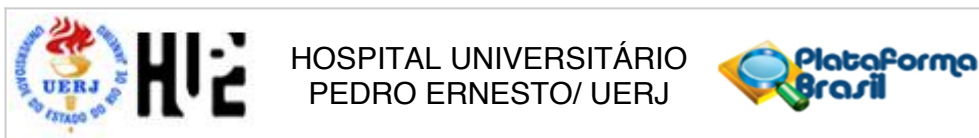
Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos eminentes ao participante de pesquisa envolvido.

**Recomendações:**

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O trabalho pode ser realizado da fora como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO. Para ter

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.440.312

acesso ao PARECER CONSUBSTANCIADO: Clicar na "LUPA" (DETALHAR) - Ir em "DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA ", clicar na opção da ramificação (pequeno triângulo no entrocamento do organograma) de pastas chamada – "Apreciação", e depois na Pasta chamada "Pareceres", o Parecer estará nesse local.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

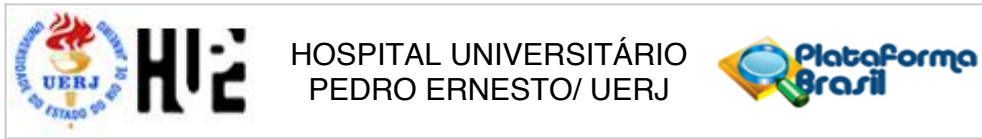
Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: 1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que encaminhe relatórios parciais e anuais referentes ao andamento da pesquisa ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_641752.pdf	27/01/2016 10:19:25		Aceito
Outros	aprovacaoCEPprojetoanterior.docx	21/01/2016 10:39:52	Marcela Haas Pizarro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	justificativaausenciadeTCLE.docx	21/01/2016 10:37:51	Marcela Haas Pizarro	Aceito
Outros	ProjetoCnpq.doc	10/12/2015 07:49:22	Marcela Haas Pizarro	Aceito
Orçamento	orcamento.doc	10/12/2015 07:47:54	Marcela Haas Pizarro	Aceito
Outros	termo.jpeg	10/12/2015 07:47:10	Marcela Haas Pizarro	Aceito
Folha de Rosto	folhaRosto.docx	10/12/2015 07:44:58	Marcela Haas Pizarro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoFinal.docx	08/12/2015 13:26:13	Marcela Haas Pizarro	Aceito

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br





Continuação do Parecer: 1.440.312

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 07 de Março de 2016

---

**Assinado por:**  
**WILLE OIGMAN**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br