

# Biomarcadores de lesão renal aguda em pacientes com síndrome nefrótica

Biomarkers of acute kidney injury in patients with nephrotic syndrome

## Autores

Maria Brandão Tavares<sup>1</sup>   
 Caroline Vilas Boas de Melo<sup>2</sup>   
 Paula Neves Fernandes<sup>3</sup>   
 Maria da Conceição Chagas de Almeida<sup>2</sup>   
 Marcia Fernanda dos Santos Melo Carneiro<sup>4</sup>   
 Rilma Ferreira de Souza Santos<sup>5</sup>   
 Marília Bahiense-Oliveira<sup>6</sup>   
 Reinaldo Martinelli<sup>7</sup>   
 Washington LC dos-Santos<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Hospital do Subúrbio, Coordenação de Ensino e Pesquisa, Salvador, BA, Brasil.

<sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, BA, Brazil

<sup>3</sup>Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Medicina, Salvador, BA Brasil.

<sup>4</sup>UNIME, Lauro de Freitas, BA, Brasil.

<sup>5</sup>Hospital Geral Roberto Santos, Nefrologia, Salvador, BA, Brasil.

<sup>6</sup>Nefrovita - Dialysis, Lauro de Freitas, BA, Brasil.

<sup>7</sup>Hospital Português, Salvador, BA, Brasil.

Data de submissão: 03/02/2020.

Data de aprovação: 26/07/2020.

## Correspondência para:

Washington LC dos-Santos  
 E-mail: washington.santos@fiocruz.br

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2020-0021>

## RESUMO

**Introdução:** O surgimento de lesão renal aguda (LRA) em pacientes com síndrome nefrótica (SN) requer diagnóstico imediato e diferenciação entre necrose tubular aguda (NTA) e glomerulonefrite proliferativa. Avaliamos o uso potencial de testes de biomarcadores urinários comerciais no diagnóstico de LRA em pacientes com SN. **Métodos:** Uma estimativa transversal das concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL foi realizada em 40 pacientes com SN: 9 com glomerulopatia proliferativa, sendo 4 com LRA e 31 sem glomerulopatia proliferativa, sendo 15 com LRA. A LRA foi definida usando os critérios da KDIGO.

**Resultados:** A média de idade foi de  $35 \pm 16$  anos. Os principais diagnósticos foram glomerulosclerose segmentar e focal (10, 25%), glomerulopatia membranosa (10, 25%), doença por lesão mínima (7, 18%), nefrite lúpica (6, 15%) e glomerulonefrite proliferativa (3, 8%). Os pacientes com NTA apresentaram níveis mais elevados de KIM-1 urinário ( $P = 0,0157$ ) e NGAL ( $P = 0,023$ ) do que pacientes sem NTA. As concentrações urinárias de KIM-1 ( $P = 0,009$ ) e NGAL ( $P = 0,002$ ) foram maiores em pacientes com LRA do que em pacientes sem LRA. Os níveis urinários de NGAL e KIM-1 foram significativamente maiores em pacientes com NTA sem glomerulonefrite proliferativa do que em pacientes com glomerulonefrite proliferativa ( $P = 0,003$  e  $P = 0,024$ , respectivamente). **Conclusões:** As estimativas de lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL) e molécula de lesão renal 1 (KIM-1) se correlacionaram com sinais histológicos de NTA, e foram capazes de discriminar pacientes com LRA mesmo em condições de SN. Além disso, os níveis urinários de NGAL e KIM-1 podem ser úteis no diagnóstico diferencial de necrose tubular aguda e glomerulonefrite exsudativa em pacientes com síndrome nefrótica.

**Palavras-chave:** Necrose Tubular Aguda; Glomerulonefrite; Molécula de lesão renal 1; Lipocalina-2; Lesão Renal Aguda.

## ABSTRACT

**Introduction:** Emergence of acute kidney injury (AKI) in patients with nephrotic syndrome (NS) requires prompt diagnosis and differentiation between acute tubular necrosis (ATN) and proliferative glomerulonephritis. We studied the potential use of commercial urinary biomarkers' tests in the diagnosis of AKI in patients with NS. **Methods:** A cross sectional estimate of urinary concentrations of KIM-1 and NGAL was performed in 40 patients with NS: 9 with proliferative glomerulopathy, being 4 with AKI and 31 without proliferative glomerulopathy, being 15 with AKI. AKI was defined using the KDIGO criteria. **Results:** The mean age was  $35 \pm 16$  years. The main diagnoses were focal and segmental glomerulosclerosis (10, 25%), membranous glomerulopathy (10, 25%), minimal change disease (7, 18%), lupus nephritis (6, 15%), and proliferative glomerulonephritis (3, 8%). Patients with ATN had higher levels of urinary KIM-1 ( $P = 0.0157$ ) and NGAL ( $P = 0.023$ ) than patients without ATN. The urinary concentrations of KIM-1 ( $P = 0.009$ ) and NGAL ( $P = 0.002$ ) were higher in patients with AKI than in patients without AKI. Urinary NGAL and KIM-1 levels were significantly higher in patients with ATN than in patients with proliferative glomerulonephritis ( $P = 0.003$  and  $P = 0.024$ , respectively). **Conclusions:** Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule 1 (KIM-1) estimates correlated with histological signs of ATN and were able to discriminate patients with AKI even in conditions of NS. Furthermore, urinary levels of NGAL and KIM-1 may be useful in the differential diagnosis of acute tubular necrosis and exudative glomerulonephritis in patients with nephrotic syndrome.

**Keywords:** Kidney Tubular Necrosis, Acute; Glomerulonephritis; Kidney Injury Molecule 1; Lipocalin-2; Acute Kidney Injury.



## INTRODUÇÃO

A lesão renal aguda (LRA) é uma complicação comum em pacientes com síndrome nefrótica, e é relatada em 20% dos adultos com doença por lesão mínima<sup>1</sup>. Chen e colegas (2011) associaram a necrose tubular aguda (NTA) à LRA observada no curso da síndrome nefrótica idiopática<sup>2</sup>. Em um estudo anterior, mostramos que a NTA era comum em pacientes com doença glomerular e que a intensidade da NTA estava correlacionada com a presença de insuficiência renal<sup>3</sup>. Os achados histológicos da NTA, como a perda da borda em escova das células epiteliais tubulares proximais e necrose de células isoladas com simplificação tubular, são tipicamente irregulares, com uma distribuição focal<sup>4</sup>. Por esta razão, as lesões da NTA podem ser mal interpretadas ou negligenciadas no diagnóstico por biópsia de rotina, contribuindo, pelo menos em parte, para a ideia excessivamente enfatizada de que existe uma dissociação entre lesão tubular histológica e insuficiência renal<sup>4,5</sup>.

O surgimento de LRA no curso da síndrome nefrótica requer um diagnóstico diferencial imediato entre NTA e lesões glomerulares proliferativas levando à glomerulonefrite rapidamente progressiva. A NTA geralmente requer medidas de suporte, enquanto as lesões proliferativas podem exigir imunossupressão<sup>6</sup>. Embora as informações clínicas e laboratoriais convencionais possam ser sugestivas em muitos casos, às vezes essas distinções dependem da biópsia renal, que é o padrão ouro para o diagnóstico, embora seja um procedimento invasivo e não disponível em muitos centros. Além disso, foi demonstrado que a síndrome nefrótica exigia mais tempo para se resolver em pacientes com LRA grave, conforme definido pela classificação RIFLE (Risco, Lesão, Perda por Falha e Doença Renal em Estágio Terminal) (Chen et al, 2011)<sup>2</sup>. Esse retardo na resolução da síndrome nefrótica (SN) pode depender da causa subjacente da LRA. Portanto, existe a necessidade de novas ferramentas que permitam o diagnóstico precoce da LRA e o diagnóstico diferencial entre NTA e lesões glomerulares proliferativas como causas de LRA.

Atualmente, os critérios diagnósticos para LRA são definidos pela elevação dos níveis de creatinina sérica e diminuição do débito urinário, embora a creatinina sérica seja um marcador tardio de disfunção renal e não reflita dano renal em alguns casos<sup>7</sup>. Vários novos biomarcadores surgiram, aumentando a perspectiva

do diagnóstico precoce e a previsão do prognóstico de LRA. Existem evidências de que esses biomarcadores também possam indicar o mecanismo da LRA. Por exemplo, os níveis de lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL), uma proteína da superfamília da lipocalina expressa nos rins e liberada na urina em condições isquêmicas e tóxicas, mostraram bom desempenho na previsão de LRA em modelos animais experimentais e em humanos<sup>8,9</sup>. Outro biomarcador promissor é a Molécula de Injúria Renal 1 (KIM-1), uma proteína de membrana do tipo 1 que não é expressa em rins normais, mas é altamente expressa em túbulos proximais após lesão isquêmica e tóxica<sup>10-12</sup>. A KIM-1 possui um ectodomínio que é liberado no lúmen tubular e pode ser mensurado na urina. Embora o desempenho desses biomarcadores tenha sido extensivamente investigado em pacientes de terapia intensiva e cirurgia cardíaca, seu uso no diagnóstico diferencial de LRA em pacientes com síndrome nefrótica ainda requer estudo.

Neste trabalho, avaliamos o uso de testes baseados nas concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL para o diagnóstico de LRA em pacientes com síndrome nefrótica, e examinamos a associação da concentração urinária desses biomarcadores com lesões histológicas compatíveis com NTA ou lesões glomerulares proliferativas.

## MÉTODOS

**Pacientes:** Este foi um estudo transversal no qual revisamos as biópsias e dados clínicos de pacientes com síndrome nefrótica submetidos a biópsias renais durante recidiva ou apresentação inicial nos hospitais de referência para doença renal em Salvador, Bahia, Brasil, entre janeiro de 2012 e dezembro 2013. Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com a presença de NTA definida histologicamente e glomerulonefrite proliferativa, a saber: grupo controle (CON), pacientes sem glomerulonefrite proliferativa nem NTA; grupo necrose tubular aguda (NTA), pacientes com NTA e sem glomerulonefrite proliferativa; e grupo glomerulonefrite proliferativa (GNP), pacientes com glomerulonefrite proliferativa ou presença de lesão em crescente na biópsia renal, independentemente da presença de NTA. Nós estudamos o uso potencial de estimativas urinárias de KIM-1 e NGAL no diagnóstico de LRA em pacientes com síndrome nefrótica, e correlacionamos lesões histológicas de NTA com as concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL.

Todas as biópsias foram examinadas no Instituto Gonçalo Moniz - Fiocruz, Salvador, Brasil. Os casos eram excluídos se as lâminas histológicas não estivessem disponíveis, se a fibrose intersticial fosse estimada em 30% ou mais da área do córtex renal ou se houvesse menos de 7 glomérulos na amostra.

**Dados clínicos:** Os seguintes dados foram obtidos dos formulários de solicitação de biópsia e dos prontuários dos pacientes: idade, sexo, diagnóstico de síndrome nefrótica, creatinina sérica, albumina, colesterol e concentrações de triglicérides, taxa de excreção de proteína na urina de 24 horas e diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica. Os pacientes foram diagnosticados com síndrome nefrótica quando a taxa de excreção de proteínas na urina era superior a 3,5 g/24h associada a edema, hipoalbuminemia e dislipidemia. A LRA foi definida como aumento da creatinina sérica de 0,3 mg/dL ou 1,5x o valor basal, de acordo com a definição de LRA da KDIGO. O valor basal da creatinina foi definido como o valor mais baixo durante o ano anterior. Quando as medidas anteriores não estavam disponíveis, usamos o menor valor de creatinina encontrado durante a hospitalização.

**Análise histológica:** Todas as peças renais foram obtidas por biópsias percutâneas. Elas foram fixadas em solução de Bouin, embebidas em parafina, cortadas em fatias de 2 µm e coradas com hematoxilina e eosina. Um patologista (WLCS) revisou todas as lâminas. A gravidade da NTA foi estimada como a porcentagem do córtex renal que continha túbulos com evidência de necrose recente no exame por microscopia óptica convencional. As seguintes alterações tubulares foram consideradas evidências de NTA recente: dilatação tubular com adelgaçamento do epitélio tubular, acompanhada de cilindros celulares e edema intersticial e presença de marcadores morfológicos de regeneração epitelial, como hiper cromatismo nuclear, mitose e binucleação. Como mostrado anteriormente, mesmo a NTA leve está associada a um risco maior de insuficiência renal. Assim, usamos a extensão da necrose tubular para separar os pacientes em dois grupos: com NTA, 10% ou mais do córtex renal apresentando túbulos necróticos e sem NTA, menos de 10% do córtex renal apresentando túbulos necróticos. A intensidade da fibrose intersticial tubular também foi estimada como uma porcentagem do córtex renal com matriz extracelular aumentada por avaliação visual.

**Medições de KIM-1 e NGAL na urina:** Amostras da urina matinal foram coletadas antes da biópsia renal. Elas foram centrifugadas a 2.000 x g a 4°C, e o sobrenadante foi armazenado em alíquotas de 2 mL a -80°C. As concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL foram medidas por ensaio imunoenzimático (R&D Systems e Bioporto, respectivamente), de acordo com as instruções dos fabricantes. Todas as amostras foram avaliadas em duplicatas.

**Análise estatística:** os dados são relatados como números absolutos ou porcentagens, e estão resumidos em médias, desvios-padrão ou medianas, usando percentis inferior e superior quando apropriado. O desempenho da estimativa de biomarcadores para o diagnóstico de LRA foi avaliado por meio da análise de uma curva característica de operação do receptor (ROC). As comparações entre os grupos foram realizadas com o teste-t ou o teste de Mann-Whitney (não paramétrico), quando aplicável. As diferenças envolvendo proporções foram analisadas pelo teste do qui-quadrado. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos se  $P < 0,05$ . Os dados foram analisados com o software Prism, versão 5.01 (GraphPad, San Diego, CA, EUA), e o software Stata IC (StataCorp LP, College Station, TX, EUA), versão 11.

**Aprovação ética:** O estudo foi realizado de acordo com a resolução nº 196/96 ([http://conselho.saude.gov.br/Web\\_comissoes/conep/arquivos/resolucoes/23\\_out-versao\\_final\\_196\\_ENCEP2012.pdf](http://conselho.saude.gov.br/Web_comissoes/conep/arquivos/resolucoes/23_out-versao_final_196_ENCEP2012.pdf)) e a resolução nº 039/2011 ([http://conselho.saude.gov.br/web\\_comissoes/conep/carta\\_circular/Uso\\_de\\_dados\\_de\\_prontuarios\\_para\\_fins\\_de\\_Pesquisa.pdf](http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/carta_circular/Uso_de_dados_de_prontuarios_para_fins_de_Pesquisa.pdf)) do Conselho Nacional de Saúde, e os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Protocolo nº 188/09 e nº 380/12.

De acordo com essas resoluções, o consentimento informado por escrito foi obtido de todos os pacientes envolvidos no estudo. Os prontuários dos pacientes só foram revisados após aprovação do Comitê de Ética e autorização da Diretoria Clínica do Hospital, conforme requerido pela resolução nº 039/2011. Todos os consentimentos informados são mantidos nos registros do Laboratório de Patologia Estrutural e Molecular - LAPEM, Fiocruz Bahia.

## RESULTADOS

Sessenta e cinco pacientes com síndrome nefrótica submetidos a biópsias renais entre janeiro

de 2012 e dezembro de 2013 foram selecionados aleatoriamente, e dados clínicos e amostras de urina foram coletados antes da biópsia renal. Vinte e cinco pacientes foram excluídos: 20 (30%) tinham mais de 30% de fibrose cortical estimada e 5 (8%) tinham menos de 7 glomérulos na biópsia. Incluímos 40 pacientes, e os dados clínicos e laboratoriais dos três grupos estão apresentados na Tabela 1. A média de idade foi de  $35 \pm 16$  anos e 22 (55%) indivíduos eram do sexo feminino. A hipertensão arterial foi diagnosticada na maioria dos pacientes (27; 68%). Os principais diagnósticos histológicos foram glomerulosclerose segmentar e focal (10; 25%) e glomerulopatia membranosa (10; 25%), seguida de doença por lesão mínima (7; 18%), nefrite lúpica (6, 15%) e glomerulonefrite proliferativa (3; 8%). A amostra foi composta por pacientes com síndrome

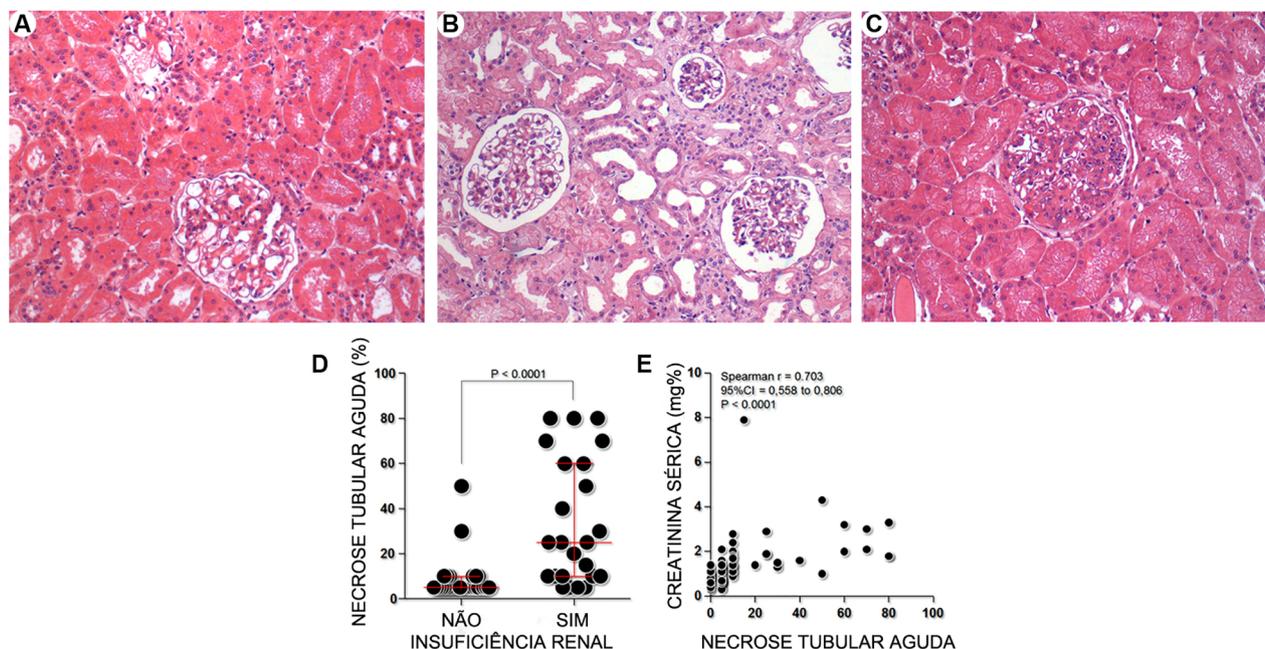
nefrótica, com e sem lesões glomerulares proliferativas (Figuras 1 A-C). A NTA ( $\geq 10\%$  da área cortical renal representada) estava presente em 19 (48%) dos pacientes, cinco dos quais também apresentaram glomerulonefrite proliferativa.

O valor basal da creatinina sérica estava disponível para 31 pacientes, dos quais 19 (59%) apresentavam LRA de acordo com os critérios KDIGO. Em nove pacientes, o valor basal da creatinina não estava disponível. Sete desses nove pacientes tinham concentrações isoladas de creatinina sérica na faixa da normalidade. Quando estimada pela concentração de creatinina sérica isolada no dia da biópsia, 14 (35%) pacientes apresentaram insuficiência renal. A NTA foi associada à insuficiência renal em pacientes com síndrome nefrótica ( $P < 0,0001$ , Figura 1 D) e positivamente correlacionada com a concentração de

**TABELA 1** CARACTERÍSTICAS COMPARATIVAS DOS PACIENTES COM SÍNDROME NEFRÓTICA COM E SEM NECROSE TUBULAR AGUDA COM DOENÇA GLOMERULAR EXSUDATIVA.

Parâmetro	NTA	CON	GNP	Valor de p
N	14/40 (35%)	17/40 (43%)	9/40 (23%)	
Sexo:				
Masculinos	6/14 (43%)	9/17 (53%)	3/9 (33%)	0,718
Femininos	8/14 (57%)	8/17 (47%)	6/9 (67%)	
Idade:				
Média $\pm$ DP	$39 \pm 18$	$37 \pm 16$	$26 \pm 11$	0,066
Intervalo	15–62	14–59	17–53	
Mediana [Intervalo interquartil]	43 [21–52]	35 [21–53]	25 [21–25]	
Creatinina (mg/dL)	$1,5 \pm 0,8$	$1,1 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,7$	0,148
Uréia (mg/dL)	$74 \pm 44$	$61 \pm 46$	$40 \pm 18$	0,185
Albumina (g/dL)	$1,67 \pm 0,28$	$1,88 \pm 0,71$	$2,21 \pm 0,54$	0,092
Colesterol (mg/dL)	$376,8 \pm 137,5^a$	$368,1 \pm 88,02^b$	$224,4 \pm 71,6^{a,b}$	0,009 <sup>a,b</sup>
Proteinúria de 24-horas (mg) mediana [p25-p75]	8399 [3391–15088]	4988 [3276–9040]	2897 [2400–8817]	0,268
HAS	10/14 (71%)	12/17 (71%)	5/9 (56%)	0,753
iECA/BRA	12/14 (86%)	12/16 (75%)	4/9 (44%)	0,128
Drogas anti-hipertensivas	6/14 (43%)	8/16 (50%)	5/9 (56%)	0,847
Diagnóstico:				
DLM	2/14 (14%)	5/17 (29%)		0,371
GSFS	5/14 (36%)	5/17 (29%)		0,371
GNM	3/14 (21%)	7/17 (42%)		0,371
Outros	4/14 (29%)*			
NL			6/9 (67%)	
GPA			3/9 (33%)	

Note: CON = grupo controle, NTA = grupo com necrose tubular aguda, GNP = grupo com glomerulonefrite proliferativa; HAS, hipertensão arterial sistêmica; iECA/ARB, inibidor da enzima conversora de angiotensinogênio /bloqueador de receptor de angiotensina; DLM, doença por lesão mínima; GSFS, glomerulosclerose focal segmentar; GNM, glomerulopatia membranosa; NL, Nefrite Lúpica; GPA, glomerulonefrite proliferativa aguda. \*Outros: Amiloidose (n=1), glomerulonefrite membranoproliferativa (n=1), diagnóstico descritivo (n=2).



**Figura 1.** Padrões histológicos presentes nas biópsias renais dos pacientes avaliados: (A), Doença por Lesões Mínimas sem Necrose Tubular Aguda (NTA). (B), Doença por Lesão Mínima com NTA. (C), Glomerulonefrite aguda pós-infecciosa sem NTA. (H&E x200). (D), Associação de insuficiência renal com necrose tubular aguda em pacientes com síndrome nefrótica (Mann-Whitney test,  $P < 0,0001$ ). (E), Correlação entre necrose tubular aguda e concentrações séricas de creatinina (Spearman,  $r = 0,703$  95% CI = 0,558 a 0,806,  $P < 0,0001$ ).

creatinina sérica ( $r = 0,703$  IC 95% = 0,558 a 0,806,  $P < 0,0001$ ) (Figura 1 E).

Biomarcadores urinários e suas associações com LRA em pacientes com síndrome nefrótica: As concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL na biópsia renal tiveram um bom desempenho para indicar LRA com base nos critérios KDIGO, com uma área sob a curva ROC de 0,8000 (95% CI = 0,6328–0,9672) e 0,8647 (IC 95% = 0,7068–1,0000) respectivamente. As concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL foram maiores nos pacientes com LRA (KIM-1 = 4254 [815–9534] pg/mL e NGAL = 102,4 [33,50–1195] ng/mL) do que em pacientes sem LRA (KIM-1 = 1006 [202–2539] pg/mL,  $P = 0,009$ ; e NGAL = 23,1 [6,6–182,1] ng/mL,  $P = 0,002$ ). Entre os pacientes com glomerulonefrite proliferativa, os critérios KDIGO para LRA foram aplicados em apenas 6 pacientes, sendo que 4 deles apresentavam LRA. Portanto, não foi realizada nova comparação entre esse grupo e o grupo de pacientes com LRA sem glomerulonefrite proliferativa (Tabela 2).

Biomarcadores de urina e suas associações com NTA em pacientes com síndrome nefrótica: Correlações positivas foram observadas entre concentrações urinárias de KIM-1 ( $r = 0,4884$  IC 95% 0,1856 a 0,7065,  $P = 0,0008$ ) e de NGAL (0,5299 IC 95% 0,2290 a 0,7383,  $P < 0,001$ ) com a porcentagem do

córtex renal com lesões histológicas de NTA. Pacientes com NTA  $\geq 10\%$  tinham concentrações mais altas de KIM-1 urinário (4299 [630–9534] pg / mL) e NGAL (126,1 [22,8–1195] ng / mL), em comparação com pacientes sem NTA (KIM-1 = 1508 [202–5308] pg/mL,  $P = 0,0157$ ; e NGAL = 41 [6,4–587,2],  $P = 0,023$ ). As concentrações urinárias de NGAL e KIM-1 foram significativamente maiores em pacientes com NTA sem glomerulonefrite proliferativa do que naqueles com glomerulonefrite proliferativa (NGAL: 146,2 [22,8–1195] vs 48,9 [13,1–287,9],  $P = 0,00324$ ; KIM-1: 4884 [1568–6224] vs 1218 [820–2294],  $P = 0,024$ ).

## DISCUSSÃO

No presente estudo, constatamos que a LRA diagnosticada pelos critérios KDIGO foi frequente em pacientes com síndrome nefrótica. Appel e colegas (2007) relataram LRA em 24 de 95 pacientes adultos com doença por lesão mínima<sup>1</sup>. A LRA já estava presente na apresentação inicial da doença por lesão mínima ou durante uma recidiva<sup>1</sup>. Da mesma forma, usando a classificação RIFLE, Chen e colaboradores (2011) encontraram uma incidência de 34% de LRA em pacientes com síndrome nefrótica idiopática<sup>2</sup>. A frequência de LRA encontrada em nosso estudo foi superior à relatada por Chen e colaboradores (2011). No entanto, como o diagnóstico de insuficiência renal

**TABELA 2** BIOMARCADORES URINÁRIOS PARA LESÃO RENAL AGUDA (LRA) EM PACIENTES COM SÍNDROME NEFRÓTICA: ASSOCIAÇÕES COM NECROSE TUBULAR AGUDA (NTA), GLOMERULONEFRITE PROLIFERATIVA (GNP), E LRA DEFINIDA POR CRITÉRIOS DA KDIGO.

PARÂMETRO	NTA	CON	GNP
<b>NGAL (ng/mL)</b>			
Média ± DP	381,5 ± 445,7 <sup>a</sup>	79,7 ± 149,6	81,9 ± 93,5 <sup>a</sup>
Intervalo	22,8 – 1195	6,35 – 587,2	13,1 – 287,9
Mediana [Intervalo interquartil]	146,2 [84,6 – 765]	41 [8,1 – 80,4]	48,9 [21,8 – 126,3]
<b>KIM-1 (pg/mL)</b>			
Média ± DP	4443 ± 2789 <sup>b</sup>	1967 ± 1543	1951 ± 2121 <sup>b</sup>
Intervalo	630 – 9534	470 – 5378	202 – 6889
Mediana [intervalo interquartil]	4884 [1568 – 6224]	1508 [877 – 2539]	1218 [820 – 2294]
<b>Com/LRA</b>		<b>sem/LRA</b>	
<b>NGAL (ng/mL)</b>			
Média ± DP	301,8 ± 412,5 <sup>c</sup>	43,6 ± 52,7 <sup>c</sup>	
Intervalo	33,5 – 1195	6,6 – 182,1	
Mediana [intervalo interquartil]	102,4 [54,5 – 365,2]	23,1 [11,7 – 61,5]	
<b>KIM-1 (pg/mL)</b>			
Média ± DP	3993 ± 2778 <sup>d</sup>	1226 ± 763 <sup>d</sup>	
Intervalo	815 – 9534	202 – 2539	
Mediana [intervalo interquartil]	4254 [1420 – 5831]	1006 [590 – 2002]	

Nota: CON = grupo controle, NTA = grupo com necrose tubular aguda, GNP = grupo com glomerulonefrite proliferativa; <sup>a</sup>P = 0,0034; <sup>b</sup>P = 0,024; <sup>c</sup>P = 0,002; <sup>d</sup>P = 0,009.

pode ter contribuído para a recomendação da biópsia renal, a alta proporção de casos (59%) relatadas aqui pode ter superestimado a prevalência real da insuficiência renal na população geral de pacientes com síndrome nefrótica <sup>2,1</sup>

Estudos associando os padrões histológicos de NTA, insuficiência renal e biomarcadores urinários para LRA têm sido escassos em humanos. A maior parte do conhecimento neste campo vem de estudos histológicos em modelos animais experimentais, rins transplantados e pacientes em terapia intensiva <sup>13,14</sup>. Alguns autores correlacionaram a expressão de KIM-1 e NGAL em biópsias renais humanas com fibrose intersticial, inflamação e presença de macrófagos e miofibroblastos. Van Timmeren e colaboradores (2007) mostraram que os níveis urinários de KIM-1 estavam correlacionados com a expressão tecidual da molécula e com a presença de macrófagos intersticiais e glomerulares <sup>15</sup>. No entanto, a lesão histológica da NTA não foi avaliada. Como excluímos fibrose túbulo-intersticial substancial da análise, a associação de lesão histológica da NTA com concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL em humanos pôde ser claramente demonstrada. As concentrações urinárias de KIM-1 e NGAL correlacionaram-se bem com LRA

e NTA em pacientes com síndrome nefrótica. As altas concentrações urinárias de biomarcadores de LRA, mesmo em pacientes com apenas 10% do córtex renal com NTA histológica, como mostrado no presente estudo, sugeriram que lesões histológicas leves podem ter um impacto na taxa de filtração glomerular e podem refletir lesões mais extensas.

A maioria dos estudos avaliou o desempenho de NGAL e KIM-1 urinário para prever o diagnóstico e prognóstico de LRA em modelos animais com LRA isquêmica e tóxica, doença crítica e pacientes de cirurgia cardíaca <sup>16</sup>. No entanto, poucos estudos avaliaram o desempenho desses testes em condições de altas concentrações de proteínas na urina. Ogrizovic e colegas (2013) relataram uma correlação inversa entre a expressão tecidual de KIM-1 e a taxa de filtração glomerular estimada anos após a biópsia renal <sup>17</sup>. Diferentemente do nosso estudo, pacientes com rejeição de aloenxerto renal ou com nefropatia diabética e hipertensiva foram incluídos no estudo de Ogrizovic e colegas (2013), e o diagnóstico de LRA não foi avaliado. Além disso, a síndrome nefrótica não estava presente em todos os pacientes em seu estudo <sup>17</sup>. Bennett e colegas (2012) sugeriram que os níveis urinários de NGAL podiam distinguir crianças com

síndrome nefrótica resistente a esteróides porque essas crianças tinham níveis significativamente mais altos de NGAL urinária do que controles e crianças sensíveis a esteróides<sup>18</sup>. Neste estudo, mostramos que as concentrações urinárias estimadas de KIM-1 e NGAL têm potencial uso no diagnóstico de LRA mesmo em condições de síndrome nefrótica. Nenhuma etapa adicional de precipitação de albumina foi necessária para realizar os testes usando kits comerciais.

As concentrações urinárias de NGAL e KIM-1 foram maiores em pacientes com NTA associada a glomerulopatia não proliferativa do que em pacientes com glomerulonefrite proliferativa. Estudos anteriores demonstraram indução de NGAL em células epiteliais em condições inflamatórias e, no rim, há expressão precoce de NGAL em células epiteliais do túbulo proximal em lesão de reperfusão isquêmica. Em pacientes com nefrite lúpica, a excreção urinária de NGAL foi preditiva de doença renal com melhor acurácia do que Anti-dsDNA, e as concentrações urinárias de NGAL parecem se correlacionar com a atividade da doença, e ficam elevadas nas crises renais<sup>19</sup>. Em modelo experimental de nefrite mediada por anticorpos, a falta de NGAL foi associada a lesão histopatológica atenuada e disfunção renal. No entanto, Eller e colegas (2013) descobriram que a NGAL fornece efeito protetor na nefrite nefrotóxica murina, induzindo apoptose de células inflamatórias; portanto, o papel da NGAL na patogênese das doenças renais não está bem elucidado<sup>20</sup>. A ausência de expressão de KIM-1 no rim normal e a expressão dessa proteína em células epiteliais do túbulo proximal em lesão renal isquêmica ou tóxica sugere que KIM-1 é um marcador específico de lesão tubular aguda. Van Timmeren et al (2007) demonstraram que as concentrações urinárias de KIM-1 são significativamente maiores em pacientes com NTA em comparação com aqueles com outras doenças renais<sup>15</sup>. A expressão de KIM-1 foi associada à fibrose intersticial em pacientes com doenças glomerulares, no entanto, em nosso estudo, pacientes com fibrose substancial na biópsia renal foram excluídos e houve correlação positiva entre a intensidade histológica da NTA e as concentrações urinárias de KIM-1. Portanto, as concentrações urinárias mais altas de NGAL e KIM-1 em pacientes com NTA em comparação com pacientes com glomerulonefrite proliferativa neste estudo podem ser atribuídas a lesão tubular mais grave no grupo NTA, e não a uma expressão sub-regulada de NGAL e KIM-1 em

pacientes com glomerulonefrite proliferativa. Além disso, estudos prospectivos com maior número de pacientes podem indicar pontos de corte potenciais para concentrações de biomarcadores urinários com uso potencial no diagnóstico diferencial entre NTA isolada e glomerulonefrite proliferativa como causa de LRA em pacientes com síndrome nefrótica.

Finalmente, embora a LRA tenha sido considerada uma complicação incomum da síndrome nefrótica, estudos recentes demonstraram que a LRA é, de fato, comum no curso da síndrome nefrótica idiopática em adultos com anormalidades glomerulares menores. A proteinúria tem sido associada à resposta antioxidante prejudicada, lesão de células epiteliais tubulares e apoptose em modelos animais de necrose tubular<sup>21,22</sup>. Embora as células epiteliais tubulares proximais se regenerem e restaurem a função renal após um episódio de LRA, um estudo epidemiológico recente mostrou que a LRA foi associada a um risco aumentado de progressão da doença renal para estágios avançados<sup>23</sup>. A expressão persistente de KIM-1 também foi implicada na progressão da doença renal<sup>24</sup>. Em um modelo de lesão de isquemia-reperfusão, os genes NGAL e KIM-1 ainda estavam regulados positivamente nos rins 28 dias após a lesão isquêmica e estavam associados à presença de fibrose intersticial, sugerindo que esses marcadores podem indicar a transição de LRA para doença renal crônica<sup>25</sup>. Alterações fenotípicas no epitélio tubular e o trânsito anômalo de moléculas para o compartimento intersticial renal associado à NTA podem contribuir para a progressão da doença. O impacto da NTA no prognóstico da doença glomerular não está estabelecido, e a compreensão dos mecanismos da NTA em pacientes com síndrome nefrótica não proliferativa poderia ajudar a definir estratégias para prevenir a progressão da doença renal para cronicidade. Estudos futuros serão fundamentais para determinar se a alta expressão de biomarcadores de LRA e conseqüentemente a presença de NTA em pacientes com síndrome nefrótica estão associadas a pior prognóstico e com maior risco de progressão da doença glomerular em pacientes com SN.

## CONCLUSÕES

1. NTA é uma causa comum de insuficiência renal em pacientes com síndrome nefrótica;
2. As estimativas da lipocaína associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL) e da molécula de lesão renal 1 (KIM-1) foram correlacionadas com os sinais histológicos de NTA;

3. Os kits comercialmente disponíveis para medição de NGAL e KIM-1 foram capazes de distinguir pacientes com LRA entre pacientes com síndrome nefrótica sem a necessidade de etapas de processamento adicionais;
4. Estudos futuros avaliando as concentrações urinárias de NGAL e KIM-1 podem ser usados para diferenciar a NTA isolada da glomerulonefrite proliferativa;
5. O uso desses marcadores não exclui a necessidade de biópsia renal para o diagnóstico de doença renal em pacientes adultos com síndrome nefrótica.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos às equipes de Nefrologia do Hospital Roberto Santos e do Hospital Ana Nery.

## CONTRIBUIÇÃO DO AUTOR

Maria Brandão Tavares, Caroline Vilas Boas de Melo, Paula Neves Fernandes, Maria da Conceição Chagas de Almeida, Marcia Fernanda dos Santos Melo Carneiro, Rilma Ferreira de Souza Santos, Marília Bahiense-Oliveira, Reinaldo Martinelli, Washington LC dos-Santos contribuíram substancialmente para a concepção ou desenho do estudo; coleta, análise ou interpretação dos dados; redação ou revisão crítica do manuscrito; e aprovação final da versão a ser publicada.

## CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses relacionado à publicação deste manuscrito.

## REFERÊNCIAS

1. Waldman M, Crew RJ, Valeri A, Busch J, Stokes B, Markowitz G, et al. Adult minimal-change disease: clinical characteristics, treatment, and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007 May;2(3):445-53. DOI: <https://doi.org/10.2215/CJN.03531006>
2. Chen T, Lv Y, Lin F, Zhu J. Acute kidney injury in adult idiopathic nephrotic syndrome. *Ren Fail.* 2011;33(2):144-9.
3. Tavares MB, Almeida MCC, Martins RTC, Sousa ACGP, Martinelli R, Santos WLC. Acute tubular necrosis and renal failure in patients with glomerular disease. *Ren Fail.* 2012 Sep;34(10):1252-7. DOI: <https://doi.org/10.3109/0886022X.2012.723582>
4. Solez K, Morel-Maroger L, Sraer JD. The morphology of "acute tubular necrosis" in man: analysis of 57 renal biopsies and a comparison with the glycerol model. *Medicine (Baltimore).* 1979 Sep;58(5):362-76.
5. Rosen S, Stillman IE. Acute tubular necrosis is a syndrome of physiologic and pathologic dissociation. *J Am Soc Nephrol.* 2008 May;19(5):871-5.
6. Rodamilans ME, Barros LL, Carneiro MM, Santos WLC, Rocha PN. Challenges in clinical-pathologic correlations: acute tubular necrosis in a patient with collapsing focal and segmental glomerulosclerosis mimicking rapidly progressive glomerulonephritis. *Ren Fail.* 2010 Aug;32(8):1005-8. DOI: <https://doi.org/10.3109/0886022X.2010.501931>
7. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clin Pract.* 2012;120(4):c179-c84.
8. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Oct;14(10):2534-43.
9. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet.* 2005 Apr;365(9466):1231-8.
10. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002 Jul;62(1):237-44.
11. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004 Mar;286(3):F552-63.
12. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem.* 1998 Feb;273(7):4135-42.
13. Heyman SN, Lieberthal W, Rogiers P, Bonventre JV. Animal models of acute tubular necrosis. *Curr Opin Crit Care.* 2002 Dec;8(6):526-34.
14. Silva DM, Garcia JP, Ribeiro AR, Veronese FJ, Edelweiss MI, Goncalves LF, et al. Utility of biopsy in kidney transplants with delayed graft function and acute dysfunction. *Transplant Proc.* 2007 Mar;39(2):376-7.
15. Van Timmeren MM, Van Den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, Van Goor H, Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *J Pathol.* 2007 Jun;212(2):209-17.
16. Alge JL, Arthur JM. Biomarkers of AKI: a review of mechanistic relevance and potential therapeutic implications. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015 Jan;10(1):147-55.
17. Ogrizovic SS, Bojic S, Basta-Jovanovic G, Radojevic S, Pavlovic J, Stevuljevic JK, et al. Tissue kidney injury molecule-1 expression in the prediction of renal function for several years after kidney biopsy. *Dis Markers.* 2013;35(5):567-72.
18. Bennett MR, Piyaphanee N, Czech K, Mitsnefes M, Devarajan P. NGAL distinguishes steroid sensitivity in idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2012 May;27(5):807-12.
19. Yang CC, Hsieh SC, Li KJ, Wu CH, Lu MC, Tsai CY, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a potential biomarker for renal damage in patients with systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:759313.
20. Eller K, Schroll A, Banas M, Kirsch AH, Huber JM, Nairz M, et al. Lipocalin-2 expressed in innate immune cells is an endogenous inhibitor of inflammation in murine nephrotoxic serum nephritis. *PLoS ONE.* 2013 Jul;8(7):e67693.
21. Liu WJ, Luo MN, Tan J, Chen W, Huang LZ, Yang C, et al. Autophagy activation reduces renal tubular injury induced by urinary proteins. *Autophagy.* 2014 Feb;10(2):243-56.
22. Granqvist A, Nilsson UA, Ebfors K, Haraldsson B, Nyström J. Impaired glomerular and tubular antioxidative defense mechanisms in nephrotic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010 Oct;299(4):F898-904.
23. Amdur RL, Chawla LS, Amodeo S, Kimmel PL, Palant CE. Outcomes following diagnosis of acute renal failure in U.S. veterans: focus on acute tubular necrosis. *Kidney Int.* 2009 Nov;76(10):1089-97. DOI: <https://doi.org/10.1038/ki.2009.332>
24. Humphreys BD, Xu F, Sabbisetti V, Grgic I, Naini SM, Wang N, et al. Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *J Clin Invest.* 2013 Sep;123(9):4023-35.
25. Ko GJ, Grigoryev DN, Linfert D, Jang HR, Watkins T, Cheadle C, et al. Transcriptional analysis of kidneys during repair from AKI reveals possible roles for NGAL and KIM-1 as biomarkers of AKI-to-CKD transition. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010 Jun;298(6):F1472-83.