



I Sessione

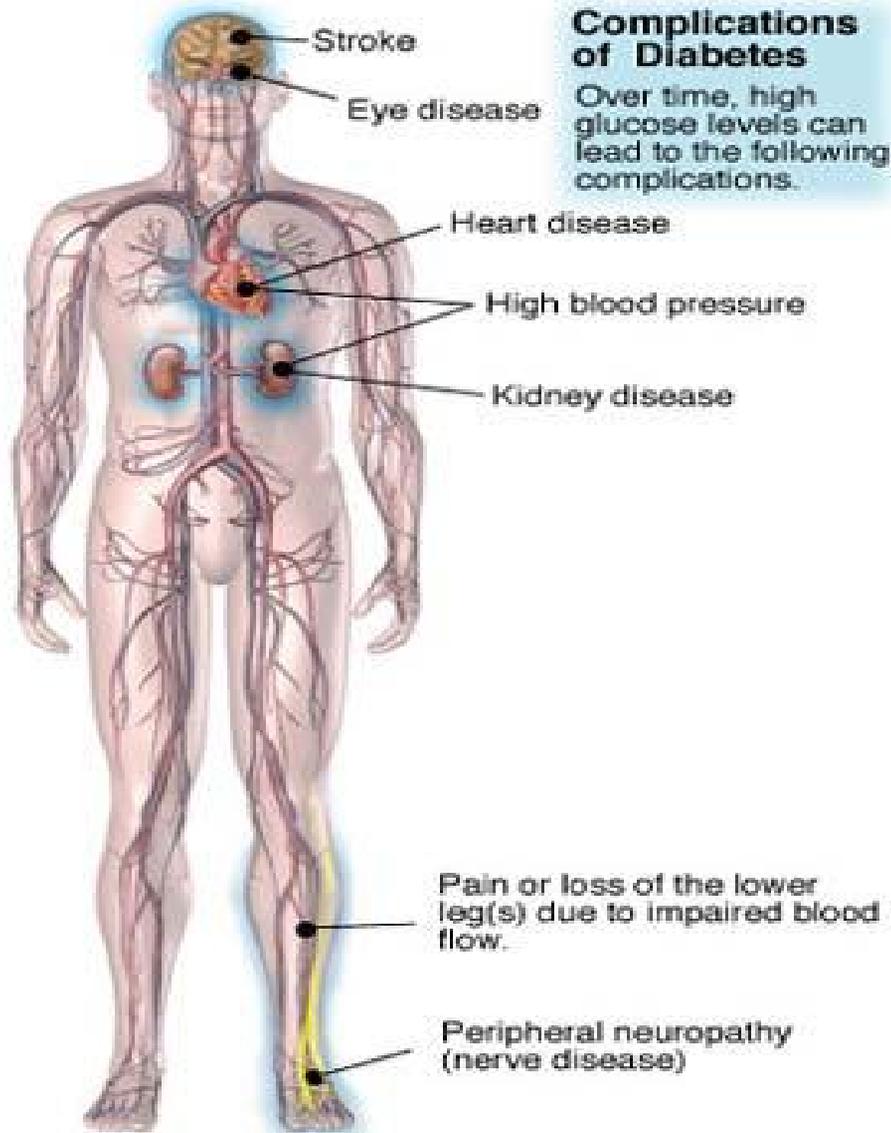
Monitoraggio e prevenzione delle complicanze nel diabete

Moderatori: E. Manzato (*Mantova*), M. Plebani, (*Padova*)

09:00 - 09:30	Presentazione dell'incontro
09:30 - 10:00	Standardizzazione ematologica (<i>G. C. Guidi, Verona</i>)
10:00 - 10:30	Complicanze del diabete mellito (<i>M. Montagnana, Verona</i>)
10:30 - 11:00	Discussione
11:00 - 11:30	Coffee break
11:30 - 12:00	Ruolo dell'emoglobina glicata nel monitoraggio del paziente diabetico (<i>M. Carta, Vicenza</i>)
12:00 - 12:30	Standardizzazione della determinazione dell'emoglobina glicata (<i>A. Mosca, Milano</i>)
12:30 - 13:00	Discussione
13:00 - 14:30	Lunch



1. **Epidemiologia delle complicanze diabetiche**
2. **Patogenesi delle complicanze diabetiche**
3. **Ruolo del laboratorio nella gestione delle complicanze diabetiche**



Macrovascolari

- Cardiopatia ischemica (infarto miocardico, angina, scompenso cardiaco)
- Malattia cerebro-vascolare (ictus, TIA)
- Arteriopatia periferica (gangrena, amputazioni)

Microvascolari

- Retinopatia (cecità)
- Nefropatia (IRC)
- Neuropatia (piede diabetico)
- Complicanze gravidanza (sofferenza fetale, mortalità perinatale)



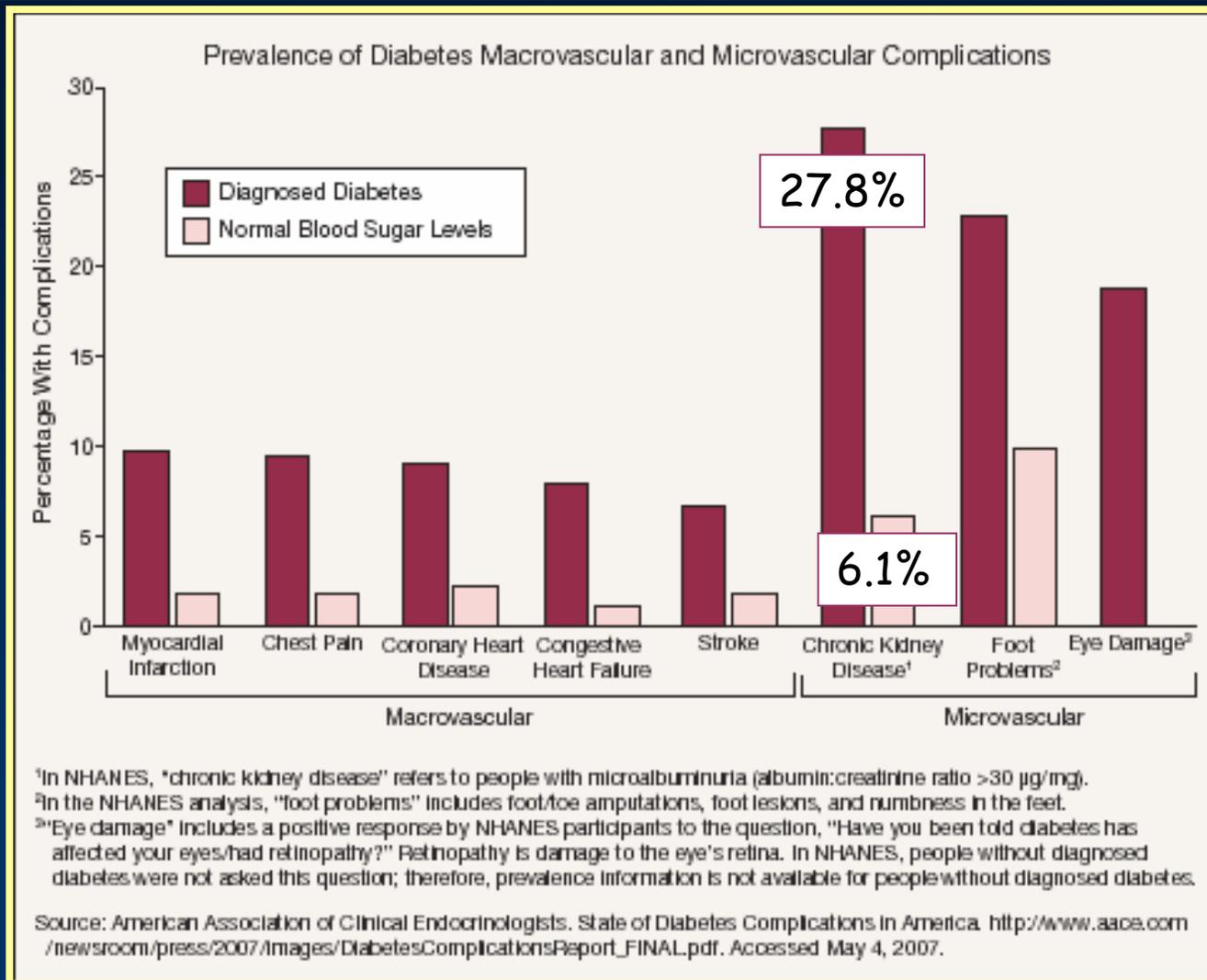
57.9% dei pazienti diabetici sviluppa 1 o più complicanze diabetiche
14.3% 3 o più...



Report Quantifies Diabetes Complications

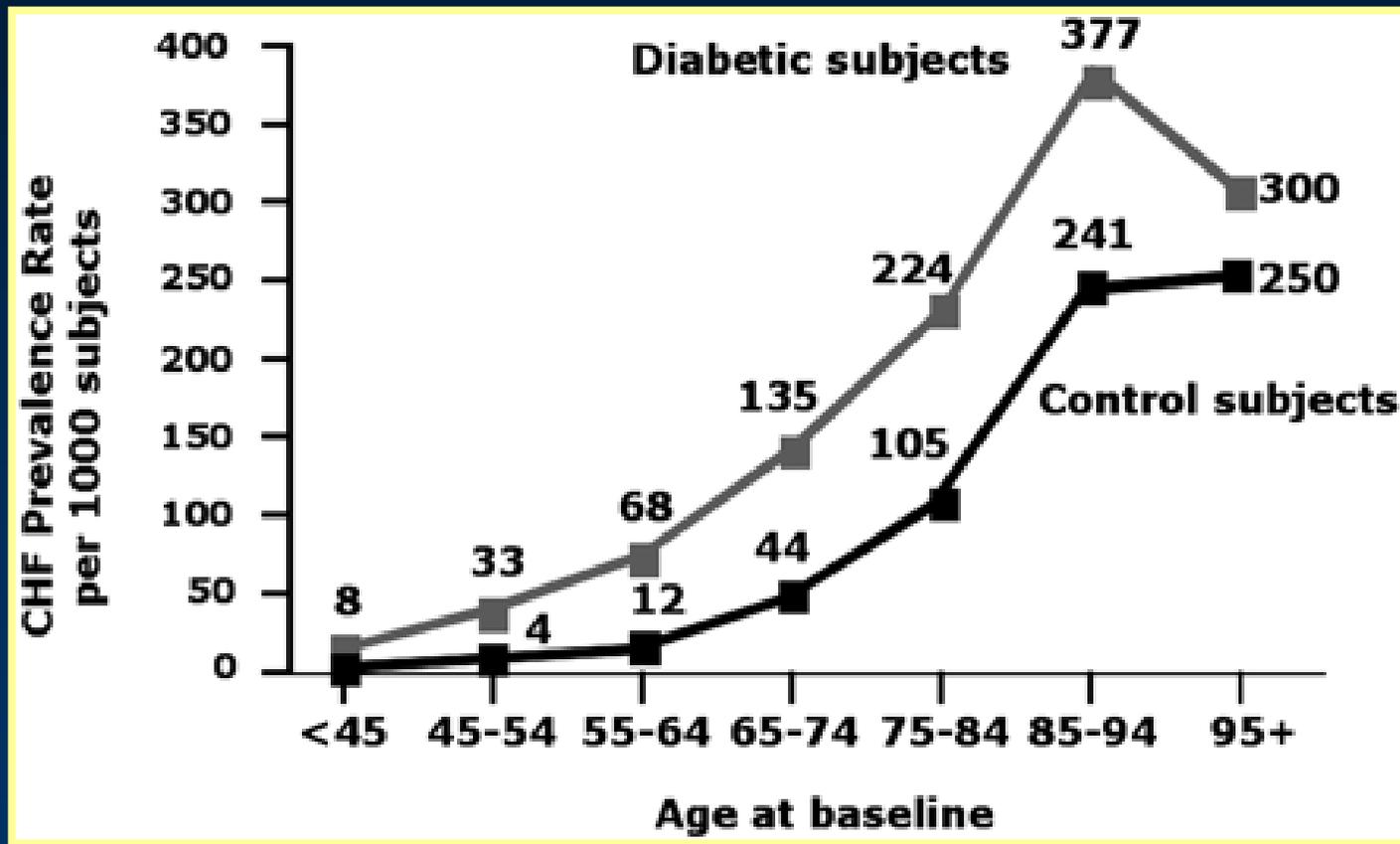
Mike Mitka

JAMA, June 6, 2007—Vol 297, No. 21



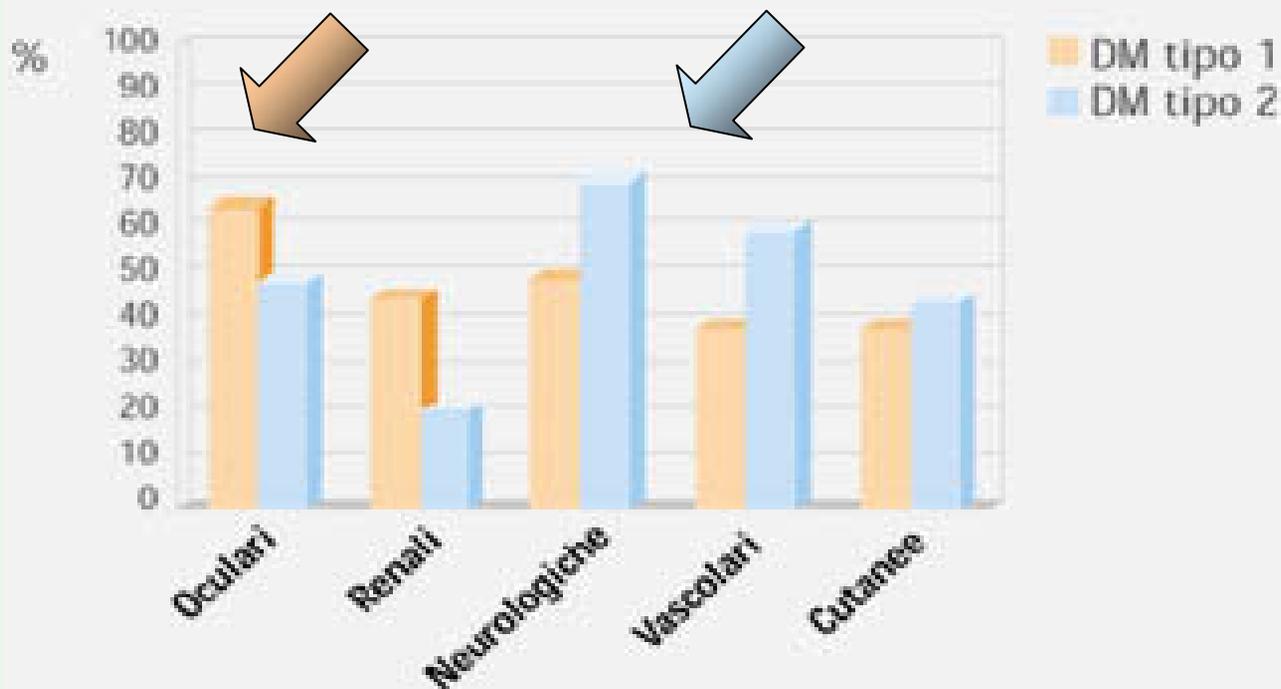


Scompensamento cardiaco



Gilbert RE, Connelly K, Kelly DJ, Pollock CA, Krum H. Heart failure and nephropathy: catastrophic and interrelated complications of diabetes.⁶
Clin J Am Soc Nephrol 2006;1:193-208.

A 10-15 anni dalla diagnosi



Da: Klein et al. *DMHS* 85-1468 (1985); UKPDS Group *Lancet* 352: 837 (1998)

Prevalenza delle complicanze croniche del diabete mellito di tipo 1 e di tipo 2 a 10-15 anni dalla diagnosi



Table 18 Direct medical costs for patients with type 2 diabetes in eight European countries and percentage of healthcare expenditure in the respective countries (1998)⁷⁰⁶.

Country	Total costs (million €)	Cost per patient (€)	Cost of healthcare expenditure (%)
Belgium	1 094	3295	6.7
France	3 983	3064	3.2
Germany	12 438	3576	6.3
Italy	5 783	3346	7.4
The Netherlands	444	1889	1.6
Spain	1 958	1305	4.4
Sweden	736	2630	4.5
UK	2 608	2214	3.4
All countries	29 000	2895	5.0



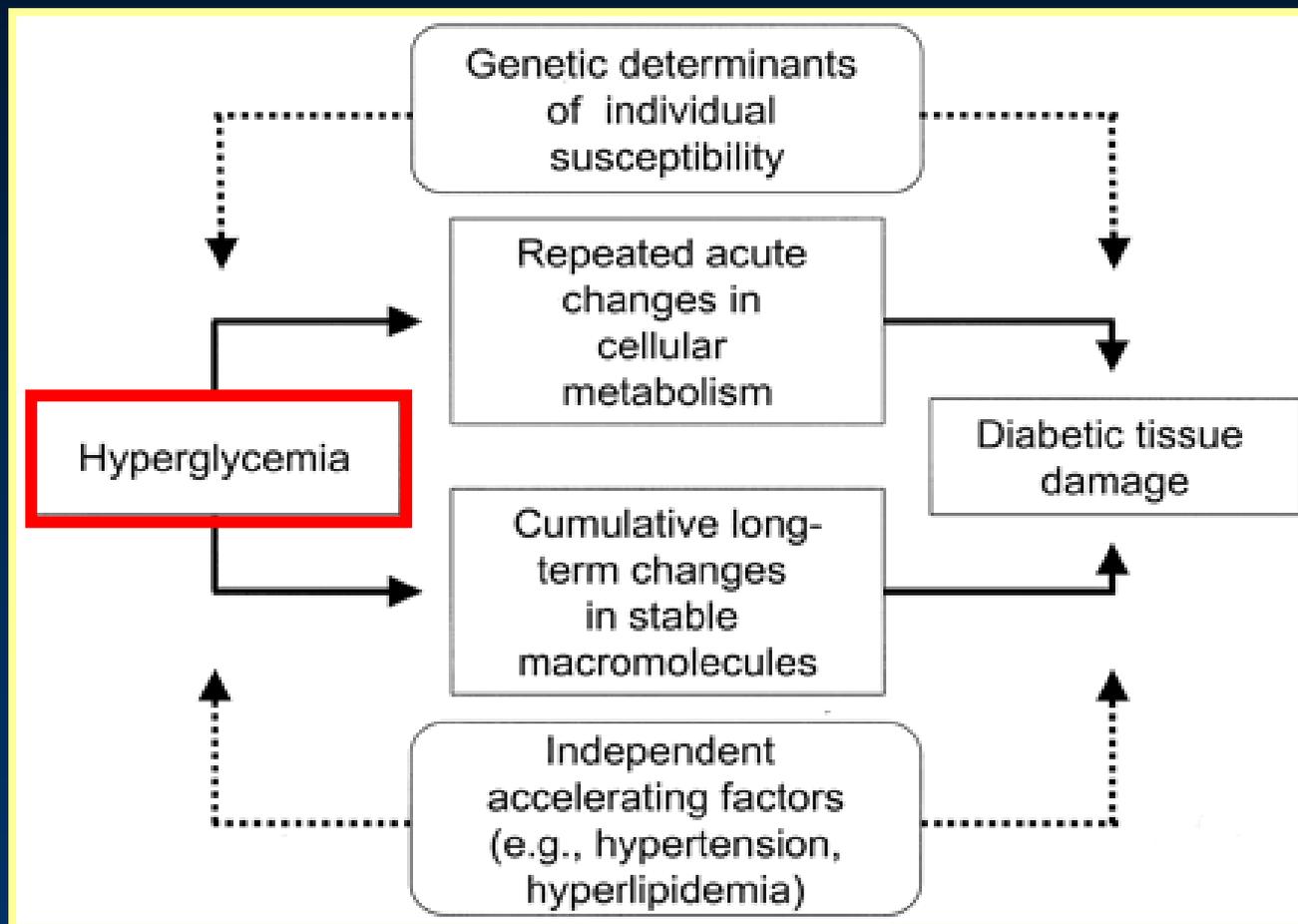
The results from the CODE-2 study show that the main cost-driver in diabetes is not the disease as such or the treatment of diabetes, but rather the complications caused by diabetes. In the study, patients were divided into complication free, having microvascular complications only, having macrovascular complications only, or having both macro- and microvascular complications. In these three groups, the relative costs were 1.7, 2.0, and 3.5 times higher than the costs among patients without complications.⁷⁰⁷ The

ESC and EASD Guidelines



2. Patogenesi

- iperglicemia
- insulino-resistenza



How do these diverse microvascular and macrovascular pathologies all result from hyperglycaemia?

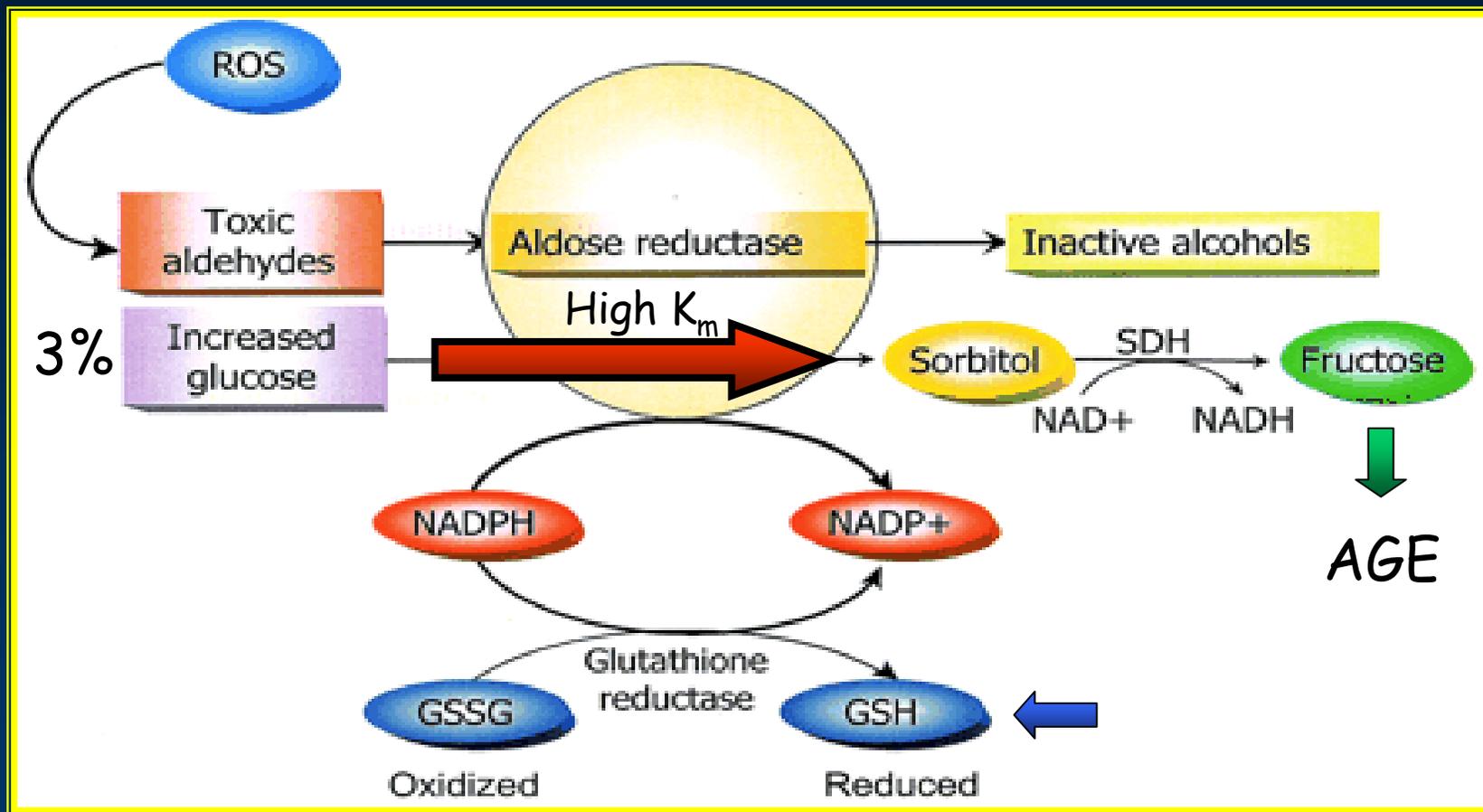


l'iperglicemia determina



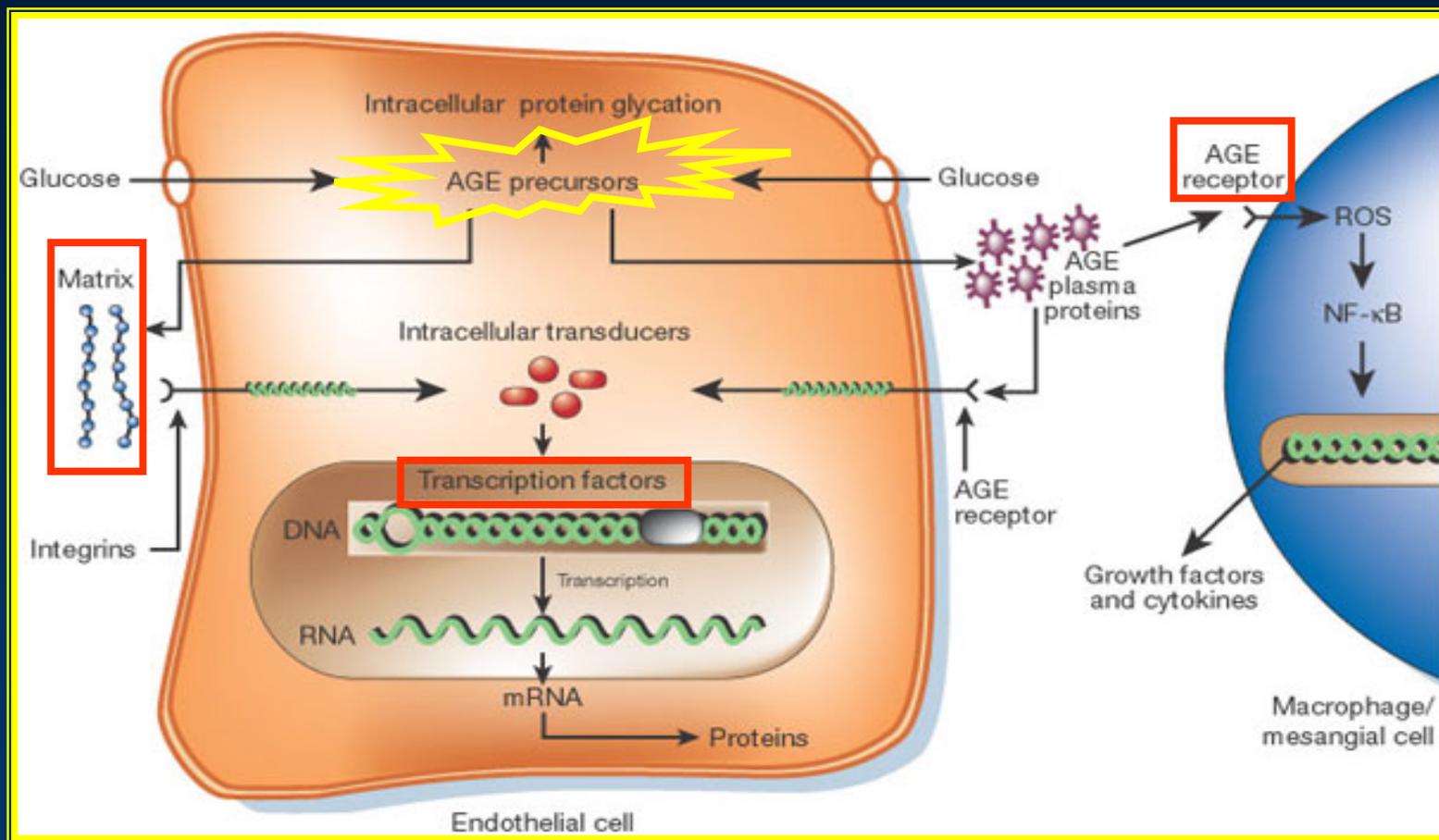
1. Aumentato flusso attraverso la via dei polioli
2. Aumentata produzione di precursori AGE
3. Aumentato flusso attraverso la via dell'esosamina
4. Aumentata attivazione di protein chinasi C (PKC)

1. Aumentato flusso attraverso la via dei polioli



(Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001;414:813-820)

2. Aumentata produzione di AGE



(Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-820)



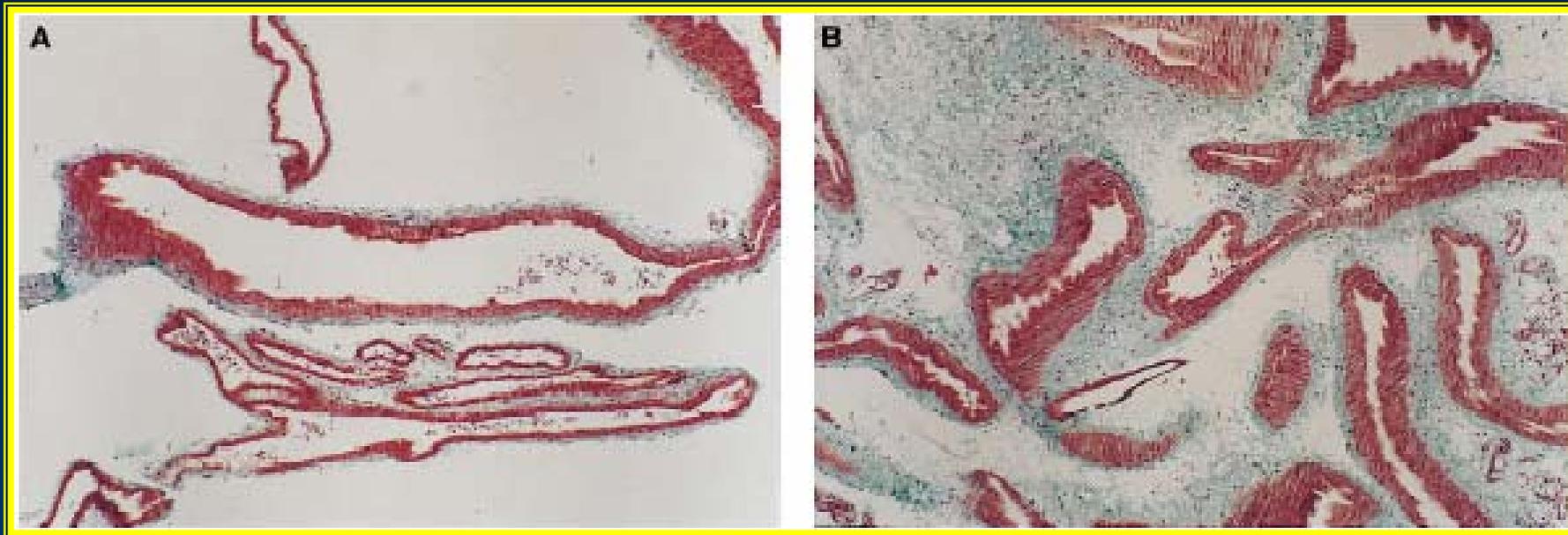
AGE



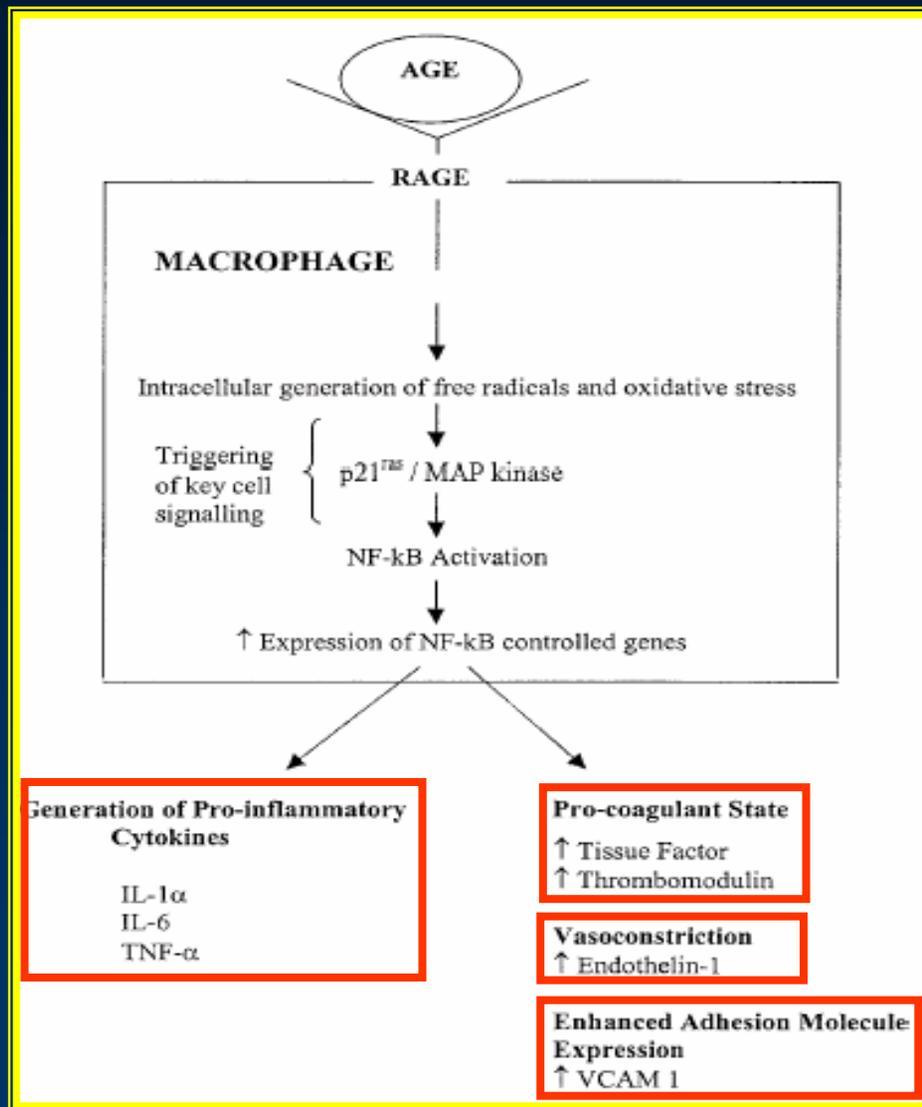
TGFβ



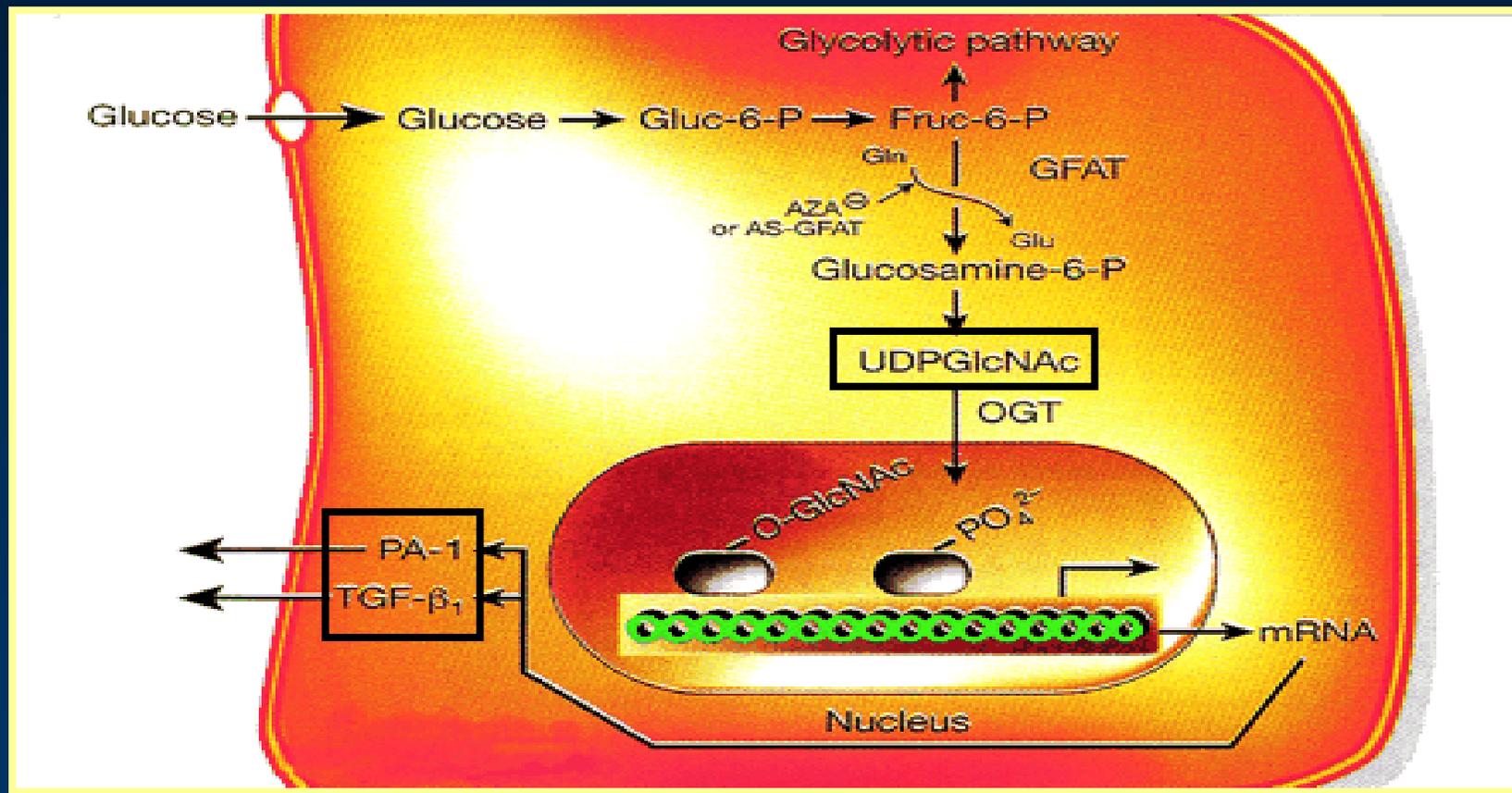
Proliferazione
collagene tipo IV



Rumble JR, et al. Vascular hypertrophy in experimental diabetes. Role of advanced glycation end products. *J Clin Invest* 1997;99:1016-27.



3. Aumentato flusso attraverso la via dell'esosamina



(Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001;414:813-820)



Role of protein *O*-linked *N*-acetyl-glucosamine in mediating cell function

Group	Protein	Cell/tissue	Modified by <i>O</i> -GlcNAc	Effect of increased <i>O</i> -GlcNAc
<i>Transcription factors</i>				
	Sp1	NRVM*	Yes	Increased activity
	Sp1	Mesangial cells	Yes	Increased activity
	Mef-2	NRVM	No	Reduced expression
	p53	ARVM	Yes	Increased activity
	NF- κ B	Mesangial cells	Yes	Increased activity
<i>Insulin signaling and glucose metabolism</i>				
	IRS1/2	Skeletal muscle	Yes	Impaired insulin signaling
	IRS1/2	HCAEC*	Yes	Impaired insulin signaling
	IR- β	RIN- β *	Yes	Reduced phosphorylation, impaired insulin signaling
	PI3K	HCAEC	Yes	Decreased activity and phosphorylation
	GLUT4	Skeletal muscle,	Possible	Unknown
	GLUT4	Primary adipocytes	Yes	Decreased translocation
	Akt	HCAEC	Not known	Decreased response to insulin
	Akt1	Neuroblastoma cells	Yes	
	Akt2	Primary Adipocytes	Yes	
	GSK3 β	In vitro assay	Yes	Decreased response to insulin
	GSK3 β	RIN- β	Not known	
	GSK3 β	3T3-L1 Adipocytes	No	
	Glycogen Synthase	3T3-L1 Adipocytes	Yes	Reduced activation

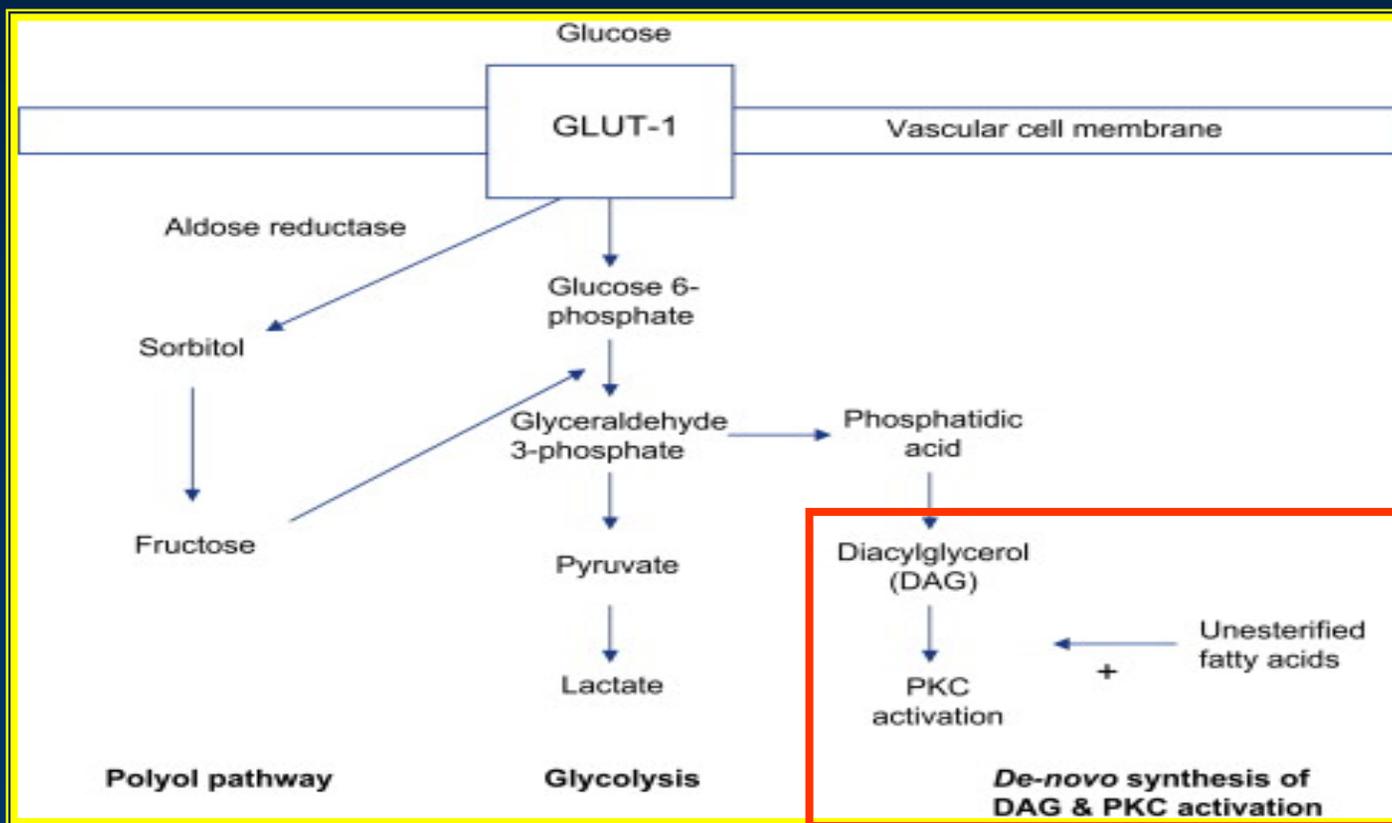
<i>Calcium handling</i>				
	SERCA	NRVM	Not known	Reduced expression
<i>Cytokines</i>				
	PAI-1	Mesangial cells	No	Increased expression
		BAEC	No	Increased expression
	TGF- β	BAEC	No	Increased expression
<i>Other signaling pathways</i>				
	PLC- β 1	C1C12 myotubes	Yes	Decreased activity
	PKC β , δ	Mesangial cells	Not known	Altered translocation and expression
	PKC α , ϵ	SVG cells*	No	Altered translocation

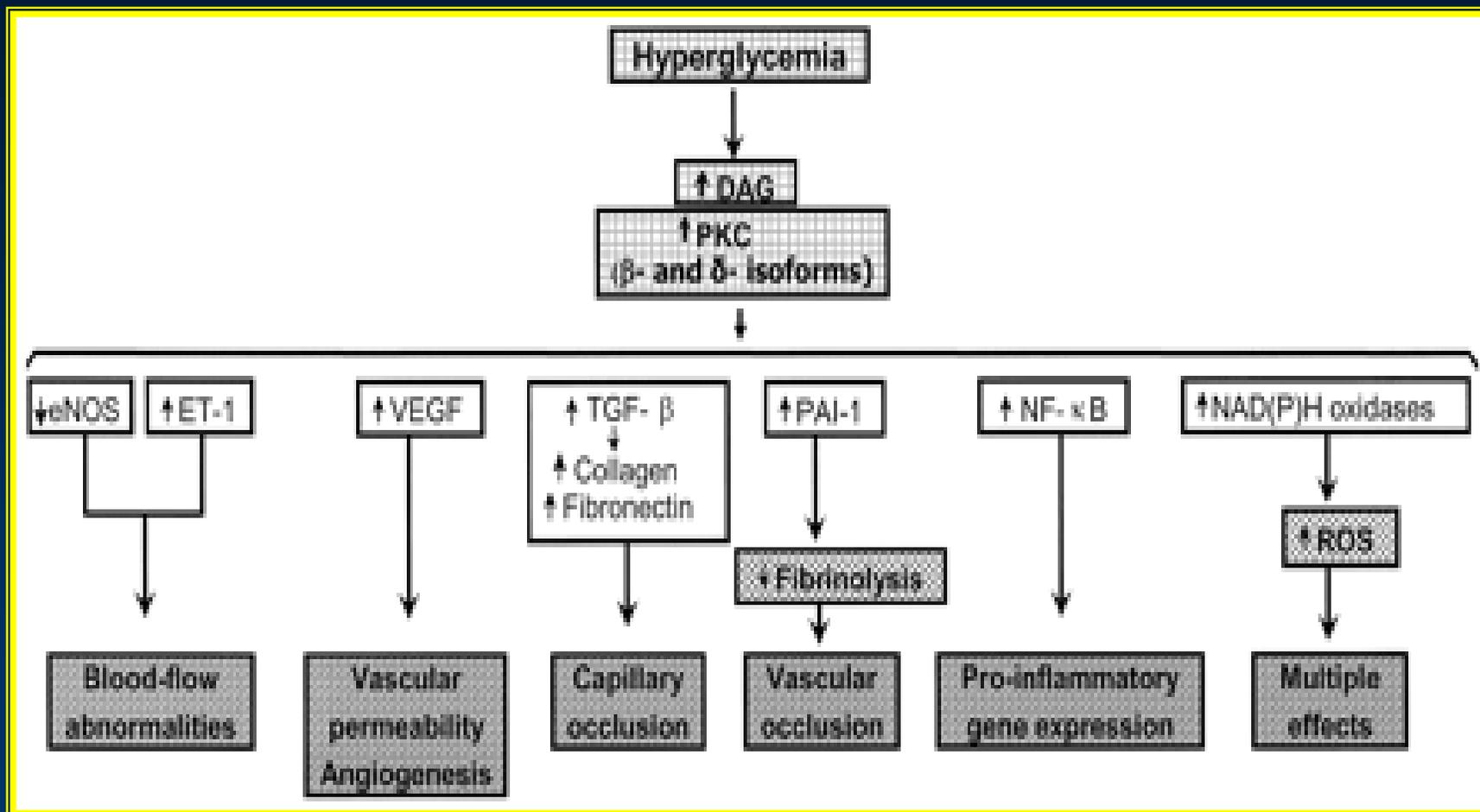


4. Aumentata attivazione di Protein Chinasi C (PKC)

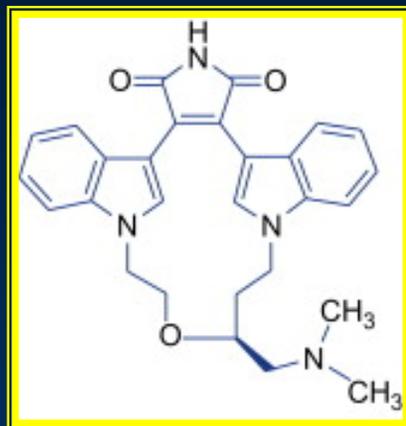
- Le protein-chinasi sono enzimi che catalizzano il trasferimento di un gruppo fosfato dalla molecola di ATP a un gruppo idrossilico sulla serina, treonina o tirosina della molecola bersaglio
- Questo processo di fosforilazione è condizione essenziale per l'attivazione e la funzione delle proteine

L'iperglicemia porta a un aumento del contenuto di diacilglicerolo (DAG) (per nuova sintesi e forse anche per idrolisi della fosfotidilcolina)





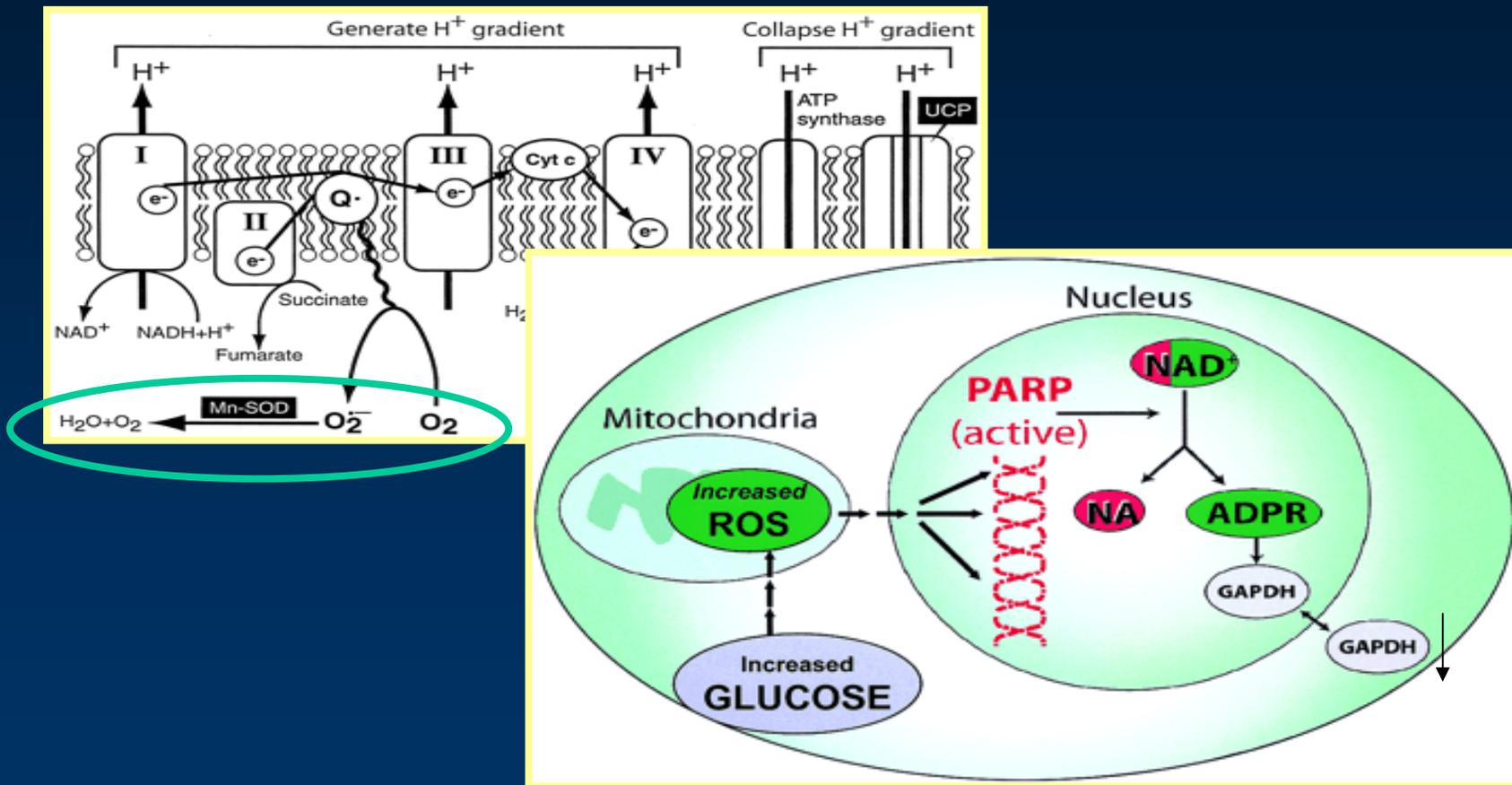
(Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001;414:813-820)



ruboxistaurin mesylate (RBX; LY333531)
Inibitore selettivo della protein chinasi C- β (PKC β)

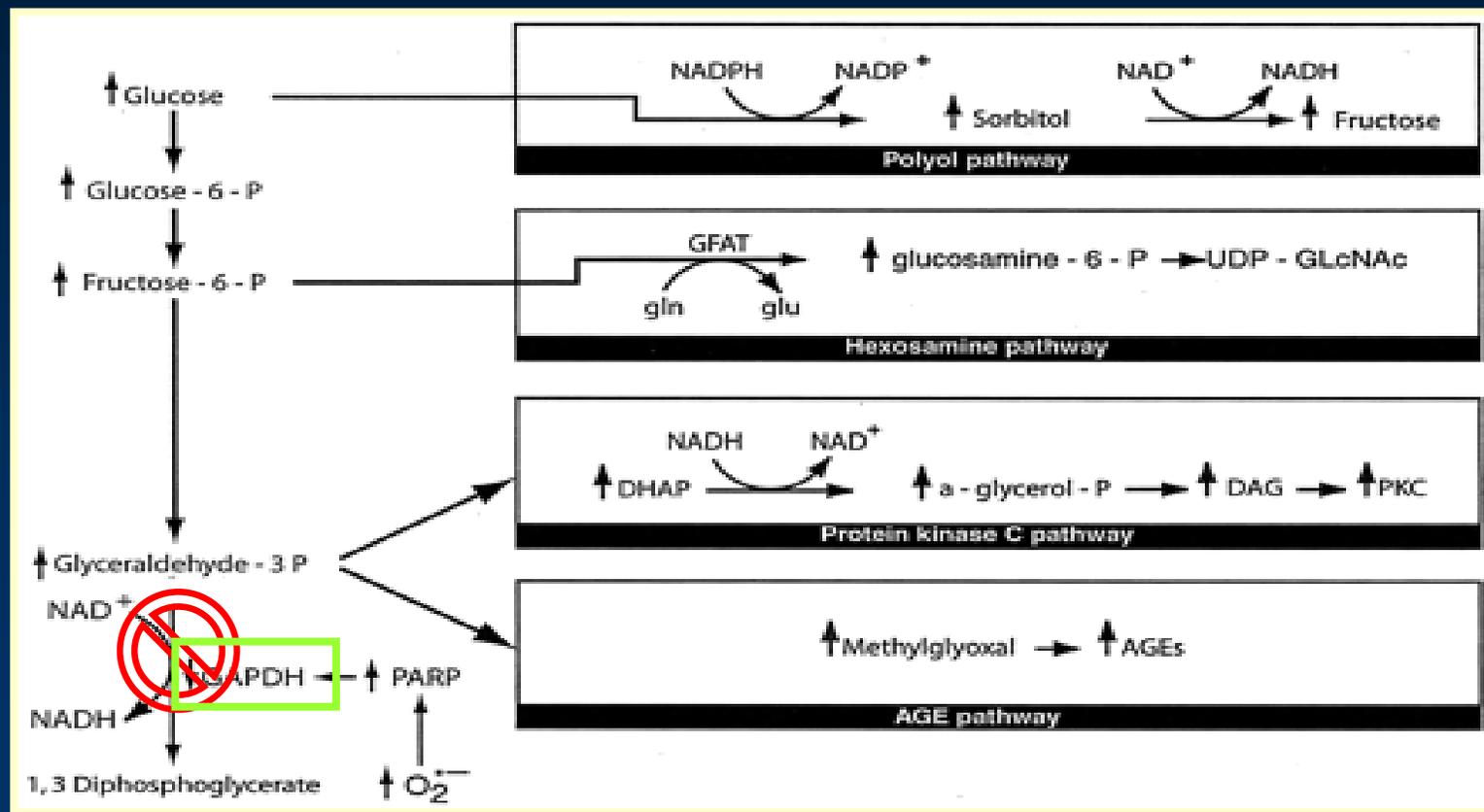
Clarke M, Dodson PM.
PKC inhibition and diabetic microvascular complications.
Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2007;21:573-86.

Iperproduzione di superossido a livello mitocondriale



(From Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001;414:813-820)

Meccanismo attraverso il quale l'iperproduzione di superossido a livello mitocondriale attiva i 4 processi



1

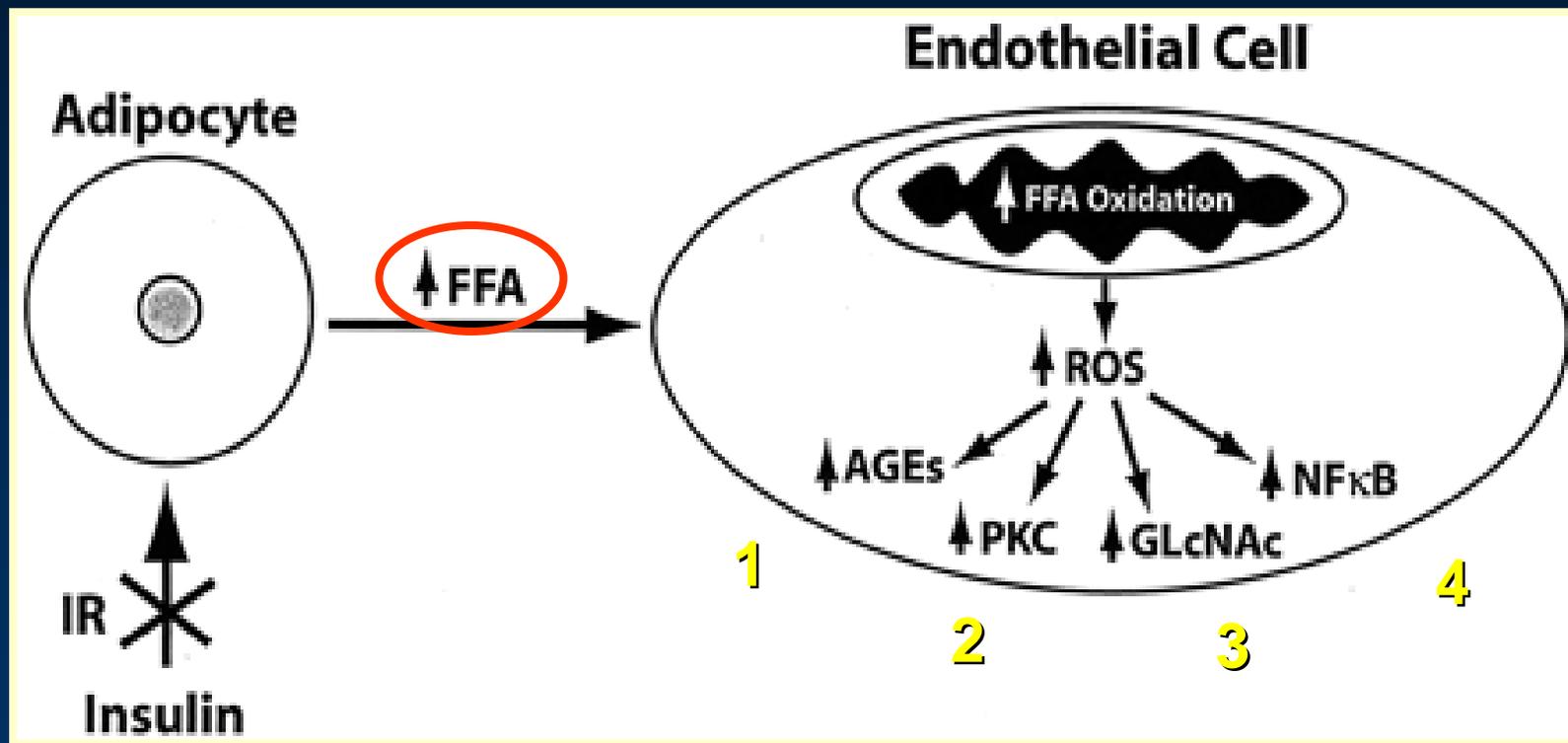
2

3

4

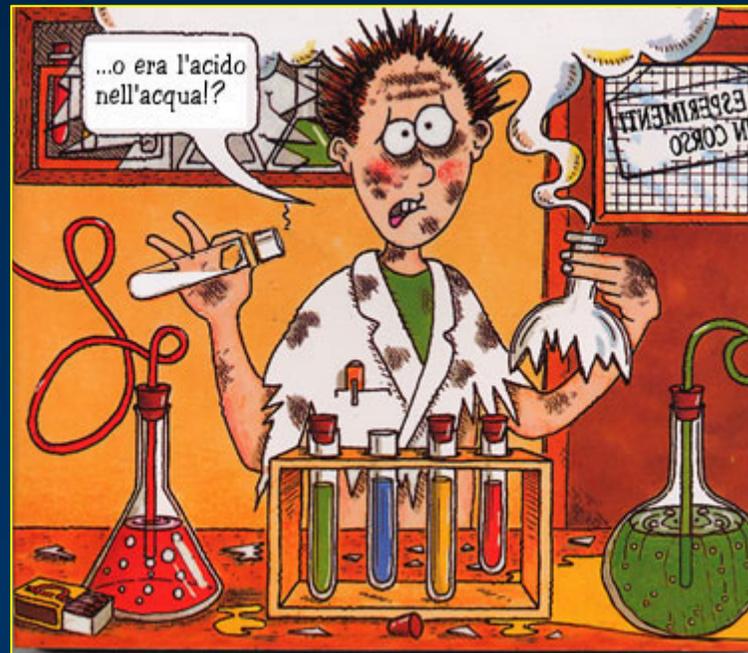
(Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001;414:813-820)

Ruolo dell'insulino-resistenza



(Hofmann S, Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications: a unifying mechanism. In Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text. 3rd ed. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, Eds. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, p. 1441-1457, 2004)

3. Il laboratorio nella gestione delle complicanze diabetiche





**NEPHROPATHY IN PATIENTS WITH
TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

EBERHARD RITZ, M.D., AND STEPHAN REINHOLD ORTH, M.D.



L'incidenza cumulativa di nefropatia diabetica nei Registri Europei si è stabilizzata negli ultimi 20 anni intorno al **20%** a 24 anni

(Tuomilehto J, et al. The unchanging incidence of hospitalization for diabetic nephropathy in a population-based cohort of IDDM patients in Finland. *Diabetes Care* 1997;20:1081-6)

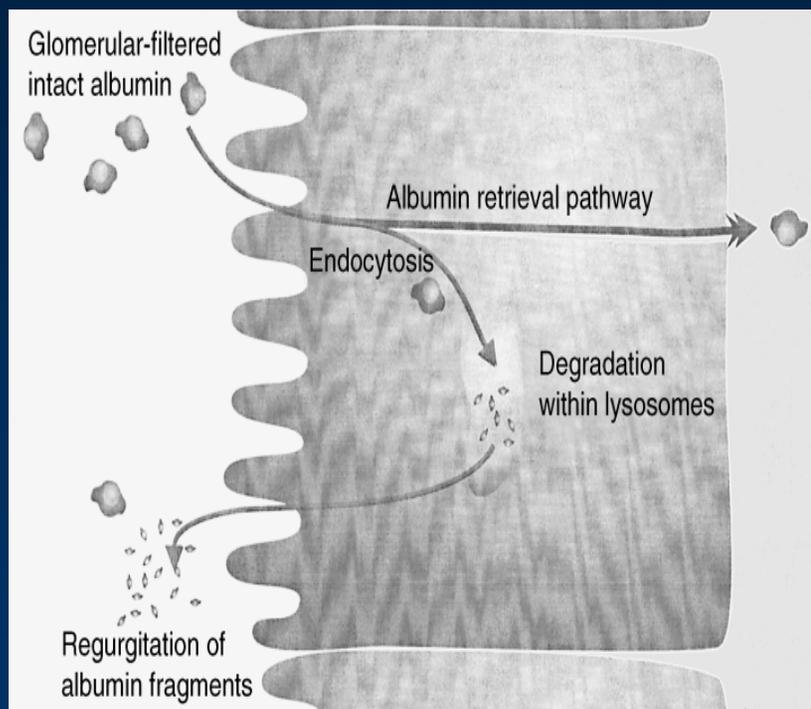


1. "Microalbuminuria"

2. Stima GFR

(3. HbA1C)

Nel soggetto non diabetico:

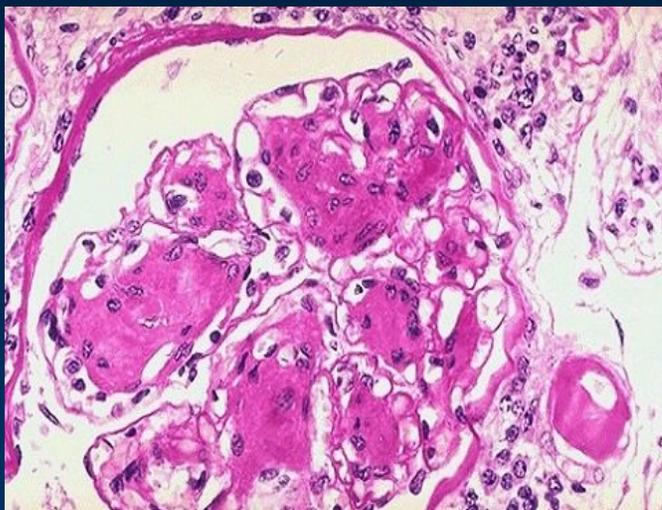


La maggior parte dell'albumina filtrata torna nel sangue intatta.

Solo **<5%** viene degradata dai lisosomi cellulari in piccoli frammenti peptidici (<5000 daltons) che entrano nelle cellule tubulari per essere poi escreti nelle urine.

Questi frammenti non vengono dosati dai comuni metodi immunologici utilizzati per quantificare l'albumina escretata.

Nel diabetico:



- Diminuiti livelli di proteoglicani con conseguente riduzione di cariche negative e ridotta selettività della barriera glomerulare
- Glicosilazione albumina circolante con alterazione della carica della stessa
- Diminuito re-uptake albumina a livello tubulare



MICROALBUMINURIA

Definizione

E' definita "microalbuminuria" la misura della concentrazione di albumina urinaria più bassa di quella associata a glomerulopatia franca, superiore a $20 \mu\text{g}/\text{min}$ ma inferiore a $200 \mu\text{g}/\text{min}$, **in almeno 2 su 3 campioni di urina nell'arco di tempo di 6 mesi**

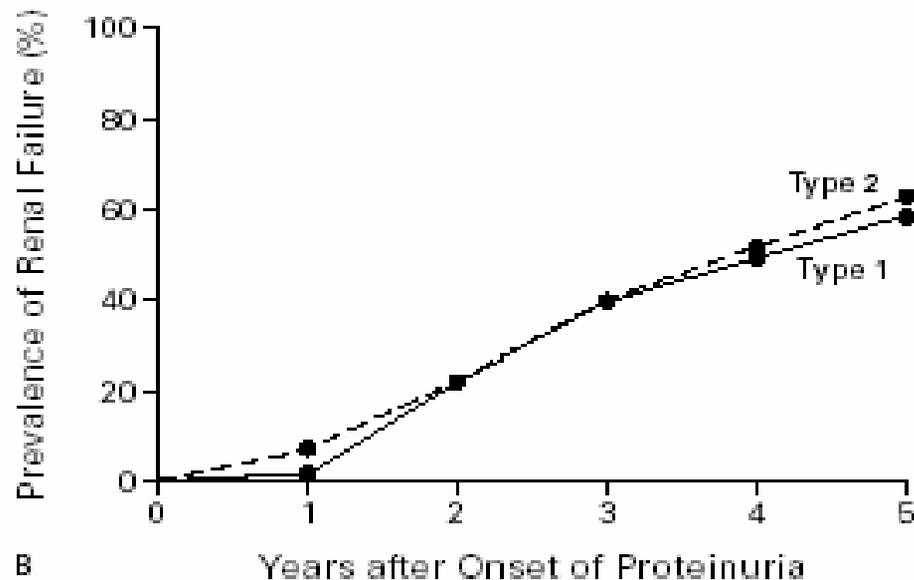
La misura della microalbuminuria si prefigge lo **scopo** di evidenziare abbastanza precocemente lo sviluppo della nefropatia in fase ancora reversibile.



Microalbuminuria and chronic kidney disease. Microalbuminuria predicts increased risk for vascular disease complications (15,17,27,28), as well as for the progression to overt nephropathy, in patients with type 1 or type 2 diabetes.

Bax JJ, et al; ADA.
Screening for coronary artery disease in patients with diabetes.
Diabetes Care
2007;30:2729-36.

Ritz E, et al.
Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.
N Engl J Med 1999;341:1127.





Quando sottoporre i pazienti a screening per Microalbuminuria?

Screening

- Perform **an annual test** for the presence of microalbuminuria in 1) type 1 diabetic patients who have had diabetes >5 years and 2) all type 2 diabetic patients starting at diagnosis. (E)

American Diabetes Association: Nephropathy in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care* 2004;27 (Suppl.1):S79- S83.



Metodi

- 1) lo standard di riferimento è la velocità di escrezione di albumina (AER, Albumin Excretion Rate) su campioni con raccolta temporizzata, espressa come microgrammi di albumina/24 h ($\mu\text{g}/24 \text{ h}$)
- 2) può essere espresso come tasso di escrezione temporizzato (TAER) su campioni di urine raccolte durante la notte (4 h) ed espresso in $\mu\text{g}/\text{min}$

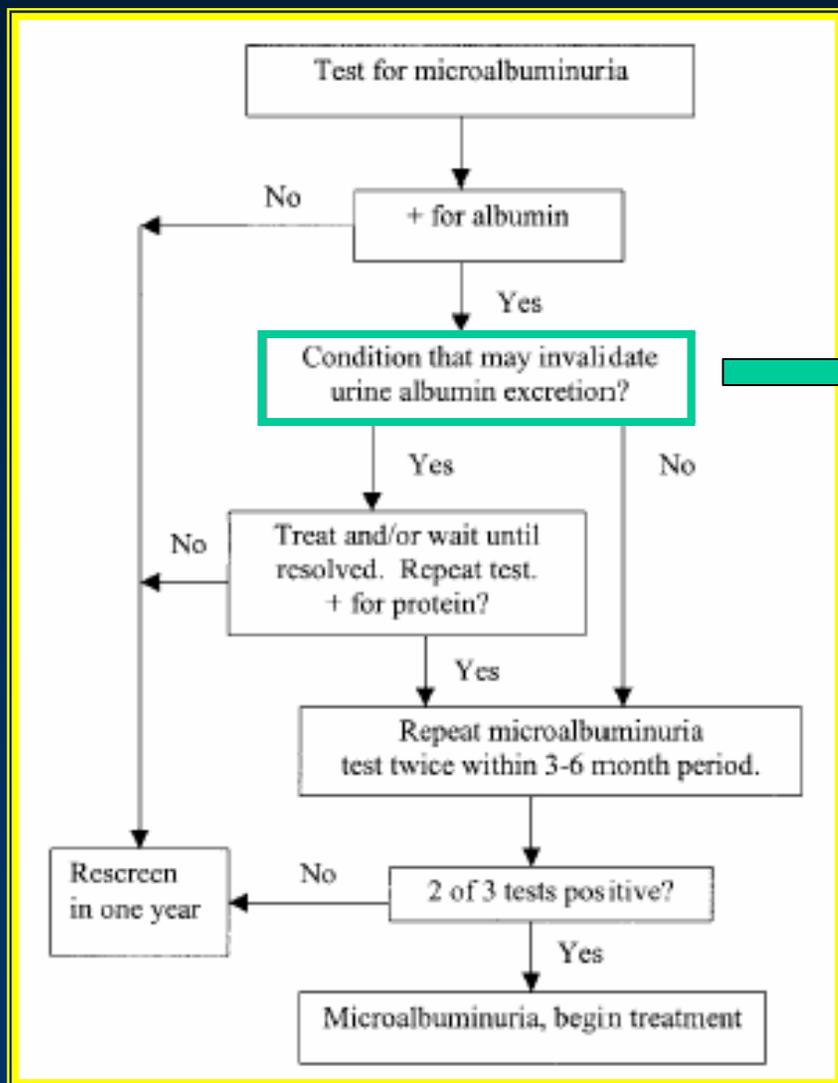


3) per una più rapida valutazione, può essere utilizzata, nel campione **estemporaneo**, la concentrazione di massa dell'albumina urinaria espressa come milligrammi di albumina per litro cioè concentrazione urinaria di albumina (CAU) (mg/L)

Per correggere le variazioni dovute all'equilibrio dei fluidi corporei, tale concentrazione è normalmente riferita alla concentrazione di creatinina urinaria in forma di rapporto albumina/creatinina espresso come microgrammi di albumina per milligrammo di creatinina (RACU)



Category	Spot collection ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)	24-h collection ($\text{mg}/24$ h)	Timed collection ($\mu\text{g}/\text{min}$)
Normal	<30	<30	<20
Microalbuminuria	30–299	30–299	20–199
Clinical albuminuria	≥ 300	≥ 300	≥ 200



- Infezioni urinarie
- Ematuria
- Febbre
- Esercizio fisico intenso
- Ipertensione incontrollata
- Scompenso cardiaco

(Mogensen et al.
Diabetes Care 1995;18:572-81)



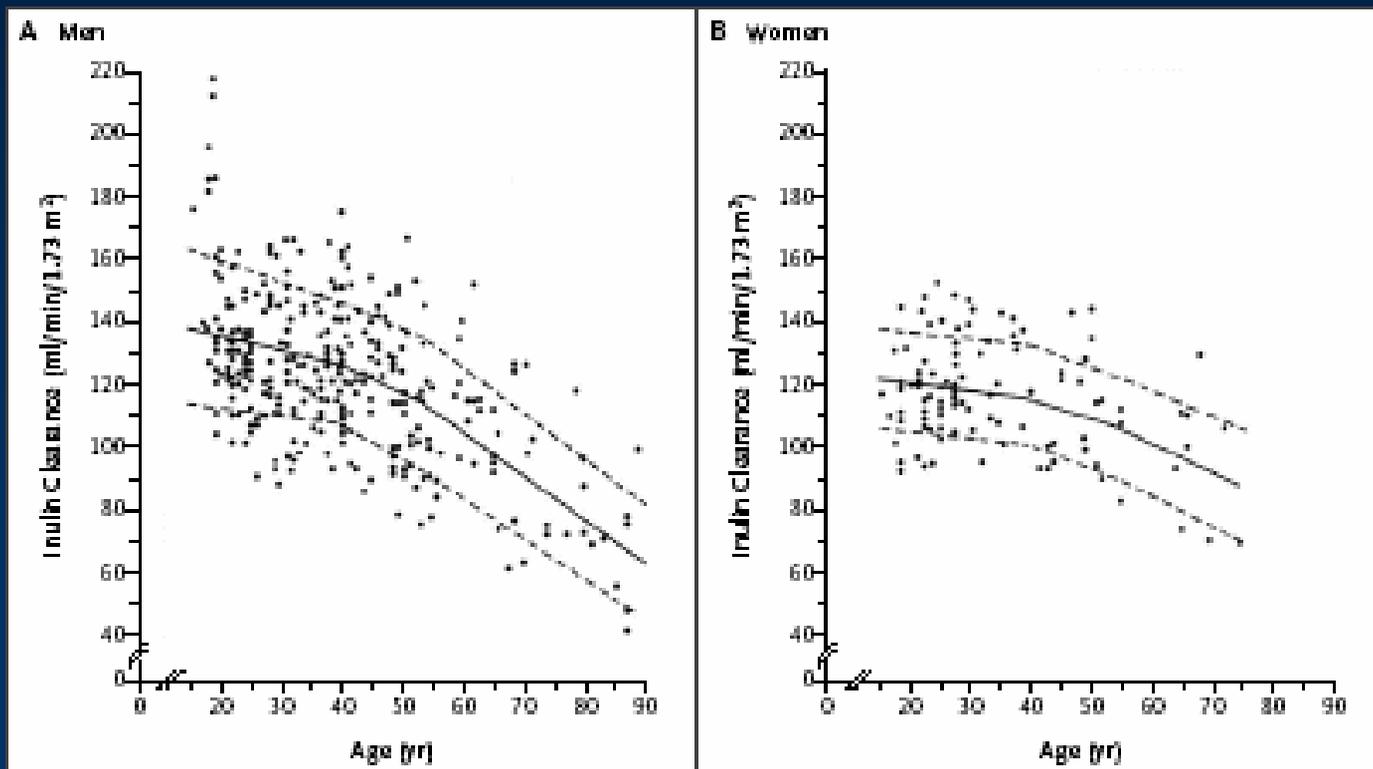
	24-hour	Overnight	First-morning	Random
	Gold standard	Gold standard		
Unità di misura	mg/24h	µg/min	mg/L mg/mmol*	mg/L mg/mmol*
Soglia per la microalbuminuria	30 mg/24h	20 µg/min	20 mg/L 2.5-3.5 (M/F) mg/mmol	20 mg/L 2.5-3.5 (M/F) mg/mmol
Semplicità	no	talvolta	Si	si
Influenza dell' esercizio fisico	si	no	No	si
Variabilità intra-individuale	ampia	moderata	moderata	ampia
Note	Sconveniente per il paziente Bassa compliance	Ideale per monitorare la microalbuminuria	Ideale per lo screening	Possibile uso per lo screening



Monitoraggio funzionalità renale: GFR

130 ml/min/1.73 m² uomo

120 ml/min/1.73 m² donna



Stevens LA et al. N Engl J Med 2006;354:2473-83.



lar risk. GFR is usually accepted as the best overall estimate of kidney function and therefore is commonly used to evaluate onset and progression of kidney disease. This approach

Stage of CKD	Description	GFR mL/min/1.73m ²
1	Kidney damage with normal or increased GFR	≥ 90
2	Kidney damage with mild decrease in GFR	60-89
3	Moderate decrease in GFR	30-59
4	Severe decrease in GFR	15-29
5	Kidney failure	< 15



1. Misura GFR mediante utilizzo di
marcatori di filtrazione esogeni
(EDTA, iotalamato, ecc.)



2. Stima GFR mediante utilizzo di
marcatori di filtrazione endogeni
(Creatinina, Cistatina C)

3. Stima GFR mediante utilizzo di
equazioni
(MDRD, C-G, ..)

Creatinina

- 113 D
- liberamente filtrata dal glomerulo
- secreta a livello del tub. prossimale

Table 2. Factors Affecting Creatinine Generation.*

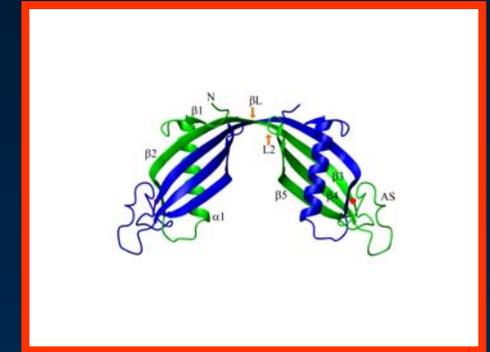
Factor	Effect on Serum Creatinine
Aging	Decreased
Female sex	Decreased
Race or ethnic group†	
Black	Increased
Hispanic	Decreased
Asian	Decreased
Body habitus	
Muscular	Increased
Amputation	Decreased
Obesity	No change
Chronic illness	
Malnutrition, inflammation, deconditioning (e.g., cancer, severe cardiovascular disease, hospitalized patients)	Decreased
Neuromuscular diseases	Decreased
Diet	
Vegetarian diet	Decreased
Ingestion of cooked meat	Increased

* Variation in muscle mass accounts for the predominant proportion of creatinine generation.

† White race served as the reference group.



Cistatina c



- basso p.m. (13 kD)
- filtrata liberamente dal glomerulo
- riassorbita a livello del tubulo prossimale
- catabolizzata dalle cellule tubulari
- concentrazione aumenta con la diminuzione della funzionalità renale
- non risente di variabili fisiologiche (età e massa corporea)



In conclusion, although multiple factors in addition to renal function may influence cystatin C, our study provides convincing evidence that cystatin C may be more useful for detecting early renal impairment in both type 1 and type 2 diabetic patients than are creatinine and commonly employed creatinine-derived formulas. These results are remarkable in light of data suggesting that cystatin C is a useful indicator of the association of mild kidney dysfunction with increased risk for cardiovascular events (38), peripheral arterial disease, heart failure (39), and death (38). Furthermore, recent studies (37, 40) suggest that very early renal failure, instead of or in addition to microalbuminuria, may be considered the early marker of the underlying progressive kidney damage associated with diabetes.

Pucci L et al. Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. *Clin Chem* 2007;53:480-8.



Equazioni

Original Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) 4 variable formula [8]:

$$eGFR = 186 \times [(Scr/88.4)^{-1.154}] \times (age)^{-0.203} \times (0.742 \text{ if female}) \\ \times (1.210 \text{ if African-American})$$

where Scr is serum creatinine concentration ($\mu\text{mol/L}$) and age (year)

Lo scopo è quello di stimare il GFR di una persona basandosi sulla relazione esistente tra il livello sierico di un marcatore (creatinina) e GFR misurato in una popolazione di riferimento

Cystatin C based methods:

$$eGFR\text{-cystatin C} = (86.7/\text{cystatin C})^{-4.2} [25]$$

$$eGFR\text{-cystatin C} = 100/\text{cystatin C} [23]$$

Where cystatin C is measured in mg/L



Original Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) 4 variable formula [8]:

$$eGFR = 186 \times [Scr/88.4]^{-1.154} \times (age)^{-0.203} \times (0.742 \text{ if female})$$

$\times (1.210 \text{ if African-American})$

where Scr is serum creatinine concentration ($\mu\text{mol/L}$) and age (year)

Adjusted MDRD 4 variable formula (creatinine measurements traceable to the IDMS method) [11]:

$$eGFR = 175 \times [Scr/88.4]^{-1.154} \times (age)^{-0.203} \times (0.742 \text{ if female})$$

$\times (1.210 \text{ if African-American})$

where Scr is serum creatinine concentration ($\mu\text{mol/L}$) and age (year)

presentations [9]. One of the main failures of the MDRD equation is that it lacks applicability across the full range of GFR values. For example, the MDRD equation can underestimate GFR in healthy individuals by up to 29% and continues to underestimate GFR in subjects with mild decreases in GFR [10]. Variations in the calibration of creatinine assays between different laboratories also limit the ability of creatinine-based formulas to estimate true GFR without bias. It is hoped that standardisa-

Grazie dell'attenzione....









La proteinuria

Si definisce Proteinuria Clinica la quantità di proteine escrete con le urine in grado di essere rilevata con le strisce reattive impiegate per l'esame urine standard.

Tale quantità corrisponde a 30 mg/dL



Linee guida NKF K/DOQI-2002

- Nella maggior parte dei casi l'impiego delle strisce reattive per il rilievo di una proteinuria è accettabile
- Un paziente con un riscontro positivo deve essere sottoposto a test di conferma con metodo quantitativo entro 3 mesi
- Pazienti con due o più riscontri positivi a distanza di 1 o 2 settimane devono essere considerati affetti da proteinuria persistente
- Il monitoraggio di una proteinuria deve essere eseguito con metodi quantitativi

K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. Am J Kidney Dis 2002;39:576.



Cause più frequenti di errore nella valutazione di routine delle proteine totali urinarie

	Falsi Positivi	Falsi Negativi
Idratazione	La disidratazione incrementa la concentrazione delle proteine nelle urine	Una eccessiva idratazione provoca una diminuzione della concentrazione delle proteine urinarie
Ematuria	L'ematuria aumenta la quantità di proteine nelle urine	
Esercizio fisico	L'esercizio fisico aumenta l'escrezione urinaria di albumina	
Infezioni	L'infezione delle vie urinarie può provocare la produzione di proteine da parte dei microorganismi e da parte delle cellule	
Altre proteine		Queste proteine generalmente non reagiscono con la striscia reattiva
Urine alcaline	Le urine molto alcaline (pH >8) possono reagire con la striscia reattiva per dare una reazione falsamente positiva	



Table 2. Correlations between iGFR and reciprocal of serum cystatin C, reciprocal of serum creatinine, creatinine clearance calculated by the C-G formula, and GFR estimated by the abbreviated MDRD equation, respectively in type 1 and type 2 diabetic patients.

	IGFR		
	All patients (n = 288)	Type 1 diabetes (n = 125)	Type 2 diabetes (n = 163)
1/serum cystatin C, mg/L	$r = 0.857^a$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.912^b$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.852^b$ ($P < 0.0001$)
1/serum creatinine, $\mu\text{mol/L}$	$r = 0.772$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.729$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.744$ ($P < 0.0001$)
Creatinine clearance calculated by the C-G formula, mL/min	$r = 0.750$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.709$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.756$ ($P < 0.0001$)
GFR estimated by the abbreviated MDRD equation, $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (1.73 \text{ m}^2)^{-1}$	$r = 0.806$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.756$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.826$ ($P < 0.0001$)
Comparison between the 4 correlations	= 0.001 3df	< 0.0001 3df	= 0.01 3df

Table 3. Correlations between iGFR and reciprocal of serum cystatin C, reciprocal of serum creatinine, creatinine clearance calculated by the C-G formula, and GFR estimated by the abbreviated MDRD equation, respectively in type 1 and type 2 diabetic patients with normal and reduced renal function.

	IGFR			
	Type 1 diabetes (n = 125)		Type 2 diabetes (n = 163)	
	Reduced GFR <90 (n = 61)	Normal GFR >90 (n = 64)	Reduced GFR <90 (n = 98)	Normal GFR >90 (n = 65)
1/serum cystatin C, mg/L	$r = 0.872$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.590^a$ ($P = 0.0007$)	$r = 0.758$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.650^b$ ($P < 0.01$)
1/serum creatinine, $\mu\text{mol/L}$	$r = 0.754$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.120$ ($P = 0.375$)	$r = 0.804$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.310$ ($P < 0.01$)
Creatinine clearance calculated by the C-G formula, mL/min	$r = 0.683$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.305$ ($P = 0.021$)	$r = 0.753$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.382$ ($P < 0.01$)
GFR estimated by the abbreviated MDRD equation, $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (1.73 \text{ m}^2)^{-1}$	$r = 0.758$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.282$ ($P = 0.0335$)	$r = 0.811$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.442$ ($P < 0.01$)
Comparison between the 4 correlations	NS 3df	0.0227 3df	NS 3df	0.0107 3df



Clearance della Creatinina

- la quantità di sangue che viene depurata dal rene nell'unità di tempo
- presuppone la raccolta delle urine delle 24 ore
- si effettua quindi prelevando un campione ematico ed un campione dalla raccolta totale delle urine.

La formula che si usa è:

$$U * V / P$$

V= la quantità di urine escrete in un minuto = quantità di urine delle 24 ore diviso i minuti di un giorno (1440)

U= concentrazione della creatinina nelle urine in mg/dl

P= concentrazione della creatinina nel sangue in mg/dl



- ✓ la creatinina filtra liberamente a livello glomerulare e non è né riassorbita né metabolizzata a livello renale.
- ✓ A differenza dell'inulina la creatinina può essere però secreta a livello tubulare e questo può portare ad una sovrastima del 10%-20% del GFR.



- Dal punto di vista clinico la CC rappresenta la miglior stima del GFR
- Studi epidemiologici hanno dimostrato **un'associazione importante tra CC e rischio cardiovascolare/mortalità**
(Viazi F, et al. J Hypertens 2006;24:1281-6. //Pitsavos C, et al. Circ J 2007;71:9-14).
- Il problema principale nell'utilizzo della stessa è che richiede un'accurata raccolta delle 24 ore



Table 52. Clinical Situations in Which Clearance Measures May be Necessary to Estimate GFR

Extremes of age and body size

Severe malnutrition or obesity

Disease of skeletal muscle

Paraplegia or quadriplegia

Vegetarian diet

Rapidly changing kidney function

Prior to dosing drugs with significant toxicity that are excreted by the kidneys

K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. Am J Kidney Dis 2002;39:S76.