

CAPÍTULO 10

Marcadores Biomoleculares da Insuficiência Renal

*Pedro Thadeu Galvão Vianna**

Introdução

A insuficiência renal aguda (IRA) é um evento comum na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em procedimentos cirúrgicos de alta complexidade e em pacientes com enfermidade grave^{1,2}. A taxa de mortalidade nestes pacientes é 5 vezes maior do que nos pacientes sem a IRA³. Nos últimos 15 anos, a introdução do suporte de diálise, para substituição do desempenho renal, não conseguiu reduzir o índice de mortalidade de maneira significativa. Desse modo, as únicas alternativas que nos restam, para minimizar este grave problema médico, são a prevenção e o diagnóstico precoce da IRA.

A - Biomarcadores enzimáticos urinários e excreção de proteínas de baixo peso molecular (BPM).

As enzimas urinárias e as proteínas de baixo peso molecular (BPM) têm sido usadas como biomarcadores de lesão tubular, sendo úteis na detecção útil em detectar pequenas alterações na função da célula epitelial tubular. O aumento da excreção urinária destes biomarcadores acontece precocemente e antes de alterações de marcadores renais clássicos e consagrados, tal como a creatinina plasmática.

Dois grandes mecanismos são responsáveis pelo aumento patológico da enzimúria ou das proteínas de BPM⁴:

1. a lesão aguda ou crônica da célula tubular induz o escape, para a luz tubular, de enzimas e de microproteínas previamente existentes no interior destas células. A quantidade destes produtos químicos excretados é proporcional à intensidade da lesão tubular;

* Professor Titular do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP

2. as proteínas de BPM, em condições fisiológicas, são livremente filtradas no capilar glomerular e reabsorvidas totalmente pelas células tubulares proximais. Estas proteínas de BPM são excretadas em grandes quantidades quando a reabsorção está reduzida nas células tubulares proximais ou quando há aumento de sua quantidade na luz tubular (aumento da passagem transglomerular de proteínas que aportam a luz tubular). Outra possibilidade do aumento da excreção de proteínas de BPM é quando há lesão funcional ou estrutural da célula tubular^{5,6}.

Há três locais principais de liberação destes biomarcadores:

1. nos lisossomas. AN-acetyl-glucosamidase (NAG) é o exemplo típico de enzima lisossomal encontrada predominantemente no túbulo proximal;
2. nas bordas em escova. As enzimas das bordas em escova, são a fosfatase alcalina, especialmente o tipo intestinal, α - glutamil transpeptidase (α GT) e alanina amino-peptidase;
3. no túbulo proximal. Enzima citoplasmática, a alfa glutationa S-transferase é um isômero. As proteínas de BPM α 1 e α 2- microglobulinas não são reabsorvidos quando a célula tubular está lesada;
4. no túbulo distal. Enzima citoplasmática; a δ glutationa S-transferase é um isômero. A glicoproteína Tamm-Horsfall é secretada pela célula epitelial do túbulo distal e é usada como marcador da toxicidade desta célula.

A detecção de biomarcadores liberados de células tubulares lesadas tem sido útil no estudo da lesão renal, tanto crônica como aguda, em várias circunstâncias clínicas. Pode ser acrescentado que a origem ultraestrutural do biomarcador (citoplasmática, lisossômica ou membranosa) fornece a informação da natureza e extensão da lesão celular. Por exemplo, os isômeros alfa glutationa S-transferase e a δ glutationa S-transferase são enzimas citoplasmáticas encontradas nas células epiteliais tubulares proximais e distais, respectivamente. O diagnóstico de necrose celular é feito quando há aumento da excreção destas proteínas. O aumento da excreção da N-acetyl-glucosamidase (NAG) enzima lisossômica encontrada predominantemente no túbulo proximal, tem sido estudado em várias pesquisas, tais como, toxicidade pelo metotrexate⁷ e pelo contraste radiológico⁸.

A grande maioria das enzimas é originária da borda em escova, como, a fosfatase alcalina, a α - glutamil transpeptidase (α GT) e a alanina amino-peptidase. O aumento da excreção destas proteínas dá o diagnóstico da lesão da membrana da borda em escova com perda da estrutura da microvilosidade. A lesão desta estrutura causa diminuição da reabsorção e aumento da excreção de proteínas de BPM filtradas.

Estudos realizados por Westhuyzen⁹ demonstraram que as relações urinárias fosfatase alcalina/creatinina e α GT/creatinina são avaliações laboratoriais de baixo custo e com alta sensibilidade e especificidade para detectar precocemente a IRA em pacientes de alto risco e admitidos na Unidade de Terapia Intensiva. Na admissão hospitalar, os índices α GT e o δ -GST identificaram, corretamente, os pacientes que desenvolveram IRA na UTI. Contrastando, o diagnóstico da IRA por meio da creatinina plasmática variou entre 12 horas e 4 dias após a internação. O “clearance” de creatinina só detectou a IRA 12 horas depois da admissão na UTI.

O δ -GST é método sensível, mas, para sua avaliação, emprega-se o método caro denominado ELISA. Isto deve restringir o seu uso na rotina hospitalar. Por outro lado, a medida da concentração urinária de α GT e de fosfatase alcalina (e do produto α GT x fosfatase alcalina) é de baixo custo e de resultado rápido. Estas vantagens podem determinar a preferência destes biomarcadores,

quando o objetivo for o diagnóstico precoce da IRA. Os valores para o diagnóstico de IRA são: fosfatase alcalina $>5,3$ U/mmol, α GT $> 19,7$ e o produto α GT x fosfatase alcalina $> 46,3$ U/mmol.

Recentemente¹⁰, o composto neutrofilo gelatinase associado a lipocalina (NGAL) na urina foi empregado no diagnóstico da IRA na cirurgia cardíaca infantil. O diagnóstico de IRA pela concentração plasmática de creatinina só foi possível 1-3 dias após a cirurgia. Já com a NGAL urinária a IRA foi diagnosticada ($NGAL > 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 2 horas após a circulação extracorpórea, com a sensibilidade de 1,00 e especificidade de 0,98.

B - Biomarcadores do ritmo de filtração glomerular:

Embora muito utilizado a creatinina sérica é um marcador imperfeito do ritmo de filtração glomerular (RFG).

Segundo Smith¹¹ as características do marcador ideal do RFG, são

1. ser biologicamente inerte e não tóxico
2. não ter ligações com proteínas
3. ser livremente filtrado pelo glomérulo
4. não ser metabolizado, sintetizado ou estocado pelo rim
5. não ser secretado ou reabsorvido pelos túbulos renais
6. manter-se com o “clearance” constante quando houver grandes variações da concentração plasmática

Na prática clínica é utilizada a creatinina que é uma substância endógena que atende parcialmente os critérios de Smith¹¹ para estimar o RFG.

A creatinina foi introduzida na prática clínica por Rehberg em 1926¹². Em indivíduos normais, o “clearance” de creatinina é muito próximo do clearance de inulina. Estes resultados similares são devidos a dois fatores negativos, na concepção de Smith¹⁰. O primeiro é que 20 % da excreção de creatinina são provenientes da secreção tubular e o segundo é que, coincidentemente, a concentração plasmática de creatinina está elevada, de modo espúrio, em aproximadamente 20% causada pelos cromógenos medidos erroneamente pelo colorímetro, como se fosse a creatinina. Infelizmente, havendo declínio do RFG, a fração de secreção tubular de creatinina tende a aumentar. A consequência disto é o “clearance” de creatinina superestimado nos pacientes com insuficiência renal e com o RFG diminuído¹³. A produção de creatinina, também, varia significativamente na dependência da massa muscular e de fatores dietéticos. Isto leva a uma grande variação interindividual na concentração de creatinina cujo limite superior de normalidade apresenta até 13 desvios padrão.

Mais recentemente, a concentração sérica da cistatina C tem sido usada como índice do RFG. A cistatina C é um marcador endógeno da função renal devido a sua produção estável, proveniente de todas as células nucleadas, e, ao ser eliminada para a circulação, é totalmente filtrada e eliminada pelo rim. A grande vantagem da cistatina C é ser independente do sexo, da idade, da altura do paciente e prescindir do volume urinário para avaliar o RFG¹⁴⁻¹⁷. Há estudo mostrando que a cistatina C plasmática correlaciona-se ($r=0,99$) ao Cr-EDTA na avaliação do RFG e é sensível a variações agudas do RFG¹⁸.

“In vivo”, não sofre influência de processos inflamatórios, doenças malignas, massa corporal, febre, idade acima de 1 ano e sexo. Estruturalmente, a cistatina C tem baixo peso molecular, 13.000 M, com carga positiva, é livremente filtrada no glomérulo e depois reabsorvida nas células tubulares proximais. A concentração urinária é baixa e a taxa de excreção urinária não pode ser usada para calcular o RFG. Na população normal, a variação da cistatina sérica é de 3 a 4 desvios padrão¹⁷.



Estudo comparativo entre a creatinina e a cistatina C plasmáticas foi submetido a revisão sistemática e meta-análise¹⁹, sendo a hipótese confirmada, ou seja, a cistatina C ($r=0,816$; 95 % de intervalo de confiança[CI], 0,804 a 0,826) teve desempenho melhor do que a creatinina sérica ($r=0,742$; 95 % de intervalo de confiança[CI], 0,726 a 0,758); $P<0,001$) na avaliação do RFG. Concluiu-se que, com os dados disponíveis na literatura a cistatina C é claramente superior à creatinina na avaliação da função renal. Outra conclusão encontrada neste estudo é que o melhor método para obtenção da concentração de cistatina sérica foi o método imunonefelométrico.

Para obtenção do Ritmo de Filtração Glomerular estimado (RFG estimado) poderão ser utilizadas as seguintes formulas:

Cistatina²⁰:

$$1. \text{RFG (ml.min}^{-1}\text{)} = 69.3 \times \text{cistatina C (mg.L}^{-1}\text{)}$$

Creatinina²¹:

$$2. \text{RFG (ml.min}^{-1}\text{)} = 170 \times (\text{creatinina})^{-0.999} \times (\text{idade})^{-0.176} \times [0.762, \text{ se a paciente for do sexo feminino}] \times [1.18, \text{ se o paciente for da raça negra}] \times [\text{uréia}]^{-0.17} \times [\text{albumina}]^{+0.318}$$

Referências Bibliográficas

1. Groeneweld A, Tran DD, van der Meulen J, Nauta JJP et al – Acute renal failure in the medical intensive care unit: Predisposing, complications factors and outcome. *Nephron*, 1991; 59:602-610
2. Schaefer JH, Jochimsen F, Keller F, Wegscheider K et al – Outcome prediction of acute renal failure in medical intensive care. *Intensive Care Med* 1991; 17:19-22
3. Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI – The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *JAMA* 1996; 275:1489-1494
4. D'Amico G, Bazzi C – Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12:639-643
5. Burton CJ, Walla J – Proximal tubular cell, proteinuria and tubulo-interstitial scarring. *Nephron* 1994; 68:287-293
6. Remuzzi G, Ruggenent P, Benigni A – Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997; 51:2-15
7. Wiland P, Swierkot J, Szechinski J N- Acetyl-â-D –glusaminidase urinary excretion as an early indicator of kidney dysfunction in rheumatoid arthritis patients on low-dose methotrexate treatment. *Br J Rheumatol* 1997; 36:59-63
8. Hartmann HG, Braedel HE, Jutzier GA, Detection of renal tubular lesions after abdominal aortography by quantitative measurement of brush-border enzymes in the urine. *Nephron* 1985; 39:95-101
9. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM et al – Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 543-551
10. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM et al – Neutrophil gelatinase- associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005; 365:1231-1238
11. Smith HW – The kidney: structure and function in health and disease. New York, Oxford University Press, 1951
12. Rehberg PB – Studies on kidney function, I: the rate of filtration and reabsorption in the kidney. *Biochem J* 1926; 20:447-460
13. Perrone RD, Madias NE, Levey AS – Serum creatinina as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992; 38:1933-1953
14. Filler G, Bökenkamp A, Hoffmann W, Le Bricon T et al – Cystatin C as marker of GFR – history, indications,

- and future research. Clin Biochem, 2005,38:1-8
15. Laterza O, Price CP, Scott MG – Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? Clin Chem 2002;48:699-707.
 16. Grubb AO – Cystatin C- properties and use as diagnostic marker. Adv Clin Chem 2002;35:63-99.
 17. Dworkin LD – Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate. Curr Opin Nephrol Hypertens 2001, 10:551-558
 18. 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.
 19. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G – Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. Am J Kidney Dis, 2002;40:221-226.
 20. Sear JW – Kidney dysfunction in the postoperative period Br J Anaesth 2005;95: 20-32
 21. Levey AS, Bosch JP, Breyer Lewis et al - A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Ann Intern Med 1999;130:461-70.

