



e-book

Biomarcadores na Nefrologia

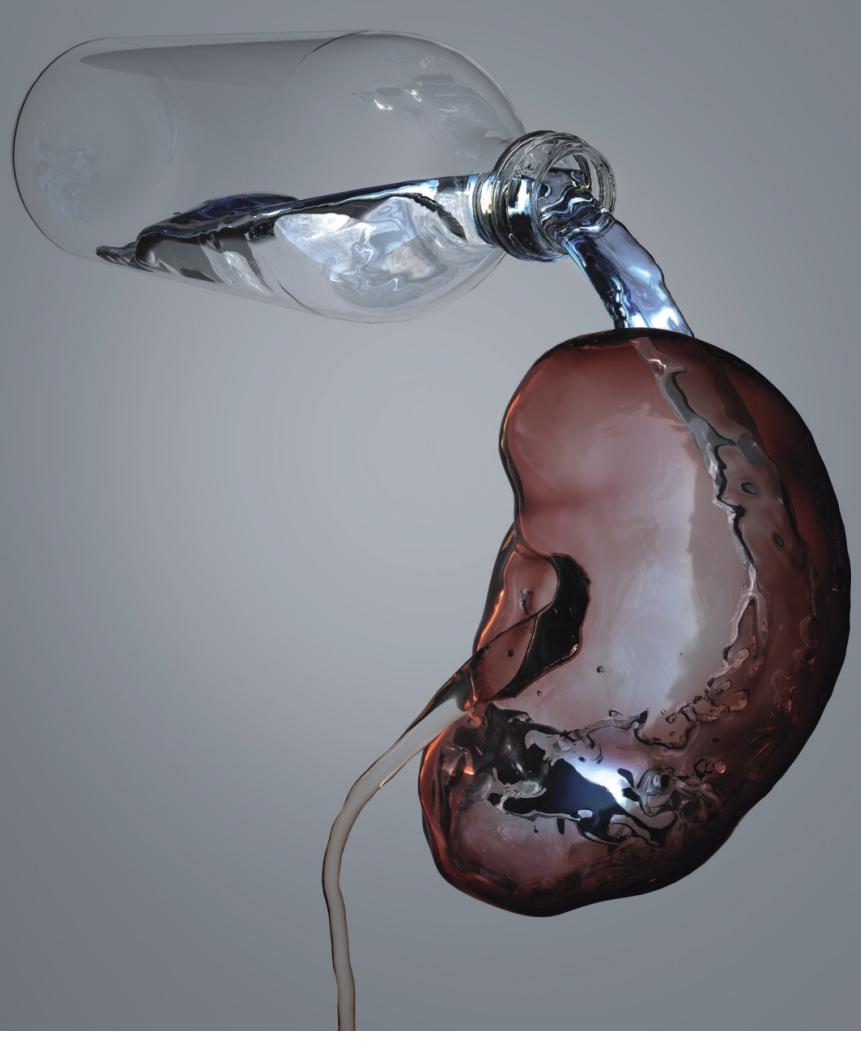
Editor

Hugo Abensur

Professor Livre-Docente de Nefrologia da Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo



Sociedade Brasileira de Nefrologia



Este primeiro e-book da Sociedade Brasileira de Nefrologia trata a respeito dos biomarcadores na nefrologia. Segundo o Instituto Nacional de Saúde norte americano, biomarcadores são definidos como indicadores quantitativos de processos biológicos ou patológicos empregados para fins de diagnóstico ou de monitoração da terapêutica.

Este tema foi escolhido, pois novos biomarcadores estão sendo disponibilizados na área de nefrologia e foram destacados renomados colegas para apresentá-los à comunidade nefrológica brasileira.

A creatinina tem sido utilizada como biomarcador de doença renal crônica (DRC) e injuria renal aguda (IRA). Mas é de conhecimento geral que a creatinina é um marcador que se eleva tardeamente no sangue de pacientes portadores destas condições clínicas. Neste livro os leitores irão encontrar os últimos resultados dos estudos que buscam marcadores alternativos para o diagnóstico precoce de DRC e IRA.

As glomerulopatias quase que invariavelmente são diagnosticadas por meio de biópsia renal e nesta edição, no capítulo de biomarcadores nas glomerulopatias, poderá ser vislumbrado a possibilidade de se evitar o emprego deste procedimento invasivo com a descoberta de novos biomarcadores, como, por exemplo, a presença no sangue do anticorpo anti receptor de fosfolipase A2 na glomerulonefrite membranosa idiopática.

O problema da avaliação do estado volêmico de pacientes com DRC, isto é a determinação do chamado “peso seco” dos pacientes em programa de hemodiálise é um desafio diário na vida do nefrologista e neste livro o leitor encontrará uma discussão ampla e profunda de como abordá-lo.

Neste livro constam ainda 3 capítulos que tratam de novos biomarcadores de 3 importantes complicações da DRC: a anemia, doença mineral óssea e a inflamação. Como, por exemplo, a hepcidina um peptídeo produzido no fígado que interfere na absorção intestinal de ferro e na mobilização de ferro de seus estoques.

O sumário de urina, rico em biomarcadores, é discutido no último capítulo desta edição, mas é importante salientar que ele é ainda e será por muito tempo o primeiro exame a ser solicitado pelo nefrologista.

Este projeto é fruto do apoio e incentivo da atual diretoria da Sociedade Brasileira de Nefrologia, que inclusive idealizou a criação deste novo veículo de educação continuada, o “E-Book da SBN”. Também, foi importante o patrocínio da Roche Diagnóstica para elaboração deste livro. Com o aumento crescente do número de biomarcadores no mercado, está se iniciando uma nova era de relacionamento com o setor de diagnóstico dos laboratórios. À semelhança do que ocorre com o setor farmacêutico, que disponibiliza representantes para apresentar seus medicamentos, o setor diagnóstico também precisará apresentar os novos biomarcadores, comentando, por exemplo, a respeito da especificidade, da sensibilidade e da área sob a curva ROC dos mesmos.

Nem todas as áreas da nefrologia foram abordadas neste livro, espero que em breve, um segundo volume com esta temática seja confeccionado. Por fim, um dia chegará, em que modernos vasos sanitários detectarão diversas doenças por ocasião de uma simples micção.

Capítulos

Biomarcadores na DRC

Biomarcadores na IRA

Biomarcadores na Glomerulopatias

Biomarcadores de Hipervolemia na DRC

Biomarcadores na Anemia da DRC

Biomarcadores na Doença Mineral Óssea

Biomarcadores de Inflamação na DRC

Sumário de Urina

Índice

Biomarcadores de Função Renal na DRC - Marcus G. Bastos	07
Introdução	08
Biomarcadores da Taxa de Filtração Glomerular	08
1. Uréia	10
2. Creatinina sérica	10
3. Relação uréia : creatinina	11
4. Depuração da creatinina	12
5. Média aritmética das depurações de uréia e da creatinina	12
6. Filtração glomerular estimada (TFGe)	13
7. Cistatina C	14
Conclusão	15
Referências Bibliográfica	16
Anexos	18
Biomarcadores na Injuria Renal Aguda - Etienne Macedo	19
IRA	20
Creatinina Sérica	20
Uréia Sérica	21
Biomarcadores Precoces de IRA	22
Cistatina C	24
Lipocalina Associada com Gelatinase de Neutrófilos Humanos (NGAL)	24
N-acetil -B-D-glucosaminidase (NAG)	26
KIM-1 Kidney Injury Molecule-1	26
IL-18	27
Conclusão	27
Referências Bibliográfica	28
Anexos	32
Biomarcadores em Glomerulopatias - Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves	35
Referências Bibliográfica	40
Biomarcadores de Hipervolemia em Diálise - Claudio Luders	43
Introdução	44
Conceito de Peso Seco e Como Atingi-lo	45
Biomarcadores de Hipervolemia	46
1. Peptídeo Natriurético do Tipo B (BNP e NT-proBNP) ePeptídeo Natriurético Atrial	46
2. Diâmetro da Veia Cava Inferior e Volume do Átrio Esquerdo	49
3. Monitor do Volume Relativo de Plasma (VRP)	49
4. Bioimpedância, Bioimpedância Espectroscópica e Bioimpedância Segmentar	50
Conclusão	54
Referências Bibliográfica	55

Índice

Biomarcadores na Anemia da Doença Renal Crônica - <i>Helena Zerlotti Wolf Grotto</i>	59
Resumo	60
Abstract	60
Biomarcadores de Anemia na DRC	64
Conclusão	69
Referências Bibliográfica	70
Biomarcadores no Distúrbio Mineral e Ósseo da DRC - <i>Rosa Maria Affonso Moysés</i>	73
1) Paratormônio	74
2) Fosfatase Alcalina	76
3) Osteocalcina	76
4) Fragmentos de Pró-colágeno	77
5) Piridinolina e Deoxipiridinolina	77
6) Cross-laps	78
7) Fosfatase Ácida Tartarato Resistente	78
8) Outros Marcadores	78
25 Vitamina D	78
Fator de Crescimento de Fibroblastos 23	79
Esclerostina	79
Referências Bibliográfica	80
Biomarcadores de Inflamação na Doença Renal Crônica - <i>Ligia Maria Claro, Andréa Emilia M. Stinghen e Roberto Pecoits-Filho</i>	81
Introdução	82
Biomarcadores de Risco Cardiovascular em Doença Renal Crônica	82
Biomarcadores de Inflamação na DRC	83
Proteínas de fase aguda	83
Citocinas pró-inflamatórias	84
Marcadores de processos específicos de Inflamação	86
Conclusão	88
Referências Bibliográfica	89
Sumário de Urina - <i>Adriano M. Del Vale</i>	93
Caracteres Físicos	94
1. Cor	94
2. Aspecto	95
3. Densidade	95
4. pH	95
Provas Bioquímicas	95
5. Nitrito	95
6. Proteínas	96
7. Glicose	96

Índice

8. Corpos Cetônicos	97
9. Urobilinogênio	97
10. Bilirrubinas	98
11. Sangue	98
Sedimentoscopia	99
12. Celulas Epiteliais	99
13. Bactérias	100
14. Leucócitos	100
15. Hemárias	100
16. Cristais	101
17. Cilindros	101
18. Muco	103
19. Fungos	103
20. Dismorfismo Eritrocitário	103
21. Contaminações	105
Referências Bibliográfica	106

Produtos e Serviços Roche

107





Biomarcadores de Função Renal na DRC

Marcus G. Bastos

Chefe do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFJF; Coordenador do NIEPEN – Núcleo Interdisciplinar de estudos, pesquisas e tratamento em nefrologia da UFJF; Editor Chefe do Jornal Brasileiro de Nefrologia; Membro do Departamento de Epidemiologia e Prevenção da Doença Renal da Sociedade Brasileira de Nefrologia

Introdução

A atenção que a doença renal crônica (DRC) vem recebendo da comunidade científica mundial nos últimos anos deve-se à observação de que a doença é muito mais frequente do que se pensava anteriormente. Por exemplo, os resultados obtidos no período de 1999 a 2004 no “National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES IV)” evidenciam que aproximadamente 18% da população adulta dos Estados Unidos da América (EUA), ou seja, cerca de 28 milhões de indivíduos apresentam DRC nos seus diferentes estágios.¹ Este estudo é muito importante porque chama a atenção, uma vez mais, para a magnitude do número de pacientes com DRC, utilizando uma definição de consenso adotada mundialmente e uma amostra representativa nacionalmente da população americana. Se aplicarmos os percentuais encontrados nos diferentes estágios da DRC do estudo NHANES IV no Brasil, considerando que as

causas e fatores de risco para DRC aqui são semelhantes às observadas nos EUA, é possível projetar que teríamos cerca de 20 milhões de brasileiros adultos nos diferentes estágios da doença.

É importante observar que a DRC frequentemente cursa silenciosamente até os seus estágios mais avançados e, quando o paciente procura cuidados médicos, já apresenta uma ou mais complicações e/ou comorbidade da doença. O diagnóstico da DRC, particularmente nos seus estágios iniciais, quando ela é frequentemente assintomática, ficou enormemente facilitado pela proposta do NKF/KDOQI que se baseia em alterações da taxa de filtração glomerular (TFG) e em marcadores de lesão da estrutura renal.² Neste capítulo, discutiremos a avaliação da TFG, componente funcional da nova definição da DRC.

Biomarcadores da Taxa de Filtração Glomerular

A avaliação da função glomerular é fundamental no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes com DRC, na determinação de desfecho renal e cardiovascular, no diagnóstico e monitoramento dos pacientes com lesão renal aguda, na adequação das doses dos medicamentos de eliminação renal e é um componente importante no processo decisório sobre o início da terapia renal substitutiva (TRS). A TFG é definida como a capacidade renal de depurar uma substância a partir do sangue e é expressa como o volume de plasma

que pode ser completamente depurado na unidade de tempo. Normalmente, o rim filtra 120 mL/min de sangue e o depura de produtos finais do metabolismo protéico, enquanto previne a perda de solutos específicos, proteína (particularmente a albumina) e os componentes celulares encontrados no sangue. A TFG diminui progressivamente ao longo do tempo na maioria das doenças renais, se associando com complicações tais como hipertensão arterial, anemia, desnutrição, doença óssea, neuropatia, declínio funcional e do bem-estar

e, nos estágios mais avançados da DRC, é um dos parâmetros utilizados para indicação da terapia renal substitutiva.³

A TFG pode diminuir devido à redução do número de néfrons, como acontece na DRC, ou por diminuição na TFG em cada néfron, como ocorre nas alterações fisiológicas e farmacológicas da hemodinâmica glomerular. O racional de se estagiar as doenças renais de acordo com a TFG baseia-se na observação de que a ela diminui mesmo antes do início dos sintomas da DRC e se correlaciona com a gravidade das doenças renais.^{2,3} Contudo, é importante atentar que a TFG pode permanecer “clinicamente” estável, mesmo na vigência da diminuição do número de néfrons. Isto acontece devido ao seu aumento compensatório em cada néfron, decorrente do aumento da pressão de filtração ou hipertrofia glomerular. Um bom exemplo de hiperfiltração glomerular é observado no início da nefropatia diabética, quando a TFG pode aumentar em até 40% do normal.⁴

Os métodos considerados padrão ouro na avaliação da TFG baseiam-se na depuração de substâncias exógenas tais como inulina, iohexol, iotalamato ou o radiofármaco DTPA. Estas substâncias preenchem os pré-requisitos de um marcador ideal da TFG, pois são completamente filtrados e não são reabsorvidos, secretados ou metabolizados pelos túbulos renais.⁵ Contudo, além de apresentarem alto custo, estes agentes não são encontrados normalmente na circulação e a realização dos estudos de suas depurações demanda infusão venosa constante e coleta de

urina por um período de tempo determinado, tornando-os inconvenientes e de aplicabilidade clínica limitada. Na maioria das vezes, estes métodos são empregados com propósitos de pesquisa ou em condições clínicas especiais, quando há necessidade de uma determinação mais acurada da TFG, como por exemplo, para orientar uma decisão clínica específica.

Na prática clínica, a avaliação da TFG é realizada empregando-se substâncias de produção endógena e que são eliminadas pelos rins.

1. Uréia

O isolamento da uréia em 1773 marcou o início dos esforços para quantificar funcionalmente o rim. Em 1903, o nitrogênio uréico sanguíneo foi utilizado pela primeira vez como teste diagnóstico clínico da função renal e, em 1929, introduziu-se o conceito de depuração da uréia. Embora a uréia ainda hoje seja utilizada amplamente na prática clínica, principalmente por especialistas não nefrologistas, é importante ressaltar a sua inadequabilidade como teste de função renal. A uréia não é produzida constantemente durante o dia e a sua concentração sanguínea pode variar com a ingestão protéica, sangramento gastrintestinal e o uso de alguns medicamentos, como, por exemplo, os corticosteróides. Ressalta-se também que a produção de uréia

pode diminuir na vigência de condições tais como a insuficiência hepática e a desnutrição. Além do mais, é importante lembrar que a uréia é parcialmente reabsorvida após o processo de filtração e, consequentemente, o cálculo da sua depuração subestima a TFG. A reabsorção tubular de uréia será mais ou menos intensa de acordo com estado volêmico do paciente: aumenta quando houver depleção do volume extracelular (por ex., na insuficiência cardíaca congestiva e desidratação) e diminui na vigência de expansão de volume (p. ex., infusão salina ou síndrome de secreção inapropriada do hormônio antidiurético). Na maioria dos laboratórios de análise clínicas, o valor normal de uréia varia de 20-40mg/dL.⁶

2. Creatinina sérica

A creatinina é derivada principalmente do metabolismo da creatina muscular e a sua produção é diretamente proporcional à massa muscular. Assim, é de se esperar que, em geral, a produção de creatinina seja maior nos homens do que nas mulheres e nos jovens comparados aos idosos.⁷ A influência da raça no nível de creatinina é importante em alguns grupos étnicos e raças, como, por exemplo, o negro americano, que possui maior massa muscular do que o branco.³ Estas considerações permitem entender a razão da faixa de normalidade tão ampla da creatinina sanguínea, 0,6 a 1,3mg/dL, reportada pela maioria dos laboratórios de análises clínicas.

O uso da dosagem da creatinina sérica ou plasmática como método clínico de avaliação da TFG baseia-se nas seguintes observações: primeira, a depuração da creatinina apresenta boa correlação com a determinação da TFG pela inulina. Segunda, a excreção da creatinina é relativamente constante durante o dia. Terceira, a determinação da creatinina sérica ou plasmática é relativamente simples, bem reproduzível e realizada na grande maioria dos laboratórios de análises clínicas.³ Contudo, é importante reconhecer que a creatinina per se não é um bom marcador da TFG. O ensaio tradicional para a medida da creatinina baseia-se no método do picrato alcalino, o qual, além

da creatinina, também detecta cromógenos não creatinínicos (aproximadamente 0,2mg/dL). Adicionalmente, é importante lembrar que a excreção urinária de creatinina decorre da filtração glomerular (via principal), mas também por secreção tubular.

Como já mencionado, o nível sérico da creatinina depende da idade, sexo, do estado nutricional e massa muscular. Adicionalmente, outro problema é o fato de a creatinina guardar uma relação inversa com a TFG e valor da creatinina sérica ou plasmática acima do normal adotado pela maioria dos laboratórios de análises clínicas (1,3mg/dL) só ocorre a partir de diminuição da ordem de 50-60% da TFG.⁸ Estas considerações são especialmente importantes quando se avalia a TFG nos pacientes idosos, particularmente os do sexo feminino, nos quais, por apresentarem menor massa muscular, é possível observar nível sanguíneo de creatinina na “faixa da normalidade” na vigência de TFG diminuída.⁹

3. Relação uréia : creatinina

A relação entre a uréia e a creatinina sanguínea pode ser útil particularmente quando se avaliam pacientes com quedas abruptas da TFG. Em condições normais, a relação uréia:creatinina é em média de 30, mas este valor aumentará >40-50 quando, por exemplo, ocorrer contração do volume extracelular. Como já mencionado, a uréia é reabsorvida pelo túbulo renal após o processo de filtração, o que não acontece com a creatinina. Assim, qualquer condição clínica que estimule a

Finalmente, não deveríamos esquecer as diferentes situações clínicas em que o nível sanguíneo da creatinina pode não guardar relação com a TFG. Por exemplo, a perda muscular se associa à diminuição da produção de creatinina e, em pacientes com DRC, desnutrição ou com amputação dos membros, o nível de creatinina pode ser menor do que o esperado para o nível de função glomerular do paciente. O nível de creatinina sérica também é influenciado, de certa maneira, pela ingestão de carne cozida, pois o processo de cozimento converte porções variadas de creatina em creatinina.^{2,10} Assim, o nível de creatinina é menor do que o esperado para o nível de TFG em pacientes submetidos a dieta hipoprotéica, comumente prescrita nos pacientes com DRC. Adicionalmente, o nível sérico de creatinina pode se elevar na vigência de alguns medicamentos, como, por exemplo, trimetoprim e cimetidina, sem que haja redução da TFG.¹⁰

reabsorção tubular de sódio determinará um aumento da uréia desproporcional ao da creatinina. Entre os principais exemplos de relação uréia: creatinina >30, poderíamos citar: desidratação, insuficiência cardíaca congestiva, estados febris prolongados e uso inadequado de diureticoterapia venosa, condições relativamente frequentes na prática clínica diária.³

4. Depuração da creatinina

Até recentemente, a depuração da creatinina em urina de 24 horas era considerada o melhor método de determinação da TFG na prática clínica. A depuração da creatinina é diretamente proporcional à geração de creatinina e inversamente proporcional à sua concentração sanguínea. Contudo, conceitualmente, a depuração da creatinina não preenche os critérios de um marcador ideal da TFG, pois, além de filtrada, a creatinina também é secretada pelo túbulo contornado proximal. Assim, a depuração da creatinina superestima a TFG.¹⁰ Esta superestimativa - expressa como porcentagem da TFG – é mais pronunciada para valores menores da TFG, podendo chegar a 15%-25%.^{3,10} Um segundo problema da depuração da creatinina é a necessidade de coleta de urina pelo período de 24 horas, o que, nos extremos da vida, pode ser difícil pela ocorrência de incompreensão (como nas crianças) e déficit cognitivo ou incontinência urinária ou ambos (como nos idosos).² A vantagem da depuração da creatinina sobre a depuração das substâncias padrão ouro é o fato de ser a creatinina de produção endógena, sua determinação é de baixo custo e é realizada na maioria dos laboratórios de análises clínicas.

A depuração da creatinina é calculada pela fórmula:

$$\text{Dcr} = (\text{Ucr} \times \text{V}) / \text{Pcr}$$

Dcr = depuração da creatinina;

Ucr = níveis urinários de creatinina (em mg/dL);

V = volume de urina colhido em 24 horas;

Pcr = creatinina plasmática

Uma estratégia para melhorar a performance da depuração da creatinina na urina de 24 horas é realiza-la na vigência de bloqueio tubular da secreção de creatinina com cimetidina (Dcr/cim). Em um estudo, o percentual de diferença entre a depuração com iotolamato e a depuração (3 horas) após bloqueio com cimetidina foi de 12%, com a depuração (3 horas) sem cimetidina foi de 33% e com a depuração da creatinina em 24 horas foi de 53%.¹¹

Existem vários diferentes protocolos de cálculo da Dcr/cim; no protocolo que utilizamos para bloquear a secreção tubular de creatinina, um total de 2.400 mg de cimetidina é administrada em três dosagens em 24 horas.

5. Média aritmética das depurações de uréia e da creatinina

O racional de usar a média aritmética das depurações de uréia e da creatinina baseia-se nas observações de ser a primeira reabsorvida pelos túbulos renais após ser filtrada e a outra secretada, situações antagônicas mais exacerbadas no estágio 5 da DRC, quando a

TFG encontra-se inferior a 15mL/min/1,73m². O emprego da média aritmética das depurações de uréia (que subestima a TFG) e da creatinina (que superestima a TFG) tem sido sugerido para compor o processo decisório de se iniciar ou a TRS.³

6. Filtração glomerular estimada (TFGe)

As limitações do uso da creatinina sanguínea e de sua depuração na avaliação clínica da função renal levaram vários autores a propor diferentes fórmulas para a estimativa da FG. Até o momento, pelo menos 46 fórmulas diferentes de estimativa da TFG foram publicadas, contudo as desenvolvidas por Cockcroft-Gault (C-G),¹² para o estudo Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)¹³ e, mais recentemente, a equação "The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Equation (CKD-EPI)"¹⁴ são as mais amplamente utilizadas (quadro*). Embora práticas, é importante reconhecer que estas fórmulas têm suas limitações. A principal preocupação se relaciona à própria técnica de dosagem da creatinina sanguínea. É importante ressaltar a necessidade de se proceder à calibração regular do método para que possamos, confiavelmente, comparar os resultados obtidos num mesmo laboratório ao longo do tempo e entre os diferentes laboratórios. Contudo, mesmo realizando a calibração, vários estudos mostram diferenças importantes entre a TFGe e a TFG real, empregando-se uma substância considerada padrão ouro, principalmente para valores da TFG >60mL/min/1,73m². Como mencionado anteriormente, a creatinina sérica, utilizada nestas equações, depende da massa muscular, idade, raça e estado nutricional. O reconhecimento das limitações destas fórmulas é importante por serem elas amplamente empregadas nos estudos epidemiológicos sobre DRC.

Existem diferenças fundamentais entre as fórmulas de estimativa da TFG. A fórmula de

C-G foi inicialmente validada utilizando-se a depuração da creatinina como referência, enquanto que as fórmulas MDRD e CKD-EPI foram comparadas com a TFG pelo iotalamato (um agente padrão ouro). Segunda, a fórmula de C-G inclui o peso e é expressa em mL/min, enquanto a MDRD e CKD-EPI não incluem peso e são expressas em mL/min/1,73m². Terceira, a fórmula de C-G baseou-se em pacientes hospitalizados e com idade entre 18 e 92 anos, a do estudo MDRD foi desenvolvida em pacientes ambulatoriais com DRC não diabética estágios 3 e 4 (FG média de 40mL/min/1,73m²), sendo a maioria de cor branca, e CKD-EPI incluiu poucos indivíduos idosos e de cor não branca. Quarta, quando a confiabilidade destas fórmulas é testada contra a TFG determinada por um agente padrão ouro, fica evidente que as fórmulas MDRD e de C-G subestimam e superestimam, respectivamente, a TFG para valores >60mL/min/1,73m², e que a CKD-EPI diminui a discrepância observada entre a TFGe e TFG real. É importante destacar que para valores da FG <60mL/min/1,73m², a correlação entre TFG e utilizando qualquer uma das três equações e a TFG real é muito boa.^{2,14} Contudo, é importante ressaltar que nenhuma das três equações de estimativa da TFG foi validada em pacientes idosos com mais de 70 anos e a diferença dos resultados obtidos por elas aumentam dramaticamente com a idade, tornando-as de aplicabilidade clínica ainda duvidosa no paciente idoso.¹⁰

Na figura* apresentamos uma proposta de rastreamento da DRC baseada na estimativa da TFG a partir da creatinina sérica.

7. Cistatina C

Durante décadas, as proteínas de baixo peso molecular, tais como a $\beta 2$ -microglobulina, a $\alpha 1$ -microglobulina e a cistatina C, têm sido consideradas como potenciais marcadores endógenos da TFG. A cistatina C, em particular, tem recebido muita atenção nos últimos anos e parece ser uma alternativa promissora para substituir a creatinina sérica.¹⁵ A cistatina C é um inibidor de proteinase de baixo peso molecular (13,3 kDa), pertencente a superfamília das cistatinas, é produzida em todas as células nucleadas e o seu nível sanguíneo é constante e independe da massa muscular.¹⁶

Embora filtrada livremente através do glomérulo, a cistatina C, semelhantemente a outras moléculas de baixo peso molecular, é reabsorvida e metabolizada nos túbulos proximais.¹⁵⁻¹⁷ Assim, a concentração sanguínea de cistatina C depende quase que inteiramente da TFG, não sendo afetada pela dieta, estado nutricional, inflamação ou doenças malignas.¹⁶ Adicionalmente, a menor variabilidade nas determinações sanguíneas da cistatina C, sua meia-vida mais curta e o seu menor volume de distribuição tornam a cistatina C um marcador de função glomerular com maior sensibilidade para detectar diminuições leves da TFG na DRC do que a creatinina e outras moléculas de baixo peso molecular.¹⁸

Digna de nota é a observação do aumento da cistatina C na vigência de leve diminuição da TFG da ordem de 70 a 90mL/min, ou seja, na "faixa cega" da creatinina.¹⁸⁻²⁰ Além do mais, estudos recentes mostraram que a cistatina C se eleva precocemente na insuficiência renal

aguda em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo,²¹ após transplante hepático,²² cirurgia cardíaca,²³ quimioterapia com cisplatina,²⁴ angiografia cardíaca,^{25,26} após uninefrectomia²⁷ e na progressão da nefropatia diabética.²⁸

Os ensaios comercialmente disponíveis para a determinação da concentração de cistatina C no soro ou plasma baseiam-se nas técnicas de imunonefelometria ou imunoturbimetria, mas ainda não se dispõe de um padrão de referência uniforme para a calibração destes dois ensaios comerciais. Até o momento, somente o fator reumatóide excessivamente elevado foi identificado a interferir na medida de cistatina C in vitro.²⁹

Não existem diferenças relevantes nos valores de referência de cistatina C entre homens e mulheres e as medidas mais elevadas observadas nos idosos se relacionam à diminuição da função renal.³⁰ A performance da cistatina C como marcador de filtração glomerular tem sido avaliada em diferentes populações de pacientes tais como portadores de diabetes mellitus tipo 2,²⁸ DRC não diabética leve e moderada,¹⁹ receptores de transplante renal,³¹ portadores de doença hepática grave³² e mulheres grávidas com pré-eclampsia.³³

O emprego mais frequente da cistatina C identificou algumas limitações para o seu uso como marcador da TFG: Hipertireoidismo não tratado se associa com leve aumento e o hipotireoidismo com leve redução dos níveis sanguíneos da cistatina C, alterações

que normalizam na restauração do estado eutireóideo.³⁴ Também se observou que altas doses de corticosteróides aumentam as concentrações sanguíneas da cistatina C em pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos.³⁵

Recentemente, Steven e cols. agruparam dados relativos a pacientes com DRC obtidos de três pesquisas clínicas e um estudo populacional e compararam equações de estimativa da TFG que utilizaram creatinina sérica, cistatina C ou ambas.³⁶ O estudo incluiu um grande número de pacientes (3.418), ensaios de dosagem de creatinina

calibrada, medidas das cistatinas C em um mesmo laboratório e um conjunto externo de validação dos dados. Os autores observaram que, em populações com DRC, o nível de cistatina C isoladamente se associou melhor com a TFG estimada do que a creatinina sérica, com a vantagem de não depender da idade e da massa muscular. Além do mais, o acréscimo das variáveis idade, sexo e raça em equações com a cistatina C diminuiu os vieses naquelas populações de pacientes em que estes dados são importantes. Mas a combinação, em uma mesma fórmula, das variáveis cistatina C, creatinina, idade, sexo e raça foi a que ofereceu resultados mais fidedignos.³⁶

Conclusão

A DRC é um problema de grande relevância clínica, cuja evolução depende da qualidade do tratamento ofertado precocemente no curso da doença. Um importante componente da nova definição da DRC, adotada em todo mundo, baseia-se na determinação da TFG. A recomendação atual para os programas de rastreio e acompanhamento clínico da DRC é estimar a TFG através de equações

que utilizam a creatinina. Por outro lado, estudos mais recentes têm demonstrado ser a cistatina C um marcador mais precoce do que a creatinina na identificação de pequenas diminuições da TFG. Contudo, mais estudos são necessário para identificar um método que concilie alta performance e maior praticidade na determinação clínica da TFG de pacientes com DRC em seus diferentes estágios.

Referências Bibliográfica

1. Josef Coresh, J, Selvin, E, Stevens, L.A ,Manzi, J , Kusek, JW , Eggers, P Van Lente, F Andrew S, Levey, AS. Prevalence of chronic kidney disease in the United States.JAMA 2007;298:2038-2047.
2. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. Am J KidneyDis 2002;39:Suppl 2:S1-S246.
3. Bastos MG, Bastos RMR, Paula RB. Avaliação da função renal. Em Barros E, Gonçalves LF (Eds). Nefrologia no consultório. Artmed, Porto Alegre, 2007, pp 49-67.
4. Parving HH. Diabetic nephropathy: Prevention and treatment. KidneyInt 2001;60:2041-2055.
5. Steinman TI, Perrone RD, Hunsicker LG, MDRD Study Group. GFR determination in chronic renal failure by 3 radionuclide markers and inulin: coefficient of variation of the methods (abstract). KidneyInt 1989;35:201.
6. Abraham WT, Schrier RW. Cardiacfailure, liverdisease, andthenephritis syndrome. Em Schrier RW, Gottschalk CW (Eds). Diseaseofthekidney. Little, Brown andCompany, New York, 1997, pp 2353-2392.
7. Kimmel PL, Lew SQ, Bosch P. Nutrition, ageingand GFR: is age-associated decline inevitable? Nephrol Dial transplant 1996;11(Suppl 9):85-8810.
8. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. Kidney Int 1985;28:830-8.
9. Pinto PA, Silva, FJ, Munch, ECSV, Chaoubah A, Bastos RV, Andrade LCF, Bastos MG. Inadequabilidade da creatininasérica na identificação precoce da disfunção renal. J Bras Nefrol 2004;26: 196-201.
10. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessingkidneyfunction-measuredandestimated glomerular filtration rate. N Engl J Med. 2006;354:2473-83.
11. Zaltzman JS, Whiteside C, Catran DC, Lopez FM, Logan AG. Accurate measurement of impaired glomerular filtration using single-dose oral cimetidine. Am J KidneyDis 1996;27:504-511.
12. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 1976;16:31-41.
13. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Ann InternMed 1999;130:461-70.
14. Levey, AS; Stevens, LA; Schmid, CH; Zhang, Y; ACastro III, AF; Feldman, HI; Kusek, LW; Eggers, P; Lente, FV; Greene, T; Coresh, J. for the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. Ann Intern Med 2009;150:604-612.
15. Grubb AO. Cystatin C-properties and use as diagnostic marker. AdvClinChem 2000;35:63-99.
16. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, LeBricon T, Martinez-Bru C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. ClinBiochem 2005;38:1-8.
17. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland K. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. Scand J Clin Lab Invest 1996;56:409-414.
18. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Fried LF, Newman AB, Stehman-Breen C, Seliger, SL, Kestenbaum B, Bruce Psaty B, Tracy RP, Siscovick DS. Cystatin C and Prognosis for Cardiovascular and Kidney Outcomes in Elderly Persons without Chronic Kidney Disease. Ann Intern Med. 2006;145:237-246.

19. Newman DJ, Thakker H, Edwards RG, et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995;47:312–318.
20. Mussap M, DallaVestra M, Fioretto P, et al. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2002;61:1453–1461.
21. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 2004;66:1115–1122.
22. Biancofiore G, Pucci L, Cerutti E, et al. Cystatin C as a marker of renal function immediately after liver transplantation. *Liver Transplant* 2006;12:285–291.
23. Zhu J, Yin R, Wu H, et al. Cystatin C as a reliable marker of renal function following heart valve replacement surgery with cardiopulmonary bypass. *ClinChimActa* 2006;374:116–121.
24. Benohr P, Grenz A, Hartmann JT, Muller GA, Blaschke S. Cystatin C—A marker for assessment of the glomerular filtration rate in patients with cisplatin chemotherapy. *Kidney Blood Press Res* 2006;29:32–35.
25. Rickli H, Benou K, Ammann P, et al. Time course of serial cystatin C levels in comparison with serum creatinine after application of radiocontrast media. *ClinNephrol* 2004;61:98–102.
26. Artunc FH, Fischer IU, Risler T, Erley CM. Improved estimation of GFR by serum cystatin C in patients undergoing cardiac catheterization. *Int J Cardiol* 2005;102:173–178.
27. Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A. Serum cystatin C—a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *ClinNephrol* 2005;64:41–46.
28. Wasen E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivela SL, Irljala K. Renal impairment associated with diabetes in the elderly. *Diabetes Care* 2004;27:2648–1653.
29. Lamb E, Stowe H. Rheumatoid factor can interfere with cystatin C measurement. *Ann ClinBiochem* 2003;40:195–196.
30. Fliser D, Ritz E. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis* 2001;37:79–83.
31. Christensson A, Ekberg J, Grubb A, Ekberg H, Lindstrom V, Lilja H. Serum cystatin C is a more sensitive and more accurate marker of glomerular filtration rate than enzymatic measurements of creatinine in renal transplantation. *Nephron Physiol* 2003;94:19–27.
32. Orlando R, Mussap M, Plebani M, et al. Diagnostic value of plasma cystatin C as a glomerular filtration marker in decompensated liver cirrhosis. *ClinChem* 2002;48:850–858.
33. Strevens H, Wide-Swennsson D, Torffvit O, Grubb A. Serum cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:575–580.
34. Fricker M, Wiesli P, Brandle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003;63:1944–1947.
35. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *ClinChem* 2001;47:2055–2059.
36. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH, Feldman HI, Froissart M, Kusek J, Rossert J, Van Lente F, Bruce RD 3rd, Zhang YL, Greene T, Levey AS. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis*. 2008 Mar;51:395–406.

Anexos

* Quadro. Equações para a estimativa da depuração da creatinina [Cr(e)] e da taxa de filtração glomerular [TFG(e)]¹²⁻¹⁴

Equação de Cockcroft-Gault

$\text{Cr}(e) = 140 \times \text{idade} (\text{anos}) \times \text{Peso} (\text{kilogramas}) / 72 \times \text{Scr} (\text{x0,85 se mulher})$

Equação do estudo MDRD

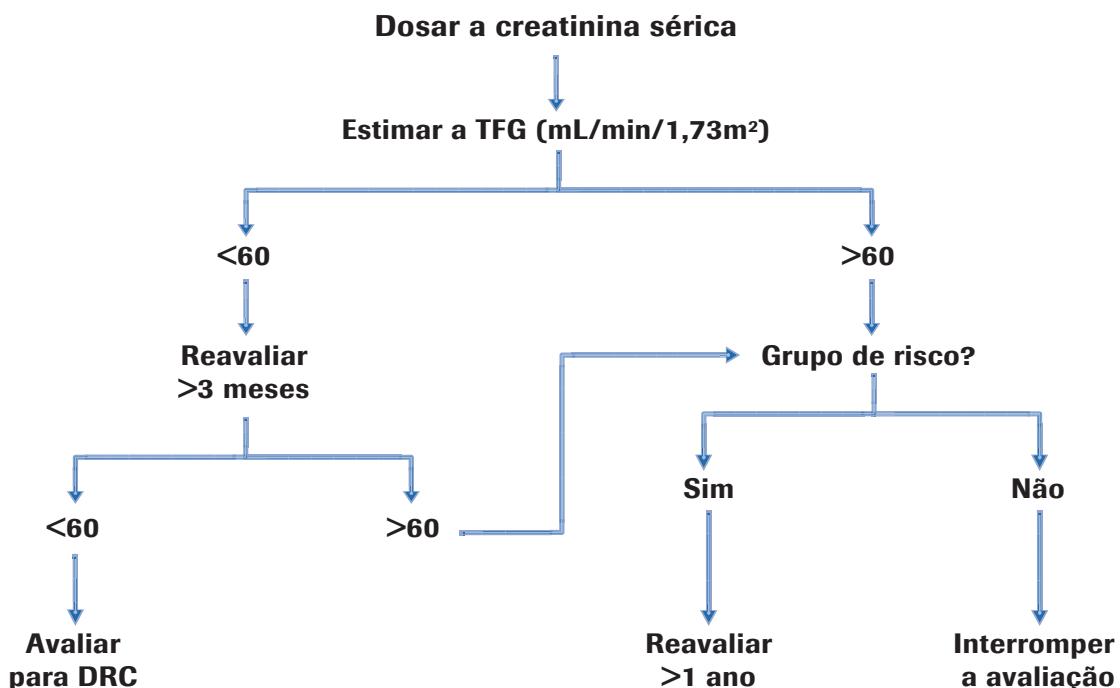
$\text{TFG}(e) = 186 \times (\text{Scr})^{-1,154} \times (\text{Idade})^{-0,203} \times (0,742 \text{ se mulher}) \times (1,210 \text{ se negro})$

Equação CKD-EPI

$\text{TFG}(e) = 141 \times [\min(\text{Scr}/k), 1]^{\alpha} \times \max(\text{Scr}/k, 1) - 1,209 \times \text{idade} - 0,993 \times 1,018 \text{ (se mulher x (1,157 se negro))}$

α é 0,329 para mulher e 0,411 para homens; $\min = \text{mínimo de Scr}/k$ ou 1

* Figura. Proposta de rastreamento de doença renal crônica a partir da dosagem da creatinina sérica





Biomarcadores na Injuria Renal Aguda

Etienne Macedo

Assistente Doutor em Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

IRA

A Injuria Renal Aguda (IRA) é um síndrome associada a diversos fatores etiológicos e com variadas manifestações clínicas.¹⁻³ O termo abrange alterações renais que incluem desde elevação mínima na creatinina sérica até falência renal e anúria. Até 2004 não havia uma definição amplamente aceita para IRA e a falta de uniformidade para o diagnóstico levou a discrepâncias na incidência (1 a 31%) e na mortalidade relacionada a IRA (28 a 82%).⁴⁻⁹ Em 2004 o grupo Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) publicou a classificação de RIFLE Risk–Injury–Failure–Loss–End stage renal disease. Essa classificação define três classes de gravidade da IRA (risco, lesão e falência) baseado em três critérios: aumento relativo da creatinina sérica, queda da filtração glomerular (GFR), e diminuição do fluxo urinário por quilo de peso.¹⁰ Em 2007, a classificação do RIFLE foi revista e a classificação de AKIN começou a ser utilizada. Um aumento no valor absoluto da creatinina sérica de 0.3 mg/dl em relação ao valor de referência foi adicionado como critério diagnóstico. Além disso, os termos risco, lesão,

e falência foram substituídos por Estadio 1, 2 e 3, respectivamente, e o tempo para diagnóstico passou de 7 dias para 48 horas.¹¹

Essas classificações já foram validadas em diversos estudos epidemiológicos incluindo mais de 71.000 pacientes com IRA em diversas populações e em diferentes cenários clínicos. Com o uso difundido da classificação de RIFLE foi possível comparar estudos e populações, e o conceito clínico de piora progressiva da evolução do paciente associada à gravidade da IRA foi confirmado e validado.^{5, 7, 8, 12-14}

No entanto, apesar do avanço no conhecimento epidemiológico da IRA proporcionado pelo uso das classificações de RIFLE e AKIN, os critérios utilizados por essas classificações ainda são falhos. Muitas características não diretamente associadas a função renal, tais como idade, taxa de catabolismo, uso de drogas, massa muscular e raça, influenciam o nível dos marcadores atualmente utilizados para avaliação de função e lesão renal.

Creatinina Sérica

A creatinina, o biomarcador mais utilizado para avaliação da função renal e no qual nos baseamos para dar o diagnóstico de IRA, não reflete fidedignamente a taxa de filtração glomerular (TFG). A evolução da TFG e os níveis de creatinina sérica são dissociadas (Figura 1). Em paciente em estado de equilíbrio ou steady-state, uma aproximação razoável é que cada vez que a TFG cai pela

metade a creatinina sérica dobra.¹⁵ No entanto, na injúria renal aguda ocorre um estado de desequilíbrio (non-steady), em que os três determinantes da concentração de creatinina no soro (produção, volume de distribuição e eliminação renal) flutuam,¹⁵ determinando um atraso ainda maior na elevação da creatinina em relação à queda da filtração glomerular. Hoste e colaboradores, mostraram que em

um grupo de doentes de UTI recentemente admitidos com creatinina sérica normal, o clearance de creatinina medido em uma hora revelou valores inferiores a 80 ml/min/1.73m² em 46,2% dos pacientes.¹⁶ Estes dados sugerem que creatinina sérica não é um biomarcador fidedigno para detectar disfunção renal moderada em pacientes IRA.

Em pacientes graves, o balanço hídrico acumulado positivo é outro fator associado à diminuição da sensibilidade da creatinina sérica como um parâmetro de diagnóstico da disfunção renal.¹⁷ O balanço hídrico positivo

é comum na evolução de pacientes críticos, principalmente pacientes sépticos e no pós-operatório, nos quais o aumento do volume corporal total de água pode aumentar mais de 10% em 72 horas. Como o volume de distribuição da creatinina é igual ao volume corporal total de água, balanço hídrico positivo aumenta o seu volume de distribuição e pode determinar menor aumento detectável da na fase de desenvolvimento da IRA.¹⁷ O uso da Cr corrigida para o balanço hídrico positivo permite a identificação mais precoce e pode melhor estimativa da gravidade da IRA.¹⁷

Uréia Sérica

A uréia sérica também é um parâmetro utilizado para avaliar a função renal. No entanto, elevações no nível de uréia são frequentemente, mas nem sempre, devido a uma diminuição da taxa de filtração glomerular. Alguns fatores não associados a disfunção renal, tais como hemorragia gastrointestinal, terapia com corticosteróide e dieta rica em proteínas, podem levar ao aumento da produção de uréia. Além disso, em condições de diminuição do volume efetivo intravascular e insuficiência cardíaca descompensada, aumentos da uréia

não são proporcionais ao aumento no nível de creatinina e da queda na taxa de filtração glomerular. Alguns estudos já demonstraram que elevações da uréia independentemente dos níveis séricos de creatinina e consequência de processo patológicos distintos.¹⁸⁻²⁰ Na insuficiência cardíaca e possivelmente em outros contextos onde underfilling é parte do processo fisiopatológico, o aumento de uréia desproporcional em relação a queda da TFG é um marcador da ativação do eixo neuro-humoral.²¹

Biomarcadores Precoces de IRA

Na lesão renal aguda, como em outros situações clínicas, o benefício da terapêutica está diretamente associada a precocidade das intervenções. A falta de uma terapêutica efetiva acarretou em pouca ênfase no diagnóstico precoce da IRA. No entanto, na última década, o conceito das intervenções com base em “janelas de oportunidade” tornou evidente a importância do diagnóstico precoce em eventos isquêmicos, tais como síndromes coronarianas agudas e acidente vascular cerebral (Figura 2). Desde então a importância do diagnóstico precoce em IRA tem sido destacada.

O modelo conceitual de IRA identifica quatro componentes: risco (RIM normal e risco aumentado); fase intermédia (lesão funcional); IRA (com diminuiu filtração glomerular e insuficiência renal); e desfechos (insuficiência renal e morte) (Figura 3). Pela definição atual de IRA, baseada na creatinina sérica, o diagnóstico da lesão renal ocorre somente na fase da diminuição da filtração glomerular e aumento da creatinina sérica. Considerando que a lesão renal tem inicio mais precoce, as intervenções baseadas no diagnóstico pela creatinina sérica serão sempre tardias. A utilização de biomarcadores precoces de injúria renal poderiam ajudar a identificação da lesão antes do decréscimo na TFG detectado pela creatinina. O início de intervenções mais precoces poderia alterar o curso da IRA e evitar ou atenuar os desfechos desfavoráveis associados a essa síndrome.⁴⁴

O reconhecimento da insensibilidade dos biomarcadores de função renal mais comumente utilizados culminou em uma

corrida para a identificação de biomarcadores mais precoces de IRA. A análise proteômica está sendo utilizada para determinar o perfil de diferentes proteínas envolvidas nas fase inicial da lesão renal. A identificação de novas proteínas permitiu a identificação de biomarcadores associados a fase inicial ou funcional de lesões renais isquêmicas e nefrotóxicas. A análise dessas proteínas pode ser feita por pela medida da expressão de RNAm, 2-D DIGE (two-dimensional difference gel electrophoresis), SELDI (surface-enhanced laser desorption ionization), cromatografia, imunohistoquímica e SNP (single nucleotide polymorphism).²²

A maioria dos estudos com esses novos biomarcadores focou na capacidade de diagnóstico precoce em relação aos parâmetros clássicos, no entanto eles também podem ser úteis para prever o curso da injúria renal aguda e possivelmente prever o prognóstico a curto e longo prazo (Figura 3). Vários candidatos promissores para um biomarcador ideal surgiram, em sua maioria demonstrando uma capacidade de detecção da IRA 48 horas antes da elevação da creatinina.²³⁻²⁸ Apesar das plataformas comerciais para a realização desses testes diagnósticos estarem cada vez mais facilmente disponíveis para o uso, o conhecimento necessário para a aplicação e utilização desses biomarcadores na prática clínica ainda está em evolução. Esses candidatos estão sendo agora testados em diferentes cenários clínicos.

A capacidade para detecção de injúria renal e para estimativa da filtração glomerular está diretamente associada com a fisiopatologia

desses diferentes biomarcadores (Figura 4). Diferentes mecanismos determinam seu aparecimento na urina. A lesão de células tubulares induz o escape de enzimas e microproteínas para a luz tubular, e a magnitude da elevação dos biomarcadores na urina vai depender da natureza do insulto e da gravidade da lesão das células tubulares. Os principais locais relacionados a liberação desses biomarcadores são: citoplasma, lisossôma ou membrana. Outro mecanismo para o aparecimento desses biomarcadores na urina é a diminuição da reabsorção de proteínas de baixo peso molecular normalmente filtradas no glomérulo e reabsorvidas totalmente pelas células tubulares proximais.

A origem estrutural do biomarcador; citoplasmática, lisossômica ou membranosa fornece a informação da natureza lesão celular. Por exemplo as glutationas S transferase são enzimas citoplasmáticas encontradas nas células epiteliais tubulares proximais e distais. O aumento da excreção destas proteínas está associado a necrose celular. O aumento da excreção da N-acetyl-glucosamidase (NAG), uma enzima lisossômica encontrada predominantemente no túbulo proximal, esta aumentado em nefrotoxicidade pelo metrotexate e pelo contraste radiológico. No entanto, a grande maioria das enzimas estudas são originárias da borda em escova. Quando há lesão da borda em escova ocorre diminuição da reabsorção e aumento da excreção de várias proteínas de baixo peso molecular normalmente filtradas, tais como a fosfatase alcalina e a alanina amino-peptidase. A relação entre essas

enzimas e a creatinina urinaria podem ser utilizadas para detectar precocemente injúria renal aguda.

Além de facilitar o diagnóstico precoce, estes biomarcadores permitirão também que ensaios clínicos previamente realizados sem sucesso possam ser repetidos. Várias drogas promissoras, que apresentaram bons resultados na prevenção e atenuação da IRA em modelos animais, falharam em ensaios clínicos. Um dos possíveis motivos para a diferença no desempenho dessas drogas em ensaios experimentais e clínicos está associado ao início tardio quando a creatinina sérica é utilizada como marcador diagnóstico. Outra possível área de aplicação para os novos biomarcadores será no auxilio para decidir o momento de inicio da terapia de substituição renal (RRT) em pacientes com IRA.

Os principais biomarcadores que estão sendo testados no momento e alguns resultados de estudos estão resumido a seguir.

Cistatina C

A Cistatina C é uma proteína não-glicosilada, de baixo peso molecular (13,36 Kda), produzida a uma taxa constante por todas as células nucleadas. Sua função é inibir a proteinase da cistina tecidual. Por causa de seu baixo peso molecular, é livremente filtrada no glomérulo, sendo reabsorvida e metabolizada no túbulo renal proximal, mas não ocorrendo secreção renal ou extra-renal. Dessa forma, a Cistatina C sérica reflete exclusivamente a filtração glomerular e seu aumento está associado a redução da TFG. Ao contrário da creatinina, os níveis séricos da Cistatina C não são significativamente afetados por idade, sexo, raça ou massa muscular. Em estudos clínicos, tanto a Cistatina C plasmática como a urinária foram capazes de prever IRA, embora a superioridade da performance desses parâmetros em relação a creatinina não seja uma constatação uniforme.²⁹⁻³¹ Recentemente, Herget-Rosenthal e colaboradores³² compararam a Cistatina C e creatinina sérica para o diagnóstico de IRA em uma série de 85 pacientes. Aumentos nos níveis

plasmáticos de Cistatina C foram detectáveis 1 a 2 dias antes do que aumento da creatinina sérica. Em outro estudo avaliando a creatinina e cistatina plasmática em 444 adultos admitidos em UTI, dos quais 124 já tinha IRA na entrada, a cistatina plasmática apresentou moderada capacidade para predizer a necessidade de TSR ou morte (AUC 0,61, 95% CI, 0,53-0,68), com performance similar a da creatinina sérica (AUC 0,60, 95% 0,51-0,67).³³ Em pequeno estudo multicêntrico com 151 pacientes com IRA, Royakkers e colaboradores,³⁴ usando o sistema de classificação de RIFLE, comparou o desempenho de Cistatina C no plasma e na urina como biomarcadores precoces para o diagnóstico de IRA. A Cistatina C urinária não apresentou nenhum valor diagnóstico nos dias que antecederam o diagnóstico de IRA pela creatinina sérica (AUC<0,50). Além disso, a Cistatina C plasmática e urinária no primeiro dia de diagnóstico de IRA foram pobres preditores da necessidade de TSR (AUC = 0,66).³⁴

Lipocalina Associada com Gelatinase de Neutrófilos Humanos (NGAL)

NGAL é uma proteína de 25-kD, originalmente caracterizada em neutrófilos, que é ligada a gelatinase. A função fisiológica de NGAL nos rins é desconhecida, no entanto, acredita-se que tenha um papel na morfogênese renal.³⁵ A análise proteômica de estudos utilizando modelos animais revelou o NGAL como a proteína mais precocemente e com maior produção após insulto renal isquêmico ou nefrotóxicos.³⁶ Vários estudos clínicos têm

sugerido que a expressão de NGAL de urina pode servir como marcador precoce de IRA.³⁷⁻⁴⁰

Em um ensaio clínico envolvendo 71 crianças no pós-operatório de cirurgia cardíaca, o NGAL urinário aumentou 2 horas após inicio de bypass cardiopulmonar. Todas as 20 crianças que tiveram um aumento da creatinina sérica maior que 50% (risco RIFLE) apresentaram um nível de NGAL > 50µg/L e

apenas uma das 51 crianças que não atingiram o diagnóstico de IRA apresentou aumento superior a 50 µg/L.⁴¹ NGAL urinária também foi avaliada em pacientes adultos no pós-operatório de cirurgia cardíaca com resultados menos animadores.⁴² Em uma coorte de 81 pacientes, 16 desenvolveram IRA de acordo com a definição de RIFLE. No pré-operatório os níveis de NGAL urinário eram comparáveis nos pacientes que evoluíram e não evoluíram com IRA. No entanto, 1 h após a cirurgia, a concentração urinária de NGAL começou a cair em pacientes que não evoluíram IRA, mas continuou a subir em pacientes que evoluíram com IRA, atingindo o pico após 3 horas e permanecendo elevado por 24 h.⁴² Em um estudo avaliando níveis de NGAL urinário em pacientes na sala de emergência, a área sob a curva ROC para detectar IRA foi de 0,948, não significativamente diferente da área sob a curva ROC da creatinina sérica, de 0,921.³⁸ No entanto, houve pouca sobreposição de valores NGAL em pacientes com IRA e lesão pré-renal, enquanto os valores de creatinina sérica não diferenciou os pacientes que apresentaram reversão da IRA em 48 horas (lesão pré-renal).³⁸ Em outro estudo o NGAL urinário foi avaliado em pacientes hospitalizados com IRA no momento da inclusão no estudo e após dois dias. Dos 145 pacientes analisados, 75 tinham NTA, 32 pré-renal e 38 pacientes não puderam ser classificados. Os níveis de NGAL urinário efetivamente discriminaram entre NTA e pré-renal IRA (AUC 0.87). O nível de NGAL > 104 µg/l foi associado a NTA (razão de probabilidade 5,97), enquanto com NGAL < 47 µg/l o diagnóstico de IRA foi improvável

(razão de probabilidade 0.2). Na análise de regressão logística, NGAL foi capaz de predizer o agravamento da classe do RIFLE, necessidade de TSR e mortalidade hospitalar. Os autores concluíram que a medida do NGAL urinário foi útil na classificação e estratificação de pacientes com IRA.⁴³

Vários estudos também avaliaram o uso do NGAL como parâmetro para início da TSR.⁴⁴ Tanto NGAL urinário como no plasma e soro já foram avaliados em vários cenários clínicos incluindo crianças e adultos (Tabela 1). Em uma meta-análise avaliando a precisão do NGAL para diagnóstico e prognóstico, 1948 pacientes de 9 estudos foram incluídos. A incidência de TRS foi de 4,3% e a área sob a curva ROC foi de 0.782 (95% CI, 0,648-0.917) para discriminar os pacientes que receberam ou não TSR. Para um cut-off de 278 ng/mL, NGAL apresentou uma sensibilidade de 76% e especificidade de 80%.⁴⁴ No entanto, estes estudos incluíram diversas populações de pacientes e os testes laboratoriais usados para a mensuração de NGAL foram variados, o que torna difícil levar os resultados desse estudo para uso clínico.

N-acetyl -B-D-glucosaminidase (NAG)

NAG é uma enzima lisossomal (> 130 kDa) que está presente em várias células, incluindo os túbulos renais. Devido a seu grande peso molecular NAG não é filtrada, implicando que elevações urinárias são de origem tubular. Seu aumento sugere lesão de células tubulares ou pode refletir o aumento da atividade de lisossomos. NAG catalisa a hidrólise de terminações de glicoproteínas e é a glicosidase mais ativa nos lisossomos de células epiteliais do túbulo proximal.

Em um estudo transversal com 204 pacientes com e sem IRA foi avaliado o desempenho de nove biomarcadores urinários, incluindo NAG.⁴⁵ Os paciente sem IRA eram controles

saudáveis, e pacientes que foram submetidos a angiografia coronária, enquanto os pacientes com IRA foram recrutados na avaliação inicial da equipe de nefrologia. Na análise ajustada para idade, NAG foi um bom preditor da necessidade de TSR e mortalidade. O nível de NAG em pacientes com IRA que necessitaram de TSR foi 0,06 Cr U/mg Cr, contra 0,02 U/mg Cr naqueles que não necessitaram de TSR. Em outro estudo incluindo 635 pacientes avaliados na sala de emergência, NAG urinário não foi capaz de prever a necessidade de consulta com nefrologista, admissão em terapia intensiva, necessidade de TSR ou mortalidade.³⁸

KIM-1 Kidney Injury Molecule-1

KIM-1 é uma glicoproteína (90 kDa) transmembrana do tipo I com um domínio externo clivável localizado na membrana apical de túbulos com lesão aguda e crônica. Acredita-se que o KIM-1 desempenhe um papel nos processos de regeneração após lesão epitelial. Ele é indetectável no tecido renal normal mas apresenta expressão muito elevada em células epiteliais do túbulo proximal em rins de humanos e de roedores após lesão isquêmica ou tóxica.⁴⁶ Um pequeno estudo em seis pacientes com NTA mostrou a expressão de KIM-1 através de imuno-histoquímica na biópsia renal. Os mesmos investigadores posteriormente examinado KIM-1 na urina de 40 pacientes, encontraram níveis mais elevados de KIM-1 em pacientes com NTA isquêmica em comparação com aqueles apresentando nefropatia por contraste, outras formas de IRA, doença renal crônica e controles normais.⁴⁷ Em uma coorte de adultos submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica, os níveis de KIM-1

na urina foram preditores de IRA subsequente; com sensibilidade de 0,74, especificidade 0,9, e área sob a curva ROC de 0,83 após 12 horas de cirurgia). Outros estudos também mostraram a capacidade do KIM-1 urinário de identificar NTA associada a isquemia.^{23, 48, 49}

Em um estudo por Liangos e colaboradores, a área sob a curva ROC para predizer a necessidade de TSR ou morte do KIM-1 foi 0,61 (95% CI, 0,53-0,61), comparável com os parâmetros de creatinina sérica e volume urinário.⁵⁰ O estudo mostrou que pacientes com KIM-1 no quartil mais elevado tinham 3,2 vezes maior probabilidade (95% CI, 1,4-7,4) de desfecho desfavorável em relação a pacientes com KIM no quartil mais baixo. No entanto, esse resultado não foi significativo quando a análise foi ajustada para múltiplos fatores. Em um outro estudo realizados pelos mesmos autores, KIM-1 não foi um preditor da necessidade de TSR, mas foi um bom preditor para mortalidade.⁴⁵

IL-18

IL-18 também é considerado como um bom candidato a biomarcador precoce de injúria renal aguda. IL-18 é uma citocina pró-inflamatória de aproximadamente 24kDa, gerado pela clivagem da caspase-1.⁵¹ IL-18 induz a síntese e liberação de interferon gamma, e outras citocinas inflamatórias como IL-8, 4 e 13, e fator de necrose tumoral. Dessa forma, modula a ação de várias células imunologicamente ativas: macrófagos, monócitos, linfócitos e granulocitos. Além disso, IL-18 tem a capacidade de induzir apoptose.

Em um estudo clínico, os níveis urinários de IL-18 foram medidos em 72 pessoas: 14 com necrose tubular aguda, 8 com lesão pré-renal,⁵ com infecção do trato urinário, 12 com

doença renal crônica,²² após transplante de rim e 11 controles saudável.⁴⁰ Pacientes com NTA apresentaram níveis significativamente mais elevados de IL-18 urinários em relação aos de controles e pacientes com outras formas de doença renal.⁴⁰ Da mesma forma, os pacientes que foram submetidos a transplante renal e tiveram função retardada do enxerto tinham níveis mais elevados de IL-18 urinários que pacientes sem retardo da função de enxerto. No estudo do Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Network, mostras recolhidas nos dias 0, 1 e 3 da síndrome do desconforto respiratório agudo (SARA) níveis urinários de IL-18 > 100 pg/ml foram associados a um risco 6.5 vezes maior de evolução com IRA definido pelo RIFLE.²⁶

Conclusão

Muitos outros fatores além de taxa de filtração glomerular interferem com a elevação dos biomarcadores: heterogeneidade das apresentações clínicas; comorbidades e características clínicas dos pacientes, gravidade da doença de base e fatores associados a diminuição da função renal. Dessa forma, é mais provável que um painel de biomarcadores venha a proporcionar uma melhor compreensão da natureza e da gravidade de

um insulto renal do que a avaliação pontual de um único biomarcador. Certamente ainda são necessários mais estudos clínicos para avaliar a evolução temporal e desempenho dos novos biomarcadores de IRA nas diversas situações clínicas.⁷⁹ Mas acreditamos que em breve o uso clínico dos biomarcadores será uma realidade, e serão novos parâmetros para a estratificação de risco, o diagnóstico precoce, e orientação terapêutica da injúria renal aguda.

Referências Bibliográfica

1. Liaño F, Junco E, Pascual J, Madero R, Verde E. The spectrum of acute renal failure in the intensive care unit compared with that seen in other settings. The Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int Suppl.* 1998;66:S16-24.
2. Silvester W, Bellomo R, Cole L. Epidemiology, management, and outcome of severe acute renal failure of critical illness in Australia. *Crit Care Med.* 2001;29(10):1910-5.
3. Vincent JL. Incidence of acute renal failure in the intensive care unit. *Contrib Nephrol.* 2001(132):1-6.
4. Abosaf NY, Tolba YA, Heap M, Russell J, El Nahas AM. The outcome of acute renal failure in the intensive care unit according to RIFLE: model application, sensitivity, and predictability. *Am J Kidney Dis.* 2005;46(6):1038-48.
5. Bagshaw SM, George C, Dinu I, Bellomo R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(4):1203-10. Epub 2007/10/27.
6. D'Onofrio A, Cruz D, Bolgan I, Auriemma S, Cresce GD, Fabbri A, et al. RIFLE criteria for cardiac surgery-associated acute kidney injury: risk factors and outcomes. *Congest Heart Fail.* 16 Suppl 1:S32-6. Epub 2010/08/07.
7. Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care.* 2006;10(3):R73. Epub 2006/05/16.
8. Ostermann M, Chang RW. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med.* 2007;35(8):1837-43; quiz 52.
9. Cruz DN, Bolgan I, Perazella MA, Bonello M, de Cal M, Corradi V, et al. North East Italian Prospective Hospital Renal Outcome Survey on Acute Kidney Injury (NEIPHROS-AKI): targeting the problem with the RIFLE Criteria. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(3):418-25. Epub 2007/08/19.
10. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* 2004;8(4):R204-12. Epub 2004/08/18.
11. Mehta R, Kellum J, Shah S, Molitoris B, Ronco C, Warnock D, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care.* 2007;11(2):R31.
12. Cruz DN, Ronco C. Acute kidney injury in the intensive care unit: current trends in incidence and outcome. *Crit Care.* 2007;11(4):149. Epub 2007/08/02.
13. Hoste EA, Kellum JA. RIFLE criteria provide robust assessment of kidney dysfunction and correlate with hospital mortality. *Crit Care Med.* 2006;34(7):2016-7. Epub 2006/06/28.
14. Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care.* 2009;13(3):211. Epub 2009/07/30.
15. Moran S, Myers B. Course of acute renal failure studied by a model of creatinine kinetics. *Kidney Int.* 1985;27(6):928-37.
16. Hoste E, Damen J, Vanholder R, Lameire N, Delanghe J, Van den Hauwe K, et al. Assessment of renal function in recently admitted critically ill patients with normal serum creatinine. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20(4):747-53.

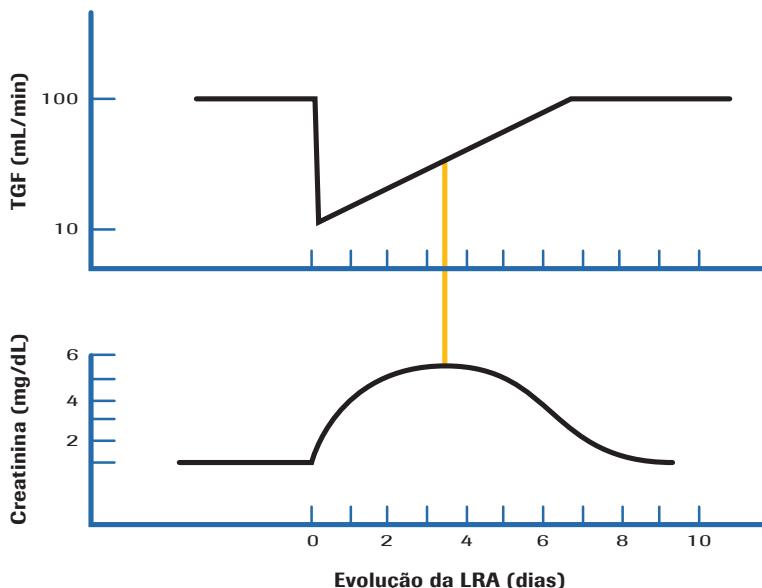
17. Macedo E, Bouchard J, Soroko SH, Chertow GM, Himmelfarb J, Ikizler TA, et al. Fluid accumulation, recognition and staging of acute kidney injury in critically-ill patients. *Crit Care*. 2010;14(3):R82.
18. Aronson D, Mittleman M, Burger A. Elevated blood urea nitrogen level as a predictor of mortality in patients admitted for decompensated heart failure. *Am J Med*. 2004;116(7):466-73.
19. Cauthen C, Lipinski M, Abbate A, Appleton D, Nusca A, Varma A, et al. Relation of blood urea nitrogen to long-term mortality in patients with heart failure. *Am J Cardiol*. 2008;101(11):1643-7.
20. Schrier R. Blood urea nitrogen and serum creatinine: not married in heart failure. *Circ Heart Fail*. 2008;1(1):2-5.
21. Klein L, Massie B, Leimberger J, O'Connor C, Piña I, Adams KJ, et al. Admission or changes in renal function during hospitalization for worsening heart failure predict postdischarge survival: results from the Outcomes of a Prospective Trial of Intravenous Milrinone for Exacerbations of Chronic Heart Failure (OPTIME-CHF). *Circ Heart Fail*. 2008;1(1):25-33.
22. Hewitt SM, Dear J, Star RA. Discovery of protein biomarkers for renal diseases. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(7):1677-89.
23. Han WK, Waikar SS, Johnson A, Betensky RA, Dent CL, Devarajan P, et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int*. 2008;73(7):863-9.
24. Himmelfarb J, Joannidis M, Molitoris B, Schietz M, Okusa M, Warnock D, et al. Evaluation and initial management of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(4):962-7.
25. Bagshaw SM, Gibney RT. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med*. 2008;36(4 Suppl):S152-8.
26. Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(10):3046-52.
27. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int*. 2008;73(9):1008-16.
28. Soni SS, Fahuan Y, Ronco C, Cruz DN. Cardiorenal syndrome: biomarkers linking kidney damage with heart failure. *Biomark Med*. 2009;3(5):549-60.
29. Bagshaw SM, Bellomo R. Cystatin C in acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*. Epub 2010/08/26.
30. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*. 2004;66(3):1115-22.
31. Herget-Rosenthal S. Can serial measurements of cystatin C accurately detect early renal function decline? *Nat Clin Pract Nephrol*. 2005;1(2):68-9.
32. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*. 2004;66(3):1115-22.
33. Nejat M, Pickering JW, Walker RJ, Endre ZH. Rapid detection of acute kidney injury by plasma cystatin C in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(10):3283-9.
34. Royakkers AA, Korevaar JC, van Suijlen JD, Hofstra LS, Kuiper MA, Spronk PE, et al. Serum and urine cystatin C are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med*. 2011;37(3):493-501.

35. Schmidt-Ott KM, Chen X, Paragas N, Levinson RS, Mendelsohn CL, Barasch J. c-kit delineates a distinct domain of progenitors in the developing kidney. *Dev Biol.* 2006;299(1):238-49.
36. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(6):1503-20.
37. Mishra J, Ma Q, Kelly C, Mitsnefes M, Mori K, Barasch J, et al. Kidney NGAL is a novel early marker of acute injury following transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2006;21(6):856-63.
38. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med.* 2008;148(11):810-9.
39. Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C, et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int.* 2006;70(1):199-203.
40. Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2006;6(7):1639-45.
41. 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;365(9466):1231-8.
42. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology.* 2006;105(3):485-91.
43. Singer E, Elger A, Elitok S, Kettritz R, Nickolas TL, Barasch J, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin distinguishes pre-renal from intrinsic renal failure and predicts outcomes. *Kidney Int.* 2011.
44. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2009;54(6):1012-24. Epub 2009/10/24.
45. Vaidya VS, Waikar SS, Ferguson MA, Collings FB, Sunderland K, Gioules C, et al. Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin Transl Sci.* 2008;1(3):200-8.
46. de Borst MH, van Timmeren MM, Vaidya VS, de Boer RA, van Dalen MB, Kramer AB, et al. Induction of kidney injury molecule-1 in homozygous Ren2 rats is attenuated by blockade of the renin-angiotensin system or p38 MAP kinase. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292(1):F313-20.
47. 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;62(1):237-44.
48. Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;290(2):F517-29.
49. van Timmeren MM, Bakker SJ, Vaidya VS, Bailly V, Schuurs TA, Damman J, et al. Tubular kidney injury molecule-1 in protein-overload nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;291(2):F456-64.
50. Liangos O, Perianayagam M, Vaidya V, Han W, Wald R, Tighiouart H, et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(3):904-12.

51. Leslie JA, Meldrum KK. The role of interleukin-18 in renal injury. *J Surg Res.* 2008;145(1):170-5.
52. Mehta RL. Timed and targeted therapy for acute kidney injury: a glimpse of the future. *Kidney Int.* 2010;77(11):947-9.
53. Briggs JP. The hunt for the perfect biomarker for acute kidney injury: back to gamma-trace? *Kidney Int.* 2008;74(8):987-9.
54. Cruz DN, Ronco C, Katz N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for detecting cardiac surgery-associated acute kidney injury. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 139(5):1101-6. Epub 2010/04/24.
55. Constantin JM, Futier E, Perbet S, Roszyk L, Lautrette A, Gillart T, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in adult critically ill patients: a prospective study. *J Crit Care.* 2010;25(1):176.e1-6.
56. Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, Harmon K, Monaco M, Cvijanovich N, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med.* 2008;36(4):1297-303.
57. Koyner JL, Bennett MR, Worcester EM, Ma Q, Raman J, Jeevanandam V, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. *Kidney Int.* 2008;74(8):1059-69.
58. Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Story D, Matalanis G, Dragun D, et al. Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery--a prospective cohort study. *Crit Care Med.* 2009;37(2):553-60. Epub 2008/12/31.
59. Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Increased incidence of acute kidney injury with aprotinin use during cardiac surgery detected with urinary NGAL. *Am J Nephrol.* 2008;28(4):576-82.
60. Bennett M, Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Grenier F, Workman R, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(3):665-73.

Anexos

Figura 1 – Dissociação entre a Taxa de Filtração Glomerular e a Creatinina Sérica.

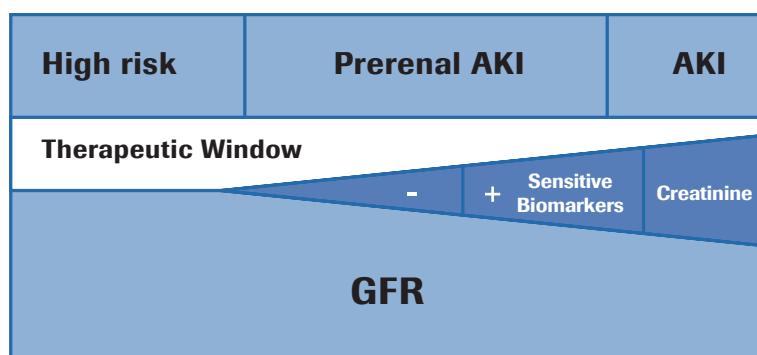


Legenda Figura1:

Adaptado de Moran and Myers; Kidney International, Vol. 27 (1985), pp. 928—937

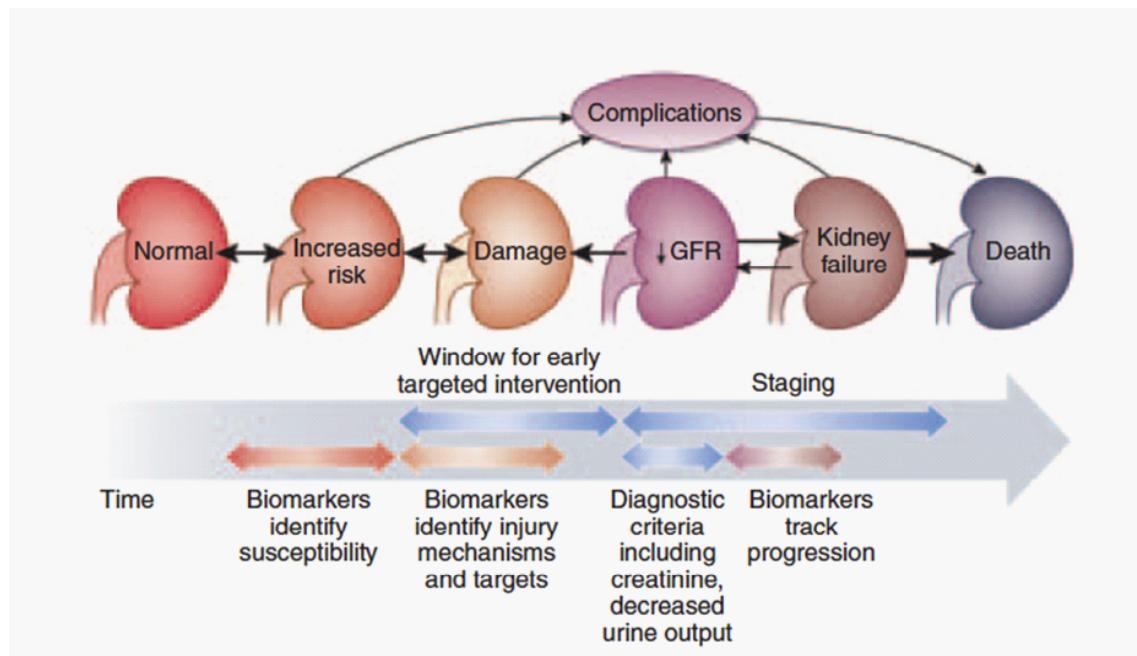
Após queda abrupta da Taxa de Filtração Glomerular há um atraso de dias para o aumento da elevação da creatinina sérica. Da mesma forma após inicio da recuperação da filtração glomerular a queda da creatinina sérica também é tardia.

Figura 2 – Associação da Evolução Temporal entre a Avaliação de Risco e Detecção Precoce da Injuria Renal Aguda.



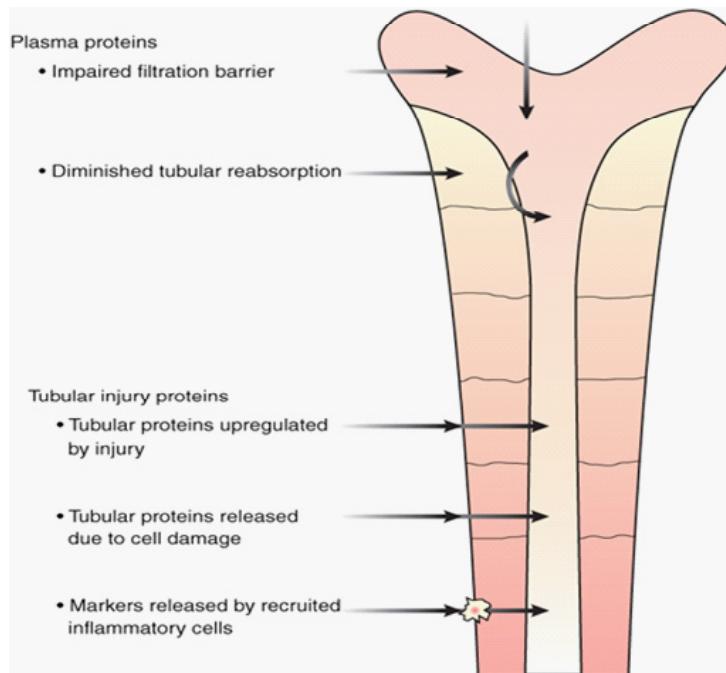
Modificado de (24). Com tempo na horizontal, a figura representa o estreitamento da janela terapêutica com a evolução da lesão renal. Biomarcadores precoces de lesão renal podem detectar a perda de função renal mais precocemente. Biomarcadores tradicionais de lesão renal, como a creatinina sérica são detectados mais tarde, com atraso em relação aos biomarcadores mais precoces.

Figura 3 – Modelo Conceitual de Injuria Renal Aguda.



Modificado de (52). A monitorização da função renal para indivíduos de alto risco poderia ser iniciada precocemente com base em dados clínicos e biomarcadores precoces. A avaliação sequencial de biomarcadores pode permitir a identificação do processo de injúria renal em um momento precedente a lesão estrutural. A duração da janela terapêutica é dependente do tipo de lesão. A evolução para lesão estrutural e o estadiamento da lesão renal poderia ser determinado pelo seguimento dos biomarcadores de lesão e função renal. Biomarcadores poderiam também predizer a evolução da lesão renal.

Figura 4 – Fisiopatologia dos Biomarcadores Urinários.



Adaptado de (53). Representação esquemática dos mecanismos pelos quais a perda de proteínas para o espaço urinário.

Tabela 1: NGAL como Preditor da Necessidade de Terapia Substitutiva Renal

Referencia	Coleta	População		TRS	Resultado
Cruz (54)	Plasma	UTI	Adulto	15/301 (5%)	AUC 0.78 (95% CI, 0.65-0.92) OR 12.9 (95% CI, 4.9-33.9) para cut-off 278 ng/ml, sensibilidade 76%, especificidade 80%
Constantin (55)	Plasma	UTI	Adulto	7/88 (8%)	
Wheeler (56)	Plasma	UTI	Pediátricos	227/143 (15%)	
Nickolas (38)	Urina	Sala de Emergência	Adulto	12/541 (2%)	
Koyner (57)	Plasma e urina	Cirurgia Cardíaca	Adulto	7/72 (10%)	
Haase-Fielitz (58)	Soro	Cirurgia Cardíaca	Adulto	4/100 (4%)	
Wagener (42)	Urina	Cirurgia Cardíaca	Adulto	5/81 (6%)	
Wagener (59)	Urina	Cirurgia Cardíaca	Adulto	8/426 (2%)	
Bennett (60)	Urina	Cirurgia Cardíaca	Pediátricos	4/196 (2%)	



Biomarcadores em Glomerulopatias

Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves

Professora Doutora do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

As glomerulopatias constituem um grupo heterogêneo de doenças do capilar glomerular que se caracterizam pela alteração na permeabilidade a proteínas plasmáticas e, ou pelo comprometimento estrutural (inflamatório ou não) desse componente do nefro.

A suspeita de acometimento glomerular se faz, clinicamente, através de uma anamnese adequada e um bom exame físico, porém o diagnóstico das glomerulopatias exige uma abordagem laboratorial mínima.

A abordagem diagnóstica das doenças glomerulares deve ser dividida em: Diagnóstico Clínico Laboratorial, Diagnóstico Etiológico e Diagnóstico Anatômico.

Proteinúria e hematúria glomerulares (associadas ou isoladas) constituem o alerta para o diagnóstico das glomerulopatias. A diferenciação entre hematúria glomerular e não glomerular através da análise da morfologia dos eritrócitos na urina permite sistematizar a investigação sob microscopia de contraste de fase e observar acantócitos e codócitos que são as formas das hemácias marcadoras da origem glomerular.¹

Na investigação etiológica das glomerulopatias exames laboratoriais que evidenciem possíveis associações são necessários. A especificidade e sensibilidade dos testes usados para o diagnóstico da doença de base devem ser conhecidas para a adequada interpretação. As doenças glomerulares podem estar associadas a uma diversidade de outras doenças (*Glomerulopatias Associadas ou Secundárias*) ou serem primariamente renais

(*Glomerulopatias Idiopáticas ou Primárias*). O diagnóstico etiológico adequado é importante para o tratamento. A rotina propedêutica laboratorial no diagnóstico etiológico das glomerulopatias envolve a investigação através de marcadores já validados (teste de estreptozima, sorologias para vírus da hepatite B, da hepatite C, HIV, pesquisa de fatores antinucleares, C3, C4, anti DNA nativo, pesquisa de crioglobulinas, anticorpo anticitoplasma de neutrófilos, ASLO, pesquisa de esquistossomose mansônica, pesquisa de infecções bacterianas crônicas, anticorpo antimembrana basal glomerular, anti Sm, anti RNP, anti Ro, anti La).

Embora a correlação anatomo-clínica das doenças glomerulares seja razoável (diagnóstico clínico laboratorial de Síndrome Nefrótica se associa a doenças não proliferativas e o diagnóstico de Síndrome Nefrítica (doenças glomerulares proliferativas)), o diagnóstico só pode ser evidenciado através da leitura da biópsia renal. Essa análise deve envolver pelo menos duas técnicas de avaliação tecidual, a microscopia óptica (MO) e a microscopia de Imunofluorescência (MI). Algumas doenças necessitam também da microscopia eletrônica (ME).

São riscos de pior prognóstico em relação à perda da função de filtração, principalmente em glomerulopatias crônicas, o aumento da creatinina sérica no diagnóstico, a severidade e a persistência da proteinúria, a presença de hipertensão arterial e algumas características histológicas. Esses riscos são comuns às diversas doenças glomerulares.

A busca por biomarcadores eficientes que possam diferenciar os diversos padrões anatômicos (portanto dispensar a biópsia renal), que permitam identificar e monitorar a resposta terapêutica e que ditem prognóstico com precocidade tem sido objeto de vários estudos.

A presença de proteinúria é um sinal laboratorial comum em pacientes com doenças glomerulares. O conceito de proteinúria baseia-se na presença de quantidade anormal dessas substâncias na urina. A quantificação da proteinúria em pacientes com doenças glomerulares é importante tanto para o diagnóstico quanto para a avaliação prognóstica e de resposta terapêutica.² Nos pacientes proteinúricos com glomerulopatias a albumina é a proteína presente em maior quantidade³ e essa característica define a proteinúria como glomerular. Na medida em que além da albumina proteínas de maior tamanho são identificadas na urina desses indivíduos o prognóstico renal de longo prazo é pior.⁴ Em pacientes com glomerulopatias a excreção urinária de proteínas maiores que a albumina se correlaciona melhor com a lesão histológica e com o prognóstico.⁵ O Índice de Seletividade da proteinúria (IS) indica as alterações de permeabilidade a macromoléculas. Em vários estudos, a avaliação do IS indica que a excreção de proteínas de alto peso molecular é melhor marcador de prognóstico que a albumina.^{6,7}

A proteinúria tubular é constituída de proteínas de baixo peso molecular (em geral em torno de 25000 daltons), filtradas normalmente e, que após a filtração, são

reabsorvidas em quase sua totalidade pelas células tubulares renais proximais⁸. Existem cerca de 20 proteínas que podem ser utilizadas como marcadores de disfunção tubular embora a beta 2 microglobulina, a proteína carregadora de retinol (RBP) e a alfa 1 microglobulina sejam as mais usadas para esse fim.⁹ As proteínas de baixo peso molecular são consideradas os marcadores mais precoces de disfunção tubular. Outras proteínas utilizadas como possíveis de identificar lesões tubulares incluem as cadeias leves de imunoglobulinas (cadeia kappa e cadeia lambda), a lisozima, a N-acetil-beta-D-glucosaminidase (NAG), alanina peptidase, gammaglutamiltransferase, desidrogenase lática, fosfatase alcalina, KIM-1.

Assim proteinúria e albuminúria são conceitos diferentes e o perfil qualitativo da proteinúria tem papel importante em auxiliar tanto em diagnóstico quanto em prognóstico.¹⁰

Em geral a presença de proteinúria, em pacientes com glomerulopatia, é identificada em exame de urina simples através da fita reagente. Lembrar que a fita reagente detecta apenas albumina. A detecção de proteinúria pela fita reagente indica necessidade de quantificação. O padrão ouro para a quantificação de proteinúria é a pesquisa em urina de 24hs, porém, atualmente, se dá preferência à utilização de amostra isolada corrigida pela creatinina urinária (g de proteína por grama de creatinina ou mg de proteína por mg de creatinina urinária) que resulta em um índice comparável (correlação altamente satisfatória) à proteinúria de 24hs¹¹.

É a quantificação que permite diagnosticar proteinúria nefrótica (proteinúria >3,5g/dia) e proteinúria não nefrótica. Sabe-se que quanto maior a perda protéica urinária maior é o risco de progressão da doença renal.¹²

Em relação à qualificação (proteinúria glomerular e ou proteinúria tubular) exames diretos devem, quando indicados, ser solicitados. A identificação qualitativa pode ser realizada através de eletroforese de proteínas urinárias (observar se a maior concentração de proteínas na urina é em albumina) ou quantificação direta de albumina. O índice de seletividade avalia a gravidade da alteração da permeabilidade (só para albumina ou para albumina e outras proteínas de maior tamanho). A pesquisa de proteinúria tubular pode ser realizada através de solicitação direta da proteína (alfa1 microglobulina urinária, proteína carreadora de retinol urinária, cadeias leves de imunoglobulina urinária, beta 2 microglobulina etc.).

O aumento na concentração urinária de proteínas de baixo peso molecular em pacientes com Síndrome Nefrótica também se associa a lesões tubulointersticiais epior prognóstico.¹³ Proteína carreadora de Retinol (RBP), Alfa 1 Microglobulina (A1M), e Beta 2 Microglobulina (B2M) têm sido rotineiramente usadas como marcadores de lesão tubular em pacientes com proteinúria.¹⁴⁻¹⁷ Cadeias Leves de imunoglobulinas (Kappa e Lambda) urinárias se correlacionam com Alfa 1 microglobulinúria e podem ser usadas também como marcadoras de lesão tubular, obviamente, quando mantêm

uma relação de normalidade na produção de cadeias leves.¹⁸ Esses marcadores urinários, embora possam ser usados como eventuais indicadores de prognóstico, não permitem diferenciar as diversas glomerulopatias. Vários outros marcadores urinários, séricos e teciduais tem sido propostos e várias metodologias tem sido utilizadas para a identificação desses marcadores.

O método proteômico de análise de proteínas, no caso de doenças glomerulares, quase que exclusivamente em urina, permite uma completa e rápida análise das proteínas de determinada amostra biológica (proteoma). O método proteômico tem sido utilizado para obter padrões de proteinúria que possam identificar as diversas doenças glomerulares.¹⁹ Vários estudos utilizando essa técnica vêm sendo realizados em doenças glomerulares, principalmente em nefropatiadiabética.²⁰ O método tem por objetivo traçar perfis de proteínas e seus fragmentos, que possam servir para a procura de biomarcador que possa ser testado e validado em ensaios laboratoriais que sejam usados na prática clínica.²¹

Algumas proteínas têm sido encaradas como potenciais candidatas a marcadores em pacientes com nefropatia lúpica.^{22,23} Dentre elas proteínas capazes de prever surto de atividade renal (na urina: MCP-1 - monocyte chemoattractant protein 1 -, NGAL - neutrophil gelatinase associated lipocalin -, Transferrina, Hepcidina; no soro: anti C1q), determinar gravidade do envolvimento inflamatório renal (IL-18 sérica), prever evolução para doença renal crônica (LFABP – liver fatty acid binding

protein -, FOXP3 -forkhead box P3 -) e até padrão histológico (painel de glicoproteínas, CXCL10 -*C-X-C motif chemokine 10*).

Nos casos de nefropatia por IgA, interleucina 6 e EGF - *epidermal growth factor* -, além de MCP1²⁴ e KIM 1(*kidney injury molecule 1*) evidenciaram correlacionar-se com prognóstico em relação à perda de função renal.²⁵

Em pacientes com nefropatia por HIV foi demonstrado que NGAL urinário é um marcador eficiente de diagnóstico podendo diferenciar a nefropatia associada ao HIV de outras nefropatias proteinúricas em pacientes portadores de HIV.²⁶

Em relação a doenças como Lesões Mínimas Glomerulares e Glomerulosclerose Focal e Segmentar (GESF) Idiopáticas a pesquisa de fatores, circulantes ou urinários, que possam diferenciá-las tem sido objeto de alguns estudos. Hemopexina e VPF - *vascular permeability factor* - são considerados candidatos a investigação em pacientes com Lesões Mínimas Glomerulares. Já em pacientes com GESF foi identificado no plasma de pacientes com GESF recorrente pós transplante a presença de um receptor solúvel de uroquinase e de outras substâncias que podem estar implicadas no aumento da permeabilidade do capilar glomerular.²⁷ A presença de aumento de CD80 urinário em pacientes com Lesões Mínimas, mas não em pacientes com GESF também pode sugerir seu uso como marcador de diagnóstico diferencial.²⁸ Já nos casos de síndrome nefrótica congênita e GESF ou

síndrome nefrótica familiar biomarcadores genômicos podem ser utilizados para o diagnóstico. Assim, detecção de mutações nos genes ACTN4, TRPC6, CD2AP, INF2, NPHS1, NPHS2, WT1, já tem sido sugeridas, em crianças, inclusive precedendo a realização da biópsia renal.²⁹

A presença de podocitúria em indivíduos com proteinúria tem sugerido a possibilidade de diagnóstico precoce de “atividade” da glomerulopatia.³⁰

Recentemente um grande avanço na obtenção de um marcador que pode permitir tanto diagnóstico “anatômico”, quanto etiológico e, talvez, de resposta terapêutica e de recidiva de doença foi descoberto e, atualmente, é motivo de diversos estudos para validar sua utilização.³¹ Trata-se da pesquisa de anticorpos circulantes antireceptor de fosfolipase A2, descrito como envolvido na patogênese da glomerulopatia membranosa idiopática.³² Estudos que se seguiram tem reproduzido os achados iniciais e identificado em cerca de 80% dos pacientes portadores de glomerulopatia membranosa idiopática a presença do anticorpo anti receptor de fosfolipase A2.³³

Em resumo o quadro clínico-laboratorial das doenças glomerulares é síndrômico. A presença de proteinúria glomerular (aquele na qual a albuminúria é a presença mais marcante) é o biomarcador diagnóstico mais estudado. A quantificação da proteinúria permite definir proteinúria nefrótica e não nefrótica, além de se relacionar com prognóstico de longo prazo. A avaliação da gravidade da alteração

de permeabilidade (índice de seletividade) e a pesquisa de proteinúria tubular (qualquer dos marcadores tubulares) podem auxiliar no acompanhamento do paciente. Obviamente, nenhum desses parâmetros individualiza a glomerulopatia.

O diagnóstico etiológico tem o auxílio de vários marcadores que identificam doenças que cursam com comprometimento glomerular. Porém, se excluirmos a nefropatia diabética (a principal causa de proteinúria glomerular), cerca de 60% das glomerulopatias é considerada idiopática (ainda não foi possível

um marcador confiável para o diagnóstico fisiopatogênico). Algum avanço no diagnóstico etiológico, através de pesquisas de mutações gênicas, parece estar próximo para ser utilizado na prática clínica, em especial nas doenças glomerulares familiares. Quanto ao diagnóstico anatômico, sem dúvida, ainda a biópsia renal é o padrão ouro, e, principalmente, em adultos, o conhecimento do diagnóstico é importante para a condução terapêutica. O encontro de marcadores que possam identificar e individualizar essas doenças será um avanço no acompanhamento desses pacientes.

Referências Bibliográfica

1. Köhler, H.; Wandel, E.; Brunck, B. Acanthocyturia - A characteristic marker for glomerular bleeding. *Kidney International*, 40: 115-20, 1991
2. Beetham R, Cattell WR. Proteinuria: pathophysiology, significance and recommendations in clinical practice. *Ann Clin Biochem*, 30:425-434, 1993
3. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Beltrame A, D'Amico G;Characterization of proteinuria in primary glomerulonephritides: urinary polymers of albumin. *Am J Kidney Dis.* 1997
4. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Napodano P, Paparella M, Arrigo G, Pisano L, D'Amico G;Fractional excretion of IgG predicts renal outcome and response to therapy in primary focal segmental glomerulosclerosis: a pilot study.*Am J Kidney Dis.* 2003 Feb;41(2):328-35.
5. Bakoush O, Torffvit O, Rippe B, Tencer J,High proteinuria selectivity index based upon IgM is a strong predictor of poor renal survival in glomerular diseases.*Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1357-1363
6. Tencer J, Torffvit O, Thysell H, Rippe B, Grubb A.Proteinuria selectivity index based upon alpha 2-macroglobulin or IgM is superior to the IgG based index in differentiating glomerular diseases. Technical note.*Kidney Int.* 1998 Dec; 54(6): 2098-105
7. Mackinnon B, Shakerdi L, Deighan CJ, Fox JG, O'Reilly DS, Boulton-Jones M.Urinary transferrin, high molecular weight proteinuria and the progression of renal disease.*Clin Nephrol.* 2003 Apr; 59(4): 252-8
8. Ribeiro Alves, MA: Propedêutica das Glomerulopatias in Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento. Toledo Barros et al2. Ed Savier, 2006
9. Penders J, Delanghe JRAlpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications *ClinChimActa* 346; 200416; 346(2): 107-18
10. Hofmann W, Guder WG. A diagnostic programme for quantitative analysis of proteinuria. *J*

ClinChemClinBiochem 1989; 589-600

11. Price CP, Newall RG, Boyd JC Use of protein: creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: a systematic review Clin Chem. 2005 Sep; 51(9): 1577-86
12. Ruggenenti P, Perna A, Mosconi L, Pisoni R, Remuzzi G, Urinary protein excretion rate is the best independent predictor of ESRF in non-diabetic proteinuric chronic nephropathies. "Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia" (GISEN);Kidney Int. 1998 May;53(5):1209-16
13. Du Buf-Vereijken PW: Treatment-related changes in urinary excretion of high and low molecular weight proteins in patients with idiopathic membranous nephropathy and renal insufficiencyNephrol Dial Transplant. 2006 Feb; 21(2): 389-96
14. Branten AJ, du Buf-Vereijken PW, Klasen IS, et al. Urinary excretion of beta2-microglobulin and IgG predict prognosis in idiopathic membranous nephropathy: a validation study. J Am Soc Nephrol 2005; 16:169-174
15. MastrianniKirsztajn G, Nishida SK, Silva MS, Ajzen H, Pereira AB,Urinary retinol-binding protein as a prognostic marker in the treatment of nephroticsyndrome;Nephron. 2000 Oct;86(2):109-14
16. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Beltrame A, Pisano L, D'Amico G, Urinary excretion of IgG and alpha(1)-microglobulin predicts clinical course better than extent of proteinuria in membranous nephropathy;Am J Kidney Dis. 2001 Aug;38(2):240-8
17. Peters HP, van den Brand JA, Wetzels JF. Urinary excretion of low-molecular-weight proteins as prognostic markers in IgA nephropathy. Neth J Med 2009; 67:54-61
18. Bottini PV et al: Clinical Chem 45(6), 1999
19. Fliser D, Novak J, Thongboonkerd V, Argilés A, Jankowski V, Girolami MA, Jankowski J, Mischak H Advances in urinary proteome analysis and biomarker Discovery J Am SocNephrol. 2007 Apr; 18(4): 1057-71
20. Merchant ML, Klein JB Proteomic discovery of diabetic nephropathy biomarkers.Adv Chronic Kidney Dis. 2010 Nov;17(6):480-6.
21. Rossing K, Mischak H, Dakna MZürbig P, Novak J, Julian BA, Good DM, Coon JJ, Tarnow L, Rossing P; PREDICTIONS Network.J Am Soc Nephrol. 2008 Jul;19(7):1283-90. 2008 Apr 30
22. Rovin BH, Zhang X. Biomarkers for lupus nephritis: the quest continuesClin J Am Soc Nephrol. 2009 Nov; 4(11): 1858-65. 2009 Sep 3
23. Shimizu C, Fujita T, Fuke Y, Ito K, Satomura A, Matsumoto K, Soma M High circulating levels of interleukin-18 binding protein indicate the severity of glomerularinvolvement in systemic lupus erythematosus.Mod Rheumatol. 2011 Jun 9
24. Julian BA, Wittke S, Haubitz M, Zürbig P, Schiffer E, McGuire BM, Wyatt RJ, Novak J Urinary biomarkers of IgA nephropathy and other IgA-associated renal diseases.World J Urol. 2007 Oct; 25(5): 467-76. 2007 Jul 10
25. Peters HP, Waanders F, Meijer E, van den Brand J, Steenbergen EJ, van Goor H, Wetzels JF. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease in patients with IgA nephropathy. Nephrol Dial Transplant. 2011 Apr 5
26. Sola-Del Valle DA, Mohan S, Cheng JT, Paragas NA, Sise ME, D'Agati VD, Barasch J.Urinary NGAL

- is a useful clinical biomarker of HIV-associated nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Jul; 26(7): 2387-90. 2011 May 9
27. McCarthy ET, Sharma M, Savin VJ. Circulating permeability factors in idiopathic nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Nov;5(11):2115-21 2010 Oct 21
28. Garin EH, Mu W, Arthur JM, Rivard CJ, Araya CE, Shimada M, Johnson RJ. Urinary CD80 is elevated in minimal change disease but not in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int.* 2010 Aug;78(3):296-302 2010 May 19
29. Santín S, Bullich G, Tazón-Vega B, García-Maset R, Giménez I, Silva I, Ruíz P, Ballarín J, Torra R, Ars E. Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 May;6(5):1139-48 2011 Mar 17
30. Petermann A, Floege J. Podocyte damage resulting in podocyturia: a potential diagnostic marker to assess glomerular disease activity. *Nephron Clin Pract.* 2007;106(2):c61-6. 2007 Jun 6
31. E. Hoxha, S. Harendza, G. Zahner, U. Panzer, O. Steinmetz, K. Fechner, U. Helmchen, R. A. K. Stahl. (2011) An immunofluorescence test for phospholipase-A2-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, june 2011
32. Beck LH Jr, Bonegio RGB, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009;361:11-21
33. Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, Salant DJ, Liu Z. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2011 Jun;22(6):1137-43



Biomarcadores de Hipervolemia em Diálise

Claudio Luders

Assistente Doutor em Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Médico Responsável pelo Serviço de Hemodiálise Hospital Sírio-Libanês

Introdução

O adequado controle do volume do líquido extracelular é um dos objetivos fundamentais das diferentes modalidades de terapias de substituição renal. A presença de sobrecarga de volume é um fenômeno precoce na história clínica dos pacientes com disfunção renal e contribui, significativamente, na gênese da hipertensão arterial, da hipertrofia ventricular esquerda, da insuficiência cardíaca congestiva e das elevadas taxas de mortalidade cardiovascular observadas nesta população.^{1,2,3,4} Diferentes estudos não controlados, observacionais e registros multicêntricos (DOPPS) demonstraram associação entre o estado de hidratação dos pacientes com a sobrevida.^{5,6,7}

Mesmo a presença de um estado moderado de hiper-hidratação, excesso de 15% no volume de líquido extracelular (~2,5 litros), foi suficiente para aumentar o risco ajustado de mortalidade em duas vezes, conforme recente estudo multicêntrico europeu.⁸ A mortalidade cardiovascular ajustada para pacientes com ganho médio interdialítico de apenas 1,5 a 2,0 kg foi 30 % superior, àquela observada em pacientes com ganho menor que 1,0 kg.⁹ Assim, fica evidente que a remoção do excesso de líquido retido pelos pacientes em diálise é etapa, fundamental, na adequação do tratamento dialítico e esta diretamente relacionada à sua sobrevida.

A dimensão da prevalência do estado de hiper-hidratação nos pacientes em hemodiálise pode ser facilmente aferida ao analisarmos a evolução do controle da pressão arterial, relatada por Charra, ao transferir os pacientes em programa convencional de hemodiálise

(3-4 horas, 3 vezes por semana), onde 80% encontrava-se hipertenso, para programa de hemodiálise noturna longa. A completa remoção do excesso de líquido extracelular, alcançada com as 8 horas de diálise, possibilitou o adequado controle da pressão arterial, sem uso de medicações hipotensoras, em 95% dos pacientes.¹⁰ É interessante observar que a redução média de apenas 2,5 kg foi suficiente para a normalização da pressão arterial nestes pacientes. A prevalência de pacientes em diálise hipertensos na população americana é de 86%, estando apenas 30% bem controlados. A presença de hipervolemia nos pacientes em diálise está, diretamente, implicada na gênese da hipertensão em até 80% dos casos, sendo assim seu principal mecanismo.^{11,12} Outro marcador importante da presença de sobrecarga de volume na população dialítica é a elevada prevalência de hipertrofia ventricular esquerda. Estima-se que ao redor de 70% dos pacientes em diálise apresentem sinais ecocardiográficos de hipertrofia de ventrículo esquerdo. Chan et al¹³ relata que a conversão de 28 pacientes com diagnóstico de hipertrofia ventricular esquerda, para hemodiálise diária noturna, possibilitou melhor controle da pressão arterial, redução do volume extracelular e normalização da massa cardíaca em 60% dos pacientes. Da mesma forma, foi possível normalizar a pressão arterial e reduzir o índice de massa ventricular esquerda de pacientes em diálise peritoneal e hemodiálise convencional, apesar da redução de hipotensores, utilizando-se apenas de medidas para o controle rigoroso do volume extracelular, associado à restrição de sal na dieta.^{14,15}

Conceito de Peso Seco e Como Atingi-lo

O conceito de peso seco sempre esteve presente nas prescrições de diálises sendo, de certa forma, intuitivo. Apesar de ser tão antigo quanto à diálise, este conceito vem evoluindo ao longo do tempo. Na década de 60, a determinação do peso seco implicava na presença de hipotensão sintomática, induzida pela ultrafiltração, na ausência de outras causas evidentes.¹⁶ Em 1996, Charra et al¹⁷ definem o peso seco como: o peso ao final da sessão de diálise no qual o paciente se mantém normotenso até a próxima sessão, apesar da retenção de sal e água, preferencialmente sem o uso de hipotensores.

A definição mais atual é de Sinha e Agarwal, que definem peso seco como o mais baixo peso tolerado ao final da sessão de diálise, atingido pela gradual redução de peso do paciente, onde existam os mínimos sinais e sintomas de hipotensão ou hipervolemia. Esta definição é dinâmica e envolve a tentativa de redução progressiva do peso do paciente¹⁸. Este método tem, no entanto, severas limitações. As variações de peso em função do ganho ou perda de massa magra e/ou de massa gordurosa que acompanham o estado nutricional do paciente impõem tentativas frequentes de se obter o peso seco.

Para a maioria dos pacientes a obtenção do peso seco baseada em tentativa e erro é, frequentemente, acompanhada de sintomas desagradáveis durante a sessão de diálise. Na presença de sintomas como câimbras, hipotensão, tontura, náuseas e vômitos a conduta habitual é elevar o peso do paciente e, muitas vezes, diminuir a dose de hipotensores.

Estas medidas dificultam ainda mais a obtenção correta do peso seco. Pacientes com ganho excessivo de peso podem nunca atingir seu peso seco ideal, uma vez que, a grande remoção de líquidos é, frequentemente, sintomática. No processo de tentar obter o peso seco do paciente, Agarwal et al¹⁹ sugerem a redução lenta e progressiva do peso. O volume de ultrafiltração prescrito deverá reduzir o peso do paciente entre 200 e 300 gramas em relação ao último peso pós-diálise. Pacientes com ganho de peso excessivo deverão ter seu tempo de diálise prolongado para reduzir as taxas de ultrafiltração e, assim, tentar atingir seu peso seco.¹⁷

O estudo DRIP é o único estudo, prospectivo e randomizado, que avaliou o impacto da redução progressiva de peso no controle da pressão arterial. Neste estudo, os autores não mudaram as doses de hipotensores, o sal da dieta, a concentração de sódio do dialisado, o tempo ou a frequência das diálises. Observou-se que a redução de 1,0 Kg no peso do grupo com ultrafiltração intensificada resultou na redução da pressão arterial ambulatorial sistólica e diastólica em 13,5 e 7,3 mm Hg, respectivamente.²⁰

Apresença de 80% dos pacientes em programa convencional de hemodiálise com hipertensão mostra que a obtenção clínica do peso seco através de anamnese, exame clínico e análise de prontuário é grosseira e imprecisa.^{12,18,19} A presença de edema pré-tibial, apesar de sensível, é pouco específica e se correlaciona melhor com marcadores de risco cardiovascular e obesidade do que com medidas

indiretas de volemia (NT-proBNP, diâmetro de veia cava inferior, pressão de átrio direito, atividade de renina plasmática, aldosterona plasmática).²¹ No estudo DRIP, a presença de edema não teve nenhum valor preditivo para separar pacientes que responderiam ou não à redução de peso.²⁰ Outras medidas, frequentemente, utilizadas como a presença de estase jugular ou de hipotensão ortostática, também não foram efetivas para determinar estados de hipo ou hipervolemia.²² Em função do exposto diversos métodos auxiliares

foram desenvolvidos visando o diagnóstico da condição volêmica do paciente em diálise. Nenhum dos métodos descritos abaixo é considerado padrão ouro na avaliação do excesso de volume dos pacientes em diálise peritoneal ou hemodiálise. A utilidade do uso de tecnologias complementares para a obtenção do peso seco do paciente, carece de estudos que demonstrem a melhoria de desfechos importantes para a população em diálise com a sua utilização.

Biomarcadores de Hipervolemia

1. Peptídeo Natriurético do Tipo B (BNP e NT-proBNP) e Peptídeo Natriurético Atrial

O peptídeo atrial natriurético e seu produto de clivagem N-terminal Pro-ANP foram os primeiros peptídeos natriuréticos a serem estudados. Nos últimos anos, o foco de estudo passou a ser o peptídeo natriuréticocerebral(BNP). O ANP apresenta meia vida muito curta, entre 2 a 4 minutos, depuração muito baixa em hemodiálise convencional, porém sua depuração com capilares de alto fluxo é significativa. Correlaciona-se com os níveis de pressão arterial e com o diâmetro de veia cava inferior antes e após a sessão de hemodiálise. Os níveis plasmáticos do ANP apresentam queda ao longo da sessão de hemodiálise, mas persistem elevados ao final da sessão, principalmente, em pacientes com hemodinâmica atrial alterada.²³ Em resumo, o nível plasmático de ANP é sensível para determinar estados de hiperhidratação, mas não é específico.¹²

Nos últimos anos a grande maioria dos trabalhos passou a estudar o NT-proBNP e o BNP como biomarcadores de hipervolemia, de função ventricular e de prognóstico de pacientes em diálise.²⁴ A principal dificuldade da interpretação dos resultados envolvendo o uso do NT-proBNP advém, em parte, de aspectos peculiares de sua síntese e degradação na vigência de insuficiência renal crônica. Assim, o BNP é produzido pelos ventrículos cardíacos, em resposta à distensão dos mesmos. Esta distensão pode ser secundária à sobrecarga de volume e/ou pressão. As duas condições anteriores estão frequentemente presentes nos pacientes em diálise, assim, pacientes com sobrecarga de volume, com redução da contratilidade miocárdica, com insuficiência coronariana, com hipertrofia ventricular esquerda e com aumento do volume de líquido extracelular apresentarão NT-proBNP

elevados. Diferentes autores relatam elevação do NT-proBNP em mais de 90% dos pacientes em diálise, quando comparado com valores normais para a população geral (100 pg/mL para homens e 150 pg/mL para mulheres, Roche Diagnostic).^{25,26} Da mesma forma, a redução da degradação do BNP à medida que piora a função renal, contribui para o aumento de sua concentração e dificulta a interpretação dos seus resultados nesta população.²⁷ Baseado em seus pesos moleculares, ambos BNP (3,5kDa) e NT-proBNP (8,5kDa), são classificados como proteínas de baixo peso molecular e são livremente filtradas no glomérulo. A filtração glomerular e a posterior degradação por endopeptidases a nível tubular é o principal mecanismo de eliminação destas duas moléculas. Variações da concentração do NT-proBNP ao longo da sessão de diálise e durante a semana são fatores adicionais que dificultam sua utilização na prática clínica. Demonstrou-se que o NT-proBNP é eliminado em diálises com capilares de alto fluxo tendo valores pós-hemodiálise, entre 2 a 30% menores, do que no início da sessão.^{28,29,30} Ao longo da semana apresenta perfil decrescente com queda ao redor de 40%, entre a primeira e última diálise da semana.²⁸ A utilização de capilares de baixo fluxo leva a um aumento na concentração de NT-proBNP da ordem de 5%, em função de hemoconcentração.²⁹ A idade, o sexo do paciente e a dose de diálise medida como Kt/V, também interferem com os valores de NT-proBNP.³⁰ Com todas estas possíveis variáveis envolvidas não é difícil entender os resultados controversos da literatura, quanto a utilidade do NT-proBNP como biomarcador de hipervolemia.

Diversos trabalhos demonstraram a capacidade do NT-proBNP em predizer o aumento de mortalidade de pacientes em diálise.^{30,31,32} Pacientes com concentrações mais elevadas de NT-proBNP, antes ou após a hemodiálise, têm maior taxa de mortalidade do que aqueles com concentrações menores. Em estudo com 134 pacientes prevalentes em hemodiálise o risco de morte ou de complicações cardiovasculares graves, analisados por regressão multivariada, foi significativamente mais elevado em pacientes com NT-proBNP > 5300 pg/mL (OR 3,20; $p<0,001$)³¹. Em um estudo prospectivo multicêntrico com 596 pacientes incidentes em diálise sem doença cardíaca sintomática e/ou dilatação de ventrículo esquerdo, apenas o sexo masculino e a concentração de NT-proBNP estiveram associados à massa de ventrículo esquerdo no início do estudo. Após 2 anos de seguimento, apenas as variáveis idade, pressão arterial sistólica, diabetes e concentração de NT-proBNP foram capazes de predizer desfechos morte e/ou evento cardiovascular.³² A utilidade do NT-proBNP em predizer mortalidade em pacientes em CAPD, APD e hemodiálise foi confirmada em estudo mexicano, envolvendo um total de 753 pacientes. No modelo de risco proporcional de Cox, apenas albumina sérica, diabetes, PCR e valores de NT-proBNP estiveram associados à mortalidade de forma independente e significativa. Pacientes no quartil mais elevado do NT-proBNP apresentaram mortalidade 4 vezes superior à pacientes no menor quartil ($p<0,001$), independentemente da modalidade dialítica.³³ Recentemente, dois trabalhos

utilizaram a dosagem do BNP como preditor de mortalidade para pacientes em diálise.^{34,35} Os valores basais de BNP, em ambos os trabalhos, falharam em predizer mortalidade geral e mortalidade de origem cardiovascular. Para pacientes incidentes em diálise, a manutenção dos valores de BNP acima da média auferida no terceiro mês esteve relacionada ao aumento de mortalidade.³⁴ Paciente prevalentes em diálise que apresentaram elevação anual acima de 40% nos valores basais de BNP tiveram aumento de mortalidade geral e/ou cardiovascular em 7 vezes, quando comparados com pacientes sem aumento ou com aumento menor de BNP.³⁵

A utilização do NT-proBNP como biomarcador da condição volêmica do paciente, em função do grande número de variáveis que afetam sua dosagem, é muito mais controversa. Diferentes estudos mostram resultados contraditórios ao analisarem as relações entre hidratação e as concentrações NT-proBNP, tanto nos pacientes em diálise peritoneal quanto nos pacientes em hemodiálise.^{28,32,33,36,37} A grande dificuldade em diferenciar se a distensão das câmaras cardíacas ocorreu por sobrecarga de volume ou por patologias cardíacas intrínsecas, explica em parte, a contradição dos resultados. Booth et al³⁸ estudaram 72 pacientes estáveis em hemodiálise sem evidências de patologias cardíacas quando avaliados por ecocardiograma e cintilografia. Todos os pacientes apresentavam diâmetro diastólico final de VE, diâmetro sistólico final de VE e fração de ejeção normal. O autor observou que a variável com melhor associação com os níveis de NT-proBNP

foia medida da razão do volume de água extracelular pelo volume de água corporal total, feita por bioimpedância. Outras variáveis relacionadas à sobrecarga de volume, pressão arterial média pós-diálise e a redução do volume de água extracelular durante a diálise corrigida pela superfície corpórea, também, estavam associadas aos valores de NT-proBNP de forma independente. Nenhuma associação entre o NT-proBNP e as diferentes variáveis ecocardiográficas foi encontrada. Desta forma, conclui que para pacientes estáveis em hemodiálise e com função cardíaca normal ao ecocardiograma, valores elevados de NT-proBNP sugerem expansão volêmica e que se deveria tentar a redução progressiva do peso do paciente.

Assim, podemos afirmar que os peptídeos natriuréticos cardíacos, NT-proBNP e BNP, são importantes marcadores prognósticos para os pacientes em diálise e que, atualmente, apenas o NT-proBNP tem um possível valor no diagnóstico de hiper-hidratação para pacientes em hemodiálise com função cardíaca normal.

2. Diâmetro da Veia Cava Inferior e Volume do Átrio Esquerdo

A avaliação do diâmetro da veia cava inferior e/ou do volume do átrio esquerdo por ecocardiografia são medidas simples, rápidas, não invasivas e que podem ser repetidas várias vezes. A existência de correlação entre o diâmetro da veia cava com a pressão venosa central foi demonstrada há mais de três décadas.³⁹ Cheriex et al⁴⁰ utilizaram a medida do diâmetro da veia cava inferior após hemodiálise em 22 pacientes e demonstraram uma excelente correlação entre o diâmetro da veia cava e a pressão média do átrio direito, avaliada de maneira invasiva ($r=0,92$; $p<0,001$). Apesar do diâmetro da veia cava avaliar adequadamente o volume intravascular, a utilização dos valores propostos pelo autor para definir estados de hiper e hipo-hidratação, $>11,5 \text{ mm/m}^2$ e $<8 \text{ mm/m}^2$, respectivamente, mostraram-se inadequados quando utilizados em outros trabalhos. Assim, Brennen et al⁴¹ encontraram a improvável frequência de hipovolemia pré-hemodiálise variando entre 39 a 47% dos pacientes, de acordo com o limite utilizado. Recentemente, Agarwal et al⁴² avaliaram a eficácia do diâmetro da veia cava

e do volume do átrio esquerdo em predizer a resposta da pressão arterial à redução de peso. Os autores concluem que os parâmetros ecocardiográficos refletem apenas o volume intravascular momentâneo e não a expansão do volume extracelular, uma vez que não se correlacionam com a presença de hipertensão e não predizem sua queda com a redução de peso. Imediatamente após a sessão de diálise, mesmo, pacientes expandidos podem apresentar contração do diâmetro da veia cava inferior. Pacientes submetidos a taxas de ultrafiltração superiores à sua taxa de reenchimento vascular apresentaram, ao final da diálise, hipovolemia relativa, independentemente, de sua condição de hidratação. Outras variáveis, como complacência das câmaras cardíacas, da veia cava, patologias valvares e pulmonares, podem afetar, ainda, a especificidade do método. Os autores concluem que as medidas ecocardiográficas do diâmetro da veia cava inferior e do volume do átrio esquerdo não são adequadas para a determinação do peso seco de pacientes em hemodiálise.

3. Monitor do Volume Relativo de Plasma (VRP)

Os monitores do volume relativo de plasma e/ou sangue são aparelhos não invasivos, de fácil utilização e que vêm incorporados em algumas máquinas de diálise. Permitem a monitorização contínua e precisa dos níveis de hemoglobina e hematócrito no sangue da linha arterial, através de absorbância óptica.^{43,44} Assumindo que não ocorra alteração na massa de hemácias, ao longo da sessão de

hemodiálise, e que ocorra uma mistura uniforme das células vermelhas e plasma no corpo, o aumento do hematócrito induzido pela ultrafiltração estima a porcentagem de queda no volume sanguíneo. A fração do volume de sangue livre do hematócrito é calculada pela fórmula $\text{VRP}=100-\text{Ht}\%$. Inicialmente, este dispositivo foi usado para prevenir episódios de hipotensão durante a sessão de hemodiálise,

mas demonstrou baixo valor preditivo quando não se incorporam técnicas de “biofeedback” ao aparelho.⁴³

Algumas evidências indiretas sugeriam que o VRP poderia ser utilizado como biomarcador de hipervolemia. Assim, a monitorização contínua do VRP durante as sessões de hemodiálise demonstrou correlação com as medidas ultrassonográficas do diâmetro de veia cava inferior e com sintomas de hipovolemia induzidos pela ultrafiltração.⁴⁵ Steuer et al⁴⁶ baseados na premissa que a ausência de queda do VRP, induzida pela ultrafiltração, era sugestiva de hiper-hidratação, avaliou a tolerância a redução de peso em 10 pacientes com queda da VRP<5%. Os autores conseguiram aumentar, significativamente, a perda de peso durante a hemodiálise e reduzir o peso seco de 6 pacientes, sem induzir sintomas de hipovolemia. Na tentativa de reduzir o peso seco dos pacientes, Rodriguez et al⁴⁷ observaram que os pacientes que tiveram a menor redução do VRP (<3%), ao atingirem seu peso seco clínico, estavam longe do peso seco final. Estes pacientes toleraram intensificação da ultrafiltração visando à redução subsequente do peso ($-5,38 \pm 1,28$ Kg), de forma assintomática. Em estudo recente, ao

analisar a queda percentual por hora do VRP em 150 pacientes em hemodiálise, o autor definiu 2 tipos de retas: retas com ângulos de decaimento achatado, “flat”, onde a queda do VRP era menor que 1,33% por hora e retas com ângulo de decaimento acentuado, “steeper”, onde a queda do VRP era >1,33%/hora. Observou que o aumento da ultrafiltração, na tentativa de atingir um peso seco menor, acentuava o ângulo de decaimento das retas e que o ângulo das retas predizia a subsequente redução na pressão sistólica. Assim, pacientes com ângulos achatadas tinham as maiores quedas da pressão sistólica ambulatorial com a redução do peso. Desta forma, podemos afirmar que a presença de retas com ângulos de decaimento do VRP achatados, identificam pacientes com hipertensão volume dependente. Estes pacientes apresentaram, concomitantemente, a maior redução de peso ao longo do experimento. Por outro lado, pacientes com ângulos de decaimento acentuado, habitualmente, não toleraram tentativas de redução do seu peso seco.⁴⁴ Em editorial analisando o trabalho acima, Weir⁴⁸ conclui que o uso do monitoramento do VRP fornece aos nefrologistas a oportunidade de se avaliar, de forma científica, as necessidades de ultrafiltração.

4. Bioimpedânci a, Bioimpedânci a Espectroscópica e Bioimpedânci a Segmentar

A utilização da bioimpedânci a na avaliação do peso seco do paciente em diálise ganhou importante destaque nos últimos 10 anos. Trata-se de técnica não invasiva, de baixo custo, indolor, rápida e que pode ser repetida diversas vezes. No entanto, é uma técnica indireta e

sua acurácia depende, profundamente, da validação do modelo elétrico utilizado. Baseia-se na resistênci a total do corpo à passagem de correntes elétricas de baixa amplitud e alta freqüênci a. Mensura propriedades elétricas do corpo humano como: impedânci a(Z),

resistência(R), reactância (Xc) e ângulo de fase (PhA). O termo impedância significa oposição (resistência) à passagem da corrente elétrica e se expressa pela combinação da resistência e reactância dos diferentes tecidos.

A impedância é baixa em tecidos magros, onde fluidos e eletrólitos estão primariamente contidos e é elevada em ossos, espaços com ar e tecido gorduroso. Em geral, a impedância é proporcional à água corporal total. A resistência reflete a oposição à passagem da corrente elétrica através das soluções iônicas intra e extracelulares, estando, desta forma, inversamente relacionada à quantidade de água dos tecidos. A reactância é o componente capacitivo (capacitância) da impedância e está relacionada ao armazenamento de energia pelas membranas celulares, organelas e interfaces teciduais que agem como capacitores. A reactância correlaciona-se positivamente com a massa celular tecidual e com o volume de fluido intracelular, sendo assim utilizada como uma medida do estado nutricional. O ângulo de fase corresponde à relação geométrica R/Xc, habitualmente, varia no corpo humano de 8° a 15° graus. Ângulos de fase baixos refletem perda de massa celular ou aumento de água extracelular. Quando o ângulo é elevado, como em pessoas saudáveis, sugere grande quantidade de membranas celulares intactas.

Os tecidos humanos se comportam como um circuito paralelo de corrente elétrica, com o compartimento extracelular representado por uma simples resistência, enquanto o compartimento intracelular apresenta uma resistência e um capacitor.⁴⁹ Utilizando-se de

frequências diferentes e através de modelos matemáticos é possível estimar a água corporal total, água intra e extracelular.⁵⁰

Podemos estimar o peso seco dos pacientes em diálise com a bioimpedância de 3 maneiras distintas, em função do tipo de aparelho utilizado. Aparelhos de frequência única, habitualmente 50kHz, estimam apenas a água corporal total (TBW). Tanto o volume extracelular (ECV) quanto o volume intracelular (ICV) derivam de múltiplos modelos de regressão baseados em parâmetros antropométricos. Aparelhos de multi-frequência ou bioimpedância espectroscópica aplicam frequência de 5 a 1000 kHz e estimam diretamente a TBW, ECV e ICV. Aparelhos de bioimpedância segmentar espectroscópica são, habitualmente, utilizados de maneira contínua durante a sessão de hemodiálise, em apenas uma parte do corpo (panturrilha).

Supõem que as alterações do ECV locais refletem o que acontece em todo o corpo durante a sessão de hemodiálise. A panturrilha seria, supostamente, o último local onde ocorreria remoção do excesso de líquido em função da ação da gravidade. Registra-se continuamente a resistência extracelular da panturrilha e elabora-se uma curva onde cada ponto é a razão da resistência inicial sobre a resistência no tempo T (R_0/RT). Quando esta curva permanecer estável e a diferença da razão de duas medidas, com intervalo de 20 minutos, $R_0/RT_1 - R_0/RT_2 < 0.01$, interrompe-se a ultrafiltração e o peso neste momento, é considerado o peso seco.⁴⁹

Chamney et al,⁵¹ em 2002, propuseram um novo modelo para estimar o volume extracelular (ECV), utilizando-se das medidas da bioimpedância. Os autores assumiram uma relação linear entre o peso corporal (pc) e o volume extracelular e construíram, assim, uma reta para pessoas sadias. Esta reta, denominada de reta de normovolemia, apresenta como ângulo a relação EVC/pc e representa a média do volume extracelular para um dado peso em pessoas saudáveis. No entanto, é específica para a população estudada, difere entre os sexos e apresenta uma deflexão para baixo em pessoas obesas. Construindo-se uma reta para o paciente em diálise, reta de hipervolemia, e comparando esta reta com a reta de normovolemia, podemos inferir o excesso de volume de água extracelular.

Os autores observaram uma correlação altamente significante entre a variação de peso preditado pelo método (-4,98 kg) e aquela atingida com a intensificação da ultrafiltração (-5,85 kg, $r=0,839$). O peso avaliado pela curva de normovolemia/hipervolemia apresentava, em análise de Bland-Altman, uma diferença média de 0,87 kg acimado peso atingido, e um erro de até 1,92 kg para homens e 1,76 kg para mulheres. O método apresenta algumas limitações, diferenças de composição corporal secundária à idade, à raça, aos extremos de peso e a presença de uma condição patológica, como a insuficiência renal crônica, podem afastar as curvas de normovolemia/hipervolemia, aumentando o erro da análise. No Hospital Sírio-Libanês, em São Paulo, construímos a curva de normovolemia, através

de bioimpedância espectroscópica, analisando os dados de 98 pacientes saudáveis. Observamos a mesma relação entre peso e volume extracelular ($ECV/pc=0,23L/kg$) para homens e mulheres.⁵² Estes valores são muito próximos aos encontrados por Chamney et al.⁵¹ A média das diferenças de peso foi de apenas 0,473 kg, mas com desvio padrão elevado. Comparando diferentes métodos de estimativa de peso seco, Kraemer et al⁵³ observou que o limite de detecção para variações do status de volume do paciente foi mais precisamente avaliado, utilizando-se a bioimpedância espectroscópica, quando comparado com o diâmetro da veia cava e o monitoramento do volume relativo de plasma/sangue. O limite mínimo de detecção para bioimpedância foi de $0,87\pm0,64$ litros, sendo desta forma, o método mais sensível e o único a definir o peso seco alvo, dentro de limites de variação aceitáveis impostas pelos autores.

Recentemente, foi incorporado um novo modelo matemático ao aparelho de bioimpedância espectroscópica, conhecido como Body Composition Monitor (BCM; Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Germany). Diferentes autores demonstraram que o excesso de líquido retido, entre duas sessões de diálise, nos pacientes com insuficiência renal crônica ficava confinado, quase que exclusivamente, no compartimento extracelular.^{54,55} Foi proposto um novo modelo para o corpo humano com três compartimentos: massa magra hidratada, tecido adiposo hidratado e excesso de líquido. Observou-se que a hidratação do tecido adiposo e dos

demais tecidos que compõem a massa magra apresentam hidratação relativamente constante, assim, 20% do tecido adiposo e 70% do tecido magro são compostos por água.⁵⁶ Este modelo foi validado em 104 indivíduos saudáveis usando técnicas de diluição de deutério, brometo de sódio, absorbância de raio x (dual-energy) e pletismografia. A utilização deste modelo possibilitou que o cálculo do excesso de líquido para cada indivíduo pudesse ser realizado sem a utilização de curvas de normo/hipervolemia.

A determinação do excesso de líquido é fortemente dependente da composição corporal (peso, altura, conteúdo de gordura, músculos) que, por sua vez, variam com idade, sexo e raça. Como este novo modelo determina a composição corporal, ele elimina a necessidade de diversas curvas de normo/hipervolemia para diferentes idades, raças e sexo.^{56,57} O BCM incorpora estes avanços e foi validado contra diferentes metodologias em indivíduos saudáveis e em pacientes em diálise.⁵⁸ Recentemente, o modelo matemático utilizado no BCM foi comparado com outros dois modelos e mostrou maior precisão para a utilização em pacientes em diálise.⁵⁹ Wizermann et al⁸ demonstraram em estudo multicêntrico e prospectivo, envolvendo 269 pacientes prevalentes em diálise, que a presença de um estado de hiper-hidratação estava associada ao aumento do risco relativo ajustado de morte ($HR=2,1$; $p<0,003$). A condição de hiper-hidratação foi definida como um aumento de 15% no volume do líquido

extracelular esperado, avaliado com o uso do BCM.

O autor reforça nas suas conclusões que o trabalho confirma a associação entre hiper-hidratação e aumento de mortalidade, mas que faltam estudos clínicos que confirmem a redução de mortalidade, uma vez atingido o peso seco ajustado com o auxílio da bioimpedânciа.

Conclusão

O uso da medida da pressão arterial como biomarcador do “status” volêmico de pacientes em hemodiálise é universalmente aceito. Apesar de inúmeras evidências demonstrarem que a sobrecarga de volume induz hipertensão de maneira muito prevalente nesta população, as relações entre hipertensão e volume, no paciente em diálise, estão muito longe de serem claras. Da mesma forma, a avaliação clínica da condição volêmica do paciente é muito imprecisa. Nos últimos anos, diversos biomarcadores foram testados, cada qual com sua sensibilidade, especificidade e reproduzibilidade. Na busca do biomarcador ideal, é importante termos claro que a metodologia deve apontar alvos claros a serem atingidos e ser capaz de reduzir as complicações secundárias à sobrecarga de volume. A medida do diâmetro da veia cava e a dosagem isolada de BNP ou NT-proBNP são de muito pouca utilidade. O NT-proBNP é um marcador prognóstico poderoso para pacientes em diálise e o significado de medidas seriadas

do BNP ou do NT-proBNP, na avaliação da condição volêmica destes pacientes, ainda não está esclarecida. O uso do monitor de volume relativo de plasma identifica, claramente, pacientes com sobrecarga de volume, mas não informa alvos a serem atingidos. No entanto, consegue identificar o momento onde à retirada extra de volume, durante a sessão de hemodiálise, não será bem tolerada. Entre todos os métodos analisados, é o único que não pode ser utilizado em pacientes em diálise peritoneal ou tratamento conservador. O uso da bioimpedância e, mais precisamente do BCM, determina alvos claros de peso seco, com uma faixa de erro entre -1,1 a +1,1 litros.

Para todos os métodos avaliados ainda faltam estudos que demonstrem, claramente, seu benefício em termos de redução de mortalidade, redução de sobrecarga de ventrículo esquerdo, melhoria da função sistólica do ventrículo, além da já demonstrada capacidade de indicar sobrecarga de volume.

Referências Bibliográfica

1. Levin A, Singer J, Thompson CR et al. Prevalent left ventricular hypertrophy in predialysis population identifying opportunities for intervention. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 347-354
2. Khosla UM, Johnson RJ. Hypertension in the hemodialysis patient and “lag phenomenon” insights into pathophysiology and clinical management. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 739-751
3. Foley RN, Agarwal R. Hypertension is harmful to dialysis patients and should be controlled. *Semin Dial*; 20: 518-522
4. Parfrey PS, Harnett JD, Griffiths SM et al. Congestive heart failure in dialysis patients. *Arch Intern Med* 1998; 148: 1519-1525
5. Saran R, Bragg-Gresham JL, Levin NW et al. Longer treatment time and slower ultrafiltration in hemodialysis: association with reduced mortality in the DOPPS. *Kidney Int* 2006; 69: 1222-1228
6. Movilli E, Gaggia P, Zubani R et al. Association between high ultrafiltration rates and mortality in uraemic patients on regular haemodialysis. A 5-year prospective observational multicenter study. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3547-3552
7. Ozkahya M, Ok E, Toz H et al. Long-term survival rates in haemodialysis patients treated with strict volume control. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3506-3513
8. Wizemann V, Wabel P, Chamney P et al. The mortality risk of overhydration in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1574-1579
9. Kalantar-Zadeh K, Regidor DL, Kovesdy CP et al. Fluid retention is associated with cardiovascular mortality in patients undergoing long-term hemodialysis. *Circulation* 2009; 119: 671-679
10. Charra B. Fluid balance, dry weight, and blood pressure in dialysis. *Hemodial Int* 2007; 11: 21-31
11. Agarwal R, Nissenson AR, Battle D et al. Prevalence, treatment, and control of hypertension in chronic hemodialysis patients in United States. *Am J Med* 2003; 11: 291-297
12. Jaeger JQ, Mehta RL. Assessment of dry weight in hemodialysis: an overview. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 392-403
13. Chan CT, Floras JS, Miller JA et al. Regression of left ventricular hypertrophy after conversion to nocturnal hemodialysis. *Kidney Int* 2002; 61: 2235-2239
14. Ascì G, Ozkahya M, Duman S et al. Volume control associated with better cardiac function in long-term peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2006; 26: 85-88
15. Ozkahya M, Toz H, Qzerkan F et al. Impact of volume control on left ventricular hypertrophy in dialysis patients. *J Nephrol* 2002; 15: 655-660
16. Thomson GE, Waterhouse K, McDonald HPJ et al. Hemodialysis for chronic renal failure. Clinical observations. *Arch Inter Med* 1967; 120: 153-167
17. Charra B, Laurent G, Chazot C et al. Clinical assessment of dry weight. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11(Suppl 2): 16-19
18. Sinha AD, Agarwal D. Can chronic volume overload be recognized and prevented in hemodialysis patients? The pitfalls of the clinical examination in assessing volume status. *Semin Dial* 2009; 22: 480-482
19. Agarwal R, Weir MR. Dry-weight: a concept revised in an effort to avoid medication-directed approaches for blood pressure control in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1255-1260

20. Agarwal R, Alborzi P, Satyan S et al. Dry-weight reduction in hypertensive hemodialysis patients (DRIP). A randomized controlled trial. *Hypertension* 2009; 53: 500-507
21. Agarwal R, Andersen MJ, Pratt JH. On the importance of pedal edema in hemodialysis patients. *Clin J Am SocNephrol* 2008; 3: 153-158
22. Sinha AD. Why assistive technology is needed for probing of dry weight. *Blood Purif* 2011; 31: 197-202
23. Metry G, Hall C, Wikström B et al. Fluid balance in patients with chronic renal failure assessed with N-terminal proatrial natriuretic peptide, atrial natriuretic peptide and ultrasonography. *ActaPhysiolScand* 2001; 171: 117-122
24. Parfrey PS. BNP in hemodialysis patients. *Clin J Am SocNephrol* 2010; 5: 954-955
25. Apple FS, Murakami MM, Pearce LA, et al. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal Pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. *ClinChem* 2004; 50: 2279-2285
26. Srisawasdi P, Vanavanant S, Charoenpanichkit C et al. The effect of renal dysfunction on BNP, NT-proBNP, and their ratio. *Am J ClinPathol* 2010; 133: 14-23
27. van Kimmenad RRJ, Januzzi J, Bakker JA et al. Renal clearance of B-type natriuretic peptide and amino terminal pro-B-type natriuretic peptide. A mechanistic study in hypertensive subjects. *J Am CollCardiol* 2009; 53: 884-890
28. Sheen V, Bhalla V, Tulua-Tata A et al. The use of B-type natriuretic peptide to assess volume status in patients with end-stage renal disease. *Am Heart J* 2007; 153: 244.e1-244.e5
29. Wahl HG, Graf S, Renz H et al. Elimination of the cardiac natriuretic peptides B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal proBNP by hemodialysis. *ClinChem* 2004; 50:1071-1074
30. Madsen LH, Ladefoged S, Corell P et al. N-terminal pro brain natriuretic peptide predicts mortality in patients with end-stage renal disease in hemodialysis. *Kidney Int* 2007; 71: 548-554
31. Sommerer C, Beimler J, Schwenger V et al. Cardiac biomarkers and survival in haemodialysis patients. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 350-356.
32. Foley RN, Curtis BM, Randell E et al. Left ventricular hypertrophy in new hemodialysis patients without cardiac disease. *Clin J Am SocNephrol* 2010; 5: 805-813
33. Panigua R, Ventura MJ, Ávila-Díaz M et al. NT-proBNP, fluid volume overload and dialysis modality are independent predictors of mortality in ESRD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 551-557
34. Chazot C, Vo-Van C, Zaoui E et al. Fluid overload correction and cardiac history influence brain natriuretic peptide evolution in incident haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 0: 1-5
35. Breidthardt T, Kalbermatter S, Socrates T et al. Increasing B-type natriuretic peptide levels predict mortality in unselected haemodialysis patients. *Eur J Heart Fail* 2011; May 30 published on line
36. Lee JA, Kim DH, Yoo SJ et al. Association between serum n-terminal pro-brain natriuretic peptide concentration and left ventricular dysfunction and extracellular water in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2006; 26: 360-365
37. Garg R, Singh A, Khaja A et al. How does volume status affect BNP and troponin levels as markers of cardiovascular status in peritoneal dialysis? *Congest Heart Fail* 2009; 15: 240-244
38. Booth J, Pinney J, Davemport A. N-terminal proBNP-marker of cardiac dysfunction, fluid overload, or

malnutrition in hemodialysis patients? Clin J Am SocNephrol 2010; 5: 1036-1040

39. Natori H, Tamaki S, Kira S. Ultrasonographic evaluation of inferior vena cava configuration. Am Rev Respir Dis 1979; 120: 421-427

40. Cheriex EC, Leunissen KML, Janssen JHA et al. Echography of the inferior vena cava is a simple and reliable tool for estimation of dry weight in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 1989; 4: 563-568

41. Brennan JM, Ronan A, Goonewardena S et al. Hand-carried ultrasound measurement of the inferior vena cava for assessment of intravascular volume status in outpatient hemodialysis clinic. Clin J Am SocNephrol 2006; 1: 749-753

42. Agarwal R, Bouldin JM, Light RP et al. Inferior vena cava diameter and left atrial diameter measure volume but not dry weight. Clin J Am SocNephrol 2011; 6: 1066-1072

43. Dasselaar JJ, Huisman RM, Jong PE et al. Measurement of relative blood volume changes during haemodialysis: merits and limitations. Nephrol Dial Transplant 2005; 20: 2043-2049

44. Sinha AD, Light RP, Agarwal R. Relative plasma volume monitoring during hemodialysis aids the assessment of dry weight. Hypertension 2010; 55: 305-311

45. Agarwal R, Kelley K, Light RP. Diagnostic utility of blood volume monitoring in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 2008; 51: 242-254

46. Steuer RR, Germain MJ, Leypold JK et al. Enhanced fluid removal guided by blood volume monitoring during chronic hemodialysis. Artif Organs 1998; 22: 627-632

47. Rodriguez HJ, Domenici R, Diroll A et al. Assessment of dry weight by monitoring changes in blood volume during hemodialysis using Crit-Line. Kidney Int 2005; 68: 854-861

48. Weir MR. Relative plasma volume monitoring and blood pressure control. An overlooked opportunity to achieve dry weight in the hemodialysis patient. Hypertension 2010; 55: 226-227

49. Kuhlmann MK, Zhu F, Seibert E et al. Bioimpedance, dry weight and blood pressure control: new methods and consequences. 2005; 14: 543-549

50. Jaffrin MY, Morel H. Body fluid volumes measurements by impedance: A review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods. Med EngPhys 2008; 30: 1257-1269

51. Chamney PW, Krämer M, Rode C et al. A new technique for establishing dry weight in hemodialysis patients via whole body impedance. Kidney Int 2002; 61: 2250-2258

52. Santo ABQE, Roque FL, Machado DJB. Peso clínico ou por bioimpedância em pacientes hemodialíticos. J Bras Nefrol 2008; 30: 172 [abstract]

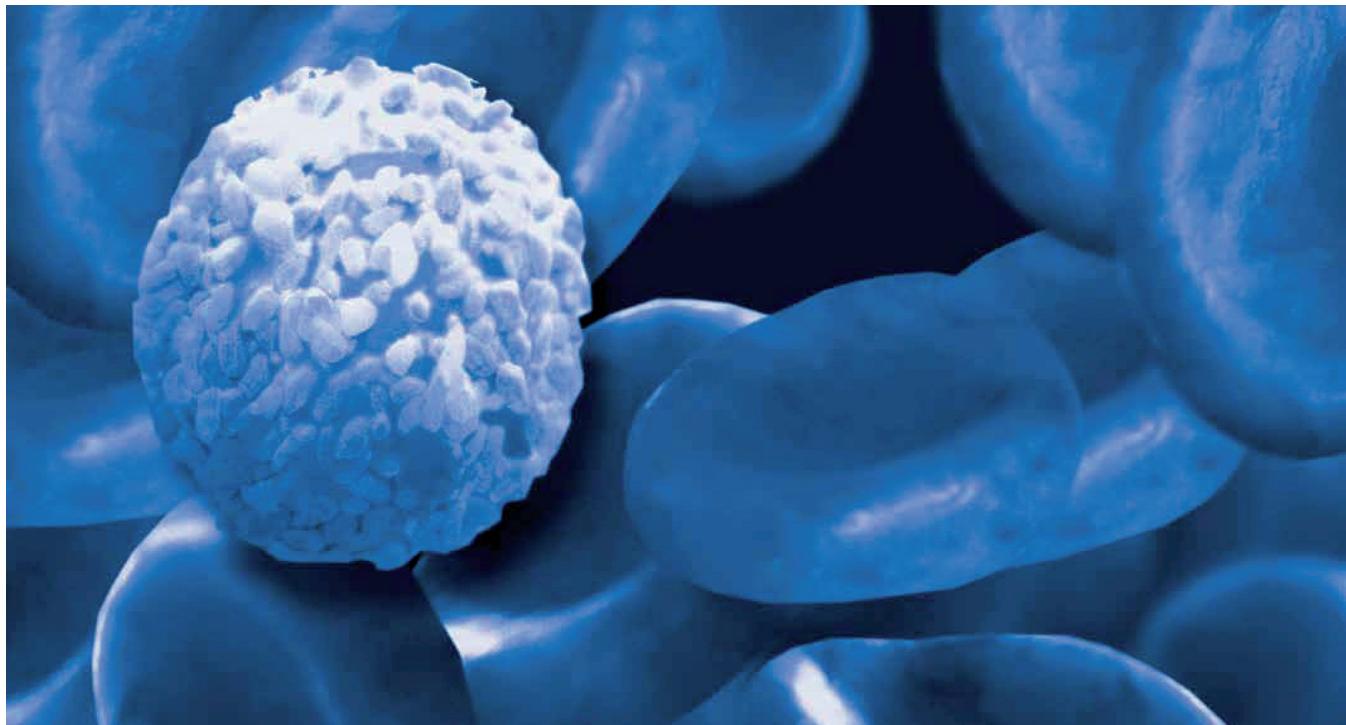
53. Kraemer M, Rode C, Wizemann. Detection limit of methods to assess fluid status change in dialysis patients. Kidney Int 2006; 69: 1609-1620

54. Fisch BJ, Spiegel DM. Assessment of excess fluid distribution in chronic hemodialysis patients using spectroscopy bioimpedance. Kidney Int 1996; 49: 1105-1109

55. Spiegel DM, Bashir K, Fisch B. Bioimpedance resistance ratios for the evalution of dry weight in hemodialysis. ClinNephrol 2000; 53: 108-114

56. Chamney PW, Wabel P, Moissl UM et al. A whole-body model to distinguish excess fluid from the hydration of major body tissues. Am J ClinNutr 2007; 85: 80-89

57. Wabel P, Chamney P, Moissl U et al. Importance of whole-body bioimpedance spectroscopy for the management of fluid balance. *Blood Purif* 2009; 27: 75-80
58. Moissl U, Wabel P, Chamney PW et al. Body fluid volume determination via body composition spectroscopy in healthy and disease. *Physiol Meas* 2006; 27: 921-933
59. Dou Y, Liu L, Cheng X et al. Comparison of bioimpedance methods for estimating total body water and intracellular water changes during hemodialysis. *Nephrol Dial Transpl* 2011; 0: 1-6



Biomarcadores na Anemia da Doença Renal Crônica

Helena Zerlotti Wolf Grotto

Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Resumo

A anemia tem alta prevalência em pacientes com doença renal crônica (DRC) e está associada com maior morbidade e com uma pior qualidade de vida para os pacientes. A insuficiente produção de eritropoetina (EPO) é a principal causa da anemia renal, mas outros fatores estão associados com a sua complexa patogênese. A detecção da deficiência de ferro é especialmente importante em pacientes usando agentes estimulantes da eritropoiese, porque a falta desse micronutriente interferirá na tentativa de recuperação da atividade eritropoiética, desfavorecendo o sucesso do tratamento. Nessa revisão serão abordados alguns aspectos da fisiopatogênese da anemia

que servirão de subsídio para a posterior apresentação de biomarcadores que podem ser aplicados na prática clínica como auxiliares no diagnóstico e no monitoramento terapêutico da anemia. Entre esses biomarcadores serão abordados alguns testes mais novos como o conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos, o receptor solúvel da transferrina e a dosagem de hepcidina. Parâmetros laboratoriais já consagrados na investigação da anemia na DRC como níveis de hemoglobina, valores de ferritina e de saturação da transferrina usados como indicativos da deficiência de ferro serão também discutidos.

Abstract

Anemia has high prevalence in patients with kidney chronic disease (KCD) and is associated with increased morbidity and with a worse quality of life for patients. The insufficient production of erythropoietin (EPO) is the main cause of renal anemia, but other factors are associated with its complex pathogenesis. The detection of iron deficiency is especially important in patients using erythropoiesis stimulating agents, because the lack of this micronutrient will interfere with the recovery of the erythropoietic activity, leading to the failure of the treatment. Some aspects of anemia physiopathogenesis will be covered, which will serve as a subsidy for the subsequent presentation of biomarkers that can be applied in clinical practice as auxiliaries in the diagnosis and therapeutic monitoring of anemia. Among these biomarkers are discussed

some newer tests as the content of hemoglobin of reticulocyte, the soluble transferrin receptor and hepcidin measurement. Laboratory parameters already included in the routine of anemia investigation in KCD, and the values indicative of iron deficiency will be revised, as hemoglobin levels, ferritin and transferrin saturation tests.

Palavras chaves: anemia renal, metabolismo do ferro, eritropoetina, anemia de doença crônica, reticulócitos, diagnóstico laboratorial.

A anemia é uma condição clínica frequentemente observada em pacientes com doença renal crônica (DRC). Em um estudo multicêntrico onde 5222 pacientes foram analisados, foi observado que 47,7% dessa população apresentava níveis de hemoglobina

(Hb) menores do que 12g/dl e a prevalência da anemia aumentava à medida que a função renal reduzia.¹ A anemia é responsável, pelo menos em parte, pelos sintomas de fadiga crônica nos pacientes com DRC e está associada com o aumento de mortalidade e morbidade, piora das funções cardíaca e renal e, consequentemente, uma pior qualidade de vida.² A gravidade da anemia está relacionada a 2 fatores: 1- grau de perda da função de filtração glomerular (GFR) e, 2- causa da falência renal. Assim, o desenvolvimento da anemia começa quando o nível de GFR é < 60 mL/min/1,73m², ou estágio 3 da DRC. Entre os indivíduos com DRC a anemia é mais prevalente entre aqueles que são também diabéticos.³

A patogênese da anemia na DRC é multifatorial. A causa mais importante é a produção insuficiente de eritropoetina (EPO), mas outras causas devem ser também consideradas quando a gravidade da anemia é desproporcional ao déficit da função renal, quando há evidência de deficiência de ferro ou se, além da queda do nível de Hb, o hemograma apresenta leucopenia e/ou trombocitopenia.³

O Quadro 1 relaciona as condições associadas à anemia na DRC e os principais distúrbios da eritropoiese que levarão ao estado de anemia.

Quadro 1: Causas da anemia na DRC 4,5

- Insuficiência de EPO
- Menor sobrevida dos eritrócitos
 - Hemólise
 - infecção ou inflamação crônicas

- Perda sanguínea
 - sangramento gastrointestinal crônico
 - flebotomias de repetição
 - intervenções cirúrgicas
 - procedimento dialítico com destruição prematura das hemácias
- Deficiências de nutrientes
 - ferro, vitamina B12 e/ou ácido fólico
- Inibição ou deficiência da atividade eritropoiética
 - Acúmulo de toxinas urêmicas: uréia, hormônio paratireoidiano
 - Toxicidade pelo alumínio
 - Aplasia pura da série vermelha
 - Hipotireoidismo

A EPO é produzida predominantemente pelas células peritubulares dos rins e é o hormônio responsável pela manutenção da proliferação e diferenciação das células progenitoras eritróides na medula óssea. A secreção da EPO é inversamente regulada pelos níveis de Hb: uma baixa pO₂ tecidual detectada por células intersticiais presentes na córtex renal e que são especializadas e sensíveis a pequenas mudanças na oxigenação, leva à ativação do fator-α induzido pela hipoxia (HIF-α), produzido nos rins e em outros tecidos. Esse fator regula a síntese da EPO. A degradação do HIF é inibida na presença de uma menor liberação de oxigênio devido à anemia ou hipoxemia. O HIF continuamente ativado leva

a transdução e síntese de EPO, que vai se ligar aos receptores de células progenitores eritróides na medula óssea, induzindo a proliferação e diferenciação dessas células em reticulócitos e hemácias maduras. A ausência de EPO levará a uma menor produção de células vermelhas e maior perda dessas células, uma vez que o mecanismo de apoptose fica ativado com a falta da EPO.⁶

Pacientes com DRC apresentam uma condição conhecida como “deficiência relativa de EPO”, caracterizada por níveis normais de EPO embora reduzidos em relação ao grau de anemia. Aparentemente essa deficiência relativa de EPO deve-se a uma alteração do “set point” para a produção de EPO, e não somente à menor produção do hormônio devido à lesão do tecido renal. Isso significa que no paciente renal o nível de oxigenação tecidual necessário para desencadear o estímulo de produção da EPO é menor do que em indivíduos com rim normal. Essa condição, além de ser o principal fator relacionado à AR, dificulta o estabelecimento do momento ideal para ser iniciado o tratamento com agentes estimulantes da eritropoiese (AEE), já que não está ainda disponível um parâmetro para medir com precisão o grau de deficiência de EPO.⁷

Além da menor produção de EPO, outros fatores contribuem para uma proliferação deficiente das células precursoras eritróides na DRC: a resistência à EPO, a expressão reduzida de receptores da EPO nas células eritróides e distúrbios nos sinais de transdução.⁸

A segunda causa de anemia na DRC é a deficiência de ferro. A sua investigação merece atenção especial, uma vez que a manutenção

adequada de estoques de ferro é essencial para que seja alcançado o máximo benefício da terapêutica com AEE. É estimado que pacientes em regime de hemodiálise perdem em média 2 g de ferro por ano ou até 1,5 a 3 litros de sangue,⁹ o que explica a alta frequência de deficiência de ferro em pacientes em uso de EPO recombinante.

Diferentes formas de deficiência de ferro podem ocorrer nos pacientes com DRC e nesse sentido algumas definições devem ser feitas quanto ao estado do ferro:

1. Deficiência de ferro absoluta (DF): redução no ferro total do organismo, com exaustão dos estoques, evidenciada pela ausência de coloração de ferro na medula óssea, e algum grau de deficiência tissular de ferro. Pode vir acompanhada ou não de anemia. Havendo queda nos níveis de Hb fica caracterizada como anemia ferropriva (AF) ou anemia por deficiência de ferro.

2. Deficiência funcional de ferro (DFF): estoques adequados de ferro, mas cuja mobilização do fígado e outros locais de armazenamento para o plasma é insuficiente para a demanda da medula eritróide. É o que acontece com a administração de AEE, em que a demanda por ferro fica aumentada,¹⁰ ou consequente à ativação da resposta inflamatória aguda e a liberação de diversas citocinas, que bloqueiam a utilização do ferro, que ficará acumulado no sistema reticuloendotelial.^{10,11} Essa condição acompanha diversos quadros inflamatórios e/ou infecciosos. Como os pacientes renais com

ou sem tratamento dialítico podem apresentar um estado inflamatório clínico ou subclínico associados, deve-se considerar que a atividade inflamatória é um dos fatores participantes da fisiopatogênese da anemia do paciente com DRC.

A resposta de fase aguda a uma inflamação sistêmica é caracterizada pelo aumento dos níveis plasmáticos de várias proteínas, como a proteína C reativa, a soro amilóide A, o fibrinogênio e a haptoglobina, enquanto as chamadas proteínas agudas negativas tem suas concentrações diminuídas, como a albumina e a transferrina. A ativação do sistema imune leva à liberação de citocinas inflamatórias que inibem a produção de EPO, impedem o crescimento de eritroblastos jovens e, associadas à ausência de EPO, promovem a apoptose de eritroblastos imaturos.¹² Além disso a interleucina⁶ estimula a síntese de hepcidina pelos hepatócitos. A hepcidina é um peptídeo expresso predominantemente no fígado e em menor proporção nos rins, coração, músculos esqueléticos e cérebro, e que tem duas atividades principais: 1- agir como antimicrobiano, rompendo as membranas microbiais e restringindo o fornecimento de ferro aos microrganismos, impedindo assim o seu crescimento e, 2- atividade hormonal, como um regulador negativo da absorção intestinal e da liberação de ferro dos macrófagos.¹³ Foi demonstrado que a hepcidina se liga à ferroportina; esse complexo é internalizado e a ferroportina é degradada. Dessa maneira o ferro não é liberado pelos macrófagos e a absorção do ferro pelos

enterócitos é inibida, levando a um estado de hipoferroremia acompanhado de acúmulo de ferro sequestrado pelos macrófagos, limitando, assim, a disponibilidade de ferro para a eritropoiese.¹⁴

Os rins estão envolvidos na eliminação da hepcidina. Além disso a hepcidina parece ter um papel regulador de ferro no sistema tubular renal, em conexão com a proteína transportadora DMT-1.¹⁵ Em um estudo com pacientes em diálise peritoneal foi avaliada uma possível ligação entre hepcidina, anemia e inflamação. Foi relatado que o grupo de pacientes anêmicos apresentava um maior grau de inflamação, com elevadas dosagens de ferritina, proteína C reativa, fibrinogênio, citocinas proinflamatórias e hepcidina.¹⁶

O acúmulo de hepcidina em pacientes com doença renal em regime de hemodiálise foi relatado em estudo em que a medida da hepcidina foi feita por espectrometria de massa. Os níveis de hepcidina foram reduzidos pela hemodiálise em uma parte, mas não em todos os pacientes.¹⁷ Esses dados sugerem que a o aumento dos níveis de hepcidina no soro contribui para a patogênese da anemia renal.

A complexidade da fisiopatogênese e a necessidade constante de aperfeiçoar o reconhecimento dos fatores associados e contribuintes para a gravidade da anemia na DRC, justificam a crescente investigação de biomarcadores que possam ser úteis como indicadores de alterações na eritropoiese do paciente renal crônico.

Biomarcadores de Anemia na DRC

É recomendado que a investigação da anemia seja feita, pelo menos, anualmente em todos os pacientes com DRC³

1) Índices hematimétricos

1.1. Hemoglobina: de acordo com a recomendação do guia da National Kidney Foundation (NKF) são considerados anêmicos homens que apresentam concentração de Hb<13,5 g/dL, e mulheres com valor de Hb<12,0 g/dL,³ valores que correspondem a média da Hb do percentil 50 da população geral adulta, de acordo com o sexo, sem ajuste

para a idade. Esse mesmo guia recomenda que pacientes com DRC e anemia devem ser tratados visando a manutenção do nível de Hb>11,0 g/dL. O nível superior ideal seria de até 13,0 g/dL, podendo ser superior a isso se o paciente estiver sob terapêutica com AEE.

O valor de cut-off da Hb como indicativo de anemia tem sofrido algumas modificações ao longo do tempo e dependendo da fonte consultada, como pode ser observado no quadro abaixo.

Quadro 2: Valores de hemoglobina como indicadores de anemia

	Homens adultos		Mulheres adultas	
	< 70 anos	< 70 anos	Pré-menopausa	Pós-menopausa
NFK-K/DOQI 2001 ²⁰		< 12 g/dL	< 11 g/dL	< 12 g/dL
WHO 2001 ¹⁸		< 13,0 g/dL	< 12,0 g/dL < 11,0 g/dL na gravidez	
EBPG 2004 ¹⁹	< 13,5 g/dL	< 12,0 g/dL		< 11,5 g/dL
NFK-K/DOQI 2006 ³		< 13,5 g/dL		< 12,0 g/dL

NFK-K/DOQI: NFK-K/ Clinical Practice Guideline for anemia of Chronic Kidney Disease

WHO: World Health Organization

EBPG: European Best Practice Guideline

A anemia por deficiência de EPO é tipicamente normocítica e normocrômica. A presença de microcitose é sugestiva de deficiência de ferro, podendo ser decorrente também de hemoglobinopatia, como a alfa e beta talassemias. No caso de macrocitose

a deficiência de folato ou vitamina B12, insuficiência hepática e alcoolismo devem ser consideradas. A anemia acompanhada de leucopenia e/ou trombocitopenia pode indicar a presença de alterações hematopoiéticas como mielodisplasia ou anemia megaloblástica.⁶

Algumas considerações devem ser feitas com respeito à investigação inicial da anemia:

1- A dosagem de Hb é a medida padrão para diagnosticar a anemia. Valores de hematócrito podem sofrer influência do tempo de estocagem, assim como o volume corpuscular médio.

2- Pacientes em regime de hemodiálise podem ter alterações nos níveis de Hb dependendo do momento em que o sangue foi colhido, devido às variações de volume plasmático e de peso que ocorrem em diferentes fases do processo dialítico. Assim, recomenda-se que a avaliação dos níveis de Hb seja feito no meio da semana predialise e que na interpretação dos resultados seja considerado o potencial efeito do estado volumétrico do paciente.³

3- Os valores de Hb estabelecidos pelo guia da NFK-K/DOQI³ não separam mulheres que menstruam das que não menstruam, o que deve ser considerado na avaliação inicial da anemia.

4- História prévia de anemia deve ser investigada, como por exemplo, doença falciforme ou talassemia. Nesses pacientes os valores indicativos de anemia renal serão diferentes dos descritos acima.⁶

1.2. Contagem de reticulócitos: é esperado que o número absoluto de reticulócitos em pacientes com DRC esteja reduzido em relação ao grau de anemia, resultante da produção deficiente de EPO e resposta insuficiente da medula á hipóxia. Contagem elevada de reticulócitos pode ser indicativa de hemólise ou perda sanguínea extravascular.⁶ O valor de

referência para a contagem de reticulócitos é de 50 a 100 x10⁹/L.²¹

2) Biomarcadores do estado do ferro:

2.1. Ferro sérico: mede a quantidade de ferro que está sendo transportado pela transferrina para os locais de estoque ou de aproveitamento do ferro. É um teste simples, de baixo custo, mas que está sujeito a algumas variáveis que devem ser consideradas na análise dos resultados obtidos. Essas variáveis estão relacionadas a alguns procedimentos técnicos, como contaminação durante a coleta do sangue, e variações fisiológicas. A concentração do ferro sérico sofre alterações circadianas, sendo mais alta pela manhã entre 7 e 10 horas e atinge os menores valores perto das 21 horas. A associação com determinadas condições clínicas podem interferir nos resultados, que devem ser analisados com cautela quando da presença de processos inflamatórios agudos ou crônicos, processos neoplásicos e após infarto agudo do miocárdio, situações em que os níveis de ferro sérico podem estar reduzidos. Altas concentrações podem ser observadas na doença hepática, anemia aplástica ou na eritropoiese ineficaz.²² Os valores de referência são de 60 a 150 µg/dL,²¹ podendo ter variações dependendo do método utilizado na dosagem.

2.2. Capacidade de ligação do ferro à transferrina (TIBC) e saturação da transferrina (ST): a transferrina sérica é a proteína responsável pelo transporte do ferro do sistema reticuloendotelial para a medula eritróide. A porcentagem de ST é obtida pelo cálculo: ferro sérico/TIBC x 100. Encontra-se diminuída

quando o suprimento de ferro dos macrófagos e outros locais de estoque está reduzido, como acontece na AF e na anemia de doença crônica. Tem como limitação o fato de tanto a transferrina como o ferro sérico sofrerem variações que podem interferir na interpretação dos resultados e, consequentemente nos valores de ST. A transferrina pode variar de 17 a 70% no decorrer do dia e pode estar aumentada na gravidez e com o uso de contraceptivo oral.²³ Por ser uma proteína de fase aguda negativa, sofre alterações durante o processo inflamatório, como acontece na DRC. Assim, a utilização de um único parâmetro para diagnosticar a deficiência de ferro (ST<20%) é inadequada, e não deve ser adotada como indicador da necessidade de suplementação de ferro, conforme sugerido por alguns autores.²⁴

Os valores de referência para o TIBC são de 250 a 400 µg/dL e os da ST de 15 a 50%.²¹

2.3. Ferritina: é a proteína intracelular responsável pelo armazenamento de ferro e os seus níveis refletem o estoque de ferro tecidual: 1 µg/l de ferritina corresponde a 10mg do ferro em estoque. Os níveis normais de ferritina são de 30 a 300 ng/mL nos homens e de 15 a 250 ng/mL nas mulheres.²¹ Na AF isolada ou não complicada concentrações de ferritina sérica inferiores a 30 µg/l são indicativos de AF.¹¹ Os níveis de ferritina sérica são afetados por diversos fatores, incluindo a inflamação e a lesão tecidual²⁵, uma vez que a ferritina detectada na circulação provem da secreção das células de estoque e do extravasamento de células lesadas. Assim, em um paciente anêmico e com inflamação crônica valores acima de 30 µg/L não excluem a presença de

AF. Nesse sentido, deixa de ser uma medida ideal para determinar a deficiência de ferro na DRC. Vários estudos propõem um valor de corte que possa identificar com sensibilidade e especificidade a deficiência de ferro. Assim, valores de ferritina <100 µg/l mostraram sensibilidade de 48% e 35%, e especificidade de 75% e 78% em 2 diferentes estudos para a identificação da insuficiência de ferro.^{26,27} Outros autores sugerem que para pacientes com inflamação o valor discriminante seria <70 µg/l.²⁸

Em um estudo onde foi avaliada a acurácia de diversos parâmetros para diagnosticar a deficiência de ferro em pacientes com DRC, usando como método referência a detecção dos estoques de ferro na medula óssea, o valor de corte para a ferritina foi de 121 µg/l, com sensibilidade e especificidade de 75%. A acurácia desse parâmetro foi superior a outros, como a dosagem do receptor da transferrina e a saturação da transferrina.²⁹ As diretrizes da Sociedade Brasileira de Nefrologia recomendam que a reposição de ferro pré-terapia com AEE deve ser iniciada quando a ST for inferior a 20% e/ou a dosagem de ferritina sérica menor do que 100µg/L.⁵ Alguns autores sugerem que esse valor de ferritina não é necessariamente o valor ideal como indicativo de deficiência de ferro para todos pacientes em hemodiálise, especialmente se a concentração de proteína C reativa for normal.³⁰ Foi ainda demonstrado que o valor de corte da ferritina que indica deficiência de ferro em pacientes com proteína C reativa > 5 mg/l é diferente entre os sexos, sendo bastante inferior nas mulheres (<20 µg/l) em relação aos homens (<100 µg/l).³¹

2.4. porcentagem de hemácias hipocrônicas: esse teste mede a porcentagem de hemácias com concentração de Hb <29pg 22 e é proposto como um método mais sensível para detectar a eritropoiese deficiente de ferro do que a ST.³² Normalmente menos do que 2,5% das hemácias circulantes tem uma concentração de Hb <29 pg. Como a vida média da hemácia é de cerca de 120 dias, o resultado obtido corresponde a uma possível alteração na hemoglobinização ocorrido nos últimos meses. É, portanto, um indicador tardio da deficiência de ferro. Valores superiores a 10% são consistentes com DFF em pacientes em hemodiálise.³³

2.5. Conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos (CHr ou Ret-He): é considerado um bom indicador da quantidade de ferro disponível para a incorporação às hemácias jovens na medula óssea em tempo real.¹⁰ Vários estudos tem apontado como o melhor indicador da deficiência de ferro em pacientes submetidos à hemodiálise, com maior sensibilidade e especificidade que as determinações de ferritina sérica e ST.³⁴ A vantagem do uso desse parâmetro é a precocidade com que aponta a deficiência de ferro: alguns dias após o início da falta de ferro seus valores começam a reduzir. Os valores de normalidade variam na literatura de 29,9 a 37,7pg ou 24,1 a 35,8pg, dependendo dos autores, portanto é recomendado que cada laboratório estabeleça os seus valores de referência.¹¹ Fishbane et al³⁵ em um estudo em que foram testadas as estratégias para o reconhecimento da deficiência de ferro em pacientes em hemodiálise, concluíram que

valores de CHr ≤ 32 pg eram mais apropriados do que ≤ 29 pg para a detecção da deficiência de ferro nesse grupo de pacientes. Tanto a % de hemácias hipocrônicas como o conteúdo de Hb nos reticulócitos são parâmetros ainda restritos a alguns sistemas hematológicos automatizados.

2.6. Receptor da transferrina: é uma glicoproteína transmembrana responsável pela transferência do ferro para o interior das células. A sua forma solúvel (sTfR) pode ser medida no soro e tem seus valores elevados quando a massa eritróide está aumentada ou quando existe uma deficiência de ferro nos tecidos. Daí ser um indicador precoce da deficiência de ferro, que pode ser detectada antes mesmo da instalação da anemia.³⁶ Uma característica importante da dosagem de sTfR para identificar a AF é que a sua concentração não é afetada pela inflamação. Assim, na anemia da inflamação sem AF associada, os valores de sTfR estão normais, enquanto na coexistência de ambas em geral os valores de sTfR estão elevados, o que é mais evidente na AF isolada.³⁷ Nos pacientes tratados com AEE há um aumento da massa eritróide, o que vai elevar os níveis de sTfR. Por isso os resultados dos níveis de sTfR são inconclusivos quando se quer diagnosticar a deficiência de ferro no paciente que está sendo tratado com AEE, uma vez que nas duas situações os níveis de sTfR estarão elevados.¹⁰

Atualmente já estão disponíveis no mercado ensaios usando nefelometria e turbidimetria em sistemas automatizados para a determinação dos níveis de sTfR. Esses

testes tem um custo inferior aos anteriormente existentes (imunoenzimático - ELISA), mas ainda carecem de padronização nas unidades de medida e nos valores de referência, que vão variar dependendo do tipo e dos métodos de preparação dos reagentes utilizados pelo kit.³⁸

3) Outros biomarcadores

3.1. Hepcidina: sintetizada no fígado como um prepropeptídeo de 84 aminoáciods, é processada por uma peptidase em prohepcidina, com 60 aminoácidos. Subsequentemente, é clivada em um peptídeo de 25 aminoácidos, hepcidina-25. Outras formas de hpecidina compostas de 22 e 20 aminoácidos também são encontradas na circulação. No entanto, a única forma bioativa é a hepcidina-25.³⁹ Alguns métodos imunoquímicos tem sido desenvolvidos para detectar a forma madura da hepcidina, mas a dosagem tem sido dificultada devido ao pequeno tamanho do peptídeo e sua conservação entre as espécies animais. Assim, os resultados com a determinação da prohepcidina foram desencorajadores, uma vez que não se correlacionaram com a atividade biológica, estado de ferro ou inflamação.¹⁷ Um estudo comparando diversos métodos para quantificação de hepcidina na urina e sangue, incluindo espectrometria de massa, mostrou que há grande diversidade dos valores absolutos de hepcidina entre os métodos analisados e que há necessidade de padronização e homogeneidade entre os vários ensaios no que diz respeito aos tipos de reagente, calibradores e anticorpos utilizados.⁴⁰ Assim, várias limitações, como falta de padronização e alto custo das reações, impedem que a

determinação dos níveis de hepcidina seja utilizada como um biomarcador para a anemia, estado do ferro e resposta à terapia com EPO nos pacientes renais crônicos. Diversos estudos tem sido conduzidos e direcionados para a solução dessas dificuldades, assim como para avaliar a possibilidade de antagonistas da hepcidina servirem de ferramentas terapêuticas para melhorar a disponibilidatde do ferro em pacientes com DRC.

3.2. Folato: a deficiência de folato clinicamente relevante é pouco comum em pacientes com DRC submetidos à diálise. Entretanto, quando da presença de macrocitose e/ou neutrófilos hipersegmentados ao hemograma os níveis de folato e de vitamina B12 devem ser determinados, já que a deficiêncie desses micronutrientes podem contribuir para a anemia renal e para a hiporesponsividade ao tratamento com EPO. Embora o ácido fólico seja solúvel em água e, portanto, removido pela hemodiálise, vários estudos tem mostrado não haver necessidade de suplementação de folato em pacientes que não mostram deficiência.^{42,43,44}

A suplementação rotineira de folato em pacientes em tratamento dialítico crônico não é recomendada como um conduta padrão no tratamento da anemia renal.⁴⁵ No entanto, alguns serviços adotam essa medida, com suplementação rotineira de 1-5mg de folato/dia em pacientes em hemodiálise crônica.⁴⁴ A falta do folato e da vitamina B12 interferem não só na eritropoiese, mas podem levar também a um estado de hiperhomocisteinemia, oriundo do defeito metabólico na reação de

transformação da metionina em homocisteína. O acúmulo de homocisteína está associado a um maior risco aterosclerótico em pacientes renais.⁴¹

Em um estudo com pacientes em hemodiálise e diálise peritoneal foi observado que 95% deles, independente do tipo de diálise, mostravam níveis de homocisteína plasmática acima do normal, embora a vitamina B12 e o folato fossem normais na maioria dos pacientes. Como a dosagem de folato foi o principal determinante dos níveis de homocisteína, os autores sugerem que os valores de referência

da população em geral são inadequados para indivíduos em diálise.⁴⁶ As razões para o aumento dos níveis de homocisteína na circulação de pacientes submetidos à diálise não são muito claras e os estudos relacionados aos benefícios da suplementação de folato na redução dos riscos ateroscleróticos não são totalmente coincidentes ou conclusivos.⁴¹

Conclusão

A anemia é uma condição muito frequente nos pacientes com DRC. O diagnóstico preciso do tipo de anemia é de suma importância e deve ser realizado por um conjunto de parâmetros laboratoriais, conhecendo-se as limitações e a acurácia de cada um deles. A interpretação dos resultados deve ser feita com cautela tendo em vista o caráter multifuncional da fisiopatogênese da anemia nesses pacientes. A correção da anemia e a manutenção de níveis adequados de Hb contribuem para uma melhor qualidade de vida dos pacientes.

Referências Bibliográfica

1. McClellan W, Aronoff SL, Bolton WK et al. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. *Curr Med Res Opin.* 2004; 20 (9): 1501-10.
2. Dowling TC. Prevalence, etiology, and consequences of anemia and clinical and economic benefits of anemia correction in patients with chronic kidney disease: an overview. *Am J Health-Syst Pharm.* 2007; 64 (Suppl8): S3-S7.
3. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines and clinical practice recommendations for anemia in Chronic Kidney Disease.
http://www.kidney.org/professionals/KDOQI/guidelines_anemia/index.htm [acessado em 29/06/2011].
4. Stevens PE, Flossmann O . Clinical management of anaemia pre-endstage renal failure. *Clin Med.* 2003; 3: 503-8.
5. Abensur H. Anemia da doença renal crônica. *J Bras Nefrol.* 2004; 26 (3-Supl1):26-7.
6. Lankhorst CE, Wish JB. Anemia in renal disease: diagnosis and management. *Blood Rev.* 2010; 24: 38-47.
7. Fehr T, Ammann P, Garzoni D et al. Interpretation of erythropoietin levels in patients with various degrees of renal insufficiency and anemia. *Kidney Int.* 2004; 66: 1206-11.
8. Kazory A, Ross EA. Anemia: the point of convergence or divergence for kidney disease and heart failure? *J Am Coll Cardiol.* 2009; 53: 639-47.
9. Eschbach JW, Cook JD, Scribner BH, Finch CA. Iron balance in hemodialysis patients. *Ann Inter Med.* 1977; 87: 710-13.
10. Wish JB. Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: S4-S8
11. Cook JD. Diagnosis and management of iron-deficiency anaemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2005; 18: 319-32.
12. De Maria R, Testa U, Luchetti L et al: Apoptotic role of Fas/Fas ligand system in the regulation of erythropoiesis. *Blood.* 1999;93:796-03
13. Ganz T. Hepcidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2005;18:171-82.
14. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004; 306: 2090-3.
15. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S et al. The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J Endocrinol.* 2005; 184: 361-70.
16. Malyszko J, Mysliwiec M. Hepcidin in anemia and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2007; 30: 15-30.
17. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R et al. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood.* 2006;108:1381-7.
18. World Health Organization: Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention and Control. A Guide for Programme Managers. Geneva, Switzerland, World Health Organization, 2001
19. Locatelli F, Aljama P, Barany P, et al: Revised European Best Practice Guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 19:Sii1-Sii47, 2004 (suppl 2)

20. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Anemia of Chronic Kidney Disease: Update 2000. *Am J Kidney Dis.* 37:S182-S238, 2001 (suppl 1).
21. Dacie & Lewis Practical Haematology. Lewis SM, Bain BJ, Bates I, ed. Churchill Livingstone, 10^a ed, 2006.
22. Waters HM, Seal LH. A systematic approach to the assessment of erythropoiesis. *Clin Lab Haem.* 2001;23:271-83.
23. Elghetany MT, Davey F. Distúrbios eritrocitários. In: Henry JB, editor. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20^a ed. São Paulo. Manole Ltda; 2008. p.632.
24. Cook JD, Dassenko S, Skikne BS. Serum transferrin receptor as an index of iron absorption. *Br J Haematol.* 1990; 75: 603-609.
25. Yamanishi H, Iyama S, Yamaguchi Y, Kanakura Y, Iwatani Y. Relation between iron content of serum ferritin and clinical status factors extracted by factor analysis in patients with hyperferretinemia. *Clin Bioch.* 2002; 35(7): 523-9.
26. Fishbane S, Kowalski EA, Imbriano LJ, Maesaka JK. The evaluation of iron status in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 1996; 7: 2654-57.
27. Tessitore N, Solero GP, Lippi G et al. The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 1416-23.
28. Guyatt GH, Patterson C, Ali M et al. Diagnosis of iron-deficiency anemia in the elderly. *Am J Med.* 1990; 88: 205-9.
29. Fernández-Rodríguez AM, Guindeo-Casasús MC, Molero-Labarta T et al. Diagnosis of iron deficiency in Chronic Renal Failure. *Am J Kidney Dis.* 1999; 34 (nº3): 508-513.
30. Sunder-Plassmann G, Spitzauer S, Horl WH. The dilemma of evaluation iron status in dialysis patients – limitations of available diagnostic procedures. *Nephrol Dial Transplant.* 1997; 12: 1575-80.
31. Thomas C, Thomas T. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem.* 2002; 48: 1066-76.
32. Macdougall IC, Cavill I, Hulme B et al. Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. *Br Med J.* 1992; 304: 225-6.
33. McDougall IC. What is the most appropriate strategy to monitor functional iron deficiency in the dialysed patient on rhEPO therapy? Merits of percentage hypochromic red cells as a marker of functional iron deficiency. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13: 847-9.
34. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haem.* 2006; 28: 303-8.
35. Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Faubert OF. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2001; 60: 2406-11.
36. Shih YJ, Baynes RD, Hudson BG, Flowers CH, Skikne BS, Cook JD. Serum transferrin receptor is a truncated form of tissue receptor. *J Biol Chem.* 1990; 265: 19077-81.
37. Punnonen K, Irlala K, Rajamaki A. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood.* 1997; 89: 1052-57.

38. Speeckaert MM, Speeckaert R, Delanghe JR. biological and clinical aspects of soluble transferrin receptor. Crit Rev Clin Lab Sci. 2011;47(5-6):213-28.
39. Babitt JL, Lin HY. Molecular mechanisms of hepcidin regulation: implications for the anemia of CKD. Am J Kidney Dis. 2010; 55(4):726-41.
40. Kroot JJ, Kemna EH, Bansal SS et al. Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. Haematologica. 2009; 94 (12):1748-52.
41. Shaefer R, Teschner M, Kosch M. Folate metabolism in renal failure. Nephrol Dial Transplant. 2002;17(Suppl 5):24-27.
42. Westhuyzen J, Matherson K, Tracey R, Fleming SJ. Effect of withdrawal of folic acid supplementation in maintenance haemodialysis patients. Clin Nephrol. 1993; 40: 96-99.
43. Ono K, Hisasue Y. Is folate supplementation necessary in hemodialysis patients on erythropoietin therapy? Clin Nephrol. 1992; 38: 290-2.
44. Westhuyzem J. Folate supplementation in the dialysis patient – fragmentary evidence and tentative recommendation. Nephrol Dial Transplant. 1998; 13: 2748-50.
45. Working Party for European Best Practice Guidelines for the management of anemia in patients with chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant. 1999; 14: 1-50.
46. De Vecchi AF, Bamonti-Catena F, Finazzi S et al. Homocysteine, vitamin B12, and serum and erythrocyte folate in peritoneal dialysis and hemodialysis patients. Perit Dial Int. 2000; 20(2):169-



Biomarcadores no Distúrbio Mineral e Ósseo da DRC

Rosa Maria Affonso Moysés

(Médica Assistente da Unidade de Diálise e Pesquisadora do Grupo de Distúrbio Mineral e
Ósseo; Disciplina de Nefrologia – Faculdade de Medicina da USP)

Um dos maiores desafios no seguimento clínico de um paciente portador de Doença Renal Crônica é poder estimar a qualidade de seu tecido ósseo. Quando falamos em qualidade, temos que nos lembrar que, para o tecido ósseo, isto significa a quantidade de tecido mineralizado, a conectividade das traves ósseas e também a remodelação óssea. A primeira característica pode ser avaliada através da densitometria óssea (DEXA), que estima a concentração de cálcio existente em uma dada quantidade de osso (geralmente vértebras e fêmur). A conectividade pode ser avaliada através da micro tomografia, uma tomografia computadorizada de alta resolução, que permite não apenas quantificar o conteúdo de cálcio neste tecido, como também avaliar o número e espessura de traves ósseas de regiões como punho e tornozelo. Certamente, a micro tomografia pode ser um ganho em relação à

DEXA, pois nos informa não apenas “quanto osso existe”, mas também como as traves estão distribuídas e isto pode significar maior ou menor risco de fraturas. No entanto, o processo de remodelação óssea, que determina não apenas o papel do tecido ósseo na homeostase de cálcio e fósforo, mas também a qualidade e quantidade deste tecido em um futuro próximo, só pode ser determinada através da realização da biópsia óssea. Até o presente momento, apenas a marcação por tetraciclina seguida da biópsia óssea é capaz de nos informar a taxa de formação óssea e o intervalo de mineralização óssea, ou seja, quanto tempo em média nosso tecido ósseo demora para ser formado e posteriormente mineralizado. Diante da dificuldade de realização da biópsia de forma corriqueira, procuramos utilizar marcadores bioquímicos que nos permitam estimar a remodelação.

1) Paratormônio

Certamente, o marcador bioquímico mais conhecido é o paratormônio (PTH) e todas as diretrizes clínicas até hoje publicadas recomendam a utilização do PTH como marcador de remodelação, embora com muitas restrições. Para falarmos destas restrições em relação ao PTH e aos outros marcadores que serão citados, é interessante comentarmos o que deveria ser um marcador bioquímico ideal.

Em teoria, um marcador bioquímico é um indicador de um estado biológico. Ele é geralmente medido e avaliado como um

indicador de um processo biológico (uma reação enzimática) ou patogênico (uma infecção, um infarto agudo do miocárdio) ou de respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica (a resposta do leucograma ao tratamento com antibióticos). No entanto, há alguns requisitos necessários para fazer de um exame o marcador bioquímico ideal:

- O marcador deve ser consequente ao evento que ele está marcando e não anterior ao mesmo. Se a variação deste marcador ocorrer antes do evento que ele está avaliando, qualquer interferência entre a variação do

marcador e o evento poderá levar a uma incorreta estimativa.

- A realização deste marcador deve ser fácil, reprodutiva e com pequena variação intra e entre os ensaios.
- A situação em que este marcador é avaliado não deve interferir nos valores do mesmo.

Tomando como exemplo a avaliação do PTH na Doença Renal Crônica, entendemos porque este não é o marcador ideal de remodelação óssea: o PTH sérico é reflexo da atividade das glândulas paratireoides e não da remodelação; há uma significativa variação de valores de acordo com os diferentes ensaios empregados, e, finalmente, há acúmulo de frações inativas de PTH na Doença Renal Crônica que dificultam a correta avaliação de seus resultados.

No entanto, como já dito anteriormente, o PTH sérico ainda é o marcador de remodelação óssea mais utilizado. Níveis de PTH abaixo de 100 pg/ml estão associados a doença de baixa remodelação, enquanto níveis acima de 450 pg/ml são mais frequentemente associados a estados de alta remodelação óssea. Quando os níveis de PTH sérico se encontram dentro do intervalo 100-450 pg/ml, é possível encontrarmos qualquer tipo de patologia ou até mesmo taxa de formação óssea normal. Para melhorar o poder preditivo do PTH na prática clínica diária, é importante:

- conhecermos o ensaio utilizado para sua determinação. Atualmente utilizamos ensaios imunoradiométricos (IRMA) ou de imunoquimioluminescência (ICMA)

de segunda geração e que superestimam os níveis de PTH biologicamente ativos, ao detectar fragmentos inativos da molécula. Há ensaios de terceira geração, que detectam apenas os fragmentos ativos, mas não há, até o presente momento, estudos que demonstrem a superioridade desses ensaios, com relação aos anteriores.

- que o processamento das amostras siga as instruções do fabricante, tais como mantê-las refrigeradas, centrifugá-las e congelá-las rapidamente, evitando, assim, que a molécula se degrade, o que poderia interferir nos resultados.
- que se empregue, na medida do possível, sempre o mesmo ensaio na avaliação longitudinal de um paciente, para afastarmos a significativa variação entre-ensaio de nossa análise. Também é importante mantermos as mesmas condições de coleta, ou seja, jejum para os pacientes em tratamento conservador. Nos casos dos pacientes em diálise, recomenda-se que a coleta seja realizada antes do início da sessão.

2) Fosfatase Alcalina

Há seis distintas isoenzimas da fosfatase alcalina (FA): hepática, intestinal, óssea, renal, placentária e tumoral. A fração óssea não é eliminada ou degradada pelos rins; portanto, não há elevação de sua concentração pela simples presença de DRC. No entanto, hepatopatias podem alterar os valores da FA e isto pode dificultar a sua interpretação. A isoenzima específica do osso, ou seja, a fração óssea da FA (FAO), é produzida apenas pelos osteoblastos no momento da mineralização, podendo ser utilizada com maior especificidade. A produção da FAO ocorre no momento da mineralização da matriz osteóide, e sua função é degradar o pirofosfato, que é um potente inibidor da mineralização, facilitando o processo de deposição de hidroxiapatita. Portanto, diferentemente do PTH, a FAO é resultado do processo de formação óssea, preenchendo o primeiro critério de um bom marcador bioquímico. Em alguns estudos, a FAO apresentou melhor correlação com parâmetros de formação óssea do que o PTH.

Uma alternativa interessante é fazer uma análise combinada PTH e FAO, onde, em teoria, haveria um aumento do valor preditivo de doença óssea de alto remanejamento.

Quando encontramos níveis de FAO normais na presença de PTH elevado, isto pode ser indicativo de um maior grau de resistência óssea à ação do PTH, causado pela própria uremia, intoxicação por alumínio, uso prolongado de análogos de vitamina D ou corticosteroides e sobrecarga de cálcio e/ou fósforo. De qualquer modo, isto é altamente sugestivo de que, apesar dos níveis elevados de PTH, a formação óssea não está aumentada. No entanto, isto não significa que a reabsorção óssea induzida pelo PTH não esteja ocorrendo, configurando a pior situação possível em termos de remodelação, onde teria ocorrido um desacoplamento entre formação e reabsorção. Neste caso, a perda de massa óssea é ainda mais significativa e alguma intervenção deve ser feita para controlar esta situação.

3) Osteocalcina

A osteocalcina (OC) é a proteína não-colágena mais abundante da matriz óssea e é sintetizada por osteoblastos, odontoblastos e condrocitos. Pode ser considerada um marcador da função dos osteoblastos, embora sua exata função ainda seja pouco conhecida. Em geral, os níveis séricos de OC apresentam uma boa correlação com a taxa de formação óssea. No entanto, este peptídeo é rapidamente degradado e encontramos no soro tanto a

molécula intacta como seus fragmentos. Além disto, ela pode ser encontrada nas formas carboxilada e não-carboxilada, as quais parecem ter funções distintas. Há vários ensaios para a avaliação da OC, em todas as formas descritas anteriormente e há alguns estudos publicados em doenças ósteo-metabólicas.

Com relação a sua validade no contexto da DRC, é bastante questionável, pois há um

acúmulo de seus fragmentos nesta condição. Além disto, mesmo o ensaio que avalia a OC intacta reconhece as formas total, carboxilada e não-carboxilada. Estudos que avaliaram seu papel na DRC mostraram níveis elevados

de OC intacta podem ser bons preditores de doença óssea de alta remodelação, sem, no entanto, mostrar superioridade em relação ao PTH ou à FAO.

4) Fragmentos de Pró-colágeno

O pró-colágeno tipo 1 é um precursor do colágeno 1, o qual é a principal proteína constituinte da matriz óssea. Para ser transformado em colágeno, o pro-colágeno sofre a ação de proteases, que removem suas extensões amino e carboxi-terminais (P1CP e P1NP, respectivamente). Portanto, estas extensões podem ser consideradas marcadores de formação óssea, pois são liberadas no momento da formação da matriz osteóide.

Seus níveis séricos não são influenciados pela DRC, pois seu metabolismo é hepático. No entanto, há poucos estudos que avaliaram seu papel na DRC e a maioria deles observou sua correlação com outros marcadores bioquímicos e não com parâmetros histomorfométricos. Portanto, ainda são necessários novos estudos para definir o papel do P1CP e P1NP como marcadores bioquímicos na DMO-DRC.

5) Piridinolina e Deoxipiridinolina

Como já dito anteriormente, a proteína mais abundante da matriz óssea é o colágeno tipo 1, constituindo de 85 a 90% da mesma. A resistência e força do tecido ósseo são mantidas, em grande parte, graças à disposição espacial destas fibras de colágeno, que possuem intra e inter-conexões através de sítios conhecidos como “cross-links” do colágeno. Os “cross-links” mais estudados são a piridinolina (PID) e a deoxipiridinolina (DPD). Tanto a PID como a DPD estão presentes no tecido ósseo e na cartilagem, embora a PID seja a maior constituinte do tecido cartilaginoso. Desta forma, a DPD é mais específica para o osso. No momento da reabsorção óssea, há quebra da

molécula de colágeno e liberação destes “cross-links”, fazendo com que os mesmos sejam bons marcadores de reabsorção óssea.

A maior parte dos estudos que avaliou PID e DPD o fez com a análise bioquímica urinária, o que obviamente não pode ser proposto para pacientes com DRC. A dosagem sérica de DPD foi realizada em poucos estudos, mas parece apresentar excelente correlação com a reabsorção óssea. No entanto, os ensaios utilizados para quantificação de PID e DPD ainda são caros, trabalhosos, tornando difícil a recomendação de seu uso na prática clínica diária.

6) Cross-laps

Além da PID e da DPD, há outros fragmentos de colágeno, de tamanho menor, que são liberados no momento da reabsorção óssea e que podem ser quantificados, sendo conhecidos como “cross-laps”. Da mesma maneira que os marcadores anteriores, os

“cross-laps” podem ser empregados como marcadores de reabsorção óssea e há ensaios já disponíveis comercialmente. No entanto, há poucos estudos que avaliaram seu papel na DRC, principalmente realizando a correlação com parâmetros histomorfométricos.

7) Fosfatase Ácida Tartarato Resistente

As fosfatases ácidas são enzimas produzidas pelos osteoclastos e células da próstata, útero, pâncreas, baço, hemácias, leucócitos e plaquetas. A fosfatase ácida tartarato resistente (TRAP) foi inicialmente descrita como sendo produto exclusivo dos osteoclastos, mas hoje há questionamentos sobre sua especificidade.

Além disto, sua produção poderia ocorrer em

situações onde não necessariamente haveria reabsorção óssea, como na defosforilação de algumas proteínas, como osteopontina. Com relação à DRC, não há número suficiente de estudos que possam nos permitir eleger a TRAP como um bom marcador de reabsorção óssea neste contexto.

8) Outros Marcadores

25 Vitamina D

Embora a 25 vitamina D não possa ser considerada como um marcador de remodelação óssea, sua quantificação é cada vez mais recomendada na DRC. Sabe-se que níveis adequados deste hormônio são recomendados na população geral não só para manter remodelação óssea adequada (a vitamina D é anabólica para o osso), como para controlar o hiperparatireoidismo e para garantir as ações não-clássicas da vitamina D sobre sistema imunológico, cardiovascular e outros. Um status adequado de vitamina D é avaliado através da quantificação da 25 vitamina D (calcidiol), mas não da 1,25 vitamina D (calcitriol), pois os estoques de vitamina D encontram-se na forma da

primeira molécula, que também possui uma vida média maior e é mais estável. Há várias maneiras de se quantificar a vitamina D, sendo a cromatografia de alta pressão (HPLC) considerada o método padrão. No entanto, como sua realização em escala comercial é muito difícil, há ensaios imunorradiométricos e por quimioluminescência que apresentam uma boa correlação com a HPLC. Uma última recomendação no caso do emprego destes ensaios é verificar se os mesmos são capazes de reconhecer as formas 25 D₂ e 25 D₃, pois caso esteja havendo suplementação de D₂ e o ensaio não reconheça esta forma de vitamina D, o resultado pode vir falsamente abaixo do normal.

Fator de Crescimento de Fibroblastos 23

O Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 (FGF23) é uma fosfatonina, produzida por osteócitos e osteoblastos e está aumentada na presença de sobrecarga de fósforo, administração de algumas formas de vitamina D e análogos de calcitriol, e elevação do PTH. Não deve ser considerado como um marcador de remodelação óssea, mas pode ser um bom marcador de sobrecarga de fósforo e alguns estudos mostraram que o FGF 23 é também um bom preditor de progressão de doença renal, hipertrofia miocárdica e mesmo mortalidade. No entanto, ainda não há estudos que permitam uma recomendação definitiva de sua quantificação na prática médica. Além disto, ainda não há consenso sobre qual seria o ensaio a ser utilizado.

Esclerostina

A Esclerostina (SOST) é uma proteína produzida pelos osteócitos e que inibe a via Wnt, que no tecido ósseo é uma estimuladora de sua formação. Um estudo publicado recentemente mostrou que níveis séricos diminuídos de SOST são melhores preditores de patologia de alta remodelação do que o PTH. No entanto, ainda são necessários mais estudos e um melhor entendimento do papel da SOST na fisiologia da remodelação óssea antes da recomendação do seu uso na prática clínica diária.

Referências Bibliográfica

- 1) Diretrizes brasileiras de prática clínica para o distúrbio mineral e ósseo na doença renal crônica. J BrasNefrol 2011; 33(2):189-247
- 2) KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). Kidney Int Suppl. 2009; 113: S1-130.
- 3) Ureña P, de Vernejoul MC. Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. Kidney International 1999;55, 2141-2156
- 4) Raggi P, Vukicevic S, Moysés RM, Wesseling K, Spiegel DM. Ten-year experience with sevelamer and calcium salts as phosphate binders. Clin J Am Soc Nephrol 2010; 5 S1: S31-40.
- 5) Barreto FC, Barreto DV, Moysés RM, Neves KR, Canziani ME, Draibe SA et al. K/DOQI-recommended intact PTH levels do not prevent low-turnover bone disease in hemodialysis patients. Kidney Int 2008;73(6):771-7
- 6) Barreto FC, Barreto DV, Moyses RM, Neves CL, Jorgetti V, Draibe SA et al. Osteoporosis in hemodialysis patients revisited by bone histomorphometry: a new insight into an old problem. Kidney Int 2006; 69(10):1852-7



Biomarcadores de Inflamação na Doença Renal Crônica

Ligia Maria Claro^a, Andréa Emilia M. Stinghen^b e Roberto Pecoits-Filho^a

a. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica, Curitiba – PR,
b. Depto. De Patologia Médica, Universidade Federal do Paraná; Curitiba - PR

Introdução

A doença renal crônica (DRC) está associada a um estado inflamatório crônico que, através de múltiplos mecanismos e em associação com o estresse oxidativo, promove múltiplas consequências patológicas como a disfunção endotelial, aceleração da aterosclerose, indução de calcificação vascular, alterações do estado nutricional, anemia e a disfunção imune.¹ Em conjunto, estes processos induzem a um aumento do risco de morbi-mortalidade, especialmente de causa vascular. Desta forma não causa surpresa a observação de que biomarcadores da resposta inflamatória são importantes preditores de eventos fatais neste grupo de pacientes.²

Os biomarcadores são importantes como indicadores de processos biológicos e na estratificação de grupos de alto risco para início e avaliação de repostas nas intervenções terapêuticas. Dentre as características ideais

para um biomarcador estão a capacidade de ser preciso e ter reprodutibilidade. O processo de validação de um biomarcador envolve várias etapas. Primeiramente, a escolha de um biomarcador a partir de plausibilidade biológica. Após, a análise da viabilidade de determiná-lo na rotina laboratorial. Em uma fase mais avançada, a caracterização da validade clínica (associação com desfechos clinicamente relevantes) em estudos observacionais retrospectivos e prospectivos. Por último, a confirmação do uso clínico do biomarcador no monitoramento de doenças, quando o uso do biomarcador gera informação importante o suficiente para direcionar alterações de conduta clínica. Finalmente, antes de sua incorporação na prática clínica, a mensuração do biomarcador deve ser custo efetiva, resultando em medidas terapêuticas ou preventivas que possibilitem a redução da incidência de eventos.³

Biomarcadores de Risco Cardiovascular em Doença Renal Crônica

A doença cardiovascular (DCV) é um fator de risco independente e é responsável pela mortalidade prematura em mais de 50% dos pacientes com DRC no estágio 5.^{4,5} Fatores de risco tradicionais (Framingham: idade, dislipidemia, hipertensão, tabagismo e diabetes mellitus) são altamente prevalentes em pacientes com DRC. Adicionalmente, novos fatores de risco para DCV tais como inflamação, disfunção endotelial, estresse oxidativo, anemia, distúrbios do metabolismo mineral e sobrecarga de volume.^{6,7} Em

realidade percebe-se que existe uma sobreposição de fatores de risco tradicionais e não tradicionais sendo difícil entendê-los separadamente,^{7,8} mas sim de forma sinérgica. Nas seções abaixo discutiremos o papel de biomarcadores de inflamação, considerados atualmente um dos mais importantes.

Biomarcadores de Inflamação na DRC

Biomarcadores de inflamação tem sido descritos como centrais na identificação de pacientes de alto risco de mortalidade na DRC. Nesta artigo, descrevemos as principais características de proteínas de fase aguda, citocinas e marcadores de processos inflamatórios específicos como potenciais biomarcadores para serem utilizados na prática clínica em DRC.

Proteínas de fase aguda

As proteínas de fase aguda são, em sua maioria, glicoproteínas sintetizadas pelo fígado, sob indução de citocinas pró-inflamatórias. São consideradas boas indicadoras da resposta sistêmica frente a processos inflamatórios e infecciosos. Dependendo do estímulo, podem diminuir ou aumentar sua concentração plasmática.⁹

Entre as proteínas de fase aguda a PCR se destaca como o marcador inflamatório mais amplamente usado como indicador preditivo para o risco de DCV em pacientes com DRC.^{10,11} A PCR é uma proteína de fase aguda, produzida pelo fígado sob o estímulo e controle de citocinas pro-inflamatórias, especialmente a IL-6. Reflete a inflamação de forma sistêmica e após um estímulo inflamatório, a PCR se eleva rápida e intensamente, com meia – vida de 19 horas na circulação.^{2,9,11}

A princípio, o método utilizado era o látex. Posteriormente, foi possível a determinação quantitativa da concentração sérica da PCR através de imunoturbidimetria e nefelometria, expressando-se os resultados

em mg/dL. Entretanto, esses métodos têm sensibilidade reduzida para detecção de baixos níveis de inflamação: a sensibilidade da imunonefelometria é insuficiente em 30% dos casos. Atualmente, a imunonefelometria hipersensível (também denominada de alta sensibilidade ou ultra-sensível) é o método de escolha para determinação da concentração sérica da PCR titulada.¹²

Em pacientes com DRC a inflamação pode variar ao longo do tempo e a presença de eventos clínicos pode estar relacionada a elevações persistentes de PCR. Na prática clínica, a PCR é considerada um marcador fidedigno da inflamação e pode contribuir diretamente para a lesão endotelial e a patogênese da aterosclerose.^{11,13,14}

Níveis séricos elevados de PCR são preditores de mortalidade em pacientes com ou sem DRC. Estudos transversais baseados em uma única determinação dos níveis de PCR mostraram que 30 a 50% dos pacientes em pré-diálise e dos submetidos à hemodiálise apresentaram ativação da resposta inflamatória com níveis elevados de PCR.^{15,16}

A albumina é uma proteína negativamente carregada, solúvel em água e sintetizada pelo fígado. De forma oposta à PCR, a expressão de albumina é bloqueada em estados inflamatórios. A redução na filtração glomerular não predispõe, por si só, à hipoalbuminemia em pacientes com DRC.¹⁷ Porém, estes pacientes possuem condições clínicas que contribuem para a hipoalbuminemia, como a acidose metabólica e inflamação.¹⁸ A inflamação pode contribuir

para a redução da concentração de albumina sérica através da supressão da síntese, aumento do catabolismo e permeabilidade vascular para a albumina, ou a combinação de todos esses fatores.¹⁷⁻¹⁹ A albumina sérica é influenciada por outros fatores além da desnutrição. O estresse oxidativo em combinação com a inflamação crônica, leva ao risco aumentado da aterosclerose.¹⁹ Um estudo realizado por Nascimento et al.²⁰ demonstrou, em pacientes submetidos à hemodiálise, que níveis reduzidos de albumina foram preditores independentes de mortalidade.

A β 2-M é uma proteína de baixo peso molecular, presente na superfície de todas as células nucleadas. É um componente de cadeia leve do complexo antígeno leucocitário humano classe I (HLA). Tem função relacionada à imunologia celular e na rotina laboratorial é quantificada através do método de quimioluminescência.²¹ Em condições fisiológicas, é produzida em concentrações constantes, exceto em pacientes com inflamações sistêmicas e neoplasias hematológicas, sendo eliminada da circulação por via renal.^{21,22} Em pacientes com diminuição da filtração glomerular, ocorrem níveis séricos aumentados de β 2-M. O acúmulo desta proteína pode levar à amiloidose relacionada à diálise. Esse tipo de intercorrência pode ocorrer em pacientes com falência renal severa e que não foram submetidos à diálise ou outros procedimentos relacionados.²³ Através da hemodiálise de alto fluxo é possível retirar a β 2-M e outras toxinas urêmicas de médio peso molecular. Em conjunto, a remoção desses

compostos pode melhorar a sobrevida dos pacientes hemodialisados.²¹ Okuno e cols.²² observaram que níveis séricos de β 2-M foram um preditor de mortalidade em pacientes hemodialisados, independente da duração da hemodiálise, presença de diabetes, desnutrição e inflamação crônica, sugerindo a importância clínica de baixos níveis de β 2-M nesses pacientes.

Outros biomarcadores sistêmicos de fase aguda podem ser determinados na DRC para o monitoramento da progressão da doença, entre eles: a alfa-1-glicoproteína ácida, alfa-1-antitripsina, fibrinogênio.

Citocinas pró-inflamatórias

As citocinas são proteínas solúveis com baixo peso molecular e produzidas pelas células envolvidas na resposta imune inata e humoral. As interleucinas (IL) 8, 12, 18 e TNF- α estão entre as citocinas inflamatórias produzidas localmente e com ação aterogênica, enquanto que, as IL's 6 e 8 estão entre os mediadores e biomarcadores sistêmicos da inflamação.²⁴

Embora um número de citocinas, tais como: TNF- α e IL-1 induzem à resposta inflamatória, é bem descrito na literatura que a IL-6 e seu receptor solúvel são os reguladores centrais do processo de inflamação. A IL-6 promove a diferenciação e recrutamento de leucócitos e a indução da produção das proteínas de fase aguda no fígado, envolvendo-se com a fase precoce e tardia da resposta inflamatória. Além disso, possui outras ações biológicas: como

a diminuição do apetite, hipercatabolismo protéico, hipercoagulabilidade e aceleração da aterosclerose.^{25,26}

A IL-6 é secretada por macrófagos ativados, fibroblastos, adipócitos e células endoteliais em resposta a vários estímulos, tais como: TNF- α , a IL-1, endotoxinas bacterianas e estresse oxidativo. Pode ser detectada na concentração de até 1 pg/ml em indivíduos saudáveis mas, está aumentada na maioria dos pacientes em estágios finais de DRC.²⁷ A IL-6 pode ser mensurada através de kits disponíveis comercialmente, pelo método de enzimaimunoensaio (ELISA), além de métodos automatizados com o Immulite.

É bem estabelecida na literatura a relação entre os rins e vários biomarcadores inflamatórios, como por exemplo: PCR, IL-6 e TNF- α , sugerindo um papel importante na eliminação de citocinas pró-inflamatórias.^{28,29} Apesar da redução da eliminação ser a maior causa dos altos níveis da IL-6 no plasma de indivíduos em fase final de DRC, a produção aumentada desta citocina também tem papel importante.^{25,30} O procedimento de diálise representa um estímulo adicional para o aumento da IL-6 devido à bioincompatibilidade das membranas e ao dialisato não-estéril.³¹

Níveis plasmáticos de IL-6 têm sido relacionados ao aumento da mortalidade de pacientes em estágio avançado de DRC.³² Além disso, a IL-6 tem sido associada com a progressão de aterosclerose em carótidas de pacientes com DRC.³³ Isto se deve principalmente ao aumento da produção

da PCR (responsável pela diminuição da expressão de óxido nítrico sintetase endotelial) e a vários mecanismos metabólicos, endoteliais e coagulantes.^{34,35}

Outra citocina pró-inflamatória importante para a DRC é o TNF- α . Originalmente associado à morte de tumores, o TNF- α tem uma fundamental importância na regulação de mediadores pró e antiinflamatórios. É multifuncional, com efeitos sobre o metabolismo de lipídios, coagulação, resistência à insulina e disfunção endotelial.²⁵

Em pacientes urêmicos, a deterioração da função renal é um dos fatores mais importantes para o aumento da atividade do TNF- α , principalmente pela ativação de monócitos. Em pacientes urêmicos a liberação crônica de TNF- α pode estimular a produção de $\beta 2$ -M, levando à amiloidose. Em contrapartida, a hemodiálise parece ser benéfica em pacientes em estágios finais de DRC, pois reduz ou pára a liberação de TNF- α pelos monócitos, remove toxinas urêmicas e aumenta a liberação de seus antagonistas.³⁶ Infelizmente não existe evidência direta da associação entre níveis plasmáticos de TNF e mortalidade em pacientes com DRC, o que limita sua utilização na prática clínica.

Outra citocina importante é a IL-8. Produzida por macrófagos e células epiteliais e com função de quimioatração em neutrófilos. Considerada uma citocina pró-aterogênica, em pacientes hemodialisados está aumentada e constitui um fator preditivo independente de problemas cardiovasculares e mortalidade.^{24,37}

Marcadores de processos específicos de inflamação

Muitos trabalhos sobre os mecanismos inflamatórios na uremia têm focado atenção em biomarcadores inespecíficos de inflamação sistêmica como a PCR, ou citocinas que refletem a ativação de células como os monócitos e macrófagos. Mais recentemente foi demonstrado que o endotélio vascular, por exercer funções regulatórias importantes, desempenha um papel fundamental tanto como alvo, bem como fator amplificador da resposta inflamatória.³⁸ O endotélio é constituído por uma única camada de células no interior dos vasos sanguíneos, sendo o maior órgão do corpo humano e o principal regulador da homeostase vascular, cobrindo uma superfície de aproximadamente 4.000 to 7.000 m².³⁹ Por esta razão sofre várias agressões, entre elas os fatores de risco cardiovasculares tais como diabetes e hipertensão (40). A disfunção endotelial é um evento comumente descrito na falência renal, tanto crônica como aguda, assim como em estágio final de todas as doenças renais. Acredita-se que o acúmulo de toxinas urêmicas (representadas por uma série de compostos orgânicos e peptídios) devido à perda ou diminuição da função renal, pode levar a uma resposta inflamatória endotelial.^{41,42}

Moléculas de adesão tais como VCAM-1, ICAM-1 e citocinas, tais como o MCP-1 e a IL-8⁴³⁻⁴⁷ têm sido descritas como importantes mediadores do processo inflamatório vascular. Recentemente, foi demonstrado que níveis plasmáticos elevados de sVCAM-1 e especialmente sICAM-1, são preditores

independentes de mortalidade em pacientes com DRC.⁴⁴ Concordando com as informações clínicas descritas, Bro et al.⁴⁸ demonstraram que a aterosclerose relacionada a fatores urêmicos em camundongos knockout para apo-E -/- (o mais importante modelo animal de DCV relacionado à DRC) aumenta a expressão de ICAM-1 no endotélio e também a expressão de ICAM-1 e VCAM-1 em células musculares da camada média, provavelmente por diminuir o recrutamento de células envolvidas na resposta imune.

Citocinas como o MCP-1 e IL-8 são quimiocinas pertencentes à família das C-C e C-X-C respectivamente, e são responsáveis pela quimiotaxia e adesão firme dos monócitos na camada íntima, embora a IL-8 seja mais classicamente descrita na quimiotaxia de neutrófilos, evidências sugerem que ela possa também ter um papel fundamental no recrutamento e adesão firme de monócitos na superfície do endotélio.^{49,50,51} Do ponto de vista clínico, pacientes pós-infarto agudo do miocárdio e angina instável, apresentam níveis plasmáticos elevados de MCP-1, estando associados a estados inflamatórios, dislipidemias, e eventos cardiovasculares em pacientes submetidos à hemodiálise,^{52,53} além de ser potencialmente um fator importante na progressão da aterosclerose em pacientes em hemodiálise.⁴⁵ Entretanto, ainda não está bem elucidado, o papel destas quimiocinas e moléculas de adesão na progressão da DRC associadas à inflamação vascular.

Em estudos anteriores demonstramos que com o desenvolvimento da DRC, e consequente

acúmulo de toxinas urêmicas, ocorra uma ativação da resposta inflamatória sistêmica (mediada por citocinas pró-inflamatórias) e especialmente vascular (endotelial).⁴⁷ A agressão constante do endotélio a partir da interação entre toxinas urêmicas e células endoteliais, com alteração do fenótipo celular, pode refletir, ao menos em parte, os níveis plasmáticos elevados de marcadores de inflamação vascular como monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), soluble vascular adhesion molecule-1 (sVCAM-1) e interleukin-8 (IL-8) encontrados nestes pacientes e participar efetivamente da fisiopatologia da DCV relacionada à DRC.^{54, 55} Recentemente demonstramos usando modelos in vitro e in vivo, que a exposição do endotélio ao plasma urêmico resulta num aumento tempo-dependente na expressão de MCP-1, IL-8, sICAM-1 e sVCAM-1 o que sugere uma ligação entre ativação vascular, inflamação sistêmica e toxicidade urêmica.⁴⁷

Na progressão e desenvolvimento da aterosclerose muitos fatores relacionados à inflamação estão envolvidos. A produção de espécies ativas de oxigênio (ROS) pelas células endoteliais pode ser estimulada por várias das toxinas urêmicas e contribuir para o estado inflamatório encontrado na DCV.⁵⁶ A interação das ROS com proteínas pode ser responsável pela expressão de nitrotirosina pelas células endoteliais e altos níveis de receptores para produtos de glicosilação avançada (AGES),^{57, 58, 59} No sistema cardiovascular, o acúmulo de AGES contribui para o enrijecimento das artérias devido a sua ligação desordenada e não funcional ao colágeno e elastina.⁶⁰

A endotoxina (ET) é uma toxina constituída por um lipopolissacaride (LPS) presente na membrana celular externa de bactérias gram negativas, e é uma importante toxina na disfunção endotelial de pacientes com DRC. Neste grupo de pacientes a fonte de ET pode ser por contaminação dos tecidos, fluidos e corpos estranhos, além de translocação do lúmen intestinal relacionada a uma função da barreira intestinal prejudicada. Há cada vez mais evidências que pacientes com DRC desenvolvem sinais de sobrecarga de volume nas fases iniciais da doença, e este fato pode ser um estímulo para ativação da resposta inflamatória.^{61, 62} Um dos epifenômenos da disfunção endotelial é a diminuição da enzima nitric oxide synthase. Pacientes em estágio 5 de DRC, tem produção de óxido nítrico (NO) diminuída o que por sua vez causa um prejuízo na vasodilação endotelio dependente. A diminuição de NO pode ser correlacionada também a níveis elevados de ET e citocinas pró-inflamatórias encontrados na uremia, resultando em um potencial trombótico diminuído das células endoteliais.^{63, 2885} Neste contexto outra molécula relevante é a proteína CD14, intermediária na ativação celular e na sinalização da resposta a ET, encontrada na circulação na forma de CD14 solúvel (CD14s). Dados experimentais sugerem que a liberação de ET na circulação, ativa a resposta inflamatória sistêmica via TLR4 (toll like receptor 4) com correlação dos níveis circulantes de CD14s com soluble intercellular molecule-1 (sICAM-1), uma molécula de adesão essencial no processo de inflamação relacionado a DCV.⁶⁴

O CD95 ou FAS é uma molécula reguladora de apoptose e pró-inflamatória, da família do TNF que pode ser encontrada em níveis circulantes, na sua forma solúvel e na superfície celular. Alguns trabalhos demonstram que células tumorais tratadas com sFAS ativam várias vias de sinalização, incluindo a ativação da via do NFKB o que neste caso leva a uma maior invasividade tumoral.⁶⁵ Observamos em um coorte de pacientes em fase pré-dialítica em diferentes estágios de DRC que os níveis

séricos de FAS correlacionam-se negativamente com a TFG, Hb e volume glomerular (VG) e positivamente com marcadores de inflamação como o fibrinogênio e sICAM-1, e que a concentração de FAS aumenta de acordo com o aumento dos estágios da doença. Desta forma podemos sugerir que o FAS se eleva na progressão da DRC, e está associado a anemia, inflamação sistêmica e disfunção endotelial em pacientes com DRC.⁶⁶

Conclusão

A resposta inflamatória da DRC não somente representa um evento fisiopatológico importante na relação com a DCV, mas também abre perspectivas de identificação de múltiplos biomarcadores deste processo que vem se consolidando como ferramentas de utilidade no entendimento dos mecanismo de doença, na identificação de pacientes sob alto risco de complicações e na monitoração de tratamentos de redução de risco cardiovascular.

Referências Bibliográfica

1. Galli F. Protein damage and inflammation in uraemia and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007 Jul;22 Suppl 5:v20-36.
2. Carrero JJ, Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease--what have we learned in 10 years? *Semin Dial.* 2009 Sep-Oct;23(5):498-509.
3. Meuwese CL, Snaedal S, Halbesma N, Stenvinkel P, Dekker FW, Qureshi AR, et al. Trimestral variations of C-reactive protein, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha are similarly associated with survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2010 Apr;26(4):1313-8.
4. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 1998 Dec;9(12 Suppl):S16-23.
5. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Lindholm B, Riella MC, Stenvinkel P. Inflammation, malnutrition and atherosclerosis in end-stage renal disease: a global perspective. *Blood Purif.* 2002;20(5):454-8.
6. Muntner P, He J, Astor BC, Folsom AR, Coresh J. Traditional and nontraditional risk factors predict coronary heart disease in chronic kidney disease: results from the atherosclerosis risk in communities study. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Feb;16(2):529-38.
7. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimburger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 Mar;3(2):505-21.
8. Nanayakkara PW, Gaillard CA. Vascular disease and chronic renal failure: new insights. *Neth J Med.* Jan;68(1):5-14.
9. Kaysen GA. Biochemistry and biomarkers of inflamed patients: why look, what to assess. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 Dec;4 Suppl 1:S56-63.
10. Vidt DG. Inflammation in renal disease. *Am J Cardiol.* 2006 Jan 16;97(2A):20A-7A.
11. Carrero JJ, Stenvinkel P. Persistent inflammation as a catalyst for other risk factors in chronic kidney disease: a hypothesis proposal. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 Dec;4 Suppl 1:S49-55.
12. Maggiore U, Cristol JP, Canaud B, Dupuy AM, Formica M, Pozzato M, et al. Comparison of 3 automated assays for C-reactive protein in end-stage renal disease: clinical and epidemiological implications. *J Lab Clin Med.* 2005 Jun;145(6):305-8.
13. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia - Causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol.* 2001;In Press.
14. Kaysen GA, Stevenson FT, Depner TA. Determinants of albumin concentration in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1997;29:658-68.
15. Pecoits-Filho R HO, Lindholm B, Barany P, Stenvinkel P. Circulating inflammation markers correlate with renal function in end-stage renal disease. Abstract , XXXIX Congress of the European Renal Association. 2002.
16. Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated? *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17 Suppl 8:33-8; discussion 40.
17. Friedman AN, Fadem SZ. Reassessment of albumin as a nutritional marker in kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2010 Feb;21(2):223-30.
18. Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Rosales L, Levin NW, Mitch WE. Inflammation and reduced albumin synthesis associated with stable decline in serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2004 Apr;65(4):1408-15.

19. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome -- the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17 Suppl 11:28-31.
20. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Qureshi AR, Hayashi SY, Manfro RC, Pachaly MA, et al. The prognostic impact of fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilian haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant.* 2004 Nov;19(11):2803-9.
21. Drueke TB, Massy ZA. Beta2-microglobulin. *Semin Dial.* 2009 Jul-Aug;22(4):378-80.
22. Okuno S, Ishimura E, Kohno K, Fujino-Katoh Y, Maeno Y, Yamakawa T, et al. Serum beta2-microglobulin level is a significant predictor of mortality in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Feb;24(2):571-7.
23. Jadoul M, Drueke T, Zingraff J, van Ypersele de Strihou C. Does dialysis-related amyloidosis regress after transplantation? *Nephrol Dial Transplant.* 1997 Apr;12(4):655-7.
24. Carrero JJ, Yilmaz MI, Lindholm B, Stenvinkel P. Cytokine dysregulation in chronic kidney disease: how can we treat it? *Blood Purif.* 2008;26(3):291-9.
25. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, et al. IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int.* 2005 Apr;67(4):1216-33.
26. Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease--a fire that burns within. *Contrib Nephrol.* 2005;149:185-99.
27. Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl.* 2002 May(80):103-8.
28. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Axelsson J, Stenvinkel P. Update on interleukin-6 and its role in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2003 Jun;18(6):1042-5.
29. Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Barany P, Suliman M, Fehrman-Ekhholm I, Lindholm B, et al. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis.* 2003 Jun;41(6):1212-8.
30. Sharma R, Bolger AP, Li W, Davlouros PA, Volk HD, Poole-Wilson PA, et al. Elevated circulating levels of inflammatory cytokines and bacterial endotoxin in adults with congenital heart disease. *Am J Cardiol.* 2003 Jul 15;92(2):188-93.
31. Caglar K, Peng Y, Pupim LB, Flakoll PJ, Levenhagen D, Hakim RM, et al. Inflammatory signals associated with hemodialysis. *Kidney Int.* 2002 Oct;62(4):1408-16.
32. Pecoits-Filho R, HO, Lindholm B, Bárány B, Stenvinkel P. Interleukin-6 system is associated with renal function in end-stage renal disease. *Blood Purif.* 2002;20 (Abstract):511.
33. Stenvinkel P, Heimbürger O, Jogestrand T. Elevated interleukin-6 predicts progressive carotid arterosclerosis in dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2002;39:274-82.
34. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis.* 2000 Feb;148(2):209-14.
35. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002 Sep 17;106(12):1439-41.

36. Al-Koussi MM, Tohamy MA, El-Kareimy IA, Kamel N, Al-Menawy L, Sheikh IA, et al. Can Uremia and Hemodialysis Affect Plasma Levels of Circulating TNF-alpha. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 1994 April-June;5(2):163-7.
37. Nakanishi I, Moutabarrik A, Okada N, Kitamura E, Hayashi A, Syouji T, et al. Interleukin-8 in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephrol Dial Transpl.* 1994;9:1435-42.
38. Gonzalez MA, Selwyn AP. Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. *Am J Med.* 2003 Dec 8;115 Suppl 8A:99S-106S.
39. Malyszko J. Mechanism of endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Clin Chim Acta.* Oct 9;411(19-20):1412-20.
40. Fliser D. Perspectives in renal disease progression: the endothelium as a treatment target in chronic kidney disease. *J Nephrol.* Jul-Aug;23(4):369-76.
41. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argiles A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int.* 2003 May;63(5):1934-43.
42. Cohen G, Glorieux G, Thornalley P, Schepers E, Meert N, Jankowski J, et al. Review on uraemic toxins III: recommendations for handling uraemic retention solutes in vitro towards a standardized approach for research on uraemia. *Nephrol Dial Transplant.* 2007 Aug 27.
43. Stenvinkel P, Lindholm B, Heimbürger M, Heimbürger O. Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predicts death in predialysis patients: Association with malnutrition, inflammation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transpl.* 2000;15:1624-30.
44. Suliman ME, Qureshi AR, Heimburger O, Lindholm B, Stenvinkel P. Soluble adhesion molecules in end-stage renal disease: a predictor of outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Jun;21(6):1603-10.
45. Kusano KF, Nakamura K, Kusano H, Nishii N, Banba K, Ikeda T, et al. Significance of the level of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerosis. *Circ J.* 2004 Jul;68(7):671-6.
46. Addabbo F, Mallamaci F, Leonardi D, Tripepi R, Tripepi G, Goligorsky MS, et al. Searching for biomarker patterns characterizing carotid atherosclerotic burden in patients with reduced renal function. *Nephrol Dial Transplant.* 2007 Jul 21.
47. Stinghen AE, Goncalves SM, Martines EG, Nakao LS, Riella MC, Aita CA, et al. Increased plasma and endothelial cell expression of chemokines and adhesion molecules in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract.* 2009;111(2):c117-26.
48. Bro S, Moeller F, Andersen CB, Olgaard K, Nielsen LB. Increased expression of adhesion molecules in uremic atherosclerosis in apolipoprotein-E-deficient mice. *J Am Soc Nephrol.* 2004 Jun;15(6):1495-503.
49. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA, Jr., et al. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature.* 1999 Apr 22;398(6729):718-23.
50. Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR2-/ mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature.* 1998 Aug 27;394(6696):894-7.
51. Boisvert WA, Santiago R, Curtiss LK, Terkeltaub RA. A leukocyte homologue of the IL-8 receptor CXCR-2 mediates the accumulation of macrophages in atherosclerotic lesions of LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest.* 1998 Jan 15;101(2):353-63.

52. Ikeda U, Matsui K, Murakami Y, Shimada K. Monocyte chemoattractant protein-1 and coronary artery disease. *Clin Cardiol.* 2002 Apr;25(4):143-7.
53. Papayianni A, Alexopoulos E, Giannalis P, Gionanlis L, Belechri AM, Koukoudis P, et al. Circulating levels of ICAM-1, VCAM-1, and MCP-1 are increased in haemodialysis patients: association with inflammation, dyslipidaemia, and vascular events. *Nephrol Dial Transplant.* 2002 Mar;17(3):435-41.
54. Segal MS, Baylis C, Johnson RJ. Endothelial health and diversity in the kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Feb;17(2):323-4.
55. Diaz-Buxo JA, Woods HF. Protecting the endothelium: a new focus for management of chronic kidney disease. *Hemodial Int.* 2006 Jan;10(1):42-8.
56. Dou L, Jourde-Chiche N, Faure V, Cerini C, Berland Y, Dignat-George F, et al. The uremic solute indoxyl sulfate induces oxidative stress in endothelial cells. *J Thromb Haemost.* 2007 Jun;5(6):1302-8.
57. Bro S, Bentzon JF, Falk E, Andersen CB, Olgaard K, Nielsen LB. Chronic renal failure accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Oct;14(10):2466-74.
58. Buzello M, Tornig J, Faulhaber J, Ehmke H, Ritz E, Amann K. The apolipoprotein e knockout mouse: a model documenting accelerated atherosclerosis in uremia. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Feb;14(2):311-6.
59. Brunet P, Gondouin B, Duval-Sabatier A, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, et al. Does uremia cause vascular dysfunction? *Kidney Blood Press Res.* 34(4):284-90.
60. Zieman S, Kass D. Advanced glycation end product cross-linking: pathophysiologic role and therapeutic target in cardiovascular disease. *Congest Heart Fail.* 2004 May-Jun;10(3):144-9; quiz 50-1.
61. Goncalves S, Pocoits-Filho R, Perreto S, Barberato SH, Stinghen AE, Lima EG, et al. Associations between renal function, volume status and endotoxaemia in chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Oct;21(10):2788-94.
62. Aline B, Hauser AEMS, Simone M, Gonçalves, Sergio Bucharles, Roberto Pocoits-Filho a. A Gut Feeling on Endotoxemia: Causes and Consequences in Chronic Kidney Disease. *Nephron Clin Pract.* 2010;8.
63. Gunthner T, Jankowski V, Kretschmer A, Nierhaus M, van der Giet M, Zidek W, et al. Endothelium and vascular smooth muscle cells in the context of uremia. *Semin Dial.* 2009 Jul-Aug;22(4):428-32.
64. Stinghen AEMH, A.B.;Gonçalves, S. M. ; Gruber, B. and Pocoits-Filho, R., editor. Activation of innate immunity by LPS is associated with systemic inflammation and endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease - Renal Week 2010: Abstract Sessions. Renal Week 2010; 2010; Denver - Co. American Society of Nephrology.
65. Sardenberg C SP, Canziani ME, Dalboni M A , Draibe S, Cendoroglo M. Soluble Fas (sFas): A new inflammatory marker in dialysis patients? *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:410.
66. Stinghen AEMC, L.M.; Gonçalves, S. e Pocoits-Filho, R. , editor. Correlação entre os níveis séricos de sFas, anemia e biomarcadores de inflamação e disfunção endotelial em pacientes com doença renal crônica (Poster). XXV Congresso Brasileiro de Nefrologia; 2010; Vitória - ES. Sociedade Brasileira de Nefrologia.



Sumário de Urina

Adriano M. Del Vale

Patologista clínico responsável pelo laboratório da Unimed de São Carlos

O exame sumário de urina, comumente conhecido como Urina I ou sedimentoscopia urinária é um procedimento laboratorial simples, com baixo custo e sem grandes dificuldades para coleta; que oferece grande quantidade de informações sobre condições gerais de saúde e patologias apresentadas pelo paciente. Sendo excelente auxílio diagnóstico para doenças renais (funcionais, infecciosas, tumores e cálculos), hepatopatias, alterações metabólicas, acompanhamento de atividade física e alguns erros inatos do metabolismo.

São disponíveis várias metodologias para realização deste ensaio, desde análises manuais até procedimentos totalmente automatizados. Com isto há grande variação de valores de referência concernentes a cada metodologia utilizada. Sendo que a comparação entre exames realizados por diferentes metodologias sempre deve levar em consideração o resultado global do ensaio e não itens específicos, uma vez que correlação individualizada entre itens realizados por diferentes metodologias não apresentam significado clínico consistente.

Independentemente do método utilizado para realização do exame a qualidade de assepsia para coleta, respeito aos horários definidos para coleta, condições de armazenamento e transporte da amostra são críticos para obtenção de resultado compatível com condições clínicas apresentadas pelo paciente. Também apresenta grande influencia no resultado final do ensaio a experiência do profissional responsável pela realização do ensaio, uma vez que avaliação de cristais, cilindros, dismorfismo eritrocitário e bacterioscopia são dependentes da experiência do examinador. Com isto este ensaio apresenta resultados extremamente variáveis de acordo com condições de coleta, armazenamento, transporte, qualidade dos reagentes e microscópio utilizado e experiência do examinador.

Dividimos a avaliação do sumário de urina em três partes: caracteres físicos, provas bioquímicas e análise microscópica do sedimento urinário. De maneira resumida procuramos salientar as principais alterações clínicas associadas com cada uma destas análises sem nos atermos aos procedimentos técnicos específicos para cada item analisado.

Caracteres Físicos

1. Cor

A cor normal da urina é amarela, causada principalmente pela presença do pigmento urocromo que é um produto do metabolismo endógeno, sendo lipossolúvel normalmente encontrado no plasma e excretado pela urina. Em menor concentração também fazem parte da cor da urina os pigmentos urobilina e uroeritrina.

Existe grande magnitude de variação na coloração da urina variando desde incolor até preto, estas variações de cor podem ser causadas por alterações de hidratação, doenças (metabólicas, genéticas, lesões musculares, cálculos, tumores), atividade física e condições de conservação da amostra. Assim sendo alteração na coloração da urina, por si, não indica patologia.

2. Aspecto

É a análise macroscópica da amostra para avaliação de sua transparência. A urina recém eliminada deve ter aspecto transparente. A alteração do aspecto normal da urina pode estar associada a processos não patológicos (precipitação de cristais, muco, células epiteliais), processos patológicos (hemácias, leucócitos, fungos, bactérias, lipídios, sêmen e linfa) e contaminações externas (talco, cremes vaginais, material fecal, contrastes radiológicos).

3. DENSIDADE

A densidade urinária realizada através de tiras reagentes, urodensímetros ou refratômetros fornece informações preliminares sobre a capacidade renal de reabsorver seletivamente substâncias essenciais e água a partir do filtrado glomerular. Esta quantificação é influenciada pelo número e tamanho de partículas presentes na amostra.

4. pH

A variação normal do pH urinário é de 4,5 a 8,0, sendo que a primeira urina da manhã, em geral, é mais ácida variando entre 5,0 e 6,0. O pH urinário sempre deve ser avaliado frente às condições clínicas do paciente, uma vez que alterações no pH podem estar associadas a alterações do equilíbrio ácido base, infecções no trato urinário, alterações de função renal e ingestão alimentar (alimentação rica em proteínas tendem a ocasionar urina ácida e alimentação rica e vegetais, em geral, ocasionam urinas alcalinas). Também ocasionam alterações no pH urinário o tempo transcorrido entre coleta e processamento da amostra, assim como as condições de armazenamento da amostra.

Provas Bioquímicas

5. Nitrito

A prova do nitrito é um teste rápido para auxiliar na detecção de bactérias que tenham a capacidade de reduzir o nitrato (constituente normal da urina) a nitrito. As bactérias gram negativas, as maiores causadoras de infecção urinária, apresentam esta propriedade. Porém bactérias gram positivas e fungos não reduzem nitrito.

Resultados falso-negativos podem ocorrer nas seguintes situações:

- Amostras colhidas sem retenção urinária, uma vez que a redução a nitritos é dependente do tempo em que os nitratos urinários ficaram expostos as bactérias. Assim primeira urina da manhã e amostras colhidas após retenção urinária são as que apresentam melhor positividade para esta prova.

- b) Quando a quantidade de bactérias for muito grande pode ocorrer conversão do nitrito a nitrogênio, que não é detectável por esta prova.
- c) Grande quantidade de ácido ascórbico.
- d) Inibição do metabolismo bacteriano por antibióticos.
- e) Alimentação pobre em vegetais, com consequente diminuição dos nitratos urinários.

Resultados falso-positivos podem ocorrer nas seguintes situações:

- a) Contaminação da amostra por flora perineal.
- b) Contaminação fecal da amostra.
- c) Acondicionamento inadequado da amostra.
- d) Frasco coletor contaminado.
- e) Urinas extremamente pigmentadas, que podem ocasionar reações atípicas que são registradas como positivas.

6. Proteínas

A urina normal contém quantidades muito pequena de proteínas, em média menos de 10 mg/dl ou 150 mg/24 horas. Estas proteínas são proteínas séricas de baixo peso molecular filtradas seletivamente pelos glomérulos, proteínas produzidas no trato urogenital (próstata, vesículas seminais), microglobulinas séricas e tubulares e a proteína de Tamm-Horsfall produzida pelos túbulos renais.

Sendo importante salientar que os métodos usuais para detecção de proteinúria são

eficientes para detecção de albumina podendo deixar de detectar proteínas tubulares e a proteína de Bence Jones. Também não são adequados para detecção de microalbuminúria, que devido sua faixa de detecção exigem métodos com maior sensibilidade.

As principais causas de proteinúria são:

- a) Lesões de membrana glomerular.
- b) Comprometimento de reabsorção tubular.
- c) Mieloma múltiplo.
- d) Nefropatia diabética.
- e) Pré-eclâmpsia.
- f) Infecções graves.
- g) Proteinúria postural.
- h) Exercícios intensos.
- i) Febre.

7. Glicose

Em condições normais quase toda glicose filtrada pelos glomérulos é reabsorvida no túbulo contornado proximal, assim a urina contém quantidades mínimas de glicose. A reabsorção ocorre por transporte ativo. Quando a glicose sérica alcança níveis entre 160 a 180 mg/dl a reabsorção tubular renal torna-se insuficiente para reabsorver toda glicose e esta passa a ser detectada na urina. Sendo importante salientar que doenças que afetam a reabsorção tubular, algumas lesões do sistema nervoso central e patologias da tireoide pode haver glicosúria sem que o paciente apresente elevação da glicose sérica.

Existem dois diferentes testes para detectar glicosúria:

- Glicose oxidase: específico para a glicose.
- Redução do cobre: método inespecífico que detecta glicose e outros açucares (galactose, frutose, pentose e lactose).

As principais causas de aparecimento de corpos cetônicos são:

- Ceto acidose diabética.
- Jejum prolongado.
- Vômitos.
- Tratamento obesidade.
- Perda excessiva de carboidratos.

8. Corpos Cetônicos

Dentre os corpos cetônicos ou cetonas, são avaliados três produtos intermediários do metabolismo das gorduras que são: acetona, ácido acetoacético e ácido beta-hidroxibutírico. Normalmente não existem quantidades mensuráveis destas substâncias na urina porque toda gordura metabolizada é completamente degradada e convertida em dióxido de carbono e água. Quando existe comprometimento do uso de carboidratos como principal fonte de energia do organismo os estoques de gordura são metabolizados para produção de energia com consequente detecção dos corpos cetônicos na urina.

Resultados falsos positivo podem ser encontrados em:

- Levodopa em grandes concentrações.
- Amostras colhidas após procedimento diagnóstico com corantes de ftaleína.

Resultados falsos negativos podem ser encontrados em:

- Amostras mantidas a temperatura ambiente por longo tempo.
- Contaminação bacteriana.

9. Urobilinogênio

O urobilinogênio é um pigmento biliar produzido no intestino a partir da degradação da bilirrubina direta. Aproximadamente metade do urobilinogênio é reabsorvida pelo intestino sendo novamente encaminhado ao fígado e armazenado na vesícula biliar. Durante a circulação até o fígado é filtrado pelos rins e pequena quantidade deste pode ser detectada na urina. No intestino é oxidado a urobilina pigmento responsável pela cor marrom das fezes.

Ocorre aumento de urobilinogênio em doenças hepáticas e hemolíticas, sendo um marcador precoce de hepatites. Os métodos para detecção de urobilinogênio não apresentam sensibilidade para detectar ausência do mesmo, sendo que ausência de urobilinogênio é indicador de obstrução do ducto biliar.

Existem dois métodos corriqueiros para detecção de urobilinogênio que são: reação de Ehrlich e reação com diazônio. A reação de Ehrlich também apresenta positividade para porfobilinogênio, ácido p-aminossalicílico e sulfonamidas. Estas substâncias podem ser

causa de resultados falsos positivo. O teste com diazônio é específico para urobilinogênio não apresentando reação para as substâncias citadas acima.

Resultados falsos negativo podem ocorrer quando amostra apresenta níveis elevados de nitrito e em amostras não protegidas de luz.

As maiores quantidades de urobilinogênio são excretadas duas a três horas após as refeições, sendo assim, para detecção precoce de elevação do urobilinogênio recomenda-se coleta da amostra neste período.

10. Bilirrubinas

A bilirrubina é um produto da degradação da hemoglobina. A hemoglobina liberada com a destruição das hemácias é decomposta em ferro, proteínas e protoporfirina. O ferro e a proteína são reutilizados pelo organismo. A protoporfirina é convertida em bilirrubina pelas células do sistema reticuloendotelial. A bilirrubina é liberada para a circulação, liga-se à albumina formando a bilirrubina indireta ou não conjugada, que é insolúvel em água e por estar ligada a albumina não é excretada pelos rins. No fígado esta bilirrubina conjuga-se com o ácido glicurônico pela ação da enzima glicuronil transferase formando o diglicuronídio de bilirrubina ou bilirrubina conjugada que é hidrossolúvel. Através dos canalículos biliares a bilirrubina conjugada passa ao intestino, onde pela ação das bactérias intestinais é reduzida e convertida em urobilinogênio, metade deste é reabsorvida e recircula através do fígado. Uma pequena

quantidade de urobilinogênio é filtrada pelos rins e eliminada na forma de urobilinogênio urinário. Finalmente o urobilinogênio é convertido a urobilina e excretado nas fezes.

A concentração elevada de ácido ascórbico e de nitrito pode reduzir a precisão do teste. Porém o principal responsável por resultados negativos é amostra não protegida da luz.

11. Sangue

O sangue pode estar presente na urina na forma de hemácias íntegras (hematúria) ou na forma de hemoglobina (hemoglobinúria).

As principais causas de hematúria são:

- a) Cálculos renais.
- b) Doenças glomerulares.
- c) Tumores.
- d) Traumatismos.
- e) Pielonefrite.
- f) Exposição a produtos tóxicos ou drogas.
- g) Doenças infecciosas.
- h) Tuberculose.
- i) Doenças hematológicas.
- j) Malformações renais, fistulas, hemangiomas.
- k) Medicamentos e anticoagulantes.
- l) Doenças metabólicas.
- m) Queimados extensos.
- n) Tabagismo
- o) Tabagismo.

As principais causas de hemoglobinúria são:

- a) Hemólise.
- b) Reações transfusionais.
- c) Queimados graves.
- d) Infecções.
- e) Exercícios intensos.

A mioglobina, proteína encontrada no tecido muscular reage positivamente para detecção de sangue. Deve se suspeitar de sua presença em pacientes com:

- a) Traumatismo.
- b) Coma prolongado.
- c) Convulsões.
- d) Doenças musculares atróficas.
- e) Esforço físico intenso.

A confirmação da presença de mioglobina baseia-se na anamnese e em provas para detecção de níveis elevados de enzimas musculares.

Resultados falsos negativo podem ocorrer em:

- a) Grande quantidade de nitrito na amostra.
- b) Níveis elevados de ácido ascórbico.
- c) Amostras com densidade elevada ou pH inferior a 5,0 por inibição da hemólise celular na área reagente.

Resultados falsos positivo podem ocorrer em:

- a) Contaminação menstrual.
- b) Contaminação do frasco de coleta com detergentes oxidantes fortes.
- c) Peroxidase de vegetais.
- d) Enzimas bacterianas, assim todo sedimento urinário que contenha bactérias deve ser verificado com cuidado para detecção de possíveis hemácias.

Sedimentoscopia

12. Células Epiteliais

Dentre esta denominação são encontrados três tipos de células:

- a) Células pavimentosas: células provenientes do epitélio vaginal, uretra masculina e feminina.
- b) Células transicionais: originam-se do revestimento da pelve renal, bexiga e porção superior da uretra.

c) Células dos túbulos renais: normalmente não encontradas na urina, sua presença é indicativa de doenças causadoras de lesão tubular como pielonefrites, reações tóxicas, infecções virais, rejeição a transplante.

A distinção entre estes tipos celulares é dependente da experiência do observador. Portanto sua interpretação deve ser cuidadosa. A grande importância das células epiteliais

reside na avaliação da qualidade da amostra, uma vez que amostras com quantidade moderada e grande de células apresentam maior possibilidade de contaminação e não refletirem lesões urinárias ou renais.

13. Bactérias

Normalmente a urina não contém bactérias. A presença de bactérias pode estar associada a infecções urinárias, infecções renais, contaminação por flora perineal ou fecal e ainda por proliferação bacteriana em amostra mantida a temperatura ambiente por longo tempo.

14. Leucócitos

Leucócitos são encontrados em baixo número na urina. Valores de referência são dependentes do método de análise utilizado. Podem passar para urina através de lesão glomerular, lesão capilar e também são capazes de migrar de forma amebóide através dos tecidos, indo para locais de inflamação ou infecção.

Entre as causas de leucocitúria estão:

- a) Cistite.
- b) Pielonefrite.
- c) Prostatite.
- d) Uretrite.
- e) Glomerulonefrites.
- f) Lúpus eritematoso sistêmico.
- g) Outras colagenoses.
- h) Tumores.

A presença de eosinófilos na urina está relacionado com nefrite intersticial medicamentosa. Podendo ainda ser encontrados em infecções urinárias e rejeição a transplante.

15. Hemácias

Hemácias são encontradas em pequena quantidade na urina normal, sendo sempre provenientes do sistema vascular.

A presença de hematúria, por si, não fornece informações sobre local do sangramento. Sendo causas conhecidas de hematúria:

- a) Tabagismo.
- b) Exercícios intensos.
- c) Glomerulonefrites.
- d) Pielonefrite.
- e) Cistite.
- f) Cálculos (renal, ureteral, bexiga).
- g) Tumores sistema urinário.
- h) Tumores em outros locais.
- i) Hipertensão arterial.
- j) Malária.
- k) Febre.
- l) Apendicite.
- m) Doenças inflamatórias.
- n) Infecções sistêmicas graves.
- o) Traumas.
- p) Drogas (anticoagulantes, ciclofosfamida, sulfonamidas).
- q) Contaminação por sangramento menstrual.
- r) Contaminação por sangramento hemorroidário.

16. Cristais

Cristais representam a precipitação de solutos na urina. Causando alterações de cor e aspecto da urina, podendo estar associados a processos patológicos ou não. A caracterização dos diferentes tipos de cristais baseia-se em sua aparência microscópica e pH da amostra.

Na formação de cristais urinários estão envolvidos: a concentração do soluto na urina, o pH urinário e o fluxo urinário através dos túbulos.

Cristais de urina ácida

- a) Urato amorfó.
- b) Ácido úrico.
- c) Urato monossódico.
- d) Oxalato de cálcio.
- e) Bilirrubinas.
- f) Cistina.
- g) Tirosina.
- h) Leucina.
- i) Colesterol.

Cristais de urina alcalina

- a) Fosfato amorfó.
- b) Fosfato triplo.
- c) Fosfato cálcio.
- d) Biurato de amônio.
- e) Carbonato de cálcio.

Cristais medicamentosos

- a) Ampicilina.
- b) Sulfonamidas.

Cristais de meios de contraste radiológico.

Dentre os vários tipos de cristais que podem ser encontrados na urina, apresentam importância clínica os abaixo definidos:

- a) Cristal de bilirrubina: raro, associado a doenças que cursam com elevação das bilirrubinas séricas.
- b) Cristal de colesterol: raro, associado à lipidúria, encontrado em proteinúria e associado a outras gorduras urinárias.
- c) Cristal de cistina: raro, associado à cistinose ou cistinúria.
- d) Cristal de leucina: raro, associado a doenças hepáticas, aminoacidúria. Acompanha cristais de tirosina.
- e) Cristal de tirosina: raro, associado a doenças hepáticas, aminoacidúria.
- f) Cristal de meio de contraste radiológico: aparecem em amostras colhidas após procedimento radiológico, apresentam alta densidade urinária (superior a 1.040).

17. Cilindros

Os cilindros são os únicos elementos exclusivamente renais encontrados no sedimento urinário. Sua formação ocorre principalmente no interior dos túbulos contornados distais e ductos coletores, assim possibilitam uma visão microscópica das condições existentes no interior dos néfrons.

O principal componente dos cilindros é a glicoproteína de Tamm-Horsfall, esta proteína é excretada em velocidade relativamente constante pelas células tubulares e constitui em proteção imunológica contra infecções.

Esta proteína não é detectada pelos métodos corriqueiros para análise de proteínas urinárias, portanto, não é responsável pelo elevado nível de proteínas urinário frequentemente relacionado à presença de cilindros. Geralmente se em condições de estase urinária e na presença de sódio e cálcio. Qualquer elemento encontrado no filtrado tubular (células, bactérias, grânulos, pigmentos, e cristais) pode prender-se a esta matriz protéica do cilindro.

Os cilindros encontrados na urina e sua importância clínica são abaixo especificados:

a) Cilindros hialinos

Cilindros mais frequentes no sedimento urinário são constituídos quase exclusivamente de proteína de Tamm-Horsfall. Podem ser encontrados em pequena quantidade na urina normal. Quando encontrados em grande número podem estar relacionados a:

- 1) Exercício físico intenso.
- 2) Exposição ao calor.
- 3) Estresse emocional.
- 4) Glomerulonefrites.
- 5) Pielonefrite.
- 6) Doença renal crônica.
- 7) Insuficiência cardíaca congestiva.

b) Cilindros hemáticos

A presença de cilindros hemáticos indica que o sangramento provém do interior do néfron. Sua presença relaciona-se principalmente as glomerulonefrites, porém qualquer quadro clínico capaz de lesar os glomérulos, túbulos renais ou capilares renais podem produzir cilindros hemáticos.

c) Cilindros leucocitários

A presença de cilindros leucocitários indica infecção ou inflamação no interior dos néfrons. São observados com mais frequência na pielonefrite, mas ocorrem em qualquer doença inflamatória dos néfrons.

Na pielonefrite cilindros leucocitários podem ser acompanhados de cilindros bacterianos.

d) Cilindros de células epiteliais

O aparecimento de cilindros de células epiteliais está associado aos processos de lesão tubular que são responsáveis pela facilitação da descamação das células tubulares. Assim sendo, estes cilindros são encontrados nas glomerulonefrites e pielonefrites, podendo ser acompanhados por cilindros hemáticos e leucocitários.

e) Cilindros granulares

Os cilindros granulares podem ser grosseiros ou finos, sendo que esta distinção não tem valor diagnóstico. A presença destes cilindros pode estar associada a processos patológicos ou não. Em situações não patológicas são encontrados em associação com cilindros hialinos nos quadros de estresse prolongado e após exercícios físicos intensos.

Patologicamente estão relacionados a lesões glomerulares e tubulares. A origem dos grânulos pode ser decorrente da desintegração de cilindros celulares e de células tubulares, ou então de agregados protéicos filtrados pelos glomérulos.

f) Cilindros céreos

Os cilindros céreos estão associados à obstrução tubular com prolongada estase urinária. Acredita-se que seja um estágio avançado de outros cilindros (hialino, granular ou celular), sendo que o tempo necessário para esta transformação é de 48 horas ou mais. São encontrados mais frequentemente em pacientes com insuficiência renal crônica, por isto são conhecidos como cilindros de falência renal. Também são encontrados em pacientes com insuficiência renal aguda, hipertensão maligna, e rejeição a transplante renal.

g) Cilindros adiposos

Os cilindros adiposos aparecem em distúrbios que provocam lipidúria. Comumente está associada aos corpos adiposos ovais que são indicadores de morte células tubulares, assim a presença destes é sempre indicativa de patologia renal. Em geral a presença de cilindros adiposos é acompanhada por intensa proteinúria, sendo encontrada em grande número de patologias renais; particularmente durante a síndrome nefrotica.

h) Cilindros largos

A presença destes cilindros indica que houve formação de cilindros em túbulos dilatados ou nos ductos coletores associada à proteinúria continua. Sendo indicativo de intensa estase ou obstrução ao fluxo urinário. A presença de grande quantidade destes é indicativa de prognóstico desfavorável.

18. Muco

O muco é material protéico produzido por glândulas e células epiteliais do sistema urogenital. Não apresenta importância clínica e sua quantidade é maior quando há contaminação vaginal.

19. Fungos

A valorização da presença de fungos na urina exige estreita correlação com quadro clínico e sintomas apresentados pelo paciente.

A presença de fungos na urina pode ser consequente a:

- a) Contaminação pele.
- b) Contaminação vaginal
- c) Contaminação pelo ar.
- d) Diabetes.
- e) Patologias imunossupressoras (HIV, neoplasias).
- f) Tratamento com imunossupressores.

20. Dismorfismo Eritrocitário

A eliminação de um número aumentado de hemácias na urina apresenta grande complexidade fisiopatológica, com isto as hematúrias podem ser classificadas de acordo com:

1) Localização

- a) Glomerulares.*
- b) Não glomerulares.*

2) Intensidade

- a) *Microscópicas.*
- b) *Macroscópicas.*

3) Frequência

- a) *Permanentes.*
- b) *Isoladas.*
- c) *Recorrentes.*

As hematúrias isoladas e assintomáticas são de grande interesse uma vez que representam a segunda causa de consulta nefrológica entre crianças e adolescentes.

As hemácias encontradas na análise microscópica do sedimento urinário podem ser:

- 1) Isomórficas: apresenta tamanho uniforme e morfologia semelhante ás encontrada na circulação sanguínea.
- 2) Dismórficas: hemácias com alterações de forma, cor, volume e conteúdo de hemoglobina.

Dentre as várias formas de hemácias dismórficas os acantócitos (hemácias em anel com protrusões citoplasmáticas vesiculares) e as células G1 (em rosca com uma ou mais projeções citoplasmáticas) apresentam alta sensibilidade e especificidade para sangramentos de origem glomerular. Estas alterações apresentadas pelas hemácias provavelmente ocorrem por traumatismo mecânico quando as hemácias quando as hemácias atravessam a membrana basal onde sofrem compressão importante com consequente deformação da membrana celular e redução do volume e alteração da sua forma. Em quadros inflamatórios a liberação

de mediadores químicos e enzimas digestivas também podem auxiliar na formação destas alterações de eritrócitos.

A caracterização de hemácias dismórficas no exame urinário inicial é um importante auxiliar na avaliação da origem das hematúrias. Devemos levar em consideração que existem outros métodos diagnósticos auxiliares que devem ser utilizados uma vez que este exame apresenta várias limitações listadas a seguir:

- 1) Valores de referência não definidos.
- 2) Variação da porcentagem de hemácias dismórficas com progressão da doença.
- 3) Variação do dismorfismo com alterações de pH e osmolaridade urinária.
- 4) Necessidade de observador experiente.
- 5) Necessidade de microscópio de contraste de fase ou corantes específicos.
- 6) Patologias não glomerulares com dismorfismo positivo:
 - a) *Infecção urinária.*
 - b) *Cálculo renal.*
 - c) *Hipertrofia prostática.*
 - d) *Estenose uretero-pélvica.*
 - e) *Nefropatia de refluxo.*
 - f) *Exercícios físicos.*
- 7) Patologias glomerulares com dismorfismo negativo:
 - a) *Glomerulonefrite pós-estreptocócica.*
 - b) *Glomerulonefrite crescentica.*
 - c) *Glomerulonefrite membranoproliferativa.*
 - d) *Síndrome hemolítico-urêmica.*
 - e) *Nefropatia membranosa.*

21. Contaminações

As estruturas contaminantes encontradas no exame sumário de urina estão relacionadas a qualidade de coleta da amostra e também a patologias que acometem a região perineal. As contaminações podem ter origem na região vaginal, intestinal e artefatos encontrados no períneo. Abaixo são enumeradas as principais causas de contaminação encontradas em cada área.

a) Contaminação vaginal

- 1) *Trichomonas vaginalis*.
- 2) *Clue cells* e *Gardinerella vaginalis*.

b) Contaminação fecal

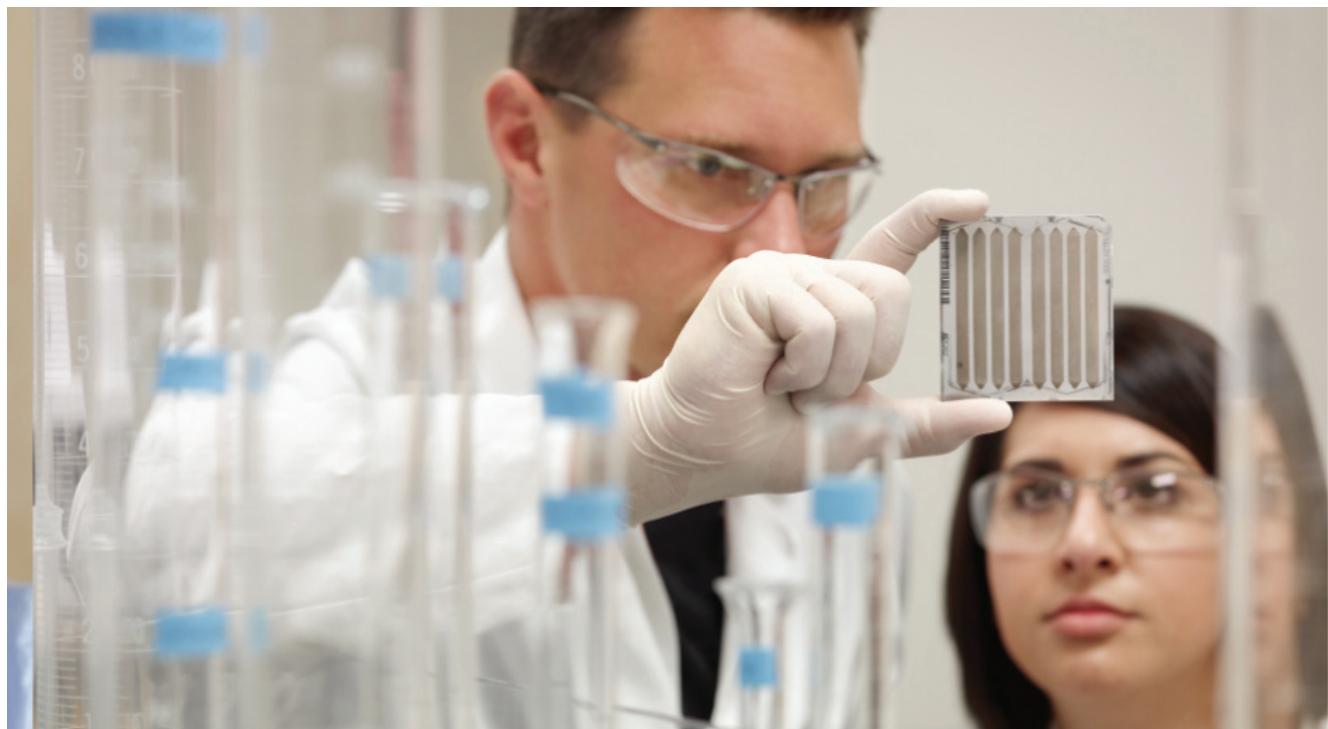
- 1) *Coleta incorreta*.
- 2) *Fístula entero-vesical*.

c) Outras

- 1) *Amido*.
- 2) *Talco*
- 3) *Fibras vegetais*

Referências Bibliográfica

- 1) Uroanálise & Fluidos Biológicos - Susan King Strasinger
- 2) Diagnóstico Laboratorial em Nefrologia - Gianna Mastroianni Kirsztajn
- 3) Medicina Laboratorial para o Clínico - Elza S. Erchsen, Luciana de Gouvêa Viana, Rosa Malena Delbone de Faria, Silvana Maria Eloi Santos
- 4) Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis - Nancy A. Brunzel
- 5) Kidney Disease and Laboratory Medicine – Edmund Lamb, Michael Delaney
- 6) Cecil Medicine 23 rd Edition - Goldman, Ausiello



Produtos e Serviços Roche

Área de Soro - Visão Geral do Teste

MODULAR® ANALYTICS EVO			MODULAR® ANALYTICS EVO			MODULAR® ANALYTICS EVO		
COBAS® INTEGRA 400 PLUS/800			COBAS® INTEGRA 400 PLUS/800			COBAS® INTEGRA 400 PLUS/800		
Plataforma modular cobas			Plataforma modular cobas			Plataforma modular cobas		
Enzimas								
Fosfatase Ácida (ACP)	c	P	Proteínas Totais, Proteína U/CSF	c	P	Cadeias Leves Lambda	c	P
Fosfatase Alcalina (ALP)	c	P	Triglicérides	c	P	Lipoproteína (A)	c	P
ALT/GPT	c	P	UIBS	c	P	Receptor Solúvel da Transferrina	c	P
Amilase - total	c	P	Uréia/Bun	c	P	Pré-albumina	c	P
Amilase - pancreatinc	c	P	Aric Ácido	c	P	Transferrina	c	P
AST/GOT	c	P	ISE			Monitoramento de Drogas Terapêutica		
Colinesterase	c	P	Potássio	c	ISE	Acetaminofeno (Paracetamol)	c	P
CK	c	P	Sódio	c	ISE	Amlakacin	c	P
CK-MB (atividade)	c	P	Cloreto	c	ISE	Carbamazpine	c	P
GGT	c	P	Lítio	ISE		Ciclosporina	c	
GLDH	c	P	Proteínas			Digitoxina	c/e	P/E
HBDH	c	P	a1- Glicoproteína Ácida	c	P	Digoxina	c/e	P/E
LDH	c	P	a1- Antitripsina	c	P	Gentamicina	c*	P
Lipase	c	P	a1- Microglobulina	c	P	Lidocaina	c	P
Substrantes			β2- Microglobulina	c	P	Lítio	c	
Albumina	c	P	Albumina (Imunológica)	c	P	Ácido Micofenólico (MPA)	c	P
Amônia	c	P	APO A1	c	P	NAPA	c	P
Bicarbonete (CO ₂)	c	P	Apo B	c	P	Fenobarbital	c	P
Bilirrubina - total	c	P	ASLO	c	P	Fenitoína	c	P
Bilirrubina - direct	c	P	C3c	c	P	Primidona	c	P
Calclum	c	P	C4	c	P	Procainamida	c	P
Colesterol	c	P	Ceruloplasmina	c	P	Quinidina	c	P
Colesterol HDL Direct	c	P	CRP (Látex)	c	P	Salicilato	c	P
Colesterol LDL Direct	c	P	CRP hs	c	P	Teofilina	c	P
Creatinina Plus (enzim.)	c	P	Cistatina C	c	P	Tobramicina	c	P
Creatinina Jaffé	c	P	Haptoglobina	c	P	Ácido Valpróico	c	P
Frutosamina c	c	P	HbA 1 c	c	P	Vancomicina	c	P
Glicose	c	P	HbA 1 c Sangue Total	c	P	Drogas Ilegrais		
Ferro	c	P	IgA	c	P	Anfetaminas	c	P
Lactato	c	P	IgE	e	E	Anfetaminas Metabólitos	c	P
Magnésio	c	P	IgG	c	P	Barbituratos	c	P
Fósforo	c	P	IgM	c	P	Benzodiazepinas	c	P
Proteínas Totais	c	P	Cadeias Leves Kappa	c	P	Canabinóides (THC)	c	P

MODULAR® ANALYTICS EVO				MODULAR® ANALYTICS EVO				MODULAR® ANALYTICS EVO			
COBAS® INTEGRA 400 PLUS/800				COBAS® INTEGRA 400 PLUS/800				COBAS® INTEGRA 400 PLUS/800			
Plataforma modular cobas				Plataforma modular cobas				Plataforma modular cobas			
Etileno	c	i	P	HBsAg quantitativo	e	i	E	Ca 125	e	i	E
EDDP (Metabólitos de Metadona)	c	i	P	Anti-HBs	e	i	E	CEA	e	i	E
Metabólito de Cocaína	c	i	P	Anti-HBc	e	i	E	Cyfra 12-1	e	i	E
LSD	c	i	P	IgM Anti-HBc	e	i	E	HE4 **	e	i	E
Metadona	c	i	P	HBSAG	e	i	E	NSE	e	i	E
Metaqualona	c	i	P	Anti-HBe	e	i	E	PSA	e	i	E
Opiatos	c	i	P	Anti-HAV	e	i	E	PSA Livre	e	i	E
Oxicodona	c	i	P**	IgM Anti-HAV	e	i	E	S- 100	e	i	E
Fenciclidina (PCP)	c	i	P	HIV-Ag	e	i	E	Septicemia	i		
Propoxiprolene	c	i	P	HIV combi	e	i	E	Interleucina 6(IL-6)	e	i	E
Anemia				HIV combi PT	e	i	E	Procalcitonina (PCT) *	e	i	E
Ferritinina	c/e	i	P/E	Toxo IgM	e	i	E	Marcadores de Ossos			
Folato	c	i	E	Toxo IgG	e	i	E	β-CrossLaps/soro	e	i	E
Vitamina B 12	c	i	E	IgM para Rubéola	e	i	E	N-Mis Osteocalcina	e	i	E
Fertilidade / Hormônios				IgG para Rubéola	e	i	E	PTN P	e	i	E
ACTH	e	i	E	IgM para CMV	e	i	E	PTH***	e	i	E
Aortisol	e	i	E	IgG para CMV	e	i	E	PTH 1-84**	e	i	E
C-Peptídeo	e	i	E	Avidez de IgG para CMV	e	i	E	Vitamina D3	e	i	E
DHEA - S	e	i	E	IgG para HSV-1	e	i	E	Vitamina D total**	e	i	E
Estradiol	e	i	E	IgG para HSV-2	e	i	E	Artrite Reumatóide	i		
LH	e	i	E	TPLA* (Sífilis)	c	i	P	Anti-CCP	e	i	E
FSH	e	i	E	RPR* (Sífilis)	p			Fator Reumatóide	c	i	P
hCG	e	i	E	Função Tireóide				Coagulação			
hGH	e	i	E	THS	e	i	E	AT III	c	i	P
Insulina	e	i	E	T3	e	i	E	D-Dímero	c/e	i	P
Progesterona	e	i	E	T4	e	i	P	Preeclampsia			
Prolactina	e	i	E	FT3	e	i	E	PIGF	e	i	E
SHBG	e	i	E	FT4	e	i	E	sFlt-1	e	i	E
Testosterona	e	i	E	CaptAÇÃO da tireóide	e	i	P	Triagem no Primeiro Trimestre			
Função Cardíaca				Tg	e	i	E	βHCG Livre	e	i	E
CK-MB (Massa)***	e	i	E	Anti-TG	e	i	E	PAPP-A	e	i	E
Myoglobina***	c/e	i	P/E	Anti-TPO	e	i	E	c: Módulo de Química Clínica			
NT-proBNP***	e	i	E	Anti-TSH-R	e	i	E	e: Módulo de Imunoquímica			
Tropionina T hs***	e	i	E	Marcadores de Tumor				P: Módulo P			
Tropionina I***	e	i	E	AFP	e	i	E	E: Módulo E			
Doenças Infecciosas				CA 15-3	e	i	E	* Distribuição em países limitados			
Anti-HCV	e	i	E	CA19-9	e	i	E	** Lançamento em 2011			
HBsAg	e	i	E	Ca 72-4	e	i	E	*** Disponível como ensaio de STAT			

Urinálise – Visão Geral do Teste

Menu - Parâmetros de Urina
Densidade (SG)
pH
Leucócitos (LEU)
Nitrito (NIT)
Proteína (PRO)
Glicose (GLU)
Corpos Cetônicos (KET)
Urobilinogênio (UGB)
Bilirrubina (BIL)
Sangue (Blood)
Cor da Urina
Eritrócitos (RBC)
Piócitos (WBC)
Células Epiteliais
Cilindros Hialinos
Bactérias



UF-1000



Urisys 2400



Roche Diagnóstica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729 - prédio 38
São Paulo, SP, 05321-010 - Brasil
0800 77 20 295
©2011 Roche



Sociedade Brasileira de Nefrologia