

RENATA DE CÁSSIA ZEN

**A barreira glomerular em diferentes glomerulopatias:
biomarcadores em síndrome nefrótica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências

Programa de Nefrologia

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane Bitencourt Dias

**São Paulo
2021**

RENATA DE CÁSSIA ZEN

**A barreira glomerular em diferentes glomerulopatias:
biomarcadores em síndrome nefrótica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências

Programa de Nefrologia

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane Bitencourt Dias

**São Paulo
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Zen, Renata de Cassia
A barreira glomerular em diferentes
glomerulopatias : biomarcadores em síndrome nefrótica
/ Renata de Cassia Zen. -- São Paulo, 2021.
Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Nefrologia.
Orientadora: Cristiane Bitencourt Dias.

Descritores: 1.Biomarcadores 2.Glomerulonefrite
3.Nefropatia de lesões mínimas 4.Glomeruloesclerose
segmentar focal

USP/FM/DBD-329/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Beth e Pedro, por deixarem de ter para que eu tivesse, por deixarem de ser para que eu fosse. E à minha irmã, Juliana, por ter chegado primeiro para mostrar que grandes conquistas são possíveis. Obrigada por sempre apoiarem as minhas escolhas.

À minha prima Nina, que usou seu dom/esforço para representar os melhores podócitos.

Às minhas amigas Marina e Milly, pela paciência com que lidaram com as minhas ausências em “momentos de estudo” desde os 15 anos e por sempre me receberem de volta com carinho. À minha amiga Fernanda, por iniciar a trilha da medicina comigo e, desde então, “abençoar” os meus planos mais ousados, na medicina e na vida. À minha amiga Hanna, por ter previsto o gosto pelos glomérulos e me presenteado com o meu primeiro livro de glomerulopatias. À minha amiga Paula, por enxergar a beleza das coisas, distribuir carinho e manter-se de prontidão para me socorrer em qualquer situação.

À minha amiga Adriane e aos colegas do HSPM, por incentivarem minhas escolhas acadêmicas e confiarem no meu trabalho.

À Dra. Patricia e a todos os colegas da Santa Casa de São Paulo, por terem me aberto os olhos para a importância do ensino, do aprofundamento e da especialização.

Ao Daniel, pelo estímulo desde a concepção do projeto, apoio no seu desenvolvimento e por todas as vírgulas, pontos e parágrafos corrigidos, até nos momentos mais instáveis.

À enfermeira Adriana e sua equipe, que realizaram as coletas de todos os pacientes e do grupo controle, sempre com bom humor, independente do dia e da hora.

À Ivone, Luciene, Wagner e toda equipe do LIM16, pela paciência com que me ensinaram o passo a passo do trabalho no laboratório, pelo trabalho realizado na análise dos resultados e pela disponibilidade a qualquer momento do dia.

A todos os pacientes que gentilmente concordaram em participar dessa pesquisa.

À psicóloga Glaucia e aos colegas de pós-graduação Andressa, Eduardo, Gabriel, Karina, Linik, Mariana e Sheila pela companhia durante essa trajetória, pelas trocas, pelo estímulo e, além do mais, por terem concordado em integrar o meu grupo controle.

Ao Dr. Luis Yu, à Dra. Patricia Malafrente e à Dra. Viktória Woronik, que compuseram a banca de qualificação, pelas sugestões, críticas e comentários valiosos que contribuíram para a melhoria da dissertação.

À minha orientadora, Dra. Cristiane Bitencourt, a quem admiro por todo o seu conhecimento e pela disposição em partilhá-lo, que participou ativamente de todas as etapas desse trabalho e me inspira a seguir em frente.

Sumário

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1. Introdução	9
1.1. Doenças glomerulares	9
1.2. Barreira de filtração glomerular	9
1.3. Biomarcadores em Glomerulopatias	12
1.4. Estudos com CD80 em Doença de Lesão Mínima	16
1.5. Estudos com suPAR em Glomerulosclerose Segmentar e Focal	17
2. Objetivos	19
3. Métodos	20
<i>Critérios de Inclusão</i>	20
<i>Critérios de Exclusão</i>	20
<i>Dados Analisados dos pacientes</i>	20
<i>Dados analisados de controles saudáveis</i>	21
<i>Dados avaliados após seis meses da biópsia renal</i>	21
<i>Análise estatística</i>	21
4. Resultados	22
6. Conclusão	31
7. Referências	32

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

DLM	Doença de Lesão Mínima
FAT	Fatty acid transporter tumor suppressor homolog-1
GESF	Glomeruloesclerose Segmentar e Focal
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
NM	Nefropatia Membranosa
PCR	Polimerase Reação em Cadeia
SNCS	Síndrome Nefrótica Córtico-Sensível
SNCR	Síndrome Nefrótica Córtico-Resistente
suPAR	Forma solúvel do ativador do receptor do plasminogênio do tipo uroquinase
uPA	Ativador do plasminogênio do tipo uroquinase
uPAR	Receptor do plasminogênio do tipo uroquinase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Barreira de Filtração Glomerular: endotélio fenestrado, membrana basal glomerular e pedicelos dos podócitos.....	11
Figura 2 – Resumo da patogênese da Doença de Lesão Mínima	14
Figura 3 – Representação gráfica da correlação CD80/ creatinina urinários e albumina sérica inicial.....	25
Figura 4 – Representação gráfica da correlação CD80/ creatinina urinários e proteinúria inicial	25
Figura 5 – Representação gráfica da correção suPAR e creatinina inicial.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos Clínicos em Doença de Lesão Mínima e CD80	17
Tabela 2 - Estudos clínicos em Glomerulosclerose Segmentar e Focal com suPAR ...	18
Tabela 3 - Dados de CD80 urinário e suPAR sérico ao diagnóstico na DLM, GESF, Nefropatia Membranosa e controles saudáveis	23
Tabela 4 - Dados de CD80 urinário e suPAR sérico ao diagnóstico no grupo de DLM + GESF comparando com Nefropatia Membranosa, outras glomerulopatias e controles saudáveis	24

RESUMO

Zen RC. *A barreira glomerular em diferentes glomerulopatias: biomarcadores em síndrome nefrótica* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

A Doença de Lesão Mínima e a Glomeruloesclerose Segmentar e Focal são as duas principais causas de síndrome nefrótica. Ambas ainda não dispõem de um biomarcador sérico ou urinário para diagnóstico ou prognóstico, necessitando de biópsia renal para essas avaliações. Estudos com CD80 urinário foram realizados em população pediátrica com bom resultado no diagnóstico de Doença de Lesão Mínima, contudo, a pesquisa de fatores circulantes para a Glomeruloesclerose Segmentar e Focal é controversa. Dessa forma, nossos objetivos são de estabelecer se o CD80 urinário poderá ser usado para diagnóstico de Doença de Lesão Mínima e o suPAR sérico para diagnóstico de Glomeruloesclerose Segmentar e Focal em população adulta brasileira, além de determinar se esses biomarcadores têm utilidade prognóstica. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo prospectivo, no qual foram coletadas amostras de urina e sangue de pacientes internados na enfermaria do serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas de São Paulo, no período de janeiro de 2018 a janeiro de 2020, para realização de biópsia renal diagnóstica. Foram analisados o CD80 urinário e o suPAR sérico desses pacientes à época da biópsia renal, além de creatinina e albumina séricas, relação proteína/creatinina urinária ou proteinúria de 24h à época da biópsia renal e após seis meses desta. **RESULTADOS:** Foram avaliados 70 pacientes e 10 indivíduos saudáveis que formaram o grupo controle. Os pacientes apresentaram uma mediana de idade de 39 (14 – 75) anos, creatinina sérica de 1,28 (0,45 – 8,5) mg/dl, albumina sérica de 2,55 (0,9 – 4,6) g/dl e relação proteína/creatinina urinária de 3,46 (0,19 – 19) g/g, sendo 43 mulheres (60,5%). Os diagnósticos das biópsias renais foram agrupados para análise da seguinte forma: 18 biópsias com Glomeruloesclerose Segmentar e Focal, 14 com Nefropatia Membranosa, 5 com Doença de Lesão Mínima e 33 que chamamos de outras glomerulopatias. Não houve diferença do CD80 entre os pacientes com Doença de Lesão Mínima versus os com Glomeruloesclerose Segmentar e Focal, Nefropatia Membranosa ou grupo controle, assim como o suPAR sérico não foi significativamente mais elevado na Glomeruloesclerose Segmentar e Focal. Entretanto, o CD80 urinário correlacionou-se positivamente com a síndrome nefrótica independentemente do tipo de doença glomerular e nenhum desses biomarcadores se correlacionou com proteinúria após seis meses de seguimento. **CONCLUSÃO:** O CD80 em adultos pode servir como marcador de síndrome nefrótica, porém, sem especificidade para Doença de Lesão Mínima. Já o suPAR não demonstra utilidade em avaliação diagnóstica ou prognóstica.

Descritores: Biomarcadores; Glomerulonefrite; Nefropatia de lesões mínimas; Glomeruloesclerose segmentar focal.

ABSTRACT

Zen RC. *The glomerular filtration barrier in different glomerular diseases: biomarkers in nephrotic syndrome* [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Minimal Change Disease and Focal Segmental Glomerulosclerosis are the two main causes of nephrotic syndrome. Both still do not have a serum or urinary biomarker for diagnosis or prognosis, requiring renal biopsy for these evaluations. Studies with urinary CD80 were carried out in a pediatric population with good results for Minimal Change Disease diagnosis, however, the investigation of circulating factors for Focal Segmental Glomerulosclerosis are very controversial. Thus, the objectives of the study are to establish whether urinary CD80 can be used for diagnosis of Minimal Change Disease in adults and whether serum suPAR can be used in the diagnosis of primary Focal Segmental Glomerulosclerosis in our adult population, in addition to determining whether these biomarkers can be used as a prognostic assessment of these diseases. **METHODS.** This is a prospective study, in which urine and blood samples were collected from inpatients of the Nephrology service of the Hospital das Clínicas de São Paulo, from January 2018 to January 2020, for renal biopsy diagnosis. The urinary CD80 and serum suPAR of these patients were analyzed at the time of the renal biopsy, in addition to serum creatinine and albumin, urinary protein/creatinine ratio or 24-hour proteinuria at the time of the renal biopsy and after six months of it. **RESULTS.** 70 patients and 10 healthy individuals who formed the control group were evaluated. Patients had a median age of 39 (14 – 75) years, serum creatinine 1.28 (0.45 – 8.5) mg/dl, serum albumin 2.55 (0.9 – 4.6) g/dl, urinary protein/creatinine ratio of 3.46 (0.19 – 19) g/g and the distribution of gender with 43 women (60.5%). The diagnoses of renal biopsies were grouped for analysis as follows: 18 biopsies with Focal Segmental Glomerulosclerosis, 14 with Membranous Nephropathy, 5 with Minimal Change Disease and 33 which we call other glomerulopathies. There was no difference in CD80 between patients with Minimal Change Disease versus those with Focal Segmental Glomerulosclerosis, Membranous Nephropathy or control group, as well as serum suPAR was not significantly higher in Focal Segmental Glomerulosclerosis. However, urinary CD80 was positively correlated with nephrotic syndrome regardless of the type of glomerular disease. **CONCLUSION.** CD80 in adults can serve as a marker of nephrotic syndrome, but without specificity for Minimal Change Disease. suPAR, on the other hand, does not show usefulness in diagnostic or prognostic evaluation.

Descriptors: Biomarkers; Glomerulonephritis; Nephrosis lipid; Focal segmental glomerulosclerosis.

1. Introdução

1.1. Doenças glomerulares

Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia, estima-se que, no mundo, existam 850 milhões de pessoas com algum tipo de doença renal. No Brasil, esse número se aproxima de 10 milhões, sendo a hipertensão arterial sistêmica e o diabetes mellitus suas principais causas, seguidas pelas glomerulopatias.

Apesar de ser a terceira causa conhecida de doença renal crônica, o registro de pacientes acometidos por doenças glomerulares não é preciso, e isso acontece pela dificuldade do diagnóstico, muitas vezes prejudicado pela variedade de sinais e sintomas que os pacientes apresentam, como doença insidiosa ou, até mesmo, assintomática, com alterações somente de exame de urina. Além disso, há necessidade de biópsia renal para a conclusão diagnóstica, procedimento invasivo e nem sempre disponível nos centros de atendimento à saúde.

A doença glomerular pode ser primária, com acometimento exclusivamente renal e muitas vezes sem uma causa conhecida, ou secundária, quando está associada a alguma doença sistêmica. Em qualquer uma das formas, os principais sinais e sintomas que podem ser encontrados são: proteinúria, hematúria, hipoalbuminemia, edema e disfunção renal, agrupados de acordo com o acometimento do glomérulo.

1.2. Barreira de filtração glomerular

A barreira de filtração glomerular é formada classicamente por um endotélio fenestrado, membrana basal e podócitos, com seu corpo central emitindo pedicelos ancorados à membrana basal (Figura 1). Alterações em qualquer um desses componentes estão relacionadas ao aumento de permeabilidade glomerular observado em diferentes glomerulopatias. Entretanto, as glomerulopatias podem ter acometimentos específicos em cada um dos componentes da barreira glomerular, ou seja, acometimento dos podócitos, do endotélio ou da membrana basal. A Doença de Lesão Mínima (DLM) e a Glomerulosclerose Segmentar e Focal (GESF) se encaixam no grupo das glomerulopatias causadas por acometimento de podócitos, as podocitopatias.

Podócitos

Os podócitos são células altamente especializadas, com um papel importante não só na manutenção da barreira da filtração glomerular como, também, na produção de fatores de crescimento para as células mesangiais e endoteliais¹. Estruturalmente, são divididos em base, ápice e diafragma de fenda, além de possuírem um citoesqueleto no corpo e nos processos podocitários (Figura 1).

A base dos podócitos está ligada à membrana basal glomerular por diferentes tipos de integrinas e destroglicanos. Sua membrana apical é coberta por uma camada superficial rica em sialoglicoproteínas, principalmente a podocalixina, que formam um glicocálice e contribuem para a seletividade de substâncias por carga elétrica. O diafragma de fenda é composto por diversas substâncias, como nefrina, neph, podocina e *fatty acid transporter tumor suppressor homolog-1* (FAT), sendo formado por conexões entre os processos podocitários vizinhos, que se interdigitam, deixando, entre eles, espaços de 8 a 14 nm (poros), configurando a essa estrutura um aspecto de zíper² (Figura 1).

O citoesqueleto dos podócitos, no corpo celular e nos processos podocitários, possui microtúbulos e filamentos intermediários, como vimentina e desmina. Nos processos podocitários, existe uma densa rede de filamentos de F-actina conectados a receptores celulares localizados na base, no ápice e no diafragma de fenda por meio de várias proteínas adaptadoras (Nck, CD2AP, ZO-1), proteínas efetoras (WASP, 2/3 Arp) e pequenas guanosinatrifosfatases (GTPases: RhoA, Rac1 e Cdc42), que modulam a polimerização de actina. A polimerização de actina é um processo dinâmico e fortemente regulado que fornece aos podócitos suporte mecânico para modular a forma dos processos podocitários e orquestrar a motilidade e a migração celular².

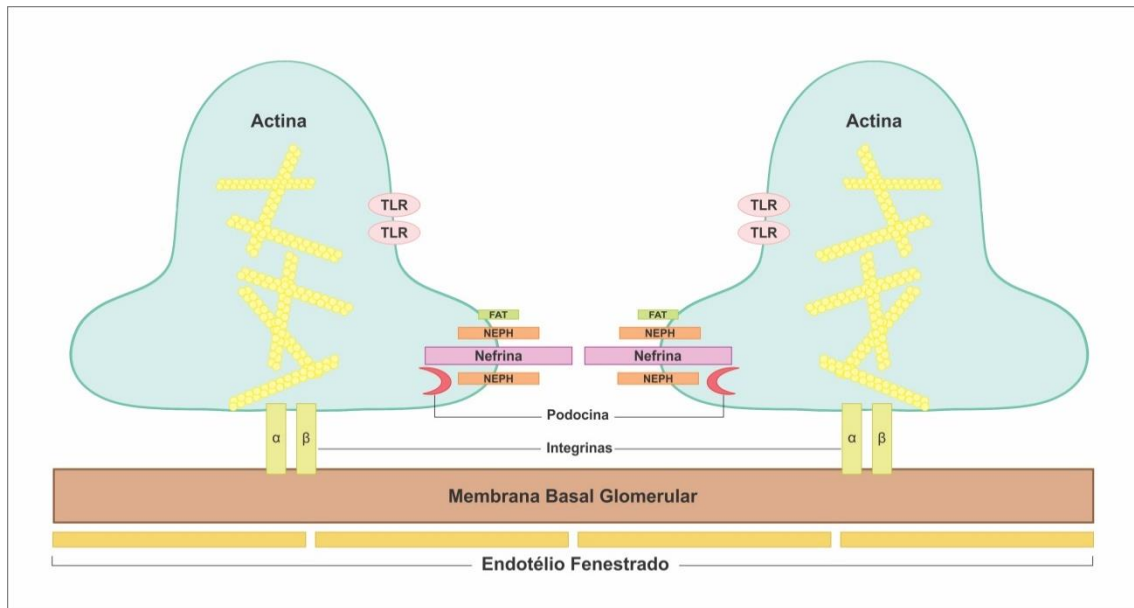


Figura 1 – Barreira de Filtração Glomerular: endotélio fenestrado, membrana basal glomerular e pedicelos dos podócitos

Há três importantes formas de injúria dos podócitos relacionadas às glomerulopatias, que podem estar interligadas¹: **alteração estrutural do podócito, desdiferenciação do podócito com ou sem proliferação e apoptose.**

- a. **Alteração estrutural do podócito:** ocorre em lesões do diafragma de fenda. Podem ser visualizadas na GESF de caráter genético, na qual já foram documentadas alterações que culminam com modificações das proteínas que formam essa membrana.
- b. **Desdiferenciação do podócito com ou sem proliferação:** acontece, por exemplo, quando o podócito se desdiferencia em célula apresentadora de antígeno, como parece ocorrer na DLM³, ou se torna uma célula imatura e passa a se proliferar, como ocorre na GESF colapsante⁴.
- c. **Apoptose:** cursa com podocitopenia, que culmina com formação de tecido cicatricial e matrix extracelular, contribuindo com o processo de esclerose glomerular e sinéquias (adesão do tufo à cápsula de Bowman). Essa alteração também pode ser a via final das outras alterações¹.

1.3. Biomarcadores em Glomerulopatias

Doença de Lesão Mínima

A doença de lesão mínima é a principal causa de síndrome nefrótica na infância⁵. A apresentação é de síndrome nefrótica de início abrupto com proteinúrias muito elevadas. Em pacientes adultos, além da apresentação nefrótica clássica, 27 a 43% apresentam hipertensão arterial ao diagnóstico, 17,8 a 27% iniciam o quadro com insuficiência renal aguda e 12,7 a 29% apresentam hematúria microscópica^{6,7}. A forma mais comum é a primária, ou idiopática, sendo rara a associação com causas secundárias, como algumas infecções virais, doenças autoimunes, neoplasias e drogas^{6,7}.

Histologicamente, apresenta-se com ausência de alterações glomerulares estruturais importantes na microscopia óptica e ausência de depósitos imunes, com fusão de processos podocitários visualizados apenas em microscopia eletrônica⁵. A resposta ao tratamento é muito favorável, porém, as recidivas são frequentes e podem variar de 54 a 73,1%, havendo 3,1 a 12% de corticodependência e 3,1 a 27% de corticoresistência^{6,7,8}. Estudos mostram que adultos que iniciaram a doença mais jovens têm recidivas mais precoces ou em maior número que adultos mais velhos⁶. Essa característica recidivante tem levado alguns autores a procurar marcadores ao diagnóstico que caracterizem pacientes recidivantes e não recidivantes.

A patogênese da DLM continua incompletamente elucidada, bem como a certeza de haver patogênese diferente entre esta e a GESF. Em 1974, Shalhoub⁹, em seu estudo, propôs que a síndrome nefrótica causada por DLM está relacionada ao mau funcionamento das células T. Investigações moleculares demonstraram que a proporção de Th1 e Th2 e a proporção de células Treg (reguladoras) e Th17 estavam desequilibradas. As células que secretam citocinas pró-inflamatórias, como Th2 e Th17, foram altamente expressas, enquanto as células que secretam citocinas anti-inibidoras, como Th1 e Treg, mostraram expressões mais baixas^{10,11}. Décadas depois, um dos mecanismos propostos para a desregulação das células T na lesão podocitária da DLM envolveria o eixo de regulação entre CD80 e CTLA-4¹².

O CD80, antes conhecido como B7-1, é uma proteína transmembrana presente em células apresentadoras de antígeno, célula natural killer e células B¹³. Seria um importante

regulador dos linfócitos T por possuir duas vias de ação, uma estimulando essas células por meio da ação no receptor CD28 e outra as inibindo pela ação no receptor CTLA-4¹⁴. O CTLA-4, portanto, é uma proteína de superfície expressa pelas células T, que regula negativamente a sua ativação após a ligação ao CD80 nas células apresentadoras de antígenos.

A partir de conhecimento prévio de que o podócito pode, sob um determinado estímulo, adquirir características de células dendríticas (células apresentadoras de antígenos) e expressar CD80, Garin EH et al demonstraram aumento de CD80 em urina de pacientes pediátricos com DLM que apresentavam a doença ativa, ao contrário dos que estavam em remissão ou tinham outra glomerulopatia^{3,15}. Não foi demonstrado aumento sérico do CD80 e, portanto, a hipótese de ser este um fator circulante, foi refutada. Nesses estudos, não houve comprovação da diminuição do CTLA-4, porém, estes evidenciaram uma maior relação CD80/CTLA-4 na urina dos pacientes em atividade da doença em relação aos em remissão, sugerindo uma deficiência relativa do CTLA-4 e, portanto, uma falha na inibição do linfócito T¹⁵.

A expressão de CD80 em podócitos e o desenvolvimento de proteinúria haviam sido demonstrados previamente nos modelos experimentais de sepse com endotoxina de lipopolissacarídeo (LPS) e na administração de puromicina¹⁶. Nesses modelos, a expressão de CD80 pode ser mediada pelo Toll Like receptor 4 (TLR-4) ou interleucina 13¹⁶. Entretanto, o TLR-4, que existe no podócito, não age diretamente e, sim, por meio da ativação do NF- κ B e da produção de citocinas, entre elas o TNF α , como demonstrado em estudo experimental de Khullar B et al, onde cultura de podócitos tratados com TNF α expressavam mais CD80 que controles¹⁷. Estudo em população pediátrica, além de confirmar elevação do CD80 urinário nos pacientes com síndrome nefrótica ativa, demonstrou que ele estava muito mais elevado nos que se comportaram como corticoresistentes¹⁶. Esse mesmo estudo avaliou TLR3 e 4 por Polimerase Reação em Cadeia (PCR), estando ambos aumentados nas síndromes nefróticas em atividade comparadas com as em remissão¹⁶, reforçando a ideia de que a expressão de CD80 no podócito ocorre pela via dos TLRs. Na figura 2, resumimos a patogênese dessa doença colocada até o momento.

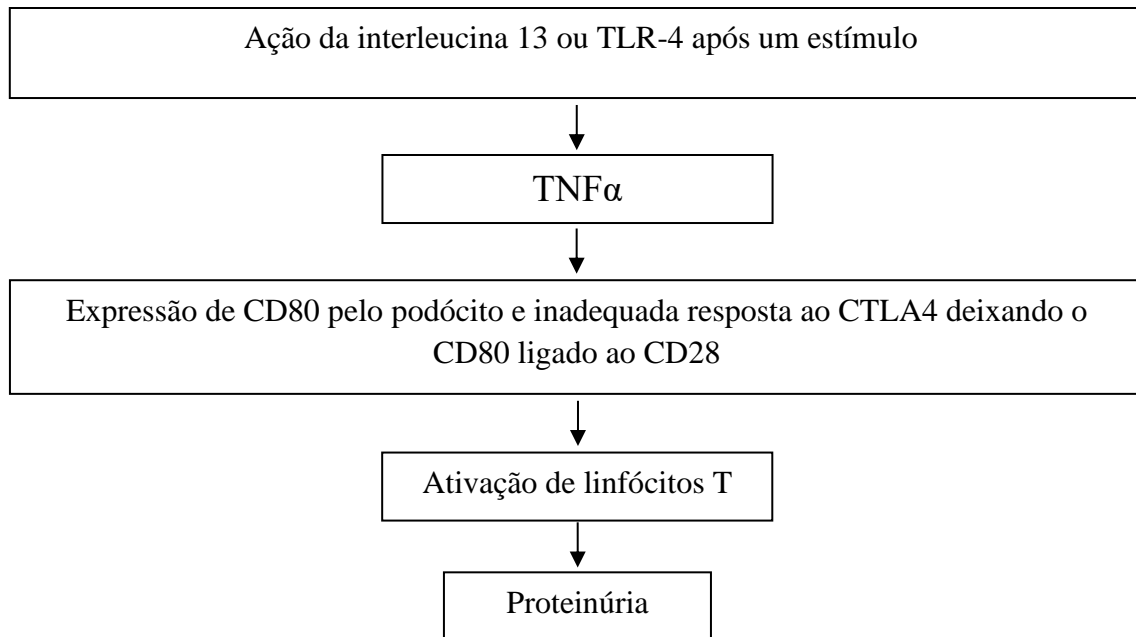
Adaptado¹³

Figura 2 – Resumo da patogênese da Doença de Lesão Mínima

A expressão de CD80 pelo podócito também poderia induzir o sequestro de proteínas essenciais ao podócito, tais como nefrina, CD2AP e ZO-1, causando rompimento do complexo da membrana de fenda, além de agir sobre a sinalização de integrinas, cuja função bem conhecida é a de preservação da integridade do complexo podócito-membrana basal glomerular^{12,18}. Estudo experimental mostrou que a expressão de outra proteína podocitária, o Neph1, está diminuída na presença do CD80¹⁷, corroborando com essa outra via patogênica de perda da arquitetura podocitária por falta dessas proteínas.

Glomeruloesclerose Segmentar e Focal

A GESF é uma podocitopatia que se caracteriza histologicamente por um aumento segmentar da matriz glomerular com a oclusão de capilares em pelo menos um glomérulo em toda a biópsia renal¹⁹. As áreas não afetadas dos glomérulos podem não apresentar lesões e outros glomérulos na amostra podem estar com aspecto normal. A GESF pode apresentar diferentes fatores etiológicos, podendo ser classificada como genética, primária ou secundária, ainda que compartilhem características histológicas e clínicas.

A GESF genética pode ser esporádica ou familiar, com padrões de herança autossômica dominante, autossômica recessiva, ligada ao X ou mitocondrial. Ocorre, geralmente, na primeira infância, mas pode se apresentar também no adulto²⁰. A GESF secundária pode ser por vírus, drogas ou por respostas adaptativas, como nos casos de redução do número de nefrões funcionantes.

Desde 1972, foi proposto por Hoyer et al a participação de um fator circulante na fisiopatologia da GESF primária devido à observação de casos de recidiva imediata pós transplante²¹. Outros trabalhos também demonstraram, além da recidiva no transplante, a eficácia da indicação de plasmaférese na sua redução^{22,23}.

Desde então, alguns estudos vêm sendo realizados na tentativa de encontrar o fator circulante. Um dos primeiros descritos foi a citocina CLC-1, membro da família IL-6, que está presente no soro de pacientes com GESF recidivante, nos quais a concentração observada é de até 100 vezes maior do que em indivíduos normais²⁴.

O fator circulante mais conhecido na atualidade é a forma solúvel do ativador do receptor do plasminogênio do tipo uroquinase (suPAR). O sistema ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (uPA) é composto por uma protease, um receptor (uPAR) e um inibidor. O uPAR é uma proteína de 45 a 55 kDa com três domínios (DI, DII e DIII) ligados ao glicosilfosfatidilinositol (GPI) que se liga à membrana de algumas células imunologicamente ativas, como neutrófilos, linfócitos, monócitos, macrófagos, células T ativadas, células endoteliais, megacariócitos, células tumorais e podócitos. O uPAR pode se conectar a vários ligantes, como uPA, vitronectina e integrinas. Após a ligação com o receptor, ocorreriam várias atividades celulares, como adesão, migração, diferenciação e proliferação. Nos podócitos, o uPAR é uma das vias capazes de ativar a integrina $\alpha v \beta 3$, promovendo a motilidade celular e a ativação de pequenas GTPases, como Cdc42 e Rac1, que podem levar à contração dos podócitos, passando de um fenótipo estacionário para móvel, o que culmina no desabamento do podócito²⁵.

Wei et al demonstraram, em modelos animais, alterações dos processos podocitários, aumento da atividade da $\beta 3$ integrina e proteinúria induzidos por altas doses de suPAR recombinante. Conseguiram também demonstrar, em humanos, que a concentração sérica de suPAR foi significativamente elevada em pacientes com GESF quando comparadas com indivíduos saudáveis. E não observaram variação significativa de suPAR em indivíduos com DLM, em recidiva ou remissão, ou em pessoas com nefropatia

membranosa ou pré-eclâmpsia. Além disso, as concentrações de suPAR no sangue pré-transplante de indivíduos com GESF estavam mais elevadas naqueles que desenvolveram recidiva da GESF após o transplante²⁶. Os níveis séricos de suPAR também foram avaliados em duas coortes, uma americana e outra europeia, sendo demonstrado que 84,3% dos pacientes com GESF, no caso da coorte americana, e 55,3%, no caso da coorte europeia, apresentavam valores elevados em comparação com 6% dos controles²⁷.

Apesar de promissor, nem todos os estudos subsequentes conseguiram os mesmos resultados com suPAR, o que levou ao questionamento em relação à sua interpretação e até à maneira de análise laboratorial da molécula. Sabendo que uPAR é uma proteína com três domínios (DI, DII e DIII), Harel et al²⁸ propuseram, recentemente, a avaliação de suPAR na GESF não só pelo método habitual, utilizado na maior parte das pesquisas anteriores, que avalia a molécula intacta, mas também por um imunoenensaio que permite a análise dos fragmentos de suPAR separadamente. Os resultados sugerem que suPAR DI é significativamente maior na GESF quando comparado às outras glomerulopatias.

1.4. Estudos com CD80 em Doença de Lesão Mínima

Na Tabela 1, reunimos os principais estudos clínicos com DLM e CD80 realizados até o momento, destacando a ausência de estudos sul-americanos e o fato de que os que demonstram que o CD80 poderia ser diagnóstico de DLM consideram apenas população pediátrica.

Tabela 1 - Estudos Clínicos em Doença de Lesão Mínima e CD80

Autores/ País Número de pacientes	Idade	CD80 urinário (CD80u) ng/g creatinina DLM x controle	CD80 tecidual DLM x controle	Kit utilizado
Cara-Fuentes G et al. 2014 ²⁹ EUA N=32	(1-19 anos)	CD80u na atividade: 464±398 Remissão: 30±34 Controle: 14.6±30.8	-	ELISA kit (Bender MedSystem, Burlingame, CA)
Liao J et al. 2017 ³⁰ China N= 128	Crianças	CD80 SNCS em atividade: 511.30±36.17 SNCS remissão: 56.52 ± 34.43 SNCR atividade: 76.89 ± 64.94 SNCR remissão: 80.71 ± 93.84 Controle: 55.77 ± 19.23	-	(ELISA) kit (USCN Life Science, Wuhan, China)
Mishra OP et al. 2017 ¹⁶ Índia N= 114	1-14 anos	Um corte de CD80u > 914,5 apresentou sensibilidade de 86,6%, especificidade 71,4% e área sob a curva de 0,828 (p=0,002) para o diagnóstico de DLM	-	CLIA kit (catalog No U2026h); Wuhan EI Aab Science Co. Ltd., Wuhan, China
Novelli R et al. 2015 ³¹ Itália N= 15	Crianças e Adultos	-	CD80 não apresentou diferença na marcação tecidual em LHM/ GESF/ controles	Imunofixação em biópsia renal

SNCS – síndrome nefrótica córtico-sensível; SNCR – síndrome nefrótica corticorresistente.

1.5. Estudos com suPAR em Glomerulosclerose Segmentar e Focal

Na Tabela 2, reunimos alguns estudos realizados até o momento com suPAR e GESF, mostrando novamente não haver estudos em população da América do Sul e destacando a heterogeneidade dos resultados. Em muitos deles, não há associação exclusiva do suPAR com a GESF, sendo observado aumento, inclusive, em outras glomerulopatias.

Tabela 2 - Estudos clínicos em Glomeruloesclerose Segmentar e Focal com suPAR

Autores/País/ Número de Pacientes	Idade	suPAR sérico x controle	Kit utilizado
Wei C et al. 2012 ²⁷ EUA e Europa N= 164	Crianças e adultos	suPAR elevado (>3000) na GESF em 84,3% (coorte EUA) e 55,3% (coorte europeia) em comparação com 6% dos controles (P<0,0001)	Human uPAR ELISA kit (R&D Systems Inc)
Wei C et al. 2011 ²⁶ EUA N= 148	Crianças e adultos	suPAR >3000 GESF: 45 Membranosa (n= 4) e Controles (n=1)	Quantikine Human suPAR Immunoassay (R&D Systems)
Sun P et al. 2013 ³² China N= 74	13 – 84 anos	suPAR GESF primária: 2923/ DLM: 2050/ Membranosa: 2029/ Controle:1739 GESF secundária: 2512	Quantikine Human uPAR Immunoassay (R&D Systems, Minneapolis, MN)
Li F et al. 2014 ³³ China N= 109	Adolescentes e adultos	suPAR GESF: 3512/ controle: 1823/ DLM: 1678 / Membranosa: 1668 (P<0,001)	ELISA kit (Quantikine Human uPAR Immunoassay; R&D, Minneapolis, MN)
Harel E et al. 2019 ²⁸ EUA N= 85	Adultos	suPAR na GESF: 154.2±18 vs Controles: 36.84±4.96 (P<0,0001). Outras glomerulopatias: 177±39.5 Fragmento DI de suPAR medidos com TR-FIA 4 na GESF: 695,4±91,29 Controles: 122,6±23 (P<0,0001). Outras glomerulopatias: 239,1±40,4 (P=0,001)	uPAR ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN) e suPAR clivado: time- resolved fluorescent immunoassays (TR- FIA) desenvolvido por Finsen Laboratory
Meijers B et al. 2014 ³⁴ Alemanha e Bélgica N= 530	Adultos	suPAR > 3.000 em pacientes não GESF	human uPAR enzyme- linked immune/ sorbent assay (R&D Systems GmbH, Wiesbaden- Nordenstadt, Germany)

O estudo na busca dos biomarcadores em DLM e GESF é importante na tentativa de auxílio diagnóstico, no entendimento da patogênese e no prognóstico, como já ocorre no caso da Nefropatia Membranosa.

2. Objetivos

O principal objetivo do estudo é avaliar e correlacionar os valores de CD80 urinário e suPAR sérico em pacientes com diferentes glomerulopatias manifestadas com ou sem síndrome nefrótica. Além de:

- 1- Avaliar se o CD80 pode ser usado para diagnóstico de DLM em adultos.
- 2- Avaliar se o suPAR pode ser usado para diagnóstico de GESF em adultos.
- 3- Determinar se esses biomarcadores podem ser usados como avaliação de prognóstico da doença.

3. Métodos

Trata-se de um estudo prospectivo, no qual foram coletadas amostras de urina e sangue de pacientes internados na enfermaria do serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), no período de janeiro de 2018 a janeiro de 2020, para realização de biópsia renal diagnóstica por suspeita de doença glomerular.

Crítérios de Inclusão

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 14 anos, internados na enfermaria do serviço de Nefrologia para realização de biópsia renal por suspeita de doença glomerular. Do ponto de vista ético, foram apresentadas as explicações sobre a pesquisa aos pacientes e coletadas amostras de sangue e urina daqueles que aceitaram participar e assinaram o termo de consentimento. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital a Clínicas da FMUSP sob o número 73117917.2.0000.0068.

Crítérios de Exclusão

Foram excluídos pacientes com idade inferior a 14 anos, em uso de imunossupressão por mais de 30 dias, com sorologias positivas para hepatite B, hepatite C ou HIV. Também foram excluídos os pacientes que não realizaram biópsia renal ou que se recusaram a assinar o termo de consentimento.

Dados Analisados dos pacientes

Os pacientes internados para a realização de biópsia renal foram submetidos a uma coleta padrão do serviço de Nefrologia do HC-FMUSP, como creatinina sérica e urinária pelo método colorimétrico cinético, albumina sérica pelo método colorimétrico e proteinúria de 24h ou isolada pelo método de turbimetria, esta última para a realização da relação proteinúria/creatininúria. Em seguida, foi feito o cálculo do clearance de creatinina pelo CKD-EPI³⁵. Além desses exames, os demais coletados pelo protocolo de internação foram sorologias, usadas para os critérios de exclusão dos pacientes, bem como painel autoimune e imunofixação de proteínas, para auxílio no diagnóstico etiológico. Por fim, também foram coletados os dados de idade, sexo e o diagnóstico final pós-biópsia renal.

Como dito anteriormente, os pacientes elegíveis para o estudo tinham amostra de sangue e urina coletados, que em seguida eram centrifugadas em centrífuga refrigerada,

separadas em alíquotas e armazenadas a -80°C . Posteriormente, em uma dessas alíquotas foram analisados o CD80 urinário e suPAR sérico.

Foi utilizado o Kit ELISA (Bender MedSystem) para dosagem de CD80 urinário, sendo os resultados corrigidos para creatinina urinária. Para a análise de suPAR sérico, foi utilizado o kit ELISA para uPAR Quantikine humano (R&D systems).

Dados analisados de controles saudáveis

Foram selecionados 10 controles saudáveis, entre pós-graduandos e residentes do grupo de glomerulopatias do HC-FMUSP, dos quais foram coletados sangue e urina, tratados e estocados da mesma forma e, depois, utilizados para a análise de creatinina sérica e urinária e de proteinúria em amostra isolada para realização da relação proteinúria/creatininúria, além da dosagem do CD80 urinário e suPAR sérico.

Dados avaliados após seis meses da biópsia renal

Para os pacientes elegíveis neste estudo, foram coletados dados do prontuário eletrônico de creatinina e albumina séricas, além de proteinúria de 24h ou relação proteinúria/creatininúria após seis meses da biópsia renal. Esses dados foram usados para correlação com os valores de CD80 urinário e suPAR sérico à época da biópsia para avaliação do uso destes últimos como marcadores prognósticos da doença.

Análise estatística

Os dados das variáveis contínuas foram expressos em média \pm desvio padrão ou mediana com intervalo entre quartis para as amostras sem distribuição normal, e em porcentagem para as variáveis categóricas. As diferenças entre três ou mais grupos foram avaliadas por meio do teste de ANOVA one way ou, quando a amostra não teve distribuição normal, pelo teste de Kruskal-Wallis. As variáveis categóricas entre os grupos foram avaliadas por meio do teste do Qui-quadrado e correlações lineares feitas por meio dos testes de Pearson ou Spearman, quando apropriado. Foi considerado como significância estatística valores de $p < 0,05$. Os dados foram analisados no programa GraphPad Prism 9.

4. Resultados

No período analisado, foram avaliados 70 pacientes e 10 indivíduos saudáveis, que formaram o grupo controle. Os pacientes apresentaram uma mediana de idade de 39 (14 – 75) anos, creatinina sérica de 1,28 (0,45 – 8,5) mg/dl, clearance de creatinina por CKD-EPI 55 (5 - 146) ml/min/1,73m², albumina sérica de 2,55 (0,9 – 4,6) g/dl e relação proteína/creatinina urinária de 3,46 (0,19 – 19) g/g, sendo 43 mulheres (60,5%). Os diagnósticos das biópsias renais foram agrupados para análise da seguinte forma: 18 biópsias com GESF, 14 com Nefropatia Membranosa (NM), 5 com DLM e 33 que chamamos de outras glomerulopatias, que incluíam Nefropatia da IgA (n=2), Nefrite Lúpica (n=7), Glomerulonefrite Membranoproliferativa (n=1), Nefropatia Diabética (n=4), Mieloma Múltiplo (n=2), Amiloidose (n=5), Nefrosclerose Hipertensiva (n=1) e Síndrome Anticorpo Anti-fosfolípide (n=1). A mediana do número de glomérulos nas biópsias foi de 22 (1 – 65). Os pacientes com NM eram mais velhos e os pacientes com GESF tiveram a creatinina sérica basal mais elevada. Os valores de proteinúria não foram diferentes entre a DLM, GESF e NM. O grupo controle de indivíduos saudáveis apresentou uma mediana de idade de 32,5 (25 – 49) anos, creatinina sérica de 1,11 (0,82 – 1,27) mg/dl e relação proteína/creatinina urinária de 0,003 (0 – 0,04) g/g, sendo 7 mulheres (70%).

O CD80 urinário corrigido pela creatinina urinária dos pacientes com DLM foi de 104 (19,70 – 369,60) ng/g, os com GESF de 63,15 (30,50 – 244,60) ng/g, com NM 76,80 (31,22 – 402,20) ng/g e os indivíduos saudáveis 24,70 (15,10 – 41,40), não havendo diferença estatística entre essas glomerulopatias, bem como sem diferença quando comparados com o grupo controle com p=0,15 (Tabela 3). Quando agrupados os pacientes com DLM e GESF, o CD80 urinário corrigido pela creatinina urinária foi de 80 (33 – 266,6) ng/g, tendo apresentado diferença com relevância estatística quando comparados com o grupo de outras glomerulopatias e com o grupo controle, com p=0,005, porém sem diferença quando comparado com o grupo com NM (Tabela 4).

Tabela 3- Dados de CD80 urinário e suPAR sérico ao diagnóstico na DLM, GESF, Nefropatia Membranosa e controles saudáveis

	DLM n=5	GESF n=18	Nefropatia Membranosa n=14	Controles saudáveis n=10	p
Idade (anos)	37,60±15	33,67±13,60	42,15±19,64	33,60±6,63	0,003
Sexo M (n/%)	1/20	10/55,55	6/42,85	3/30	0,40
Creatinina sérica (mg/dl)	0,90(0,76-1,95)	2(0,92-2,62)	0,65(0,50-1,17)	1,11(0,98-1,18)	0,086
Relação proteína/creatinina urinárias (g/g)	3,10(1,04-3,46)	4,05(1,87-5,44)	4,42(2,38-7,14)	0,003(0-0,22)	<0,0001
Albumina sérica (g/dl)	2,08±0,99	2,06±0,87	2,25±0,54	-	0,10
CD 80 (ng/g de creatinina)	104(19,70-369,60)	63,15(30,50-244,60)	76,80(31,22-402,20)	24,70(15,10-41,40)	0,15
suPAR (pg/ml)	3266(2887-4225)	3887(2359-4620)	3091(2018-3711)	1336(1033-1586)	0,0001*

DLM: doença de lesão mínima; GESF: glomeruloesclerose segmentar e focal

*suPAR maior na GESF somente em relação ao controle saudável.

Tabela 4. Dados de CD80 urinário e suPAR sérico ao diagnóstico no grupo de DLM + GESF comparando com Nefropatia Membranosa, outras glomerulopatias e controles saudáveis

	DLM e GESF n = 23	Nefropatia Membranosa n= 14	Outras glomerulopatias n= 10	Controles saudáveis n=10	p
Idade (anos)	34,52±13,65	42,15±19,64	41,04±15,68	33,60±6,63	0,24
Sexo M (n/%)	11/47,80	6/42,85	8/28,57	3/30	0,49
Creatinina sérica (mg/dl)	1,80(0,89-2,50)	0,65(0,50-1,17)	1,39(0,72-2,10)	1,11(0,98-1,18)	0,16
Relação proteína/creatinina urinárias (g/g)	3,50(1,50-4,90)	4,42(2,38-7,14)	2,11(1,01-5,32)	0,003(0-0,22)	<0,0001 ^a
CD 80 (ng/g de creatinina)	80(33-266,6)	76,80(31,22-402,20)	27,15(14,53-76,55)	24,70(15,10-41,40)	0,005 [#]
suPAR (pg/ml)	3597(2424-4531)	3091(2018-3711)	3148(2431-4015)	1336(1033-1586)	<0,0001*

^adiferença estatística comparando grupo DLM e GESF com outras glomerulopatias e controles saudáveis.

*suPAR maior no agrupamento DLM+ GESF somente em relação ao controle saudável

O CD80 urinário corrigido pela creatinina urinária apresentou correlação negativa com a albumina sérica inicial de todos os pacientes, independente da glomerulopatia (Figura 3), com $p < 0,0001$ e $r = -0,5$, e correlação positiva fraca com a proteinúria inicial, com $p = 0,006$ e $r = 0,31$ (Figura 4).

Correlação CD80/ creatinina urinários e albumina sérica inicial

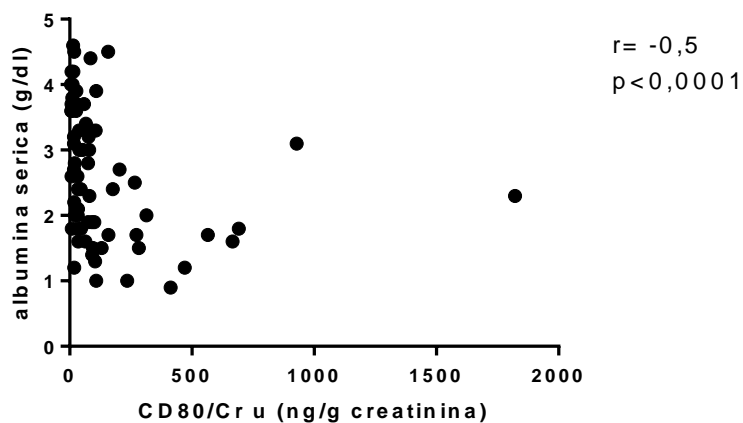


Figura 3 – Representação gráfica da correlação CD80/ creatinina urinários e albumina sérica inicial

Correlação CD80/ creatinina urinários e proteinúria inicial

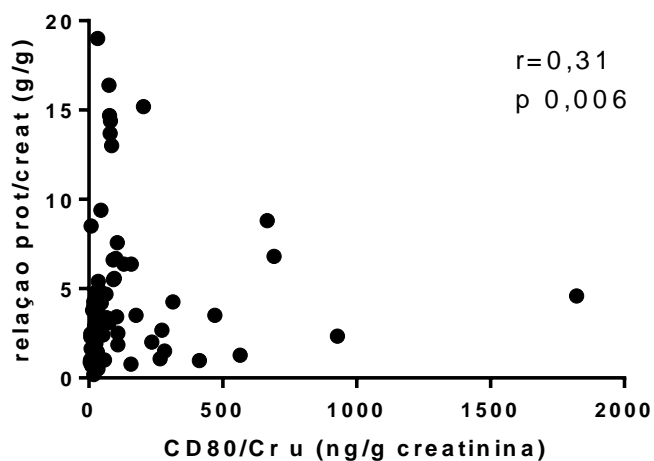


Figura 4 – Representação gráfica da correlação CD80/ creatinina urinários e proteinúria inicial

Quando os pacientes foram separados em dois grupos pelo valor da albumina sérica, grupo menor ou maior do que 3,5g/dl, e comparados entre si, o grupo com albumina menor do que 3,5 g/dl (n=53) apresentou CD80 urinário corrigido pela creatinina urinária de 77,27 (33,5 – 190) ng/g, enquanto o grupo com albumina sérica maior do que 3,5 g/dl (n=17) apresentou CD80 urinário corrigido pela creatinina urinária de 14,9 (7,83 – 42,15) ng/g, com relevância estatística e $p < 0,0001$. Entretanto, a mesma diferença não foi encontrada quando separamos os grupos em proteinúria menor e maior que 3,5g/dia. Além disso, também não houve correlação do CD80 urinário com a creatinina inicial ou com a proteinúria e creatinina sérica coletadas após seis meses do diagnóstico por biópsia renal.

O suPAR sérico nos pacientes com GESF teve mediana de 3887 (2359 – 4620) pg/ml, na DLM, 3266 (2887 – 4225) pg/ml, na NM, 3091 (2018 – 3711) pg/ml e, nos controles saudáveis, 1336 (1033 – 1586) pg/ml, não apresentando diferença com relevância estatística na comparação entre as patologias, havendo diferença somente quando comparado GESF com o grupo saudável, com $p = 0,0001$ (Tabela 3). Quando agrupados GESF e DLM, o suPAR sérico foi de 3597 (2424 – 4531) pg/ml, também só mostrando diferença estatística em relação ao grupo controle saudável, com $p < 0,0001$ (Tabela 4). Não houve correlação do suPAR com a proteinúria inicial ou após seis meses do diagnóstico, tampouco com albumina sérica inicial, porém, houve correlação positiva do suPAR com a creatinina inicial, com $r = 0,44$ e $p = 0,0001$ (Figura 5), e fraca correlação com a creatinina após seis meses do diagnóstico com $r = 0,32$ e $p = 0,013$.

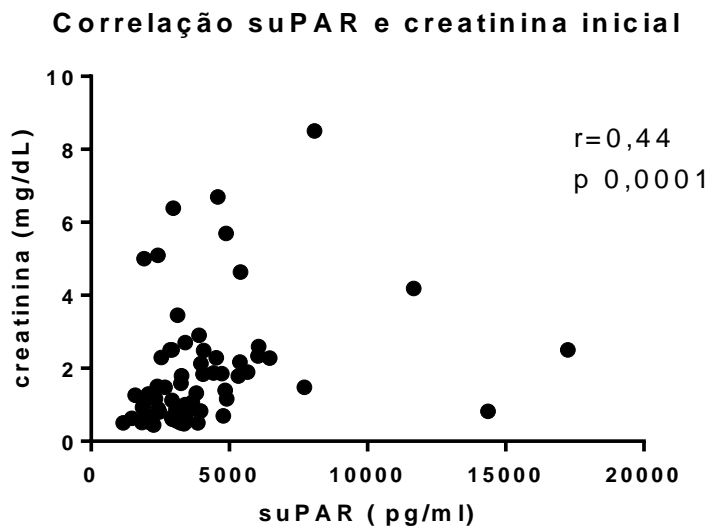


Figura 5 – Representação gráfica da correção suPAR e creatinina inicial

Quando todos os pacientes foram separados em dois grupos pelo valor da creatinina sérica inicial, com creatinina menor do que 1,2 mg/dl e com creatinina maior do que 1,2mg/dl, o grupo com creatina menor apresentou suPAR de 3066 (2184 – 3409) pg/ml e o grupo com creatina maior, 4065 (2935 – 5405) pg/ml, havendo diferença com relevância estatística e $p=0,0006$.

No grupo de pacientes com GESF ($n=18$), foram realizadas avaliações de CD80 urinário e suPAR sérico em pacientes do subgrupo de GESF colapsante ($n=9$), não tendo sido encontradas diferenças relevantes em relação às demais GESF ($n=9$). O CD80 urinário na forma colapsante foi de 91 (35,95 – 254,10) ng/g, enquanto o CD80 urinário nas demais GESF foi de 46,30 (18 – 254) ng/g, com $p=0,42$. O suPAR sérico na forma colapsante foi 3278 (2138 – 4709) pg/ml, enquanto o suPAR nas demais GESF foi 3972 (3470 – 5235) pg/ml, com $p=0,29$.

5. Discussão

Nos últimos anos, pesquisas têm sido realizadas com objetivo de identificar biomarcadores séricos e urinários, que são menos invasivos, a fim de substituir a biópsia renal para o diagnóstico diferencial das glomerulopatias. Além do auxílio diagnóstico, também se espera que biomarcadores possam dar informações sobre o tipo de resposta ao tratamento imunossupressor, bem como sobre prognóstico, a exemplo do que já acontece na NM.

Na DLM, estudos como os de Cara-Fuentes G. et al²⁹, Liao J et al³⁰ e Mishra OP et al¹⁶ em população constituída predominantemente por crianças encontraram relevância no CD80 urinário como biomarcador diagnóstico para essa glomerulopatia. Entretanto, estudo envolvendo população pediátrica e adulta do consórcio Neptune mostrou que o CD80 urinário está elevado em diferentes glomerulopatias com proteinúrias superiores a 3g/dia. Nesse estudo, o CD80 urinário estava elevado inclusive nos pacientes com Nefrite Lúpica que apresentavam valores elevados de proteinúria³⁶. Em nosso estudo, à semelhança do consórcio Neptune, não identificamos valores de CD80 urinário significativamente elevados para a sua utilização como diagnóstico de DLM em adultos. Por outro lado, foi possível identificar correlações positiva com a proteinúria e negativa com a albuminemia, o que sugere a possibilidade do uso do CD80 urinário como marcador de lesão podocitária.

Nessa linha de pesquisa do CD80 como marcador de lesão podocitária, em estudo com imunohistoquímica de tecido renal de pacientes diabéticos tipo II com Nefropatia Diabética, foi encontrado 47% de positividade do CD80 versus nenhuma positividade em tecido renal de controles de nefrectomia por câncer renal³⁷. Também em pacientes com Doença de Fabry, mesmo não sendo uma doença com proteinúrias elevadas, houve maior detecção de podocitúria e CD80 urinário nesses pacientes em relação a controles saudáveis, contudo, sem correlação da podocitúria com o CD80 urinário³⁸.

O CD80 foi também avaliado por imunofluorescência e imunoperoxidase em tecido renal de pacientes com DLM e GESF em estudo de Novelli R et al³¹, tendo sido encontrados traços de CD80 nos dois grupos de pacientes, sem diferença nos pacientes em atividade ou remissão da doença, e ausência de marcação no tecido do grupo controle. Tal achado não foi considerado significativo, porém, nessas mesmas biópsias, o CD80 foi claramente detectável na presença de células inflamatórias. O mesmo grupo também realizou a pesquisa do CD80 em tecido renal de camundongos com GESF induzida por

adriamicina e controles, não tendo encontrado diferença entre os grupos. O questionamento dos autores envolveu a inespecificidade do CD80 como marcador de doença e também a possibilidade de estar presente nos podócitos, mas em níveis muito baixos para detecção. No nosso estudo, optou-se por não realizar a pesquisa do CD80 em tecido renal, visto que o objetivo era o de encontrar biomarcadores em sangue e urina.

Até o momento, poderíamos acreditar que o CD80 urinário é promissor para o diagnóstico de DLM em crianças, mas não em adultos. Todavia, um estudo realizado no Japão com crianças teve resultados semelhantes aos nossos, não encontrando diferença do CD80 urinário entre DLM, GESF e outras síndromes nefróticas, mas também estabelecendo correlação positiva do CD80 urinário com proteinúria, independentemente da glomerulopatia³⁹.

A GESF primária é provavelmente relacionada a fatores circulantes e vários têm sido cotados como biomarcadores dessa doença, sendo o suPAR um dos mais estudados e questionados na literatura. Depois dos estudos positivos de Wei C et al^{26,27}, outros não encontraram utilidade da dosagem sérica do suPAR na GESF^{32,34}. Os achados de elevados níveis séricos do suPAR em pacientes com comprometimento da filtração glomerular³⁴ desestimula seu uso em glomerulopatias. Os resultados encontrados com o suPAR sérico em nosso estudo também não mostraram a utilidade desse biomarcador, e nosso achado de correlação positiva significativa apenas com a creatinina sérica também já foi encontrado em outros estudos, podendo indicar doença renal mais grave, porém sem especificidade^{32,34}.

Contudo, o estudo de Harel et al²⁸ levanta um questionamento sobre o kit usado para a dosagem do suPAR. Esses autores compararam os kits que avaliam o suPAR como molécula intacta formada por três domínios (DI, DII e DIII) em relação a um kit que avalia somente o domínio I (DI). Encontraram que a avaliação do suPAR pelo DI distingue bem a GESF de outras glomerulopatias e de controles saudáveis, além de ter títulos mais elevados nos pacientes que recorreram a doença pós transplante renal. O kit usado em nosso estudo avalia o suPAR intacto, o que deixa em aberto a possibilidade de pesquisas com kits distintos.

Para o uso desses biomarcadores como avaliação prognóstica, um estudo chinês avaliou o CD80 urinário em crianças com DLM e GESF, estabelecendo grupos com CD80 urinário maior que 328 ng/g e menor que 328 ng/g. As crianças no grupo de maior

CD80 urinário tiveram a melhor sobrevida renal após cerca de 60 meses de acompanhamento⁴⁰. A hipótese mais plausível para esse achado é a de que as crianças com DLM estariam predominantemente no grupo com elevado CD80 urinário e, portanto, seria o grupo de melhor resposta terapêutica. Em nosso estudo, na avaliação da proteinúria e creatinina sérica após seis meses da biópsia renal, não foi encontrada correlação com nenhum dos biomarcadores. Contudo, um tempo maior de acompanhamento e um número maior de pacientes seriam necessários para melhor conclusão sobre esses dados.

As correlações do suPAR como marcador de prognóstico são mais encontradas em pacientes críticos, em especial com sepse, independentemente de doença renal, sugerindo que esse biomarcador está associado à atividade do sistema imune. Níveis séricos elevados já foram correlacionados com mortalidade de pacientes em unidade de terapia intensiva, porém, algumas publicações sugerem que não haveria ganho adicional em relação a marcadores inflamatórios mais usuais como PCR⁴¹. Assim como na literatura, nosso estudo demonstrou uma correlação entre suPAR sérico mais elevado e maior PCR, com $p=0,017$ e $r=0,3$. Esses pacientes também apresentaram CD80 urinário mais elevado, porém, com correlação fraca, com $p=0,04$ e $r=0,25$.

A escolha de estudar a população adulta de um serviço público da cidade de São Paulo, por um lado, permitiu a avaliação de informações ainda escassas na literatura, mas, por outro, implicou em uma amostra relativamente pequena para DLM, o que dificulta apontamentos conclusivos no caso dessa doença.

Apesar do nosso estudo não ter encontrado relevância dos biomarcadores como diagnóstico ou prognóstico de DLM e GESF, sua avaliação em diferentes glomerulopatias, e também em pessoas saudáveis, permitiu identificar uma série de correlações, como a possibilidade do CD80 urinário como marcador de lesão podocitária e a inespecificidade do suPAR nas glomerulopatias. Nesse sentido, os resultados podem auxiliar pesquisas futuras, inclusive para a melhor compreensão da fisiopatologia das doenças.

6. Conclusão

O CD80 urinário em adultos pode servir como marcador de síndrome nefrótica pela correlação que encontramos com a albumina sérica e proteinúria, porém, sem especificidade para DLM. Já o suPAR sérico, além de não apresentar especificidade para o diagnóstico de GESF, não parece demonstrar utilidade na doença glomerular proteinúrica e tampouco no prognóstico desses pacientes.

7. Referências

1. Leeuwis JW, Nguyen TQ, Dendooven A et al. Targeting podocyte-associated diseases. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; **62**: 1325-1336.
2. Grahammer F, Schell C, Huber TB. The podocyte slit diaphragm—from a thin grey line to a complex signalling hub. *Nat Rev Nephrol* 2013; **9**: 587–598.
3. Garin EH, Diaz LN, Mu W et al. Urinary CD80 Excretion Increases in Idiopathic Minimal-Change Disease. *J Am SocNephrol* 2009; **20**: 260-266.
4. Barisoni L, Kopp JB. Update in podocyte biology: putting one’s best foot forward. *CurrentOpinion in NephrologyandHypertension* 2003, **12**: 251-259.
5. Vivarelli M, Massella L, Ruggiero B, Emma F. Minimal Change Disease. *Clin J Am SocNephrol* 2017; **12**: 332–345.
6. Waldman M, Crew RJ, Valeri A et al. Adult Minimal-Change Disease: Clinical Characteristics, Treatment, and Outcomes. *Clin J AmSocNephrol* 2007; **2**: 445-453.
7. Dias CB, Pinheiro CC, Silva VS et al. Proteinuria predicts relapse in adolescent and adult minimal change disease. *Clinics* 2012; **67**(11): 1271-1274.
8. Nakayama M, Katafuchi R, Yanase T et al. Steroid Responsiveness and Frequency of Relapse in Adult-Onset Minimal Change Nephrotic Syndrome. *Am J Kidney Dis* 2002; **39**: 503-512.
9. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipid nephrosis: a disorder of T cell function. *The Lancet* 1974; **2**(7889): 556-560.
10. Stachowski J, Barth C, Michalkiewicz J et al. Th1/Th2 balance and CD45-positive T cell subsets in primary nephritic syndrome. *Pediatric Nephrology* 2000; **14** (8-9): 779-785.
11. Liu LL, Qin Y, Cai JF et al. Th17/Treg imbalance in adult patients with minimal change nephritic syndrome. *Clinical Immunology* 2011; **3**: 314-320.
12. Cara-Fuentes G, Clapp WL, Johnson RJ et al. Pathogenesis of proteinuria in idiopathic minimal change disease: molecular mechanisms. *Pediatr Nephrol* 2016; **31**: 2179-2189.
13. Ishimoto T, Shimada M, Araya CE et al. Minimal Change Disease: A CD80 podocytopathy? *Seminars in Nephrology* 2011; **31**(4): 320-325.
14. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 Family Revisited. *Annu Rev Immunol* 2005; **23**: 515-548.
15. Garin EH, Mu W, Arthur JM et al. Urinary CD80 is elevated in minimal change disease but not in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2010; **78**: 296-302.
16. Mishra OP, Kumar R, Narayan G et al. Toll-like receptor 3 (TLR-3), TLR-4 and CD80 expression in peripheral blood mononuclear cells and urinary CD80 levels in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2017; **32**:1355-1361.
17. Khullar B, Balyan R, Oswal N et al. Interaction of CD80 with Neph1: a potential mechanism of podocyte injury. *Clin Exp Nephrol* 2018; **22**: 508-516.
18. Reiser J, vonGessdorff G, Loss M et al. Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 2004; **113**: 1390-1397.
19. D’Agati VD, Fogo AB, Bruijn JA et al. Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis: A working proposal. *Am J Kidney Dis* 2004; **43**: 368-382.

20. Vriese AS, Sethi S, Nath KA et al. Differentiating Primary, Genetic, and Secondary FSGS in Adults: A Clinicopathologic Approach. *J Am Soc Nephrol* 2018; **29**: 759-774.
21. Hoyer JR, Raij L, Vernier R et al. Recurrence of idiopathic nephrotic syndrome after renal transplantation. *The Lancet* 1972; **300**: 343-348.
22. Vinai M, Waber P, Seikaly MG et al. Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis in renal allograft: an in-depth review. *Pediatric Transplantation* 2010; **14**: 314-325.
23. Gohh RY, Yango AF, Morrissey PE et al. Preemptive plasmapheresis and recurrence of FSGS in high-risk renal transplant recipients. *American Journal of Transplantation* 2005; **5**: 2907-2912.
24. McCarthy ET, Sharma M, Savin VJ. Circulating permeability factor in idiopathic nephritic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; **5**: 2115-2121.
25. Kronbichler A, Saleem MA, Meijers B et al. Soluble Urokinase Receptors in Focal Segmental Glomerulosclerosis: A Review on the Scientific Point of View. *Journal of Immunology Research* 2016; ID 2068691, 14 pages.
26. Wei C, El Hindi S, Li J et al. Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis. *Nature Medicine* 2011; **17** (8): 952-960.
27. Wei C, Trachtman H, Li J et al. Circulating suPAR in two cohorts of primary FSGS. *Journal of the American Society of Nephrology* 2012; **23**(12): 2051-2059.
28. Harel E, Shoji J, Abraham V et al. Identifying a potential biomarker for primary focal segmental glomerulosclerosis and its association with recurrence after transplantation. *ClinTransplant* 2019 Mar; **33**(3): e13487.
29. Cara-Fuentes G, Wasserfall CH, Wang H, Johnson RJ, Garin EH. Minimal change disease: a dysregulation of the podocyte CD80-CTLA-4 axis? *Pediatr Nephrol* 2014; **29** (12): 2333-40.
30. Liao J, Wu XC, Cheng Q, Li CL, Yi ZW, Cao Y, Shuai LJ. Predictability of Urinary CD80 in the Relapse of Primary Nephrotic Syndrome. *Biomed Res Int* 2017; doi: 10.1155/2017/9429314.
31. Novelli R, Gagliardini E, Ruggiero B, Benigni A, Remuzzi G. Any value of podocyte B7-1 as a biomarker in human MCD and FSGS? *Am J Physiol Renal Physiol* 310: F335–F341, 2016.
32. Sun P, Yu L, Huang J, Wang S, Zou W, Yang L, Liu G. Soluble Urokinase Receptor Levels in Secondary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Kidney Dis (Basel)*. 2019; **5** (4):239-246.
33. Li F, Zheng C, Zhong Y, Zeng C, Xu F, Yin R, Jiang Q, Zhou M, Liu Z. Relationship between serum soluble urokinase plasminogen activator receptor level and steroid responsiveness in FSGS. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; **9** (11):1903-11.
34. Meijers B, Maas RJ, Sprangers B, Claes K, Poesen R, Bammens B, Naesens M, Deegens JK, Dietrich R, Storr M, Wetzels JF, Evenepoel P, Kuypers D. The soluble urokinase receptor is not a clinical marker for focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2014; **85** (3):636-40.
35. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of Int Med* 2009; **150** (9): 604-12.
36. Guerrico AMG, Lieske J, Klee G, Kumar S, Lopez-Baez V, Wright AM, Bobart S, Shevell D, Maldonado M, Troost JP, Hogan MC, Neptune Consortium. Urinary

- CD80 discriminates among glomerular disease types and reflects disease activity. *Kidney Int Rep* 2020; **5**(11): 2021-2031.
37. Fiorina P, Vergani A, Bassi R. Role of Podocyte B7-1 in Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* **25**: 1415–1429, 2014.
 38. Trimarchi H, Canzonieri R, Schiel A. Increased urinary CD80 excretion and podocyturia in Fabry disease. Trimarchi et al. *J Transl Med* (2016) **14**:289.
 39. Minamikawa S, Nozu K, Maeta S. The utility of urinary CD80 as a diagnostic marker in patients with renal diseases. *Sci Rep* 2018; **8**(1):17322.
 40. Ling C, Liu X, Shen Y, Chen Z, Fan J, Jiang Y, Meng Q. Urinary CD80 excretion is a predictor of good outcome in children with primary nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrol* 2018; **33**:1183–1187.
 41. Backes Y, van der Sluijs KF, Schultz MJ. Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: a systematic review. *Intensive Care Med* 2012; **38**(9):1418-28.