

CORINA CAZAN¹, NINEL REVENCO², SVETLANA HADJIU²

PERSPECTIVA PENTRU NOI BIOMARKERI ÎN AFECTAREA RENALĂ ACUTĂ ȘI CRONICĂ

¹ ULB Sibiu, Facultatea de Medicină

² Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" Chișinău

SUMMARY

OUTLOOK FOR NEW BIOMARKERS IN ACUTE AND CHRONIC RENAL DISEASE

Key words: new biomarkers, prediction, renal disease.

The biological marker is defined as a measurable indicator of physiological and pathological biological processes useful in assessing the stage of the disease and the pharmacological response to therapy. The paper proposes a review of biomarkers recently involved in the early diagnosis of acute renal impairment, prognostic prediction in chronic kidney disease, glomerular nephropathy and nephrotoxicity. Clinical trials targeting biomarkers with application in monitoring the development, staging levels of severity for major adverse renal events, assess the response to therapeutic intervention, risk prediction and prognosis. In the last decade, considerable progress has been made in the discovery, development and validation of new biomarkers. Advances in biotechnology are essential for the success of clinical trials and their application in current clinical practice. A number of urinary or serum proteins, molecules and more recently microRNAs have been rigorously investigated as possible markers in acute kidney disease, chronic kidney disease, forms of glomerulonephritis and autosomal dominant polycystic kidney disease. The validation of the new biomarkers implies a long process and the implementation requires a standardized methodology, optimal cost-benefit ratio, certain efficiency for diagnosis, therapy and prognosis. Medical practice guidelines propose the combined use of new biomarkers for the improvement of clinical diagnosis, management and prognosis in renal impairment. The proposed model is the one that includes the classic predictive indicators in association with new biological or genetic markers as the only way for high quality therapeutic intervention and prognosis improvement. Biomarkers such as IL-18, NGAL, LFABP, KIM-1 can help to characterize glomerular or tubular function, interstitial injury, or inflammation. The measurement of biomarkers is possible in specialized centers with laboratories equipped to the highest technological standards and the cost-benefit aspect should not be an impediment.

Introducere.

Markerul biologic este definit ca indicator măsurabil al proceselor biologice fiziologice și patologice util în evaluarea stadiului de boală și a răspunsului farmacologic la terapie. Biomarkerul este un indicator cu rol de țintă moleculară în terapia individualizată și în monitorizarea răspunsului la intervenția terapeutică. În ultimul timp, sunt riguros investigate o serie de proteine urinare sau serice, molecule și, mai recent, microRNAs ca posibili markeri în afecțiunile renale acute, boala renală cronică, forme de glomerulonefrită și boala renală polichistică autozomal dominantă.[1,4,6]

Evaluarea în scop diagnostic și terapeutic pretinde biomarkeri de înaltă performanță și caracteristici care să includă: răspuns prompt, sensibilitate și specificitate înaltă, bună corelație cu gradul de leziune renală, oferă informații certe privind stadializarea, severitatea, prognosticul, permit detectarea precoce a leziunilor (proximale, distale, interstițiale, vasculare), valabilitate și aplicabilitate la diferite rase și grupe de vârstă, permit recunoașterea precoce

a leziunilor ischemice, toxice, a sepsisului, identifică noninvaziv evoluția insuficienței renale acute/cronice, utili în monitorizarea răspunsului la intervenția terapeutică. De asemenea biomarkerul oferă informații referitoare la riscul de complicații în afecțiuni comorbide, nu este supus interferențelor medicamentoase sau cu substanțe endogene. Validarea noilor biomarkeri presupune un parcurs de durată, iar punerea în practică necesită o metodologie standardizată, raport cost-beneficiu optim, eficiență certă pentru diagnostic, terapie și prognostic.(1,3,4)

Biomarkeri recent raportați în afectarea renală acută.

Lipocalina asociată neutrofil gelatinazei (NGAL) este din familia lipocaline ca proteină 25-kD. Valoarea înaltă a NGAL este documentată în plasmă și urină la modelul animal cu afectare renală acută de tip ischemic și nefrototoxic. În studiile umane, expresia acidului ribonucleic NGAL mesager și a proteinei înregistrează creștere semnificativă la nivelul tubilor renali în următoarele circumstanțe: afecțiune renală acută de tip ischemic, septică și

posttransplant, postintervenție de bypass cardiopulmonar la interval de 2-6 ore, chirurgia de bypass cardiopulmonar după 24 ore la copil, postadministrare de contrast. Nivelul crescut al NGAL este detectat la interval de 3 ore, cu maxim la 6-12 ore apoi se menține în platou până la 5 zile, în funcție de severitatea leziunilor.[1,3,5]

Biomarkerul NGAL plasmatic măsurat precoce a demonstrat o corelație semnificativă ($p < 0.0001$) cu riscul pentru progresia afectării renale. Prezența biomarkerului NGAL permite diferențierea bolii prerenale de necroza tubulară acută precoce. Nivelul NGAL urinar, prelevat precoce, la 2-3 ore postintervenție chirurgicală, este semnificativ crescut la pacienții cu afectare renală acută și necroză tubulară, în comparație cu nivelul normal prezent la pacienții cu afectare renală acută tranzitorie de cauză hemodinamică sau prerenală. Studii clinice sunt în curs la pacienți adulți și pediatrici postintervenție cardiacă, pacienți critici din secții de terapie intensivă și la pacienți posttransplant renal. NGAL este un biomarker promițător, în curs de investigare și validare.[1,4,6]

Interleukina-18 (IL-18) - citokină proinflamatorie cu sinteza la nivelul tubului proximal și detectată în urină, este un biomarker relevant pentru lezarea parenchimului renal. IL-18 are valoare semnificativ crescută la pacienți cu necroză tubulară acută, cu transplant renal în perioada precoce posttransplant, pacienți cu leziuni postischemice, administrare de glicerol și leziune renală indusă de terapie cu platine (cisplatin). Evaluarea NGAL urinar și IL-18 la pacienții post-bypass cardio-pulmonar sugerează secvențialitatea markerilor cu nivele înalte pentru NGAL în primele 2-4 ore, urmat de valoare înaltă pentru IL-18 la 12 ore. IL-18 este recunoscut ca marker general pentru inflamație și mai puțin specific în afectarea renală acută. O metaanaliză cu 11 studii care includ și populație de vârstă pediatrică raportează rezultate evidente privind valoarea markerilor chiar dacă alte studii nu susțin precizia predictivă a markerului IL-18.[4,5]

Molecula 1 de leziune renală (KIM-1). În necroza tubulară acută post-ischemică, un marker precoce și facil detectabil prin dipstick urinar, este KIM-1, descris ca moleculă proteică transmembranară de tip 1 care conține extracelular mucină și imunoglobulină. KIM-1 este acceptat și ca indicator în determinarea riscului pentru afectare renală acută în stadiu precoce în relație cu alt indicator - alfa-glutation-s-transferaza, prelevat preoperator în intervenții chirurgicale cardiace. Nivelul crescut al biomarkerului este predictor pentru riscul de deces și spitalizare prelungită postoperator. Determinarea combinată a biomarkerilor KIM-1 și IL-18 aduce un plus de informație pentru diagnostic.[4,6]

Proteina de legare a acizilor grași de tip hepatic (L-FABP) este propusă ca marker fidel al hipoxiei renale. L-FABP este proteina 14 kD localizată la nivelul tubului proximal. Expresia genei este în cortex renal indusă de

tipul de ischemie la pacienții cu leziuni renale acute postintervenții cardiace sau la pacienții cu transplant renal. Nivelul L-FABP urinar este crescut în leziunea acută renală posthipoxică. Studii de cohortă sunt necesare pentru validarea markerului la pacienții cu risc pentru afectare renală acută.[1,4,5]

Proteina 7 de legare pentru factor de creștere insulin-like (IGFBP7) și inhibitor tisular al metaloproteinei 2 (TIMP-2). La pacientul critic, nivelul urinar pentru markerul TIMP-2 și IGFBP7 este semnificativ înalt, comparativ cu alți indicatori predictivi studiați în afectarea renală acută postischemică precoce. Din 2014, US Food and Drug Administration (FDA) permite intrarea pe piață a unui test NephroCheck care detectează nivelul IGFBP-7 și TIMP-2 la pacienții critici cu risc de afectare renală acută moderată sau severă pentru o perioadă de 12 ore posttestare.[1,3]

Calprotectina. Calprotectina secretată de celulele imune este o proteină prezentă intracelular, heterodimer 24 kDa. Studiile efectuate la pacienți cu tumori renale și prinderea tranzitorie a arterei renale, postoperator nivelul de calprotectină este semnificativ crescut la interval de 2 ore cu un pic la 48 ore și menținerea nivelului înalt timp de 5 zile. Calprotectina este un indicator care permite diferențierea afectării renale de cauză prerenală și renală la pacienți supuși intervenției.[1,4]

Angiotensinogen urinar (AGT) este o proteină care are în structură 453 aminoacizi, clivată de renină pentru a forma angiotensină 1. În studiile recente, creșterea AGT în urină s-a arătat ca un biomarker promițător pentru progresia afectării renale acute în insuficiență cardiacă acută decompensată.[1,3,5]

Micro-RNA urinar sunt molecule ARN necodate formate din 18-22 nucleotide. De dată recent, studiile raportează rolul miR-21 ca set microRNA și indicator precoce pentru afectarea acută renală. Nivelul seric și urinar crescut precede chiar cu zile creșterea creatininei serice.[4,5]

Osteopontină (OPN). Concentrația plasmatică de Osteopontină este raportată în studiile lui Castello și colab. ca indicator predictiv independent în sepsis corelat cu valoarea creatininei plasmatică. Nivelul seric înalt progresiv se corelează cu Sindromul de răspuns inflamator sistemic și șocul septic. În inflamația acută sau cronică, Osteopontina, ca proteină matricială extracelulară, intervine prin legarea integrinei, modulează activarea - migrarea - diferențierea leucocitelor și modulează secreția de citokine.[2,3]

Biomarkeri în boala renală cronică. Cystatina C (Cys C) este un inhibitor al proteazei cisteinei de 13 kD cu rol în măsurarea funcției renale și determinarea vitezei estimată de filtrare glomerulară (eGFR). Nivelul înalt al

cistatinei C se corelează cu sexul masculin, înălțimea și greutatea. Incluzerea în ecuația de calcul pentru eGFR a cistatinei C, a creatininei și a raportului albumină-creatinină aduce precizie și acuratețe în estimarea riscului și evaluarea progresiei în boala renală cronică.[3,4]

Proteina β (BTP). Lipocalina prostaglandina D2 sintază, denumită și proteina beta, este o glicoproteină lipocalică utilă în evaluarea funcției renale. În raportul grupului de studiu se susține ideea că BTP are predicție fiabilă pentru evaluarea riscului în boala renală cronică sub rezerva că validarea necesită încă studii populaționale.[4]

Lipocalina asociată neutrofil gelatinazei (NGAL) – biomarker deja consacrat în diagnosticul afectării renale acute, are un rol promițator ca indicator evolutiv în boala renală cronică. Nivelul seric și urinar crescut este raportat în afecțiuni cronice precum nefropatia IgA, boala renală polichistică autosomală și nefropatia diabetică.[4]

Molecula 1 de leziune renală (KIM-1). Expresia susținută pentru KIM-1 la nivelul celulelor epiteliale renale este propusă ca marker pentru fibroza renală în boala renală progresivă. La animalele de experiență expresia KIM-1 se corelează semnificativ cu inflamația progresivă și fibroza care are drept consecință insuficiența renală cu anemie, proteinurie, hiperfosfatemie, hipertensiune arterială fenomene comparabile cu boala renală progresivă cunoscută. Nivelul urinar al KIM-1 crescut este un marker potențial pentru eficacitatea intervenției terapeutice în boala renală progresivă cu proteinurie nondiabetică. Nivelul seric KIM-1 se identifică în studiile recente ca predictor al evoluției pentru boala renală cronică la pacienții cu diabet zaharat tip 1 și proteinurie.[1,4]

Proteine de legare a acizilor grași de tip hepatic (L-FABP). Nivelul L-FABP urinar se corelează în studiile recente cu proteinuria și gradul de afectare tubulo-interstițială în boala renală cronică. L-FABP urinar este un marker pentru microalbuminurie și macroalbuminurie la pacienții cu diabet zaharat tip 1 cu predicție pentru intervenția terapeutică precoce.[3,4]

Dimetilarginină asimetrică (ADMA). Arginină metilată de sinteză endogenă, dimetilarginina asimetrică, intervine și inhibă reversibil sinteza oxidului nitric care are ca și consecință nivel redus de oxid nitric corelat cu afectarea renală cronică. Hanai și colab. raportează la pacienții cu boală renală cronică și diabet tip 2 niveluri plasmatice crescute pentru ADMA predictive pentru progresia nefropatiei în boala renală cronică.[4]

Uromodulina (UMD), cunoscută ca proteina Tamm-Horsfall, este o glicoproteină prezentă la nivelul celulelor tubului contort distal. Boala renală cronică cu fibroză interstițială și atrofie tubulară se corelează cu nivel plasmatic scăzut pentru uromodulină, care este considerată un

marker real pentru masa renală intactă și permite intervenția în stadiile precoce, inițiale.[1,4]

MicroRNA. Studiile din ultima decadă sugerează rolul microRNA în patogeneza bolii renale cronice și implicare ca marker pentru afectarea funcției tubulare și al filtratului glomerular. Khurana și colab. au identificat în boala renală cronică alte clase de ARN care nu codifică și care au rol de marker în diagnosticul precoce: ARN de transfer (ARNt), fragmente de ARNt (tRFs), ARNm mitocondrial sau ARN intergenice de codificare (lincRNA), dintre care miRNA-181a este identificat ca biomarker de interes.[1,4]

Biomarkeri pentru nefrotoxicitate. N-acetil-glucosaminidază (NAG) – enzimă din lizozomii celulelor tubulare proximale, este un biomarker sensibil la stresul ischemic și oxidativ acut cu interes în studiile recente. Concentrația urinară NAG de nivel înalt este identificată la animalele de experiență expuse la gentamicină, la cisplatină sau litiu unde tratamentul cu antioxidanți a redus nefrotoxicitatea.[4]

Glutation-s-transferaza (GST) – enzime citosolice, microsomale și membranare cu forma GRT-alfa la nivelul celulelor tubului proximal și forma pi în celulele tubului distal. În studii experimentale GST-alfa este recunoscută ca biomarker predictiv pentru necroza tubulară proximală indusă de cisplatină și metotrexat. KIM-1 și GST-alfa sunt recunoscuți ca biomarkeri de predicție în nefrotoxicitate indusă de polimixină.[4]

Gamma-glutamil transpeptidaza (GGT), Alanina Aminopeptidaza (AAP) și Lactat Dehidrogenaza (LDH) sunt enzime din celulele tubului proximal cu valoare de biomarker în necroza tubulară acută din nefrotoxicitatea indusă de vancomicină. LDH se corelează semnificativ cu amploarea leziunilor tubulare acute.[4]

Molecula 1 renală (KIM-1). Studiile experimentale fac referire la KIM-1 și KIM-1/hepatita A receptor celular viral-1 (KIM-1/Havcr1) ca biomarkeri de predicție în nefrotoxicitate mai sensibili raportat la valoarea ureei și creatininei serice. Studii în curs de desfășurare precizează valori crescute precoce pentru KIM-1 urinar la 24 ore de la expunerea la gentamicină, mercur, crom cu menținere în platou timp de 72 ore.[1,3,4]

Biomarkeri în nefropatia cu afectare glomerulară. Glomerulonefrita mezangio-proliferativă din nefropatia IgA recunoaște ca biomarkeri neinvazivi predictivi nivelul seric galactoză deficitară Gd-IgA1 și anticorpilor glican specifici (direcționați pentru ligantul Gd-IgA1). Complexele imune Gd-IgA1 se depun la nivelul mezangiului glomerular din nefropatia IgA. Prezența proteinei membranare GMP-17 – limfocite T pozitive, s-a dovedit a fi predictivă pentru progresia nefropatiei IgA. Studii

recente fac referire la raportul dintre factorul epidermal de creștere (EGF) și monocitul peptidului chemotactic-1 (MCP-1) în urină util pentru predicție prognostică în nefropatia IgA.[3,4]

Nefropatia membranoasă. Receptorul de tip fosfolipază A2 (PLA2R) este un receptor transmembranar exprimat la nivelul podocitelor glomerulare (antigen podocit țintă) care declanșează un răspuns imun în nefropatie membranoasă. Nivelul înalt de anticorpi anti-PLA2R (subclasa IgG4) în nefropatia membranoasă primară se corelează semnificativ cu activitatea clinică și răspunsul la intervenția terapeutică. Nivelul PLA2R seric nu este afectat la pacienții cu nefropatie membranoasă secundară. Dispariția nivelului circulant de anticorpi anti-PLA2R precede remisiunea clinică. La pacienții cu transplant renal nivelul de anticorpi anti-PLA2R este indicator util în diagnosticul recidivei pentru nefropatia membranoasă. Intervenția terapeutică cu Rituximab reduce nivelul de anticorpi și proteinuria. Trombospondina tip 1 (THSD7A) este alt antigen de la nivelul podocitelor glomerulare cu rol de biomarker predictiv pentru nefropatia membranoasă idiopatică. Biomarkerii PLA2R și THSD7A sunt utili ca indicatori predictivi de diagnostic și răspuns terapeutic.[4]

Glomeruloscleroză segmentară focală (FSGS). Studiile experimentale prezintă date concludente pentru rolul receptorului solubil al urokinazei (suPAR) care aderă la membrana glomerulară, respectiv podocite, prin intermediul unei proteine - β 3-integrina. Interacțiunea suPAR și β 3-integrinei determină modificări structurale la nivelul podocitelor cu afectarea permeabilității membranei glomerulare și a ratei de filtrare glomerulară. Plasmaferența aplicată la pacienții cu transplant renal și glomeruloscleroză segmentară focală recurentă face posibilă remisiunea și reducerea nivelului seric suPAR și activitatea integrinei β 3.[4]

Nefropatia din Lupus Sistemic. Nivelul urinar pentru ARN mesager (ARNm) al chemokinei, ARNm al interferonului gamma indus de proteina 10 (IP-10), receptorul acesteia CXCR3, factorul de creștere transformant - β (TGF- β), și factorul de creștere endotelială vasculară (VEGF) sunt biomarkeri de monitorizare a răspunsului la intervenția terapeutică cu utilitate practică semnificativă. Studiile inițiate raportează utilitatea unui marker - Integra β 1, specific pentru nefropatia din boala lupică. Biomarkeri din studii recente utili în nefropatia lupică

sunt: ARNm FOXP3 urinar, nivelul urinar pentru Factor de necroză tumorală ca inductor al apoptozei (TWEAK), Lipocalina asociată neutrofil gelatinazei (NGAL) cu rol promițător, MCP-1 urinar, Interleukin-6 (IL-6), Molecula 1 de adeziune a celulelor vasculare (VCAM-1), Osteoprotegerina. Panelurile pentru markeri sunt cu valoare de predicție semnificativă în nefropatia lupică, comparativ cu nivelul biomarkerilor individuali.[4]

Biomarkeri pentru boala polichistică renală autozomal dominantă (ADPKD). Studii recente raportează niveluri reduse pentru polichistina-1 (PC1) și polichistina-2 (PC2), respectiv nivel constant crescut pentru proteina transmembranară 2 (TMEM2) în boala polichistică renală autozomal dominantă.

Concluzii.

Descoperirea unor noi biomarkeri în nefrologie este o preocupare în actualitate, iar progresele în domeniile proteomicii și genomicii aduc un plus de valoare în studiile clinice. Laboratoarele de biotehnologie de înaltă performanță devin disponibile pe scară largă. Măsurarea unor biomarkeri eliberați direct de leziunea renală, NGAL sau KIM-1, are valoarea de predicție a riscului și face posibilă disponibilitatea markerilor, comparativ cu indicatorii clasici. Se impune dezvoltarea unor modele cu biomarkeri de predicție a riscului bazate pe informații clinice. Nu este validat un consens pentru utilizarea noilor biomarkeri, dar studiile recente aduc date și informații promițătoare.

Bibliografie

1. Bhatraju PK, Zelnick LR, Katz R, et al. A prediction model for severe AKI in critically ill adults that incorporates clinical and biomarker data. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019;14(4):506–514.
2. Castello LM, Baldrighi M, Molinari L, et al. The role of osteopontin as a diagnostic and prognostic biomarker in sepsis and septic shock. *Cells.* 2019; 8(2):174.
3. Dong-Jin Oh. A long journey for acute kidney injury biomarkers, *Renal Failure* 2020; 42(1):154-165.
4. Nikhil A Shah. Novel Biomarkers of Renal Function Introduction and Overview, *Medscape*, 2017.
5. Parikh CR, Mansour SG. Perspective on clinical application of biomarkers in AKI. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(6):1677–1685.
6. Park S, Lee H. Acute kidney injury prediction models: current concepts and future strategies. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2019;28(6):552–559.