

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E
TOXICOLÓGICAS**

AISLANDER JUNIO DA SILVA

**DOENÇA RENAL CRÔNICA EM PACIENTES PEDIÁTRICOS: AVALIAÇÃO DE
MEDIADORES IMUNES E ÍNDICES DERIVADOS DO HEMOGRAMA**

Belo Horizonte

2021

AISLANDER JUNIO DA SILVA

**DOENÇA RENAL CRÔNICA EM PACIENTES PEDIÁTRICOS: AVALIAÇÃO DE
MEDIADORES IMUNES E ÍNDICES DERIVADOS DO HEMOGRAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Patrícia Nessler Alpoim – UFMG

Coorientadoras:

Prof.^a. Dr.^a. Luci Maria Sant’Ana Dusse – UFMG

Prof.^a. Dr.^a. Ana Paula Lucas Mota – UFMG

Belo Horizonte

2021

Silva, Aislander Junio da.
S586d Doença renal crônica em pacientes pediátricos: avaliação de mediadores imunes e índices derivados do hemograma / Aislander Junio da Silva. – 2021.
131 f. : il.

Orientadora: Patrícia Nessralla Alpoim.
Coorientadoras: Luci Maria Sant'Ana Dusse e Ana Paula Lucas Mota.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Rins – Doenças – Teses. 2. Insuficiência renal crônica – Teses. 3. Sistema urinário – Teses. 4. Anormalidades congênitas – Teses. 5. Glomerulonefrite – Teses. 6. Crianças – Teses. I. Alpoim, Patrícia Nessralla. II. Dusse, Luci Maria Sant'Ana. III. Mota, Ana Paula Lucas. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título.

CDD:616.614



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Doença renal crônica em pacientes pediátricos: avaliação de mediadores imunes e índices derivados do hemograma"

AISLANDER JUNIO DA SILVA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **três de setembro de dois mil e vinte e um**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Prof. André Talvani

UFOP

Profa. Ana Cristina Simões e Silva

UFMG

Profa. Ana Paula Lucas Mota

UFMG

Profa. Luci Maria Sant'Ana Dusse

UFMG

Profa. Patrícia Nessralla Alpoim - Orientadora

UFMG

Belo Horizonte, 13 de setembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Andre Talvani Pedrosa da Silva, Usuário Externo**, em 13/09/2021, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Nessralla Alpoim, Professora do Magistério Superior**, em 13/09/2021, às 13:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Cristina Simoes e Silva, Professora do Magistério Superior**, em 13/09/2021, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luci Maria Sant Ana Dusse, Professora Magistério Superior - Voluntária**, em 13/09/2021, às 15:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Lucas Mota, Professora do Magistério Superior**, em 14/09/2021, às 15:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0957706** e o código CRC **33E8CFBD**.

Colaboradores

- Dr.^a. Luiza Oliveira Perucci – Farmacêutica Responsável Técnica do Laboratório Multi-usuários de Citometria de Fluxo do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas (NUPEB) da Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP.
- Dr. André Talvani – Professor Associado IV e Coordenador do Laboratório de Imunobiologia da Inflamação (LABIIN) do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da UFOP.

Instituições Participantes

- Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.
- Laboratório de Bioquímica Clínica e Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia da UFMG.
- Laboratório de Hematologia da Faculdade de Farmácia da UFMG.
- Laboratório de Citologia da Faculdade de Farmácia da UFMG.
- Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFMG.
- Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da UFOP.
- Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da UFOP.
- Laboratório de Imunobiologia da Inflamação da UFOP.

Apoio Financeiro

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Dedico este trabalho à Deus e seu Filho unigênito, por me darem sabedoria, força, garra e equilíbrio emocional. Dedico também à minha querida família, que em meio a essa caminhada, me ofereceu apoio e compreensão. E, por fim, dedico à ciência do nosso país, que infelizmente vêm sofrendo indiligências devido cenário sociopolítico contemporâneo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela força, decisão, obstinação e principalmente calma. Sem essas bênçãos, nessa condição pandêmica, tal realização não seria possível.

À minha Orientadora, Professora Patrícia Nessralla Alpoim, pela calma, atenção e cuidado. Seu empenho em me ensinar os detalhes da caminhada, como as leituras científicas, as análises estatísticas, as correções pormenorizadas; foi fundamental para minha evolução e motivação, sendo um grande exemplo profissional.

À minha Coorientadora, Professora Luci Maria Sant'Ana Dusse, por sua atenção minuciosa, por seu bom ânimo e por me motivar tanto no desenvolvimento deste trabalho, como a participar do congresso americano ISTH2021, com apresentação de trabalho e submissão de resumo; foi um ótimo desafio.

À minha Coorientadora, Professora Ana Paula Lucas Mota, por toda atenção e gentileza, em me ajudar nas análises estatísticas, por suas correções detalhadas e pela motivação em continuar a jornada acadêmica.

À minha querida família, minha irmã Aislania Diniz da Silva e meu pai Marcelino Diniz da Silva, pelo apoio, suporte, por compreenderem minha dedicação aos estudos e acreditarem nessa poderosa ferramenta como instrumento de transformação.

À minha irmã Ariana Aparecida da Silva Gomes e ao meu cunhado Lincoln Moreira Gomes pelas orações, compreensão e boas mensagens ao longo dessa trajetória.

À Dr.^a. Luiza Oliveira Perucci, uma grande colaboradora deste trabalho, que me acompanhou na fase experimental do projeto, nas correções dos métodos, nas análises estatísticas e nas dúvidas com o congresso americano ISTH2021, seu apoio e atenção foram extremamente importantes.

À MSc. Flávia Garcia, que me mostrou o caminho para conquistar a sonhada aprovação no PPGACT e me apoiou desde a iniciação científica até agora, a qual considero minha madrinha acadêmica/profissional.

À Doutoranda Suellen Rodrigues Martins, pela amizade e apoio, por me acompanhar desde a iniciação científica até minha caminhada no PPGACT, me recebendo como uma grande aluna anfitriã e sendo solícita sempre que precisei.

À Doutoranda Ana Cristina dos Santos Lopes, pelo apoio, ajuda e amizade, se demonstrando solícita sempre que tive necessidade.

Ao Professor André Talvani, pelo registro no CNPq, bem como, por ceder o espaço do Laboratório de Biologia da Inflamação - UFOP para realização da fase experimental desse projeto.

À Biomédica Sofia Laís, por me auxiliar nas gravações das aulas práticas do estágio à docência, bem como no preparo de materiais para demonstração prática laboratorial.

À minha amiga Jaqueline Gotelip, pelo apoio, carinho, bom humor e amizade.

À minha amiga Kelly Lidiane, pela compreensão, apoio, carinho e amizade.

À Andréia Almeida de Alcântara, secretária do PPGACT por suas orientações quanto a todo processo burocrático e por sempre me atender bem, sanando minhas dúvidas e me auxiliando a solver qualquer contratempo.

Às crianças participantes deste estudo, que me propiciaram conhecê-las, mesmo que distante e indiretamente.

À CAPES, pelo apoio financeiro em todo esse processo de formação.

Ao PPGACT por toda estrutura, apoio e abrigo para realização desse sonho.

RESUMO

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela perda progressiva da função até a falência renal. A DRC é menos frequente em crianças que em adultos. Na infância, as principais causas incluem malformações congênitas dos rins e trato urinário (*CAKUT*), seguida por glomerulopatias, além de doenças císticas e tubulopatias. Existem fatores que propiciam o avanço da DRC como; estresse oxidativo, disfunção endotelial e inflamação. Esta última promove injúrias teciduais que impossibilitam a homeostase do parênquima renal, retro-alimentando o processo inflamatório que conseqüentemente agrava a DRC. Com o presente estudo, objetivou-se avaliar marcadores inflamatórios como a Interleucina 17 (IL-17), Interleucina 33 (IL-33), Quimiocina CXC 16 (CXCL16), Anexina A1 (AnxA1), Interleucina 4 (IL-4), Interleucina 10 (IL-10), Relação neutrófilo-linfócito (RNL), Relação neutrófilo-linfócito derivada (dRNL), Relação linfócito-monócito (RLM) e o Índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri) em pacientes pediátricos com DRC, de acordo com as diferentes etiologias/estágios. Foram avaliadas 85 crianças distribuídas em sete grupos, sendo; Grupo IA: crianças com DRC causada por glomerulopatias em estágio 1 ou 2; Grupo IB: crianças com DRC causada por glomerulopatias em estágio 3 ou 4; IIA: crianças com DRC causada por *CAKUT* em estágio 1 ou 2; IIB: crianças com DRC causada por *CAKUT* em estágio 3 ou 4; III: crianças com DRC causada por outras etiologias em estágio 3 ou 4. Além disso, foi criado um grupo mais amplo composto por todos os pacientes com DRC, incluindo os estágios de 1 ao 4 (Grupo IV), e por fim um grupo controle (Grupo V), composto por indivíduos saudáveis com idades compatíveis aos pacientes pediátricos. As concentrações séricas dos marcadores inflamatórios foram determinados pela técnica de imunoensaio enzimático e os índices derivados do hemograma foram determinados por meio de cálculos com parâmetros do hemograma obtidos do banco de dados do projeto original. Os resultados revelaram redução sérica dos marcadores IL-17, IL-33 e CXCL16 nos pacientes com DRC (incluindo todos os estágios da doença) em relação ao controle. A AnxA1, IL-4 e IL-10 não apresentaram diferenças entre os dois grupos. A RLM apresentou-se reduzida nos pacientes com DRC em comparação ao controle, e o Siri aumentado nos pacientes com DRC quando comparado ao controle. Para os índices RNL e dRNL não houve diferenças entre os pacientes com DRC versus controle. Os mediadores pró-inflamatórios como IL-17 e

CXCL16 apresentaram-se promissores nos pacientes com DRC e também os índices derivados do hemograma, como a RLM e o Siri refletiram o *status* pró-inflamatório nestes pacientes do estudo.

Palavras-chave: DRC, CAKUT, crianças, glomerulopatias, inflamação, mediadores imunes, índices derivados do hemograma.

ABSTRACT

Chronic kidney disease (CKD) is characterized by progressive loss of function leading to kidney failure. CKD is less common in children than in adults. In childhood, the main causes include congenital abnormalities of the kidneys and urinary tract (CAKUT), followed by glomerulopathies, in addition to cystic diseases and tubulopathies. There are factors that favor the advancement of CKD such as; oxidative stress, endothelial dysfunction and inflammation. The latter promotes tissue injuries that make homeostasis of the renal parenchyma impossible, feeding back the inflammatory process that consequently aggravates the CKD. The present study aimed to evaluate inflammatory markers such as Interleukin 17 (IL-17), Interleukin 33 (IL-33), Chemokine CXC 16 (CXCL16), Annexin A1 (AnxA1), Interleukin 4 (IL-4), Interleukin 10 (IL-10), Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), Neutrophil-lymphocyte-ratio-derived (dNLR) , Lymphocyte-monocyte ratio (LMR) and Systemic Inflammation Response Index (Siri) in pediatric patients with CKD, according to the different etiologies/stages. Eighty-five children were divided into seven groups and evaluated, namely; Group IA: children with CKD caused by glomerulopathies in stage 1 or 2; Group IB: children with CKD caused by glomerulopathies in stage 3 or 4; IIA: children with CKD caused by CAKUT in stage 1 or 2; IIB: children with CKD caused by CAKUT in stage 3 or 4; III: children with CKD caused by other etiologies in stage 3 or 4. In addition, a broader group was created, comprising all patients with CKD, including stages 1 to 4 (Group IV), and finally a control group (Group V), composed of healthy individuals with ages compatible with pediatric patients. Serum concentrations of inflammatory markers were determined by the enzyme immunoassay technique and indices derived from the blood count were determined through calculations with blood count parameters obtained from the original project database. The results revealed a reduction in serum markers IL-17, IL-33 and CXCL16 in patients with CKD (including all stages of the disease) compared to control. AnxA1, IL-4 and IL-10 showed no differences between the two groups. LMR was reduced in patients with CKD compared to control, and Siri increased in patients with CKD compared to control. For the NLR and dNLR indices there were no differences between patients with CKD versus control. Pro-inflammatory mediators such as IL-17 and CXCL16 were showing promise in patients with CKD, as well as

blood count-derived indices such as LMR and Siri reflected the pro-inflammatory state of the study patients.

Keywords: CKD, CAKUT, children, glomerulopathies, inflammation, immune mediators, blood count-derived indices.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sinais de alerta relacionados a DRC na infância.....	35
Figura 2– Processo inflamatório: células e citocinas envolvidas na progressão da DRC com formação da fibrose renal	45
Figura 3 – Resposta inflamatória mediada pela IL-17: Citocinas produzidas por estímulo da IL-17	47
Figura 4 – Representação dos domínios presentes na estrutura da IL-33.....	51
Figura 5 - Liberação da IL-33 mediante injúria celular	53
Figura 6 – Representação da estrutura da CXCL16	55
Figura 7 - Hipótese de lesão renal mediada pela CXCL16.....	58
Figura 8 - Representação do dinamismo da molécula AnxA1 no processo de transmigração leucocitária.....	61
Figura 9 – Polarização de macrófagos. Monócitos são recrutados para o sítio da lesão parenquimatosa renal.....	65
Figura 10 - Distribuição dos participantes do estudo entre os grupos	74
Figura 11- Etapas da reação por ELISA sanduíche.....	78
Figura 12 – Distribuição dos valores dos níveis séricos de IL-17, IL-33 e CXCL16 para os seis grupos estudados.....	90
Figura 13 – Distribuição dos valores dos níveis séricos de AnxA1, IL-4 e IL-10 para os seis grupos estudados.....	91
Figura 14 – Distribuição dos valores dos níveis plasmáticos de IL-17, IL-33 e CXCL16 para os grupos IV e Controle.....	92
Figura 15 – Distribuição dos valores dos níveis plasmáticos de AnxA1, IL4 e IL-10 para os grupos IV e Controle.	93
Figura 16 – Distribuição dos valores de IL-17, IL-33 e CXCL16 para os grupos IC, IIC e IIIC.	95
Figura 17 – Distribuição dos valores de AnxA1, IL-4 e IL-10 para os grupos IC, IIC e IIIC.	95

Figura 18 – Distribuição dos valores de RNL, dRNL, RLM e Siri para os seis grupos estudados.98

Figura 19 – Distribuição dos valores de RNL, dRNL, RLM e Siri para para os grupos IV e Controle.99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de referência taxa de filtração glomerular	31
Tabela 2 – Etiologias da DRC em crianças	37
Tabela 3 – Distribuição de frequências por grupos de etiologia da DRC e estágios.....	84
Tabela 4 – Características clínicas das crianças e adolescentes participantes do estudo	85
Tabela 5 - Parâmetros laboratoriais das crianças e adolescentes dos grupos IA, IB, IIA, IIB, III e V	86
Tabela 6 – Níveis séricos dos mediadores imunes obtidos para os grupos avaliados	88
Tabela 7 – Níveis séricos dos mediadores imunes avaliados em todas as crianças e adolescentes com DRC e grupo controle	89
Tabela 8 - Níveis plasmáticos dos mediadores imunes avaliados nos grupos de pacientes com DRC em uso ou não de imunossupressores	94
Tabela 9 – Índices derivados do hemograma dos grupos avaliados.....	96
Tabela 10 – Índices derivados do hemograma das crianças e adolescentes com DRC estágio 3 ou 4 e grupo controle.....	97

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos estágios da DRC	32
Quadro 2 - Classificação da DRC baseado na TFG e albuminúria	32
Quadro 3 – Manejo do paciente portador da DRC de acordo com estágio	40

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

>	Maior
≥	Maior ou igual
<	Menor
≤	Menor ou igual
+	Uma cruz
++	Duas cruces
+++	Três cruces
++++	Quatro cruces
°C	Graus celsius
mg	Miligrama
dL	Decilitros
cm	Centímetros
mL	Mililitros
min	Minutos
PO ₄ ³⁻	Fosfato
Na ⁺	Sódio
Ca ²⁺	Cálcio
K ⁺	Potássio
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
mmHg	Milímetros de mercúrio
PTH	Paratôrmônio
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SRA	Sistema-Renina-Angiotensina
VEC	Volume extracelular
PA	Pressão arterial
ECA	Enzima conversora de angiotensina
pH	Potencial hidrogênio
EPO	Eritropoetina
DRC	Doença renal crônica
IMC	Índice de massa corporal
kg/m ²	Quilogramas por metro quadrado
m ²	Metro quadrado

mOsm/kg	Miliosmol por quilograma
TFG	Taxa de filtração glomerular
D	Dialítico
ND	Não dialítico
TRS	Terapia de substituição renal
RAC	Relação albumina/creatinina
IRC	Insuficiência renal crônica
RVU	Refluxo vesicoureteral
UBS	Unidade básica de saúde
EAS	Elementos anormais da sedimentação
IECA	Inibidores da enzima conversora da angiotensina
BRA	Bloqueadores dos receptores da angiotensina
MS	Ministério da saúde
Hb	Hemoglobina
IST	Índice de saturação da transferrina
TCLÉ	Termo de consentimento livre e esclarecido
TGP	Transaminase glutâmica pirúvica
TSH	Hormônio estimulante da tireoide
T4	Tiroxina 4
DRCT	Doença renal crônica terminal
GH	Hormônio do crescimento
DCV	Doenças cardiovasculares
MFTU	Malformações do trato urinário
ITU	Infecções do trato urinário
IDMS	Espectrometria de massa com diluição isotópica
TGI	Trato gastrointestinal
RFG	Ritmo de filtração glomerular
ROS	Espécimes reativas de oxigênio
MEC	Matriz extracelular
IL-17	Interleucina 17
NK	<i>Natural killer</i>
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8

IL-1 β	Interleucina 1 beta
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
MPC-1	Carreador mitocondrial de piruvato 1
IL-33	Interleucina 33
ST2	Supressor de tumorigenicidade 2
sST2	Supressor de tumorigenicidade 2 solúvel
IL-1RAcP	Proteína acessória do receptor de IL-1
NFk β	Fator nuclear kappa beta
ILC2	Células linfoides inatas do tipo 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
CXCL16	Ligando de Quimiocina 16
CXCR6	Receptor de quimiocina CXC tipo 6
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
pmp	Pacientes por milhão de população
SHU	Síndrome hemolítico-urêmica
pmpic	Por milhão de população com idade compatível
CAKUT	<i>Congenital anomalies of the kidneys and the urinary tract</i>
AnxA1	Anexina A1
TGF- β	Fator de crescimento transformador beta
kDa	Kilodaltons
GC	Glicocorticoide
VCAM-1	Proteína 1 de adesão celular vascular
cPLA2	Fosfolipase A ₂
FPR	Receptor para peptídeo formilado
NPN's	Compostos nitrogenados não proteicos
μ L	Microlitros
L	Litro
nm	Nanômetro

KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potássio
NaCl	Cloreto de sódio
g	Gramas
KCL	Cloreto de potássio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato de sódio dibásico
IgA	Imunoglobulina A
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
Th1	T helper 1
Th2	T helper 2
INF- γ	Interferon gama
IL-2	Interleucina 2
IL-12	Interleucina 12
TNF- β	Fator de necrose tumoral beta
CXCL8	Quimiocina CX 8
FT	Fator tissular
M1	Macrófagos do subtipo 1
M2	Macrófagos do subtipo 2
ESRD	<i>End stage renal disease</i>
PCR	Proteína C reativa
PCR	Reação em cadeia da polimerase
IL-18	Interleucina 18
PEW	<i>malnutrition protein-energy wasty</i>
DAMP's	<i>Damage associated molecular patterns</i>
TRL's	<i>Toll-like Receptors</i>
IL-1	Interleucina 1
IL-23	Interleucina 23
TGF- β	Fator de crescimento transformante beta

GF2	Fator de crescimento 2
STAT3	<i>Signal transducers and activators of transcription 3</i>
CXCL1	Quimiocina CX 1
CXCL2	Quimiocina CX 2
CXCL5	Quimiocina CX 5
CCL7	Ligando de quimiocina 7
CCL20	Ligando da quimiocina 20
KKS	Sistema Calicreína-cinina
MCPIP1	<i>MCP-1 induced protein 1</i>
WB	<i>Western Blot</i>
RT-PCR	Transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase
IL-36	Interleucina 36
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
IL1-RAcP	<i>IL-1- accessory protein receptor</i>
VHS	Velocidade de hemossedimentação
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
ADAM10	<i>Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10</i>
RNL	Relação Neutrófilo-Linfócito
dRNL	Relação Neutrófilo-Linfócito derivado
RLM	Relação Linfócito-Monócito
Siri	Índice de resposta à inflamação sistêmica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA.....	25
2	REFERENCIAL TEÓRICO	28
2.1	Doença renal crônica	28
2.1.1	Doença renal crônica na Infância	33
2.1.2	Etiologia da DRC na Infância	36
2.1.3	Diagnóstico da DRC na Infância	38
2.1.4	Progressão e manejo da DRC na Infância	39
2.2	Inflamação na doença renal crônica	41
2.2.1.1	Interleucina 17 na DRC	46
2.2.1.2	Interleucina 33 na DRC	50
2.2.1.3	Quimiocina CXCL16 na DRC	55
2.2.1.4	Anexina A1 na DRC	59
2.2.1.5	Interleucina 4 na DRC.....	63
2.2.1.6	Interleucina 10 na DRC	65
2.2.2	Índices derivados do Hemograma: Inflamação	68
3	OBJETIVOS	70
3.1	Objetivo geral.....	70
3.2	Objetivos específicos.....	70
4	MATERIAIS E MÉTODOS	71
4.1	Casuística	71
4.1.1	Aspectos éticos.....	71
4.2	Seleção dos participantes do estudo e caracterização dos grupos.	72
4.2.1	Critérios de inclusão	74
4.2.1.1	Grupo de pacientes com DRC	74
4.2.1.2	Grupo controle.....	76
4.2.2	Critérios de exclusão	76
4.2.2.1	Grupo de pacientes com DRC	76
4.2.2.2	Grupo Controle	77
4.3	Amostras biológicas.....	77
4.4	Métodos.....	77
4.4.1	Determinação dos níveis séricos dos mediadores imunes	77

4.4.2	Obtenção dos índices derivados do hemograma.....	80
4.4.3	Análises estatísticas.....	81
4.5	Fluxograma do delineamento experimental	83
5	RESULTADO	84
5.1	Características clínicas dos participantes.....	84
5.2	Parâmetros laboratoriais	86
5.3	Avaliação dos mediadores imunes	88
5.3.1	Avaliação dos mediadores imunes entre grupos com e sem o uso de imunossupressores	93
5.4	Avaliação dos Índices derivados do hemograma	96
6	DISCUSSÃO.....	99
6.1	Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DRC	99
6.2	Mediadores imunes	105
6.2.1	Interleucina 17 (IL-17).....	106
6.2.2	Interleucina 33 (IL-33).....	108
6.2.3	Quimiocina CXC 16 (CXCL16).....	110
6.2.4	Anexina A1 (AnxA1).....	111
6.2.5	Interleucina 4 (IL-4) e 10 (IL-10).....	112
6.3	Pacientes com DRC em uso ou não de imunossupressores.....	113
6.4	Índices derivados do hemograma	115
6.4.1	Relação neutrófilo-linfócito (RNL) e Relação neutrófilo-linfócito derivado (dRNL)	115
6.4.2	Relação linfócito-monócito (RLM).....	116
6.4.3	Índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri).....	116
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	118
8	CONCLUSÃO.....	118
9	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	119
10	PERSPECTIVAS DE ESTUDOS.....	119
	REFERÊNCIAS	120
	ANEXOS	130

1. INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela perda parenquimatosa e funcional dos rins em progressão lenta e ritmada. A avaliação da perda da função renal pode ser determinada com a Taxa de Filtração Glomerular (TFG), declarando perda da funcionalidade dos rins de acordo com o estágio da doença (BASTOS *et al.*, 2011; MORAES E SILVA, 2016; SOARES, 2017; MARINHO *et al.*, 2017).

Considerada um problema de saúde pública, o aumento de casos tem sido reportado nas últimas décadas em diferentes contextos, independente do gênero, idade, condições demográficas e socioeconômicas (MARINHO *et al.*, 2017).

Dentre os adultos as principais causas apontadas são o diabetes *mellitus* e a hipertensão que causam a doença renal do diabetes e lesões endoteliais (RIYUZO *et al.*, 2003; SOARES *et al.*, 2017).

Um estudo realizado por MARINHO e colaboradores (2017) mostrou que a prevalência da DRC na população brasileira é de 1,5%, estimando um número de 3 a 6 milhões de adultos portadores de DRC e que 0,05% estão sob terapia renal de substituição (TRS).

Dentre os portadores de DRC, o grupo pediátrico apresenta um número bem menor em relação aos adultos. Os estudos internacionais sugerem que 22 a 62 crianças por milhão de população com idade compatível (pmpic) sejam portadoras da DRC, enquanto um estudo realizado no estado de São Paulo mostrou que a prevalência de 23,4 pmpic (MOREIRA, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2011). INGELFINGER e colaboradores (2016) apontaram de 15 a 74 pmpic. De acordo com o Documento Científico da Sociedade Brasileira de Pediatria (2020), a incidência pode variar de acordo com o país e com os critérios utilizados para classificação da DRC, apresentando variação entre 3,1 e 13 casos pmpic. No Brasil, os dados são incipientes devido à escassez de informações relativas ao diagnóstico preciso e manejo da DRC na infância. Entretanto, os dados brasileiros de pacientes pediátricos apontam uma prevalência média de 20 casos pmpic (SBP,2020).

As principais etiologias da DRC em crianças são as malformações do trato urinário (MFTU) conhecidas como *CAKUT* (*Congenital anomalies of the kidneys and the urinary tract*) e doenças glomerulares (RIYUZO *et al.*, 2003; SOARES *et al.*,

2008; INGELFINGER et al., 2016). Mesmo que a DRC apresente etiologias diferentes em crianças e adultos, os mecanismos fisiopatológicos lesivos que contribuem para progressão da doença que parecem ter alguns componentes em comum, culminando na insuficiência total dos rins. Entretanto, o desenrolar da DRC em pacientes pediátricos apresenta impactos irreparáveis como distúrbios associados ao metabolismo mineral e ósseo e alterações endócrinas relacionadas aos níveis do hormônio do crescimento (GH). Além disso, compromete o sistema cardiovascular, o equilíbrio iônico, osmótico e ácido-básico do organismo, podendo culminar em déficits de desenvolvimento psicossocial (MORAES E SILVA, 2016; SOARES et al., 2008; BELANGERO, 2016).

Sabe-se que uma das principais causas de morte em pacientes com DRC são as complicações por doenças cardiovasculares (DCV). Estudos evidenciam que além dos fatores de risco tradicionais para a DCV, as dislipidemias, o diabetes e a hipertensão arterial não são suficientes para justificar a maior incidência dessas complicações em pacientes com DRC. Nesse contexto, estudos envolvendo outras variáveis relacionadas a processos inflamatórios e a disfunção endotelial tornam-se de suma relevância (VIANNA et al., 2011).

No contexto da resposta inflamatória associada à DRC, componentes do sistema imune atuam no desenvolvimento fisiopatológico das lesões renais. Citocinas, quimiocinas e outros mediadores circulantes podem ser detectados no plasma e na urina de pacientes com DRC em diferentes estágios, assim como a presença elevada de células imunológicas no parênquima renal, relacionando-as aos níveis das citocinas (VIANNA et al., 2011; LEE et al., 2017).

As citocinas com caráter predominantemente inflamatório como as Interleucinas 17 e 33 (IL-17 e IL-33), e a quimiocina CXCL16 (CXCL16) têm se tornado alvo de estudo no desenvolvimento das injúrias renais na DRC, contribuindo com o processo de falência renal. WANG e colaboradores (2013) observaram que o aumento dos níveis plasmáticos e a maior presença da IL-17 no tecido renal, pode promover perda dos podócitos e contribuir para síndrome nefrótica em crianças. O estudo conduzido por CHEN e colaboradores (2017) evidenciou que diante uma obstrução renal ocorre um aumento da expressão de IL-33 por células tubulares renais, promovendo, assim, o desenvolvimento de respostas imunológicas que atuam no processo de fibrose. De acordo com NORLANDER e colaboradores

(2016), a quimiocina CXCL16 está expressa de maneira elevada nas doenças renais crônicas e associada ao processo inflamatório que contribui para o desenvolvimento fibrótico no parênquima renal.

As citocinas que possuam respostas anti-inflamatórias e que atuem no controle do processo fibrótico reduzindo a progressão da doença renal poderiam ser potenciais alvo de estudos, como a Anxina A1, a Interleucina 4 (IL-4) e a Interleucina 10 (IL-10). A AnxA1 é um potente mediador anti-inflamatório que está elevado na DRC, reduzindo o processo fibrótico uma vez que ela pode controlar o processo de transmigração de células inflamatórias para o interstício (KA *et al.*, 2014; NEYMEYER *et al.*, 2015). A IL-4 é predominantemente, produzida por linfócitos do tipo TCD4+ e está relacionada à resposta imunológica pela via Th2. Ela possui ação sob certas células como o macrófago e a célula NK e, ao aumentar a resposta Th2, proporciona o controle do processo inflamatório aumentando a via produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e TGF- β . Dessa forma, essas citocinas podem reduzir a progressão da DRC e auxiliar na regeneração do parênquima renal (OLIVEIRA *et al.*, 2011; STEEN *et al.*, 2019). A IL-10, por sua vez, é produzida pelos linfócitos do tipo TCD8+ de modo majoritário. Sua função é inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias. Frente a isso, suprime a formação da subpopulação Th1, proporcionando a supressão de macrófagos e conseqüentemente, tendo efeito anti-inflamatório e pró-resolutivo. Nas lesões renais, a IL-10 parece ter efeito protetivo, uma vez que modula a resposta anti-inflamatória em macrófagos, controlando a progressão da DRC, preservando o parênquima e a função renal (VARELLA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011; JUNIOR *et al.*, 2015; STEEN *et al.*, 2019).

Portanto, a determinação dos níveis séricos da IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10 agregaria conhecimentos para a elucidação do perfil inflamatório na DRC em pacientes pediátricos viabilizando uma possível descrição do papel dessas citocinas nos contextos inflamatório, fibrótico, controlador e/ou regenerativos e por fim culminar com a identificação de possíveis vias e alvos farmacológicos para o controle e progressão da DRC.

Ademais, torna-se relevante a avaliação do processo inflamatório de caráter sistêmico, por meio das relações obtidas dos parâmetros do hemograma, como a Relação neutrófilo-linfócito (RNL), Relação neutrófilo-linfócito derivado (dRNL),

Relação linfócito-monócito (RLM) e o Índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Doença renal crônica

A DRC é considerada um dos principais problemas de saúde pública no mundo e segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia (2018), apresenta grandes chances de se manifestar em maiores proporções nos próximos anos. No Brasil em 2018, 133.464 pacientes foram submetidos aos serviços de diálise, sendo admitidos nos centros de diálise, 42.546 novos pacientes. A prevalência de pacientes em diálise é de 640 pacientes por milhão de população (pmp) e a incidência de 204 pmp; incluindo crianças e adultos. Segundo censo realizado pela Sociedade Brasileira de Nefrologia (2018), a DRC pode ser apontada como epidêmica, pois afeta 1 a cada 10 indivíduos. No ano de 2017 a estimativa de pacientes submetidos a TRS foi de 126.583 e de 133.464 em 2018, apresentando prevalência de 610 e 640 pmp respectivamente (SBN, 2018; THOMÉ *et al.*, 2019; NEVES *et al.*, 2020).

A doença pode ter causas subjacentes como hipertensão arterial sistêmica igual ou superior a 140/90 mmHg, diabetes *mellitus* do tipo 1 ou 2, doenças obstrutivas, obesidade com índice de massa corporal (IMC) igual ou acima de 30 kg/m², histórico de DRC familiar, doenças coronarianas, insuficiência cardíaca, doença vascular periférica, tabagismo e uso de agentes nefrotóxicos como alguns medicamentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; BARRETO *et al.*, 2014; VIANNA *et al.*, 2011; BASTOS *et al.*, 2011).

A DRC inicia com a diminuição da filtração glomerular até progredir para insuficiência renal terminal, onde os rins tornam-se afuncionais. Com a perda de função inicial, os néfrons remanescentes aumentam suas atividades a fim de manter o equilíbrio homeostático do organismo. Portanto, com o comprometimento da filtração glomerular, a capacidade de concentrar e diluir a urina não ocorre de modo eficaz, fazendo com que a osmolaridade urinária seja próxima à do plasma, entre

275 a 295 mOsm/kg e o volume urinário não seja correspondente à ingestão de líquidos (RENNKE, 2009; MANUAL MERK. SHARP & DOHME, 2020).

Na prática clínica, o diagnóstico da DRC é dado pela depuração renal a qual é determinada pela taxa de filtração glomerular (TFG) categorizada em TFG alterada, TFG normal ou próxima do normal, porém com apontamento de dano renal por meio de exames de imagem (MOTTA, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

De acordo com a *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) (2013) o diagnóstico da DRC pode ser determinado mediante a presença de qualquer um dos critérios como; a presença de marcadores de lesão renal, albuminúria acima de 30mg/g, anormalidades no sedimento urinário, alterações em exames histopatológicos e exames de imagem, histórico de transplante renal, TFG abaixo de 60 mL/min/1,73m². A confirmação da DRC em adultos pode ser através da determinação da TFG com valores entre (45 e 59 mL/min/1,73m²) sem a necessidade de exames para avaliação do parênquima renal. A TFG pode ser determinada pela dosagem da creatinina ou da cistatina C. Porém o uso desta, ainda não é recomendado devido ao alto custo e a potencial falta de padronização do teste entre laboratórios (KDIGO, 2013; KIRSZTAJN *et al.*, 2014).

A depuração renal consiste na remoção de uma substância do sangue circulante. Essa remoção pode ser medida em termos de fluxo de volume plasmático que conteria uma quantidade da substância removida por unidade de tempo medida em mL / min. A medida da depuração de creatinina que é usada para determinar a TFG. A depuração de uma substância é determinada por uma fórmula geral, $C = UV/P$, onde; U é a concentração da substância na urina, V é o volume de urina por unidade de tempo em mililitros, P é a concentração plasmática da substância e C é a depuração em mL / min.

A substância utilizada como escolha para determinação da filtração glomerular deve ser uma que não seja reabsorvida nem secretada pelos túbulos renais e que a concentração plasmática seja igual à do ultrafiltrado. Uma das substâncias que se aproxima desses requisitos é a creatinina, sendo um produto natural do metabolismo, fácil de ser analisada, produzida em taxas constantes e eliminada somente por ação renal. A concentração sérica de creatinina e sua excreção são proporcionais à massa muscular de um indivíduo, portanto, a TFG

costuma ser expressa em relação à superfície corporal do indivíduo (1,73m²). Mesmo se enquadrando como analito de escolha para determinação do *status* da função renal; a dosagem da creatinina também apresenta desvantagem, pelo fato da mesma sofrer variações influenciadas pela alimentação, massa muscular, gênero, idade, atividade física e uso de fármacos como Digoxina, Vitamina D, Levodopa, dentre outros (HALL *et al.*, 2011; MOTTA, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2015; DUSSE *et al.*, 2017)

Para determinar a TFG deve-se utilizar a seguinte fórmula, corrigindo-a com a superfície corporal do paciente (SC):

$$\frac{U \times V}{P} \times 1,73 = \text{mL/min. de plasma depurado}$$

Onde:

U = Concentração urinária de creatinina em mg / dL.

V = Volume urinário por minuto (volume em mL dividido por 1.440).

P = Concentração de creatinina no plasma ou soro em mg / dL.

A superfície corporal é obtida em metros quadrados; 1,73 (valor médio para superfície corporal do adulto). Conforme disponibilizado pela Sociedade Brasileira de Nefrologia (2020) o cálculo de superfície corporal de DUBOIS e colaboradores (1916) pode ser obtido pela fórmula:

$$SC \text{ m}^2 = 0,007184 \times (\text{altura em cm})^{0,725} \times (\text{Peso em kg})^{0,425}$$

Onde: SC = Superfície corporal.

Portanto a fórmula para determinação da TFG corrigida, se apresenta da seguinte forma:

$$\frac{U \times V}{P} \times \frac{1,73}{SC} = \text{ml/min. de plasma depurado corrigida}$$

Segundo o MINISTÉRIO DA SAÚDE (2014), o indivíduo é considerado portador de DRC, não importa a causa, se apresentar TFG abaixo de 60 mL/min/1,73m² em três meses consecutivos associada a algum marcador de lesão

renal ou apresentar irregularidades em exames de imagem. Os valores de referência para TFG são apresentados na **tabela 1**.

Tabela 1 - Valores de referência taxa de filtração glomerular (mL / min / 1,73m²)

Idade	Homens	Mulheres
1 semana	26 a 55	
2 a 8 semanas	41 a 91	
Acima de 8 semanas	74 a 117	
2 a 12 anos	106 a 160	
13 a 20 anos	110 a 170	104 a 148
20 a 30 anos	88 a 146	81 a 134
30 a 40 anos	82 a 140	75 a 128
40 a 50 anos	75 a 133	69 a 122
50 a 60 anos	68 a 126	64 a 116
60 a 70 anos	61 a 120	58 a 110
70 a 80 anos	55 a 113	52 a 105

Fonte: (Adaptado de MOTTA, 2009; SOARES, 2008)

Para que os pacientes recebam tratamentos de modo mais adequado, seguido do diagnóstico da DRC é necessária uma classificação de acordo com os estágios da progressão da DRC, ou seja, de acordo com a evolução da doença. Essa classificação viabiliza a tomada de decisões no que diz respeito ao encaminhamento dos pacientes aos serviços de referência e para o especialista. Então, para fins de organização de atendimento e tratamento, o paciente com DRC é classificado em estágio 1 a 3 sendo conservador, pré-diálise quando 4, 5-ND não dialítico (ND) e 5-D quando dialítico (D), tendo este que ser submetido à TRS. TRS é um termo utilizado para abranger os tratamentos da insuficiência renal que incluem hemodiálise, diálise peritoneal, hemofiltração e transplante renal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Os estágios da DRC são determinados com a avaliação da TFG, conforme o **Quadro 1**.

Quadro 1 – Classificação dos estágios da Doença renal crônica

Estágio da DRC	Descrição	TFG mL/min/1,73m ²
1	TFG normal ou aumentada	Acima de 90
2	Lesão renal com TFG levemente reduzida	Entre 60 e 89
3 a	Lesão renal com TFG leve a moderadamente reduzida	Entre 45 e 59
3 b	Lesão renal com TFG moderada a intensamente reduzida	Entre 30 e 44
4	Lesão renal com TFG intensamente reduzida	Entre 15 e 29
5	Falência renal	Abaixo de 15

Fonte: (Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; NOGUEIRA et al., 2016; MANUAL MERK. SHARP & DOHME, 2020; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2020). TFG = Taxa de Filtração Glomerular, DRC = Doença renal crônica.

Conforme a KDIGO (2013), a DRC deve ser classificada de acordo com a TFG associada à albuminúria. Esses dois parâmetros são utilizados para categorizar a doença quanto à etiologia/tratamento e projeção de riscos associados. De acordo com a TFG os estágios de DRC variam entre 1 e 5 onde cada variável é associada à uma etiologia. Quanto aos valores laboratoriais da albuminúria, sua categorização varia entre A1 e A3. A classificação da DRC de acordo com a KDIGO pode ser observada no **Quadro 2**.

Quadro 2 - Classificação da Doença renal crônica baseado na Taxa de filtração glomerular e albuminúria

Causa	Categori a	TFG mL/min/1,73m ²	Albuminúria (mg/g de creatinina)		
			A1 (<30)	A2 (30-300)	A3 (>300)
Doença glomerular	1	≥90			

Doença túbulo-intersticial	2	60 a 89	-	+	++
Doença vascular	3a	45 a 59	+	++	+++
	3b	30 a 45	++	+++	+++
Doença congênita	4	15 a 29	+++	+++	+++
Doença cística	5	<15	+++	+++	+++

Fonte: (Adaptado de KDIGO, 2013; KIRSZTAJN et al., 2014; PORTO et al., 2017). TFG = Taxa de Filtração Glomerular, - = baixo risco, + = risco moderado aumentado, ++ = alto risco, +++ = muito alto risco.

2.1.1. Doença renal crônica na Infância

A população pediátrica corresponde a um número menor de pacientes com DRC do que adultos. Conforme INGELFINGER e colaboradores (2016), a frequência varia entre 15 a 74 crianças por milhão, enquanto em adultos, de acordo com MARINHO e colaboradores (2017) cerca de 3 a 6 milhões de brasileiros adultos possuem algum grau da DRC. Conforme a Sociedade Brasileira de Nefrologia (2020), o número de pacientes pediátricos que realiza a TRS, resulta em uma prevalência de 20 casos pmpic e incidência de 6,6 casos pmpic (SOARES *et al.*, 2008; INGELFINGER *et al.*, 2016; NOGUEIRA, *et al.*, 2016; SBN,2020).

As causas da DRC podem variar de acordo com a região demográfica, faixa etária da criança, mas certamente as maiores causas são: a *CAKUT*, doenças glomerulares e doenças hereditárias (BELANGERO, 2016).

A DRC na criança, assim como no adulto, promove anormalidades estruturais e funcionais, com perda progressiva da função renal. A sugestão da cronicidade é a perda de função determinada por lesão renal medida por alterações bioquímicas (uréia, creatinina e albuminúria) acompanhadas de exames de imagem ou redução da TFG (abaixo de 50 ou 60 mL/min/SC em três meses) (BASTOS *et al.*, 2010; BELANGERO, 2016; MORAES E SILVA, 2016).

A frequência da DRC em crianças pode ser subestimada, uma vez que a maioria dos casos é diagnosticada entre os estágios 3 e 5, nos quais a criança já

está próxima de alcançar a idade adulta ou por subnotificação dos serviços de diálise (MOREIRA, 2015).

A perda da função renal progressiva é causada primariamente por injúria tissular seguida de reação inflamatória que proporciona uma formação fibrótica que substitui os néfrons por tecido cicatricial afuncional. À medida que o processo de fibrose avança, ocorre o avanço da DRC para o estágio final, levando à glomeruloesclerose (esclerose glomerular) e fibrose tubulointersticial, independente do mecanismo primário que desencadeou a lesão renal (REENKE *et al.*, 2009; VIANNA *et al.*, 2011; MORAES E SILVA, 2016).

A progressão da DRC provoca alterações metabólicas, assim como, desordens minerais e ósseas interferindo no metabolismo da vitamina D, do fósforo e do cálcio. Além disso, essas condições associadas ao processo inflamatório suprime a secreção do paratormônio (PTH) por interferência da IL-1 e da IL-6. Na redução do PTH ocorre o aumento da perda cálcica pela via renal e conseqüente redução da renovação da matriz óssea. (BECHERUCCI *et al.*, 2016; AKCHURIN *et al.*, 2015).

Os pacientes pediátricos portadores de DRC podem ter o crescimento comprometido pela redução do GH em detrimento dos processos inflamatórios, uma vez que a produção de um conjunto de citocinas pode alterar o metabolismo endócrino. Anemia, hipertensão, risco de DCV e dificuldades respiratórias são observadas nas crianças portadoras de DRC, igualmente em adultos (RIYUZO *et al.*, 2003; MORAES E SILVA, 2016).

A redução dos índices hematimétricos, como contagem de eritrócitos, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) são decorrentes da redução da produção da eritropoietina (EPO) nas doenças renais, assim como a resistência da mesma frente à inflamação. Além disso, o acúmulo de metabólitos séricos, como a uréia, leva o organismo ao estresse oxidativo, influenciando a ativação de um estado pró-inflamatório generalizado. Ademais, as crianças estão mais vulneráveis a sofrer com os impactos psicossociais, culminando na alteração de sua qualidade de vida e, indiretamente, na de seus familiares (RIYUZO *et al.*, 2003; MORAES E SILVA, 2016; AKCHURIN *et al.*, 2015).

Quando há suspeita de DRC na infância, deve-se investigar os antecedentes familiares, atentando-se para alterações nos exames de imagem no pré-natal, antecedentes de infecções no trato urinário (ITU) nas crianças, pesquisa de casos de *CAKUT* ou de DRC na família. Pacientes pediátricos com DRC podem apresentar poucos sintomas em longos períodos, por isso é necessário realizar pesquisas por meio de exames de rotina e outras avaliações e não apenas diante de algum sinal ou sintoma clínico. A **figura 1** mostra os sinais que podem estar relacionados à DRC em crianças (BELANGERO, 2016).

Figura 1 - Sinais de alerta relacionados a DRC na infância



Fonte: Adaptado de SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO, 2017.

Os responsáveis pelas crianças, assim como os pediatras, devem atentar para sinais como, edema, vômitos frequentes, infecções urinárias recorrentes, atraso no

crescimento, alterações ósseas, alterações na cor e aspectos da urina, alterações miccionais e variações na pressão arterial (BELANGERO, 2016; SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO, 2017).

Exames de urina rotina, devem ser realizados a cada fase da infância. Nos casos de DRC é comum encontrar presença transitória de hematúria e/ou leucocitúria e com maior frequência, a presença de proteinúria e aumento da relação albumina/creatinina (RAC) (BELANGERO, 2016; SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SP, 2017).

Em lactentes com DRC, tendo como causa as *CAKUT*, manifestações como ITU e distúrbios hidroeletrólíticos são os mais comuns, sendo ITU um motivo para pesquisa de função renal e de *CAKUT*. Esses pacientes apresentam poliúria, defeitos na concentração urinária, tendência a desidratação, hiponatremia e hiperpotassemia por insensibilidade a aldosterona. Nessa faixa etária também podem ocorrer as tubulopatias, que por sua vez, provocam manifestações clínicas como retardo no crescimento, aumento da sede, vômitos e perda de peso (BELANGERO; BECHERUCCI *et al.*, 2016).

Nas fases pré-escolar e escolar, pacientes que estejam em estágios avançados da DRC (4 e 5) apresentam retardo no crescimento, deformidades ósseas, anemia, cefaleia, vômitos e variação na pressão arterial (PA). São frequentes também alterações miccionais e constipação intestinal. Na adolescência, edemas, alterações físico-químicas e macroscópicas urinárias e aumento da PA são manifestações frequentes (BELANGERO, 2016).

2.1.2. Etiologia da DRC na Infância

Frequentemente, em adultos, as principais causas da DRC são diabetes *mellitus* e hipertensão arterial, ao passo que em crianças e adolescentes há o predomínio de causas congênitas como as anormalidades na anatomia do trato urinário e as disfunções glomerulares, respectivamente (SOARES *et al.*, 2008; INGELFINGER *et al.*, 2016; NOGUEIRA *et al.*, 2016; BELANGERO *et al.*, 2018).

As *CAKUT* podem ter causas variadas, porém fatores genéticos têm sido majoritariamente apontados como etiologia. Alterações cromossômicas e mutações hereditárias em genes que regulam o desenvolvimento do sistema urinário, são apontadas como causas subjacentes da malformação do trato urinário (NOGUEIRA *et al.*, 2016).

Na categoria *CAKUT*, são incluídas as hipoplasias e displasias renais, assim como as uropatias obstrutivas. As glomerulopatias pediátricas são causadas por defeitos genéticos nos podócitos (estruturas de corpo celular acopladas em partes dos glomérulos para evitar a passagem de proteínas do sangue para a luz do espaço de *Bowman*). Causas não usuais são os distúrbios metabólicos hereditários como hiperoxalúria, cistinose e síndrome hemolítico-urêmica (SHU) (INGELFINGER *et al.*, 2016; BELANGERO *et al.*, 2018; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2020). A **tabela 2** divide as etiologias e suas frequências.

Tabela 2 – Etiologias da DRC em crianças

Etiologia	Porcentagem
<i>CAKUT/MFTU</i>	48 a 59%
Glomerulopatias	5 a 14%
Hipertensão	10 a 19%
Doença cística	5 a 9%
Doença isquêmica	2 a 4%
SHU	2 a 6%

Fonte: (Adaptado de INGELFINGER *et al.*, 2016; SBP, 2020). *CAKUT* = *Congenital anomalies of the kidneys and the urinary tract*; *MFTU* = Malformações do Trato Urinário; SHU = síndrome hemolítico-urêmica.

Nos lactentes e pré-escolares a causa da DRC predominante são as *CAKUT*, com grande frequência de rins hipoplásicos e displásicos. Já as glomerulopatias, as uropatias e doenças adquiridas como SHU, estão entre os principais fatores para

DRC em escolares e adolescentes (BELANGERO, 2016; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2020).

Considera-se que as ITU recorrentes podem estar relacionadas às *CAKUT* propiciando a evolução da DRC (BELANGERO, 2016).

2.1.3. Diagnóstico da DRC na Infância

O diagnóstico e a classificação do estágio da DRC na infância ocorrem pela solicitação de medida da TFG. Entretanto, existem dificuldades para alcançar a fidedignidade da TFG em crianças menores de dois anos de idade, por conta da dificuldade de realizar o procedimento de coleta de urina 24 horas, já que toda micção deve ser abrigada no frasco 24 horas. Pelo fato da coleta de urina 24 horas ser um fator limitante, a TFG é feita através de cálculos matemáticos que relacionam a altura da criança em centímetros com a taxa da concentração de creatinina plasmática. Existem várias maneiras de determinar a TFG relacionando a creatinina corrigida para sexo, massa corporal e idade (MORAES E SILVA, 2016).

Para determinação da TFG em crianças, conforme a SBPC/ML (2015), a KDIGO (2013) e a Sociedade Brasileira de Pediatria (2020) é recomendado o uso da fórmula de *Schwartz* simplificada, já atualizada para os métodos calibrados contra espectrometria de massa com diluição isotópica (IDMS) e Jaffé. O emprego dessa técnica pode ser realizado à beira do leito.

Fórmula de *Schwartz*:

$$TFG = K \times \frac{\text{Altura (cm)}}{\text{Creatinina sérica (mg/dL)}}$$

K pode variar de acordo com a técnica utilizada para determinar a concentração da creatinina. Caso a técnica aplicada seja de picrato alcalino (Jaffé), K deve ser substituído por 0,33 se o paciente tiver menos de 1 ano de idade; 0,45 com mais de 1 ano de vida e lactente; 0,55 se forem crianças em idade escolar e 0,70 somente adolescentes do sexo masculino. Caso seja a técnica de Calibração Rastreável ao IDMS, K deve ser substituído por 0,413 se o paciente portar idade

entre 1 e 16 anos; 0,34 para acima de 1 ano de vida e lactente e 0,25 se o bebê tiver menos de 1 ano de vida. (KDIGO, 2012; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2020).

Para métodos não calibrados contra calibradores rastreáveis a método IDMS, pode-se usar a fórmula de Counahan & Barratt.

Fórmula de Counahan & Barratt:

$$TFG = 0,43 \times \frac{\text{Altura (cm)}}{\text{Creatinina sérica (mg/dL)}}$$

O monitoramento da TFG é um ponto chave na avaliação da função renal desses pacientes, evidenciando a massa renal funcionante e mensurando relativamente a quantidade de néfrons e/ou redução da filtração glomerular.

2.1.4. Progressão e manejo da DRC na Infância

O manejo de crianças com DRC representa um desafio, por estarem em fase de crescimento, desenvolvimento neurológico, emocional e social. Além disso, pode-se somar a escassez dos dados referente a DRC na infância, a dificuldade do diagnóstico e o e a deficiência de acesso a serviços de saúde especializados, bem como o desenvolvimento econômico e sociopolítico do país (SOARES *et al.*, 2008; INGELFINGER *et al.*, 2016; NOGUEIRA, *et al.*, 2016; SBN,2020).

Diante do exposto, existem variados fatores que necessitam ser analisados para propor melhores tratamentos para pacientes infantis portadores da DRC, como adequação da diálise e transplante renal (SOARES *et al.*, 2008; NOGUEIRA *et al.*, 2016). Ademais, é necessário que haja uma reavaliação do manejo clínico, pois o conjunto de medidas adotadas são os mesmos aplicados em paciente adultos com DRC, uma vez que, valores de referência para TFG é variada nos estágios da vida (SOARES *et al.*, 2008; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020). O **Quadro 3** mostra o manejo e recomendações clínicas que devem ser seguidos de acordo com o estágio da DRC apresentado pelo paciente.

Quadro 3 – Manejo do paciente portador da DRC de acordo com estágio

Estágios DRC/Manejo Clínico	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3A	Estágio 3B	Estágio 4	Estágio 5 – ND	Estágio 5 – D
Status da TFG mL/min/1,73m ²	≥ 90	≥ 60 a 89	≥ 45 a 59	≥ 30 a 44	≥ 15 a 29	< 15	
Monitoração da Glicemia	X	X	X	X	X	X	X
Hemoglobina glicada se DM	X	X	X	X	X	X	X
Controle da PA	X	X	X	X	X	X	X
Avaliação lipídica	X	X	X	X	X	X	X
Avaliação do IMC	X	X	X	X	X	X	X
Monitoração e avaliação da TFG	X	X	X	X	X	X	X
Avaliação EAS	X	X	X	X	X	X	X
Avaliação da RAC		X	X	X	X	X	X
Uso de IECA/BRA se RAC alterada		X	X	X	X	X	X
Dosagem de Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , P e PTH			X	X	X	X	X
Sorologia (AgHbs, Anti-HBc IgG e Anti-HBs)			X	X	X	X	X
Determinação da hemoglobina				X	X	X	X
Determinação do hematócrito				X	X	X	X
Dosagem da ferritina				X	X	X	X
Determinação do IST				X	X	X	X
Dosagem de proteínas totais e frações				X	X	X	X
Dosagem de uréia e creatinina					X	X	X
Deter. atividade da fosfatase alcalina					X	X	X

Gasometria					X	X	X
Dosagem de vitamina D						X	X
Dosagem do alumínio							X
Determinação do TSH e T4							X
Sorológico anti-HIV							X
Raio x de tórax							X
Ultrassonografia renal							X
Ultrassonografia de vias urinárias							X
Eletrocardiograma							X
TRS							X
Acompanhamento UBS	X	X	X	X	X		
Acompanhamento Especializado				X	X	X	X

Fonte: (Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). DRC = Doença renal crônica; TFG = Taxa de filtração glomerular; DM = Diabetes mellitus; PA = Pressão arterial; Na⁺ = Sódio; K⁺ = Potássio; Ca²⁺ = Cálcio; P = fósforo; PTH = Paratormônio; IMC = Índice de massa corporal; EAS = Elementos anormais da sedimentação; RAC = Relação albumina-creatinina; IECA = Inibidores da enzima conversora de angiotensina; IST = Índice de saturação da transferrina; T4 = Tiroxina 4; TRS = Terapia renal de substituição; UBS = Unidade básica de saúde.

2.2. Inflamação na doença renal crônica

A inflamação como parte essencial da DRC foi reconhecida no final da década de 1990. Ela foi associada às doenças cardiovasculares na DRC, ao aumento do gasto de energia pela via do consumo de proteínas e mortalidade. Nos últimos 20 anos, houve um crescimento exponencial do interesse na inflamação associada à DRC e à doença renal crônica terminal (DRCT), fato que gerou sua associação a fatores de morbidade e mortalidade. Diante de uma agressão tecidual, independente do estímulo, ocorre a ativação do processo inflamatório. Essa resposta é mediada por inúmeras substâncias que são produzidas e liberadas por células lesionadas e por células do sistema imunológico (VIANNA *et al.*, 2011; AKCHURIN *et al.*, 2015).

O equilíbrio entre a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias determina a intensidade da resposta inflamatória dentro de um limite fisiológico e patológico. No desenrolar da doença renal, mediante injúrias, ocorre a liberação de DAMP's (*Damage associated molecular patterns*) que são padrões moleculares de origem celular que sinalizam um processo lesivo. Esses DAMP's são capazes de ativar a imunidade inata viabilizando o processo inflamatório, ativando e atraindo leucócitos (RAJ *et al.*, 2020).

Uma ativação intensa frente às injúrias teciduais repetidas, promove um extenso processo inflamatório que pode favorecer a instalação e a progressão DRC. Ademais, pode ocorrer a perda da tolerância periférica aos componentes do próprio tecido, os quais se tornam antigênicos, desencadeando um processo de autoimunidade e inflamação crônica. Esse processo é contínuo até a completa destruição e perda do tecido com substituição cicatricial (VIANNA *et al.*, 2011; AKCHURIN *et al.*, 2015; FEISTAUER *et al.*, 2017).

A ação imunitária nos rins o protege contra infecções, porém processos inflamatórios não controlados levam às lesões parenquimatosas. Os rins são órgãos imunologicamente distintos devido a sua baixa capacidade de regeneração, presença de substâncias tóxicas como a ureia, considerável hipóxia e alta pressão arterial (BISWAS, 2019).

Estudos sugerem que existe uma correlação inversa entre a TFG e a inflamação, onde biomarcadores inflamatórios como a IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , TNF- γ , proteína C reativa (PCR) e fibrinogênio apresentam concentração plasmática superior associada à redução da função renal, ou seja, quanto maior o processo inflamatório menor a capacidade de filtração glomerular. Conseqüentemente, com a perda progressiva da função renal, instala-se o processo urêmico, sendo este também um fator adicional ao processo inflamatório (AKCHURIN *et al.*, 2015; RAJ *et al.*, 2020).

Durante o processo de lesão de células tubulares, ocorre a liberação de citocinas como a IL-6, inicializando um processo inflamatório com conseqüente aumento intersticial da IL-1 e da própria IL-6 causando a redução de citocinas de caráter anti-inflamatório como a IL-4 e a IL-10. O aumento das citocinas pró-inflamatórias, proporciona a transição das células epiteliais tubulares a células

mesenquimais como os miofibroblastos. Estes por sua vez produzem colágeno que se deposita no sítio de lesão comprometendo a função nefrológica. A IL-6 está elevada nos pacientes pediátricos com DRC em estágio final em comparação com os estágios iniciais (GUZZI *et al.*, 2019; RAJ *et al.*, 2020).

Diferentes biomarcadores possuem valores preditivos na DRC/DRCT tanto em adultos como em crianças. A PCR é uma proteína de origem hepática que se apresenta aumentada na corrente sanguínea de forma inespecífica mediante processos infecciosos e inflamatórios e parece assumir valor preditivo para mortalidade de modo preciso quando comparada à albumina, ferritina e contagem de leucócitos em pacientes com DRCT. Porém, quando se trata de riscos cardiovasculares na DRC, a IL-6 assume valores preditivos para mortalidade melhores do que a PCR e outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF- α e a IL-18 (AKCHURIN *et al.*, 2015).

Outras moléculas que ganharam atenção na DRC, são as adipocinas como, leptina, apelina, omentina, visfatina e a resistina. De acordo com AKCHURIN e colaboradores (2015) a DRC está associada aos elevados níveis séricos de leptina, associando-a à síndrome metabólica principalmente a partir do segundo estágio da DRC.

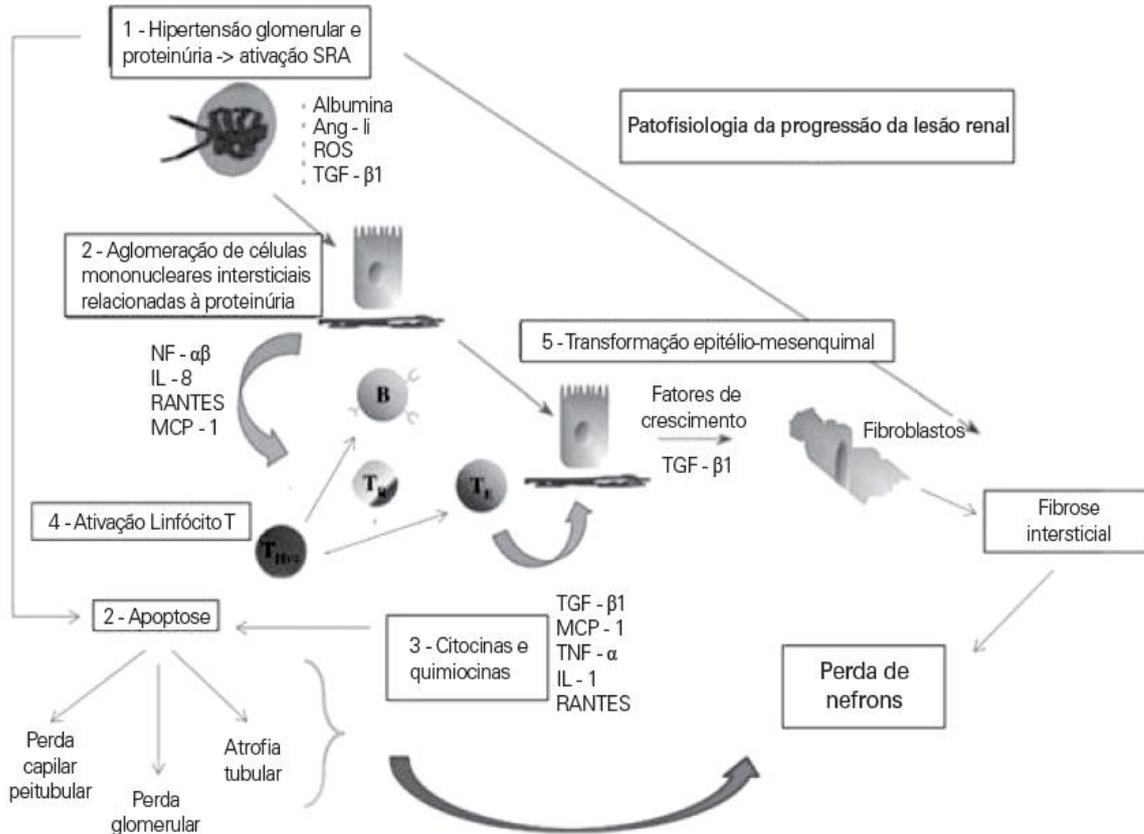
A persistência da inflamação ao longo da DRC assim como na DRCT não está associada somente às DCV e aterosclerose, mas à má-nutrição devido aumento do gasto de energia pela via do consumo de proteínas, do inglês *malnutrition/protein-energy wasty* (PEW). A hipoalbuminemia é um marcador fortemente associado à mortalidade em pacientes DRCT, entretanto, sua associação com o processo inflamatório para justificar o gasto de energia e o consumo de proteínas necessita de elucidações. A produção de citocinas pró-inflamatórias podem causar anorexia pela ação no sistema nervoso, onde a IL-6 está associada à depressão na DRC/DRCT, sendo preditora de morbimortalidade pela redução da ingestão de nutrientes (AKCHURIN *et al.*, 2015).

A elevada presença de IL-1 e IL-6 é capaz de suprimir a secreção do PTH, comprometendo a mobilização do cálcio ósseo, a reabsorção de cálcio, a eliminação de fosfato e a redução na produção de vitamina D, acarretando em má-nutrição com caquexia e em doença de baixa renovação óssea. A anemia pode ser justificada

pela resistência à EPO na condição inflamatória frente a DRC, bem como o comprometimento de sua produção frente à DRC (AKCHURIN *et al.*, 2015).

Na DRC com etiologia nas *CAKUT* e uropatias obstrutivas, o processo inflamatório coopera na progressão da lesão renal. Nesse caso, a presença da obstrução ocasiona aumento do diâmetro dos túbulos renais e proliferação das células tubulares, as quais sofrem um estiramento que impulsiona o recrutamento de células inflamatórias e liberação de IL-1, IL-8, TNF- α , TGF- β 1 no parênquima renal. Em seguida, ocorre a apoptose de células tubulares e das células do compartimento intersticial. As células tubulares e intersticiais que não sofrerem apoptose passam pela transição epitelial-mesenquimal, tornando-se fibroblastos. Inicia-se, então, a proliferação dos fibroblastos que passam a sintetizar o colágeno, levando a fibrose renal. Já nas doenças renais com acometimento glomerular, a lesão promove o aumento da PA e do TFG, forçando a passagem de proteínas para o ultrafiltrado; a proteinúria ativa o sistema renina angiotensina-aldosterona (SRAA) e a angiotensina II provoca a liberação de mediadores inflamatórios fazendo com que linfócitos e monócitos se acumulem no interstício renal induzindo a uma resposta imune indutora de nefrite intersticial. Diante disso, as células tubulares renais reagem a esse processo inflamatório com lesão de membrana basal, transformando-se em fibroblastos. Estes por sua vez, produzem colágeno caracterizando também o desenvolvimento fibrótico renal (**Figura 2**) (CHEVALIER *et al.*, 2009; VIANNA *et al.*, 2011; KRANE *et al.*, 2011; NORLANDER *et al.*, 2014; ABREU *et al.*, 2017; RAJ *et al.*, 2020).

Figura 2– Processo inflamatório: células e citocinas envolvidas na progressão da DRC com formação da fibrose renal



Processo ilustrativo de lesões renais mediadas pelo Sistema renina angiotensina, com produção de citocinas inflamatórias e desenvolvimento da fibrose renal.

SRA: Sistema Renina Angiotensina; Ang II: Angiotensina II; ROS: Espécimes reativas de oxigênio; TGF-β1: Fator de crescimento transformador beta 1; IL-8: Interleucina 8; RANTES: Quimiocina ligando 5 (CCL5); MCP-1: Quimiocina de monócito 1 (CCL2); IL-1: Interleucina 1; TNF-α: Fator de necrose tumoral alfa.

Fonte: (VIANNA *et al.*, 2011)

O sistema imunológico lidera o terceiro lugar no consumo de energia do organismo humano, ficando atrás do sistema nervoso e muscular. Esse consumo de reservas para produção proteica, associado ao processo inflamatório gera proteases e espécies reativas de oxigênio (ROS). Estas são capazes de clivar as proteínas de função inflamatório e/ou regulatória, reduzindo assim a sua biodisponibilidade (VIANNA *et al.*, 2011; KRANE *et al.*, 2011; AKCHURIN *et al.*, 2015).

De acordo com DHABHAR (2014), o estresse orgânico crônico, é capaz de suprimir ou exacerbar uma resposta imunopatológica, alterando o balanço imunológico entre o perfil de citocinas do tipo 1 e 2, induzindo de forma latente a inflamação crônica. Esse estresse pode ser consequência do estado emocional, alterações da PA, alterações hormonais ou a ocorrência de injúrias celulares

latentes com liberação de DAMP's. Ocorre então a alteração de perfil das citocinas e da distribuição celular imune. Conseqüentemente, o estresse contínuo pode acabar minimizando a função imune pró-inflamatória e induzindo a considerável imunossupressão; a fim de conservar energia que poderia ser gasta contra um agente agressor insurgente. Mediante isso, instala-se uma resposta inflamatória crônica de baixo grau, latente e não-resolvida, com conseqüente migração sistêmica de mediadores inflamatórios e aumento local ou aumento sistêmico de tais mediadores como IL-6 e PCR por exemplo (DHABHAR, 2014).

Sendo assim, de acordo com VIANNA e colaboradores (2011) e RAJ e colaboradores (2019) a resposta inflamatória no parênquima renal é complexa, apresentando dualidades, dependendo de fatores intrínsecos relacionados a cada paciente, como aspectos genéticos, imunológicos, estilo de vida, estado clínico, associação com outras morbidades, adiposidade, sedentarismo, dentre outros.

2.2.1.1. Interleucina 17 na DRC

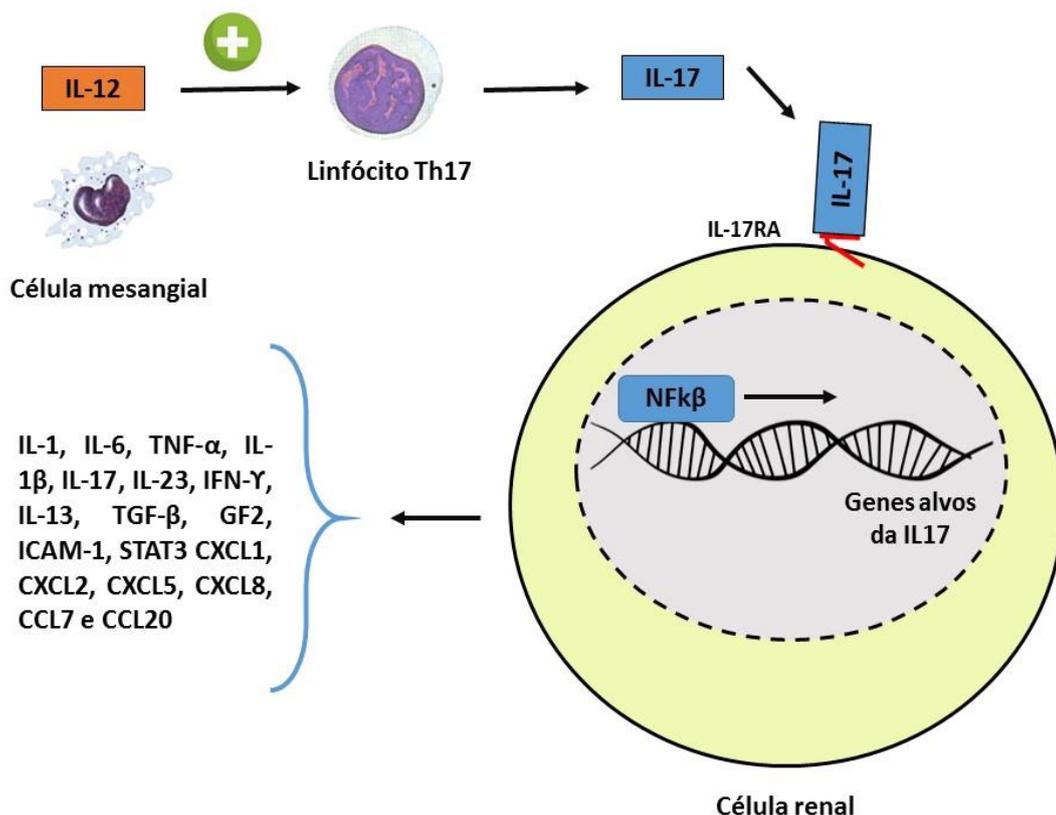
A Interleucina 17 (IL-17A) é uma glicoproteína de aproximadamente 35KDa, descoberta em 1999, pertence à família da IL-17 que possui 6 membros (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, também conhecida como IL-25 e IL-17F) produzida por linfócitos T da subpopulação Th17, sendo esses linfócitos a fonte majoritária de IL-17. Conforme AMATYA e colaboradores (2017), não somente os linfócitos T *helper* são capazes de produzir a IL-17 como também os linfócitos TCD8+ pela subpopulação Tc17. Alguns estudos mostraram que a IL-17 também pode ser produzida por linfócitos NK (*natural killer*), macrófagos e pelas células de *Paneth* (células do intestino delgado) (NORMANTON *et al.*, 2013; AMATYA *et al.*, 2017; McGEACHY *et al.*, 2019; OREJUDO *et al.*, 2019).

As Interleucinas da família IL-17 parecem estar associadas à resposta pró-inflamatória, antigênica contra helmintos e alergias. A IL-17 também apresenta ação na resposta imunológica nas regiões de mucosa (McGEACHY *et al.*, 2019; OREJUDO *et al.*, 2019).

Conhecida nos últimos anos por sua principal característica pró-inflamatória, a IL-17 quando interage com seus receptores (IL-17RA, IL-17RC e TLR's) é capaz de

estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e moléculas de adesão via ativação do fator nuclear kappa beta (NF κ β) (complexo proteico que atua como fator de transcrição). Nessa resposta, ocorre a produção de um rol de citocinas como; IL-1, IL-6, TNF- α , IL-1 β ; IL-17, IL-23, IFN- γ , IL-13, TGF- β , Fator de crescimento 2 (GF2), ICAM-1, *Signal transducers and activators of transcription 3* (STAT3), CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8, CCL7, CCL20, conforme ilustra a **Figura 3**. Esse conjunto de citocinas são capazes de promover a atração de células como blastos, linfócitos T, macrófagos e neutrófilos para o sítio da inflamação/infecções e amplificação da ativação celular (JIN *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2011; McGEACHY *et al.*, 2019; BISWAS, 2019).

Figura 3 – Resposta inflamatória mediada pela IL-17: Citocinas produzidas por estímulo da IL-17



A IL-17 atua em seu receptor na célula, que por intermédio do NF κ β expressa os genes alvo para produção de outras citocinas.

IL-17RA: Receptor da IL-17; IL-1: interleucina 1; IL-6: Interleucina 6; TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa; IL-1 β : Interleucina 1 beta; IL-17: Interleucina 17; IL-23: Interleucina 23; IFN- γ : Interferon gama; IL-13: Interleucina 13; TGF- β : Fator de crescimento transformante beta; GF2: Fator de crescimento 2; ICAM-1: Molécula de adesão intercelular 1; STAT3: signal transducers and activators of transcription 3; CXCL1: Quimiocina CX 1; CXCL2: Quimiocina CX 2; CXCL5:

Quimiocina CX 5; CXCL8: Quimiocina CX 8; CCL7: Ligando de Quimiocina 7; CCL20: Ligando de Quimiocina 20.

Fonte: (Produzida pelo autor).

Evidenciou-se que, o estímulo para produção de IL-17 via Th17 seria a presença da IL-12 (expressa pelas células mesangiais), a própria IL-17 e as DAMP's. Entretanto, as ações imunológicas da IL-17, precisam ser mais elucidadas devido à sua atuação pleiotropica (McGEACHY *et al.*, 2019; BISWAS, 2019).

A IL-17 possui a função de proteger as regiões de mucosa e epitélio de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter rodentium* e *Klebsiella pneumoniae*, que podem provocar infecções na pele, no cólon e no pulmão, respectivamente, e também está envolvida no controle de infecções fúngicas (NORMANTON *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013). Pacientes que tenham a produção da IL-17 comprometida por alguma mutação genética no gene *STAT3* estão mais susceptíveis a desenvolver infecções por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Candida albicans* (JIN *et al.*, 2013). Conforme AMATYA e colaboradores (2017), na deficiência da IL-17, o organismo se torna vulnerável às infecções microbiológicas principalmente de etiologia fúngica. Em modelos murinos com deficiência da IL-17, induzida pelo uso de anticorpos anti-IL-17, foram observados o desenvolvimento da candidíase muco-cutânea crônica e de pneumonia causada por *Klebsiella pneumoniae*.

Por outro lado, uma grande produção da IL-17 pode resultar no excesso da ação pró-inflamatória, relacionada às injúrias tissulares e respostas auto-imunes. A ação aumentada da IL-17 tem sido relacionada com doenças auto-imunes como esclerose múltipla, artrite reumatoide, inflamações intestinais, encefalites, psoríase, dentre outras (JIN *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013; McGEACHY *et al.*, 2019).

As células Th17 podem ser mediadoras da injúria renal uma vez que no sítio de inflamação observa-se crescente aumento da IL-17. Esta é capaz de ativar as células epiteliais dos túbulos renais, as células musculares lisas dos vasos, as células endoteliais e fibroblastos. Assim, há ativação do fator NFκβ, que induz a produção de mediadores pró-inflamatórios como a IL-1β, TNF-α e Carreador mitocondrial de piruvato 1 (MPC-1), promovendo o processo inflamatório exacerbado e conseqüente infiltração neutrofílica. Curiosamente, a deficiência da IL-17 no

parênquima renal deixa o órgão susceptível às infecções fúngicas e bacterianas (NORMANTON *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013; JUNIOR *et al.*, 2015; BISWAS, 2019).

A síndrome nefrótica primária (PNS) é apontada como uma das causas de DRC na infância, sendo ela uma glomerulopatia. A PNS é consequente da morte precoce dos podócitos. Os níveis de IL-17 aumentados apresentam efeitos negativos nos podócitos como relatado no estudo de ZHAI e colaboradores (2020), que a sugere como protagonista em promover a morte prematura dos mesmos (WANG *et al.*, 2013; ZHAI *et al.*, 2020). Cumpre ressaltar que a redução do número de podócitos torna o glomérulo mais fenestrado o que promove a glomerulosclerose, a síndrome nefrótica e a proteinúria em crianças (WANG *et al.*, 2013).

De acordo com WANG e colaboradores (2013) pacientes pediátricos com síndrome nefrótica tanto inicial quanto avançada, apresentavam um maior número de linfócitos Th17 em circulação assim como uma maior quantidade da IL-17 detectada em biópsia renal dos rins do que o grupo controle.

O estudo conduzido por ZHAI e colaboradores (2020) revelou que em grupos de pacientes com PNS havia o aumento parenquimatoso renal da IL-17 determinado pela técnica de *Western Blot* (WB) e pela técnica de Transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) (detectando aumento do mRNA da IL-17) em relação ao grupo controle, e a variação da IL-17 acompanhava a gravidade da PNS de forma proporcional. Nesses pacientes foram encontrados podócitos na urina apresentando correlação positiva com a IL-17, sugerindo que a expressão da IL-17 no tecido renal está correlacionada com a injúria dos podócitos. Neste contexto, esses pesquisadores realizaram um estudo *in vitro* com podócitos, no qual foram injetados ao meio concentrações diferentes da IL-17, em que quanto maior a concentração de IL-17 disponibilizada no meio de cultura de podócitos, menor taxa de podócitos sobreviventes (ZHAI *et al.*, 2020).

A morte programada dos podócitos até então não havia sido elucidada, porém ZHAI e colaboradores (2020) sugerem que a IL-17 seja capaz de ativar nestas células a via apoptótica Fas/FasL/Caspases3-Caspase8 constatado pelo experimento com cultura de podócitos, onde as maiores concentrações de IL-17 injetadas revelaram o aumento da ativação da via (ZHAI *et al.*, 2020).

Como a IL-17 está associada a ativação do complexo NF κ B para modulação da resposta pró-inflamatória, a inibição desse complexo foi capaz de reduzir a apoptose precoce dos podócitos sendo possível suprimir essa via de ativação pela IL-17. De forma contrária, com a ativação dessa via foi possível acompanhar o aumento das citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β , TNF- α sugerindo modelação de uma resposta pró-inflamatória (ZHAO *et al.*, 2020).

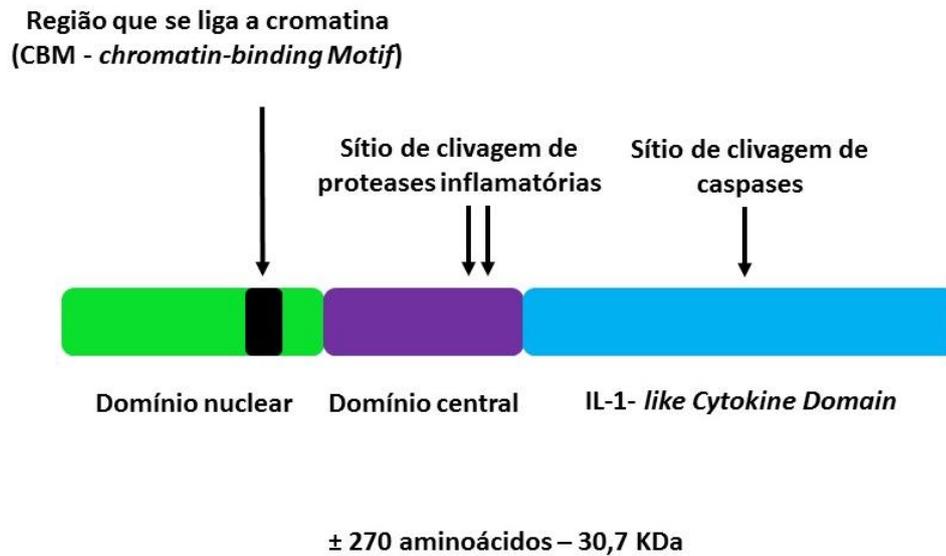
A expressão da IL-17 pode ser controlada por meio da ativação do Sistema Caliceína-cinina (KKS) onde, quando maior a concentração da IL-17 maior a ativação do sistema KKS, portanto o sistema KKS está envolvido no controle da disponibilidade da IL-17 por influenciar negativamente na produção da IL-17 pelas células Th17. (McGEACHY *et al.*, 2019; BISWAS, 2019).

Outro fator que regula a presença da interleucina de forma negativa é o MCP-1 *induced protein 1* (MCPIP1). O complexo MCPIP1 é uma potente endorribonuclease localizada no citoplasma e é responsável pela degradação do RNA mensageiro (mRNA) da IL-17, controlando indiretamente a expressão gênica da IL-17. O aumento da expressão do MCPIP1 é induzido pelo aumento da IL-17, funcionando como um feedback positivo. Conforme AMATYA e colaboradores (2017), uma deficiência no MPCIP1 poderia aumentar a expressão da IL-17 protegendo o indivíduo de infecções microbianas, porém seu excesso teria consequências como doenças autoimunes (AMATYA *et al.*, 2017; McGEACHY *et al.*, 2019; BISWAS, 2019).

2.2.1.2. Interleucina 33 na DRC

Descoberta em 2003, a IL-33 era tratada como uma proteína de ação nuclear, oriunda de células endoteliais venosas. Porém, sabe-se que ela é uma citocina membro da família das Interleucinas 1 e sua síntese se dá a partir de genes localizados no cromossomo 9 (9p24.1). Ela apresenta um peso molecular médio de 30 KDa, possuindo um domínio nuclear, um central e um domínio IL-1 - *like Cytokine Domain*, conforme ilustra a **figura 4**. Este último protege a molécula contra clivagem por caspases (CAYROL *et al.*, 2018).

Figura 4 – Representação dos domínios presentes na estrutura da IL-33



Fonte: (Produzida pelo autor).

A IL-33 é sintetizada principalmente por células endoteliais, epiteliais e fibroblastos durante os processos hemostáticos e inflamatórios. Além disso, é expressa de modo constitutivo em vários órgãos como coração, pulmões, pele, fígado, baço, linfonodos, apêndice, trato gastrointestinal (TGI), glândulas salivares, músculo esquelético, próstata, cólon, cérebro, rins e microcirculação glomerular. Sua ação ocorre via receptor de supressão de tumorigenicidade (ST2), também conhecido como IL-1RL1. O ST2 é comum em quase todas as células imunológicas, podendo ser citadas; eosinófilo, basófilo, monócito, neutrófilo, macrófago, células dendríticas, linfócitos T reguladores, Th1, Th2, linfócitos NK e linfócitos TCD8+ e linfócitos B (CAYROL *et al.*, 2018). Além disso, interage com o *IL-1- accessory protein receptor* (IL1-RAcP) (receptor de Interleucinas como IL-1 α , IL-1 β , e IL-36 (interleucina 36) (GUNGOR *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2017; VOLOSHYNA *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2016; CAYROL *et al.*, 2018).

A IL-33 está envolvida na ativação de quinases por meio da ativação do complexo nuclear NF κ B sendo caracterizada como uma citocina de caráter pleiotrópico, por ter ação em células em Th1 e Th2 e atuar nas doenças alérgicas, nas infecções e nas doenças inflamatórias crônicas. Anteriormente acreditava-se que a IL-33 estaria ligada somente a diferenciação dos linfócitos T pela via Th2,

porém de acordo com CAYROL e outros (2018) a IL-33 também está relacionada a via Th1 estimulando o processo inflamatório nas doenças crônicas.

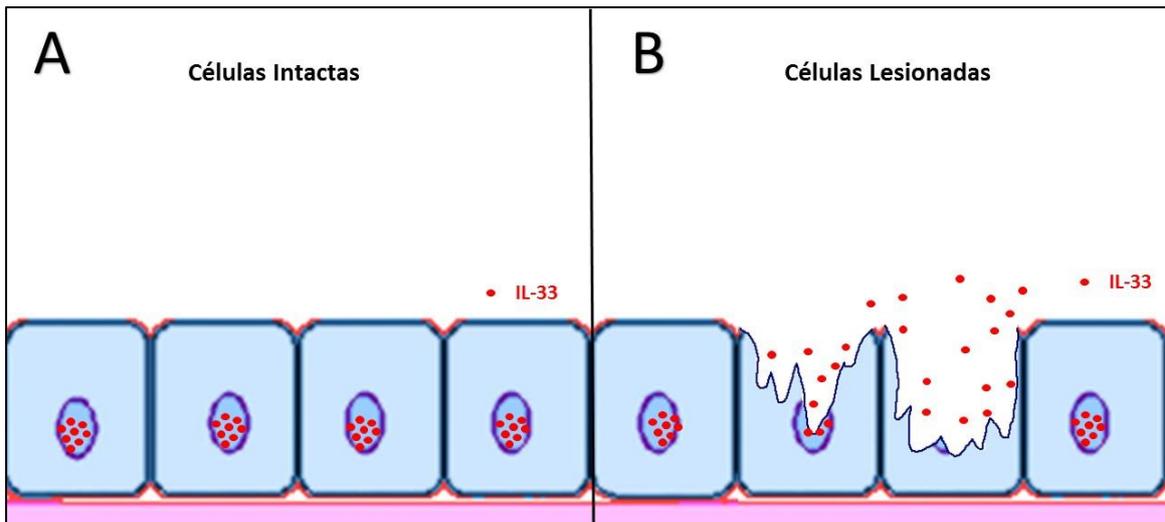
A IL-33 se acumula no núcleo das células que são capazes de produzi-la e assim, exibe um caráter de repressor transcricional nuclear quando sua expressão está elevada no meio intracelular. Por outro lado, quando liberada, age como uma potente citocina mediante injúrias celulares (CAYROL *et al.*, 2018).

No sítio de ação inflamatória, a atividade da IL-33 tem ação na via Th1 com ativação neutrofílica e ação na via Th2 com ativação de mastócitos e dessa forma configura uma resposta complexa heterogênea modulando atividade pró-inflamatória e regulatória, mediadas pela ação celular. Nesse processo, os fibroblastos e miofibroblastos, constituem importante fonte de IL-33, especialmente nas doenças com processo fibrótico como na fibrose hepática, na pancreatite crônica, na artrite reumatoide, na colite ulcerativa gástrica, na doença de *Crohn* e na doença renal crônica (YANG *et al.*, 2016; CAYROL *et al.*, 2018).

De acordo com CAYROL e colaboradores (2018) a IL-33 funcionaria como uma molécula sinalizadora, alarmante, liberada em espaço extracelular após lise celular e/ou injúria celular. Consequente, é possível constatar que o aumento da liberação da IL-33 após injúria tecidual, injúria epitelial, necrose celular por ação bacteriana ou tóxica, confirma sua ação sinalizadora após lesões parenquimatosas (YANG *et al.*, 2016; CAYROL *et al.*, 2018).

As lesões teciduais e celulares causadas por tumores, infecções e processos inflamatórios, faz com que haja rompimento da integridade citoplasmática e nuclear. A maior quantidade de IL-33 se concentra no compartimento nuclear e, mediante um processo lesivo, ocorre a liberação dessa molécula no meio extracelular (**figura 5**) (YANG *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2017; CAYROL *et al.*, 2018).

Figura 5 - Liberação da IL-33 mediante injúria celular



A: Representação da IL-33 no núcleo de células intactas; B: Representação da liberação da IL-33 em células que sofreram injúrias.

Fonte: Produzida pelo autor.

Em sua forma íntegra, é liberada após rompimento celular e após clivagem o domínio nuclear age no núcleo das células e a forma IL-1 *like Cytokine Domain* age nos receptores ST2 presentes em neutrófilo, mastócito, eosinófilo e linfócitos Th2. Essa interação da IL-33 com o receptor ST2 em linfócitos é responsável pela polarização dos mesmos em Th2, com consequente secreção deliberada das IL-4, IL-5 e IL-13, afim de tentar modular a resposta imune adaptativa. Além disso, a IL-33 é capaz de ativar macrófagos e neutrófilos e estimulá-los a produzir IL-5, IL-6 e IL-13. A ativação dessa via é capaz de provocar mudanças patológicas, associadas ao desequilíbrio inflamatório, verificado em humanos e modelos murinos (YANG *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2017; CAYROL *et al.*, 2018).

Segundo CHEN e colaboradores (2017) a IL-33 está amplamente distribuída nas células renais, assim como a proteína ST2 em sua forma transmembrana, demonstrando que em humanos e modelos animais o eixo IL33/ST2 está relacionado às doenças renais. Porém, a expressão dos receptores ST2 pelas células epiteliais dos túbulos renais incluindo a porção proximal, distal, ductos coletores e até as células epiteliais da pelve renal, não tem sido profundamente investigada e a fonte do supressor de tumorigenicidade 2 solúvel (sST2) durante a injúria renal ainda permanece desconhecida (CHEN *et al.*, 2017; GUNGOR *et al.*, 2017).

A forma solúvel do ST2 (sST2) é uma forma excretada pelas células que contenham os genes ativos para a codificação do receptor IL-1RL1 (maioria das células imunológicas) e expressa, em grande parte, em órgãos do sistema digestório. A sST2 no meio extracelular se liga a IL-33 impedindo sua interação com os receptores ST2 controlando a polarização para resposta imunológica em Th2. O aumento sérico da sST2 foi associado a doenças cardiovasculares como o infarto agudo do miocárdio, a asma e a sepse, em que se observa a atenuação da resposta inflamatória induzida por Th2 (YANG *et al.*, 2016; GUNGOR *et al.*, 2017).

As células epiteliais renais que ficam expostas ao estresse inflamatório podem aumentar a liberação de IL-33, o que implicará em consequente efeito inflamatório e/ou regulatório. Em um estudo realizado em modelos murinos, onde estes sofreram obstrução renal, foi evidenciado que a IL-33 pode influenciar positivamente no processo do desenvolvimento da fibrose uma vez que sua deficiência é capaz de reduzir o processo fibrótico e a perda de células tubulares (CHEN *et al.*, 2017; CAYROL *et al.*, 2018).

YANG e colaboradores (2016) demonstraram que a IL-33 é uma importante molécula envolvida nos mecanismos da DRC, por estar associada a progressão da DRC com a instalação de danos parenquimatosos com consequente fibrose renal e declínio da TFG. Recentemente, foi verificado que os níveis séricos da IL-33 estão mais elevados em pacientes com DRC em estágios mais avançados. (CHEN *et al.*, 2017; GUNGOR *et al.*, 2017; AKCAY *et al.*, 2016).

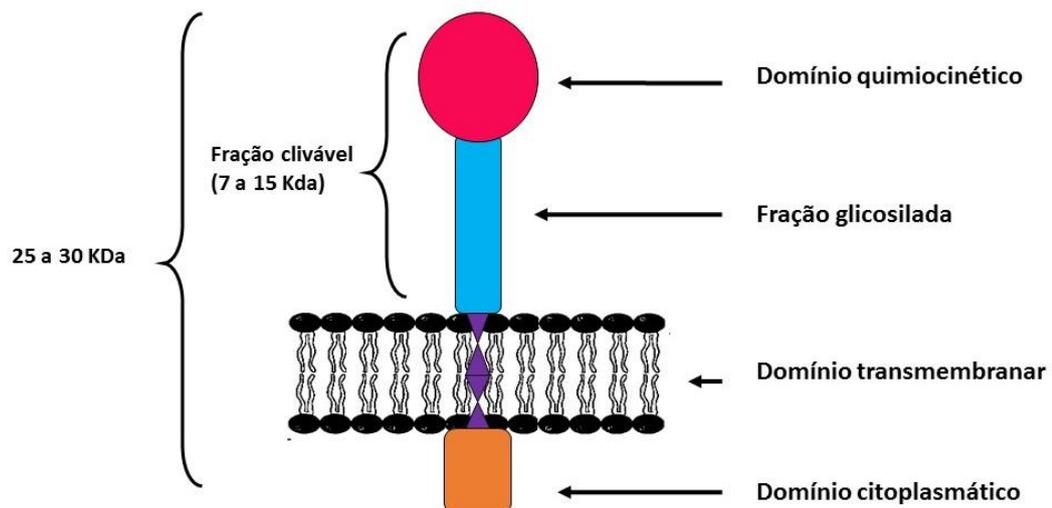
O avanço do processo fibrótico é um fator associado a falha renal caracterizado pelo acúmulo de componentes como o colágeno depositado na matriz extracelular produzido por fibroblastos. A IL-33 é uma molécula que atua nesse meio induzindo uma resposta mediadora tanto pela sua liberação por fibroblastos, como por células epiteliais renais lesionadas. Sua presença é capaz de promover o acúmulo de eosinófilos, linfócitos, neutrófilo e mastócitos no sítio de lesão, mediando repostas imunológicas reparativas de caráter inflamatório com desenvolvimento do processo fibrótico cicatricial com consequente redução da funcionalidade renal (YANG *et al.*, 2016; AKCAY *et al.*, 2016).

2.2.1.3. Quimiocina CXC 16 na DRC

A CXCL16 (Ligando da CXC 16) pertence à família de quimiocinas CXC, descrita pela primeira vez por MATLOUBIAN e colaboradores (2000). Ela é encontrada na forma solúvel e aderida à membrana plasmática de células que a expressam. Aderida à membrana plasmática celular pode atuar como uma molécula de adesão e também como um receptor do tipo *scavenger* (receptor sequestrador). Também é capaz de captar a fosfatidilserina e a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox). Nos seres humanos, o gene responsável pela expressão da CXCL16 está localizado no cromossomo 17 (17p13) (MATLOUBIAN *et al.*, 2000; IZQUIERDO *et al.*, 2014; ABDEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

A forma membranar da CXCL 16 possui cerca de 25 a 30 KDa e sua forma clivada pode variar entre 7 e 15 KDa. Em sua estrutura integral, possui um domínio citoplasmático, um domínio transmembranar e a porção externa que é formada por uma fração glicosilada, e conectada a ela o domínio quimiocinético conforme ilustra a **figura 6** (IZQUIERDO *et al.*, 2014; MATLOUBIAN *et al.*, 2000; PALOMINO *et al.*, 2015).

Figura 6 – Representação da estrutura da CXCL16



Fonte: (Produzida pelo autor).

A CXCL16 é sintetizada como um precursor intracelular e rapidamente transportando para superfície celular onde o domínio da quimiocina é exposto. A CXCL16 é expressa em macrófagos, linfócitos T, linfócitos B, células dendríticas, células epiteliais, hepatócitos, células dendríticas em órgãos linfoides e células presentes na polpa vermelha do baço, fibroblastos, cardiomiócitos, plaquetas, células vasculares musculares e endotélio vascular (IZQUIERDO *et al.*, 2014; ZHEN *et al.*, 2014).

A CXCL16 promove a adesão de eritrócitos na superfície endotelial e plaquetária em virtude da expressão de seus receptores (CXCR6). Além disso, a forma membranar da CXCL16 propicia a adesão entre células que contenham o CXCR6, como os monócitos, os linfócitos T, as células endoteliais e as células dendríticas. Ademais, a CXCL16 auxilia na promoção da fagocitose de bactérias por células dendríticas e na adesão de células plasmáticas da medula óssea à fibronectina (IZQUIERDO *et al.*, 2014). A forma transmembranar da CXCL16, expressa em todas essas células pode sofrer clivagem pela ADAM10 (*Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10*) (uma proteína de superfície de membrana que possui a função de clivar proteínas de superfície celulares) e gerar a forma solúvel da CXCL16. Além disso, processos celulares lesivos também podem gerar a forma solúvel (IZQUIERDO *et al.*, 2014; ABDEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

A CXCL16 no parênquima renal é expressa de forma constitutiva por podócitos, células endoteliais, células glomerulares, células epiteliais dos túbulos renais (principalmente na porção ascendente da alça de Henle, túbulos distais e ductos coletores) e células mesangiais. Mediante lesão celular, pode ocorrer a clivagem da CXCL16 e atração das células inflamatórias (que contenham o receptor CXCR6) ao sítio de lesão. Além disso, a CXCL16 também desempenha outras funções imune no parênquima renal como a ativação do complexo NF κ B com consequente produção de mediadores pró-inflamatórios (IZQUIERDO *et al.*, 2014; ABDEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

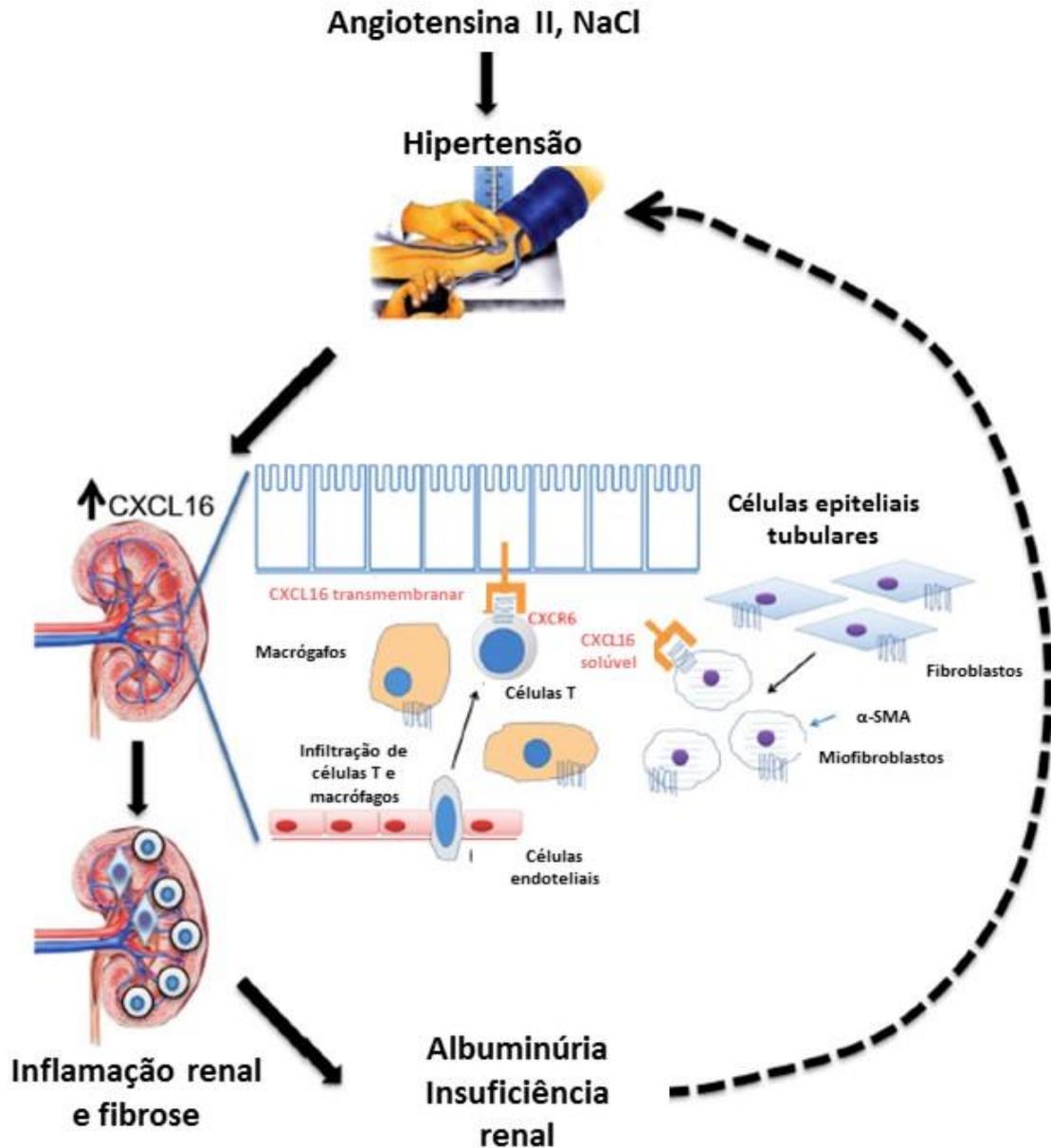
De forma geral, a forma solúvel da CXCL16 possui efeitos diversos nas células renais. Nos podócitos, quando estes liberam a CXCL16, há recrutamento de células TCD4+ e TCD8+. As células mesangiais que expressam a CXCL16 na forma solúvel têm o poder de promover a proliferação dessas células no sítio parenquimatoso. A CXCL16 é capaz provocar a resposta pró-inflamatória por promover a liberação de

mediadores através da interação com o receptor CXCR6 nas células epiteliais renais (IZQUIERDO *et al.*, 2014).

Citocinas como o TNF- α , IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-18 são capazes de controlar o aumento das CXCL16 em cultura de células glomerulares, apresentando correlação positiva com interferência dessas citocinas. Além disso, essas mesmas citocinas são capazes de aumentar a expressão de CXCL16 pelas células endoteliais (IZQUIERDO *et al.*, 2014).

De acordo com IZQUIERDO e colaboradores (2014), citocinas da família TNF e IFN promovem o aumento de moléculas de CXCL16 parenquimatoso por células epiteliais tubulares tanto *in vivo* quanto *in vitro* ao promover o apoptose de células renais. Outra molécula que é capaz de promover o aumento da CXCL16 por provocar lesões nas células epiteliais dos túbulos renais é a angiotensina II. Por estímulo da angiotensina II, a fim de alcançar a homeostasia da PA, as células epiteliais tubulares são induzidas a liberar a CXCL16 (NORLANDER *et al.*, 2014). A **figura 7** ilustra a hipótese do desenvolvimento da lesão renal em paciente com hipertensão mediada pela CXCL16.

Figura 7 - Hipótese de lesão renal mediada pela CXCL16



Modelo de como a CXCL16 promoveria a inflamação com desenvolvimento de fibrose, A hipertensão arterial estimula a angiotensina II que promove o aumento de CXCL16 pelas células epiteliais tubulares. A forma transmembranar e solúvel da CXCL16 atrai linfócitos T, macrófagos, e fibroblastos mieloides causando inflamação, fibrose, albuminúria e insuficiência renal. A progressão da insuficiência renal pode agravar a hipertensão criando um ciclo vicioso. Fonte: Traduzido e adaptado de (NORLANDER *et al.*, 2014)

Como a CXCL16 é capaz de atrair células do sistema imune, observa-se a atração de células blásticas da medula óssea (fibroblastos mieloides) que quando chegam ao sítio de liberação e aumento da concentração CXCL16, se tornam

fibroblastos e iniciam a produção de colágeno com desenvolvimento do processo fibrótico culminando na perda insidiosa da função renal e declínio da TFG (IZQUIERDO *et al.*, 2014; ABDEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

De acordo com IZQUIERDO e colaboradores (2014), em modelos murinos, foram encontrados níveis séricos e urinários elevados da CXCL16 na nefrite. A elevação da CXCL16 também é observada em casos de obstrução ureteral induzida em modelos murinos. A deleção de genes para a CXCL16 e o uso de anticorpos anti CXCL16 e CXCR6 demonstrou a redução das injúrias renais glomerulares e a fibrose intersticial (LIN *et al.*, 2011; NORLANDER *et al.*, 2014; IZQUIERDO *et al.*, 2014).

NORLANDER e colaboradores (2014) verificaram que a deficiência de CXCL16 reduz o acúmulo de células inflamatórias do tecido renal como macrófagos, linfócitos T e fibroblastos. Portanto a CXCL16 parece mediar o processo inflamatório no parênquima renal tendo como estímulo a ação da angiotensina II induzida com consequente hipertensão arterial

De acordo com IZQUIERDO e colaboradores (2014), a CXCL16 poderia ser um potente marcador alvo na terapia de controle das doenças renais, uma vez que esse mediador está associado a transmigração celular com consequente inflamação e destruição do tecido renal. De modo experimental a neutralização da CXCL16, reduz as injúrias renais, a proteinúria, a glomerulonefrite, a infamação e o processo fibrótico (LIN *et al.*, 2011; IZQUIERDO *et al.*, 2014)

2.2.1.4. Anexina A1 na DRC

A Anexina A1 (AnxA1) foi descoberta na década de 1970 e recebeu vários nomes como Macro cortina, Renocortina, Lipomodulina e Lipocortina. Porém, em 1986 ela foi clonada e chamada de Lipocortina1. Em seguida, passou a ser chamada de Anexina A1 e permanece até os dias de hoje uma vez que faz jus a sua propriedade de se “anexar” às membranas fosfolipídicas celulares. O gene responsável por sua expressão está localizado no cromossomo 19 (19q24) (GAVINS *et al.*, 2012; OLIANI *et al.*, 2006; TAKAOKA *et al.*, 2017)

A AnxA1 apresenta peso molecular de 37 KDa com 346 aminoácidos e faz parte da superfamília de proteínas ligantes de fosfolípidos composta de aproximadamente 13 membros. Ela é expressa majoritariamente por alguns granulócitos como neutrófilos e eosinófilos e também por monócitos, macrófagos, linfócitos T e linfócitos B. Ela não é expressa por plaquetas. Sua expressão se dá de modo intracelular (GAVINS *et al.*, 2012; TAKAOKA *et al.*, 2017).

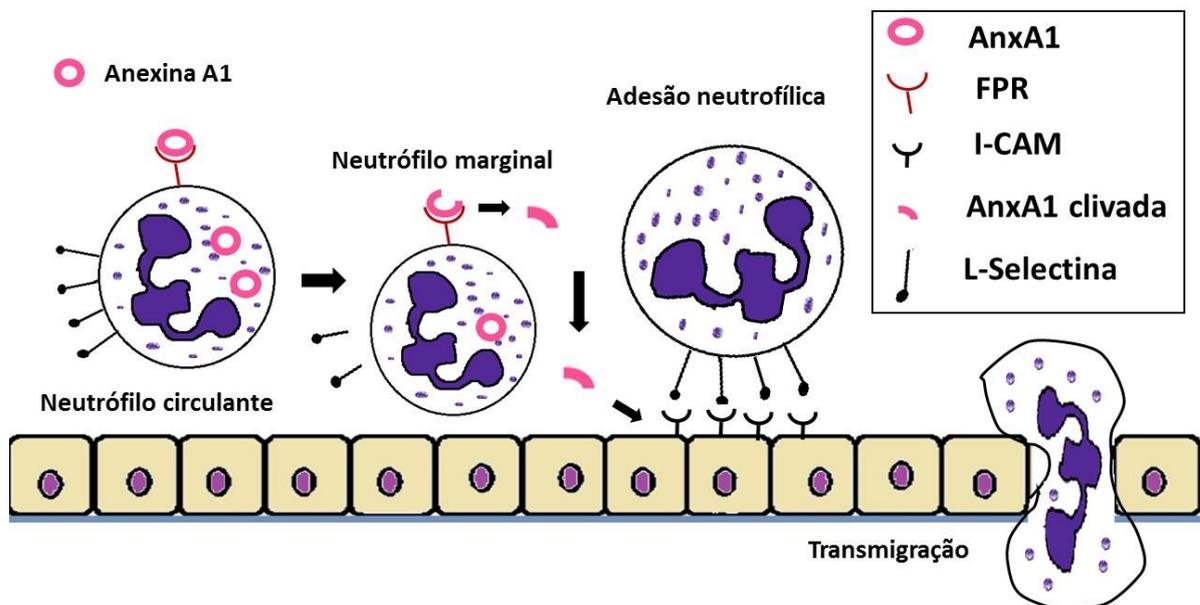
Desde sua descoberta, a AnxA1 tem sido descrita como uma molécula capaz de modular vários eventos inflamatórios crônicos e agudos, assim como, atuar em processos isquêmicos com lesões de reperfusão, dores, febre, tráfego de vesículas intracelulares, liberação de ácido aracnoide, migração leucocitária, crescimento tecidual e apoptose. Além disso, a AnxA1 está envolvida na regeneração muscular esquelética, por estimular a migração de células satélites que se tornam miofibroblastos no sítio muscular onde são necessárias, e assim auxiliar na reestruturação tecidual. Outras de suas influências no dinamismo fisiológico, é exercer *feedback* negativo envolvido na liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e induzir positivamente as sintases do óxido nítrico (eNOS/iNOS). Sua concentração *upregulated* ou *downregulated* em estados neoplásicos, apresentou importante influencia tanto no controle quanto progressão tumoral em diferentes tipos de cânceres. Possui sítios que podem ser fosforilados por uma série de moléculas, sugerindo que a AnxA1 apresente função sinalizadora importante em inúmeras vias patológicas, incluindo os cânceres (GAVINS *et al.*, 2012).

A principal função, descrita na literatura, é a interferência na transmigração leucocitária em relação aos processos inflamatórios. Ela é expressa através da translocação de seu sítio intracelular para membrana onde é secretada para o meio extracelular, uma vez que a célula de origem é ativada (GAVINS *et al.*, 2012; TAKAOKA *et al.*, 2017).

A AnxA1 exerce função no controle da infiltração leucocitária, pelo processo de adesão e migração permitindo o desenvolvimento da inflamação em um sítio parenquimatoso. A AnxA1 induz de modo autócrino e/ou parácrino a liberação da L-selectina dos neutrófilos por interação com o receptor *Formyl Peptide Receptor* (FPR) (FPR1, FPR2/ALX e FPR3) presentes em neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos. Essa liberação pode ser descrita como um desprendimento da molécula de L-selectina da superfície neutrofílica propiciando uma proximidade

deste ao endotélio vascular e neutralização a interação da L-selectina com o I-CAM. Essa relação neutrófilo/endotélio, ainda é uma relação de baixa proximidade, esse primeiro processo configura a redução de neutrófilos circulantes, pois estes se tornam neutrófilos marginais. Esse processo estacionário poderia controlar a transmigração e conseqüentemente acúmulo de neutrófilos no sítio inflamatório, revelando um viés no controle da inflamação. Nesse mesmo processo, formas clivadas da AnxA1 oriundas da clivagem pela interação com o receptor FPR, são capazes de promover o aumento da expressão de I-CAM pelas células endoteliais, viabilizando a estabilidade da adesão de neutrófilos e conseqüentemente transmigração por processo de diapedese, seguida da atuação desta no sítio de inflamação onde é necessária (**Figura 8**) (GAVINS *et al.*, 2012; SUGIMOTO *et al.*, 2015).

Figura 8 - Representação do dinamismo da molécula AnxA1 no processo de transmigração leucocitária



O neutrófilo circulante mediante a perda das Selectinas mediada pela ação da AnxA1 se tornam neutrófilos marginais. O produto de clivagem da AnxA1 é capaz de promover a expressão de I-CAM que atua no processo de diapedese.

AnxA1: Anexina A1; FPR: Receptor Formyl Peptide; I-CAM: Molécula de adesão intercelular. Fonte: (Produzida pelo autor).

As anexinas podem atuar como ponte entre fosfolípides membranares e citoesqueleto. Além disso, atua na anticoagulação, endocitose, exocitose, fusão entre membranas, controle de crescimento celular, transdução de sinais e inibição

da produção de eicosanoides e fosfolipase A₂ (cPLA₂.) A produção da AnxA1 é controlada pela ação de hormônios glicocorticoides e sua síntese pode ser induzida por macrófagos, neutrófilos, monócitos, mastócitos e eosinófilos (TAKAOKA *et al.*, 2017; NEYMEYER *et al.*, 2015).

A AnxA1 também pode ser produzida no tecido por fibroblastos estromais, células epiteliais pulmonares, células endoteliais vasculares, intestino, estômago, mamas e rins (TAKAOKA *et al.*, 2017).

Existem condições fisiopatológicas crônicas, como a artrite reumatoide e doenças inflamatórias que são capazes de promover a elevação da concentração da AnxA1 devido a presença de fibroblastos por mediação do TNF. Este atrai neutrófilos como a presença dinâmica da molécula de AnxA1 (GAVINS *et al.*, 2012).

TAKAOKA e colaboradores (2017), observaram aumento da letalidade de modelos murinos em 48 horas com deficiência da AnxA1, após administração de LPS bacteriano. Entretanto, no grupo onde foi feita a administração da proteína, o fenótipo normal inflamatório foi recuperado evitando o óbito, evidenciando o efeito protetor da AnxA1 mediante lesão tissular.

Os marcadores utilizados para avaliação da injúria renal são marcadores que revelam o status da função renal e mediante a isso, infere-se a extensão do dano renal correlacionando-o aos marcadores bioquímicos como compostos nitrogenados não proteicos (NPN's). Nas lesões parenquimatosas, seja nos corpúsculos renais ou nos túbulos renais, foi demonstrado em modelos murinos a correlação linear entre o aumento da AnxA1 nos tecidos renais e nas amostras urinárias, fazendo menção à extensão das lesões renais (KA *et al.*, 2014).

A AnxA1 regula a mobilidade e expressão gênica dos fibroblastos em diferentes sítios, influencia na ação de fibroblastos e no infiltrado de macrófagos, promovendo o aumento de proteínas do interstício renal. Por outro lado, é capaz de reduzir a produção do colágeno tipo I pelos fibroblastos e interferir na produção de células lisas musculares (NEYMEYER *et al.*, 2015).

A ação dos fibroblastos na DRC com a produção de citocinas pró-inflamatórias como a TGF- β , parece ser o principal fator que contribui para ação reguladora da

AnxA1 nessas células, tanto para o aumento quanto controle (NEYMEYER *et al.*, 2015).

2.2.1.5. Interleucina 4 na DRC

A IL-4, é uma glicoproteína de 15 KDa produzida majoritariamente pelos linfócitos T CD4+ do subtipo Th2 e também pode ser produzida por eosinófilos, basófilos e pela subpopulação linfocitária Th1, porém em quantidades menores. Com característica anti-inflamatória, sua principal atividade é modular a resposta imunológica alinhada pelos linfócitos Th2. Esta via é principalmente ativada no combate às infecções parasitárias (VARELLA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A IL-4 tem ação direta sobre as células T, B e NK. Promove a proliferação e ativação de linfócitos B para produzir IgG e IgE que atuam na resposta alérgica e anti-helmíntica, ademais, viabiliza uma maior expressão de MHC (complexo principal de histocompatibilidade) de classe II a fim de aumentar a resposta em Th2. Além disso, aumenta a expressão de receptores de alta afinidade para IgE em mastócitos e basófilos (VARELLA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A IL-4 atua em macrófagos ativados, reduzindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias como; IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α , controlando a produção de radicais livres. Nas doenças crônicas apresenta potencial terapêutico como na psoríase, osteoartrite e asma (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Paciente renais em estágio terminal (TFG <15 TFG mL/min/1,73m²) devem ser submetidos ao processo de TRS, especificamente a hemodiálise venosa. O processo dialítico promove lesões endoteliais expondo fatores que atuam no processo hemostático, assim como mediadores inflamatórios, caracterizando a síndrome dialítica (RIOS *et al.*, 2017).

Na síndrome dialítica, o endotélio lesionado expõe o fator tissular, assim como monócitos e macrófagos ativados, propiciando a formação de trombos no compartimento vascular. Contudo, as citocinas imuno-modulatórias como a IL-4, IL-5 e IL-10 tentam controlar esse processo intrinsecamente associado à ESRD (RIOS *et al.*, 2017)

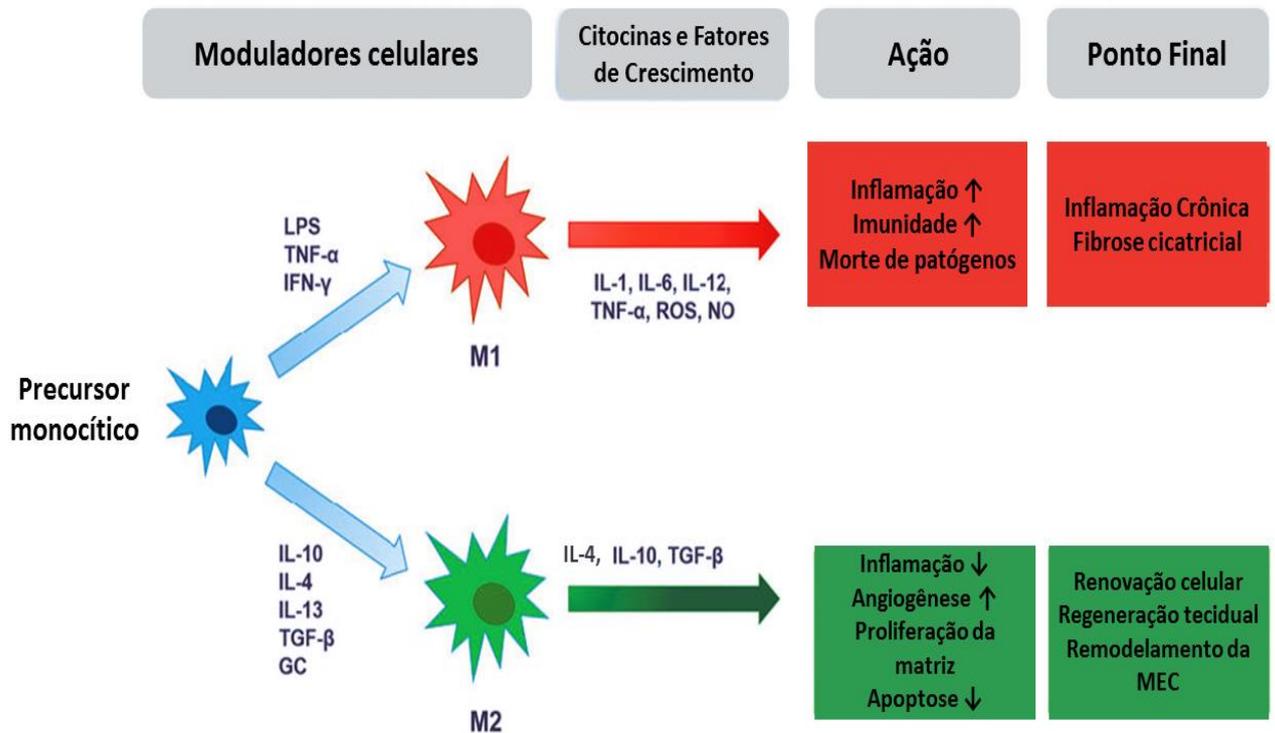
No estudo delineado por RIOS e colaboradores (2017) foi evidente o predomínio de citocinas pró-inflamatórias em pacientes ESRD com episódios de vasculopatias, como o INF- γ e a IL-2 e maiores taxas da IL-4 e IL-10 nos pacientes controle, no exercício imuno-modulatório.

De acordo com GUZZI e colaboradores (2019) nas doenças renais, as perdas microvasculares, o aumento de fibrose e relativa hipóxia são prerrogativas associadas a transição mesenquimal entre a célula epitelial tubular e miofibroblasto; reduzindo a TFG, aumentando ainda mais o processo fibrótico, influenciando na progressão da DRC. Neste modelo, o processo inflamatório inicia-se mediado por monócitos e macrófagos previamente induzidos pelas moléculas de ICAM-1 mediante relativa hipóxia no parênquima renal. Com isso ocorre a transmigração de neutrófilos que exercem efeito parácrino conforme suas citocinas produzidas, nos macrófagos residentes e nas células epiteliais tubulares. Os macrófagos iniciam então a produção de um arsenal de citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-1, IL-6, TNF- α e IL-4, IL10 respectivamente. O grupo de citocinas pró-inflamatórias são produzidas por macrófagos do subtipo 1 (M1) e o grupo de citocinas anti-inflamatórias por macrófagos do subtipo 2 (M2). (GUZZI *et al.*, 2019).

Os macrófagos teciduais, que previamente foram monócitos recrutados, podem ser estimulados através de um *rol* de citocinas que irão influenciar na polarização destes a fim de dar origem a um tipo específico de subpopulação seja M1 ou M2. A subpopulação do tipo 1 está associada à respostas pró-inflamatórias, com aumento da produção de citocinas como, IL1, IL-6, IL-12, TNF- α , ROS e NO, aumentando a inflamação, a imunidade e a morte de patógenos. Sendo assim, o ponto final dessa via culmina em processo fibrótico e inflamação crônica (GUZZI *et al.*, 2019; STEEN *et al.*, 2019)

A subpopulação do tipo 2 está associada às respostas anti-inflamatórias com a presença de citocinas como a IL-4, IL-10 e TGF- β . Consequentemente, há a redução do processo inflamatório e da apoptose, aumento da angiogênese e restauração da matriz extracelular. O ponto final dessa via promove a renovação celular, a regeneração tecidual e a remodelação da MEC (STEEN *et al.*, 2019). A **figura 9** ilustra como ocorre a polarização de macrófagos mediante estímulo de citocinas que atuam como moduladores celulares.

Figura 9 – Polarização de macrófagos. Monócitos são recrutados para o sítio da lesão parenquimatosa renal



O processo de diferenciação entre M1 e M2, pode variar dependendo do estímulo que esse macrófago sofra. Para imuno-estimulação em M1 é necessário a ação de moléculas como IFN, TNF- α e LPS. Para imunoestimulação em M2 é preciso a exposição dos macrófagos às citocinas IL-4, IL-10 e TGF- β por exemplo.

Fonte: Traduzido e Adaptado de (STEEN *et al.*, 2019)

2.2.1.6. Interleucina 10 na DRC

A IL-10 é um polipeptídeo com cerca de 18 KDa. É uma citocina pleiomórfica com vários efeitos produzida em maior quantidade pelos linfócitos TCD8+, porém a síntese também pode ser realizada por linfócitos T dos subtipos; Th0, Th1 e Th2, além de linfócitos B, monócitos, macrófagos, mastócitos e granulócitos. Pode ser produzida por tecidos neural e neuroendócrinos (VARELLA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011; JUNIOR *et al.*, 2015).

A principal função da IL-10 é inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como o INF- γ , a IL-1 a IL-2, a IL-6, a IL-12 e o TNF- β . Frente a isso, suprime a

formação da subpopulação Th1, reduz a citólise, suprime macrófagos, bem como a secreção de citocinas por Th1 tendo efeito anti-inflamatório e pró-resolutivo (VARELLA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011; JUNIOR *et al.*, 2015; STEEN *et al.*, 2019).

A IL-10 estimula a proliferação de mastócitos e amadurecimento de linfócitos T citotóxicos. Sua síntese é inibida/prejudicada pela ação da IL-4, IL-13, INF- γ , assim como pela própria IL-10. Quando o processo inflamatório se apresenta dominante, tanto celular como humoral, a IL-10 surge como um importante mediador no controle de danos teciduais provocados por fenômenos inflamatórios (VARELLA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011; STEEN *et al.*, 2019).

A IL-10 possui efeitos supressivos sobre a via Th1 e Th17, desativando linfócitos T e macrófagos, reduzindo a infiltração de macrófagos e inflamação, e por isso, pode ser clinicamente relevante na prevenção à rejeição de transplantes e doenças auto-imunes mediadas por células T. Também apresenta efeito benéficos nas doenças crônicas como o diabetes mellitus, a artrite reumatoide e a psoríase (OLIVEIRA *et al.*, 2011; RIOS *et al.*, 2017).

Na DRC, mediante processos pró-inflamatórios, ocorre o desenvolvimento e progressão da fibrose, levando o órgão à insuficiência funcional. A fibrose resulta na perda de estrutura e função, sendo o ponto final de uma doença crônica. Devido sua ação anti-inflamatória, a IL-10 parece ser uma nova via terapêutica no controle da progressão da fibrose por dois caminhos possíveis; o uso da IL-10 recombinante e o estímulo da produção da mesma por macrófagos M2 (STEEN *et al.*, 2019).

A subpopulação de macrófagos M2 são ativadas por meio da ação das citocinas IL-4, IL-13 e IL-10, em resposta à uma lesão tissular. Essas citocinas promovem a cicatrização estimulando a formação da MEC, redução do processo inflamatório e apoptótico, além de estimular o processo de angiogênese. Diante disso, ocorre o restabelecimento epitelial, a regeneração do tecido e o remodelamento da MEC com consequente preservação do estado fisiológico (STEEN *et al.*, 2019).

Assim como as células inflamatórias, a citocinas liberadas pelo parênquima renal e a ação do SRAA são preditores para um caminho crucial na reação e resolução das lesões renais. Quando ocorre uma lesão renal, seja ela glomerular ou

tubular, independentemente do estímulo, diferentes reações no sítio ocorrem com um ponto final na formação desproporcional da MEC com tecido fibrótico de função limitada ou até afuncional (STEEN *et al.*, 2019).

De acordo com STEEN e colaboradores (2019), depois de muitos anos, o potencial das propriedades da IL-10 frente às patologias renais foi evidenciado, mostrando *in vitro* e *in vivo* o poder de redução do processo fibrótico na DRC devido sua ação imunossupressora.

Nas doenças renais obstrutivas, a IL-10 parece ter um efeito pró-fibrótico, promovendo a transição mesenquimal-estromal que pode ser inibida pela ação do SRAA. De acordo STENN e colaboradores (2019) nos casos obstrutivos, a administração da IL-10 exógena parece atenuar o processo fibrótico após esses episódios.

Portanto, a IL-10 parece ter efeito protetivo no tecido renal uma vez que induz a polarização de macrófagos M2 mediante lesões renais, com consequente influencia no controle do processo fibrótico em modelos murinos com DRC, inibindo também a proliferação de linfócitos TCD4+ e TCD8+ e da subpopulação de macrófagos M1 (STEEN *et al.*, 2019; TANG *et al.*, 2020).

Mesmo que o estudo da IL-10 em modelo animal tenha sido promissor, a aplicação da mesma em humanos seria um grande desafio, devido a vida curta da IL-10 e sua rápida eliminação pela via renal. Essa linhagem de estudos poderia beneficiar pacientes DRC, uma vez que a IL-10 possui efeitos anti-fibróticos, auxiliando na redução da progressão da doença renal crônica, preservando o parênquima e a função renal (STEEN *et al.*, 2019).

Um estudo conduzido por TANG e colaboradores (2020), mostra que o uso da IL-10 encapsulada em vesículas extracelulares, pode reduzir o risco do desenvolvimento da DRC em modelos murinos que tiveram insuficiência renal aguda induzida, revelando-se como alvo terapêutico mediante injúrias renais independente da origem, onde houve uma maior indução da formação de macrófagos do tipo 2 que consequentemente suprimiram a inflamação e promoveram o reparo das lesões renais. Foi observado também a redução da produção do colágeno, controlando a fibrose e retardando a progressão do estado agudo para o crônico.

Os macrófagos teciduais são atores relevantes para o reparo das lesões renais. Tradicionalmente, a literatura aponta a subpopulação macrofágica do tipo M2 como um grupo de células anti-inflamatórias e reparativas. A expressão dessa subpopulação pode ser manipulada tanto *in vivo* quanto *in vitro*. As vesículas extracelulares injetadas no parênquima renal lesionado contendo a IL-10 agem nos macrófagos túbulo-intersticiais e são polarizados em M2, diante disso, ocorre a resolução do fenômeno inflamatório e restauração das células tubulares epiteliais (TANG *et al.*, 2020).

2.2.2. Índices derivados do Hemograma: Inflamação

Como o processo inflamatório vem sendo considerado um fator associado à progressão de doenças crônicas, marcadores laboratoriais têm sido alvo para o diagnóstico subclínico. Porém, em certos processos inflamatórios crônicos, como no caso da DRC, ocorre a inflamação persistente e de baixo grau que é responsável em parte pela mortalidade e está associada às disfunções endoteliais, aos processos urêmicos, ao estresse oxidativo com geração de ROS e alterações cardiovasculares (AKCHURIN *et al.*, 2015). Diante disso, marcadores inflamatórios sistêmicos e específicos e clássicos como PCR, VHS, IL-6, IL-18, TNF- α , dentre outros não apresentam valores elevados (AKCHURIN *et al.*, 2015; BRITO, 2019). Portanto, buscam-se outros marcadores para avaliação da inflamação, principalmente em doenças inflamatórias crônicas com consequências sistêmicas, como na DRC. Os índices derivados do hemograma têm se mostrado promissores em algumas doenças crônicas e incluem a Relação neutrófilo-linfócito (RNL), Relação neutrófilo-linfócito derivada (dRNL), Relação linfócito-monócito (RLM) e o Índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri) (BRITO, 2019).

A relação entre a contagem de neutrófilo e de linfócitos (RNL) foi avaliada como uma nova medida de inflamação em várias doenças crônicas e relevou valores prognósticos e preditivos especialmente na inflamação sistêmica. Para obtenção da RNL é necessário realizar a razão entre o número absoluto de neutrófilos e o número absoluto de linfócitos (BRITO, 2019; LIU *et al.*, 2020).

O aumento dos valores de RNL é fator de risco para mortalidade nas doenças inflamatório, infecciosas, síndrome coronariana aguda, hemorragia intracerebral, DCV em DRC, neoplasias, apendicites e COVID-19 (LIU *et al.*, 2020).

De acordo com BRITO (2019) a RNL está relacionada às doenças cardiovasculares na DRC, ressaltando que tem sido um bom marcador relacionado tanto às complicações cardíacas nesse grupo de pacientes, como na avaliação da progressão da DRC, início de TRS e mortalidade; sendo os pacientes com resultados de $RNL \geq 3,5$, os que apresentam maiores riscos (BRITO, 2019).

A Relação neutrófilo-linfócito derivada (dRNL), uma forma modificada da RNL, também avalia a inflamação de modo sistêmico, onde seus valores aumentados são associados às doenças inflamatórias crônicas sistêmicas e vários tipos de neoplasias como o de nasofaringe, gastrointestinal, pulmões, mama e rins (ESKIIZMIR *et al.*, 2019).

A Relação linfócito-monócito (RLM) também é considerado um bom marcador inflamatório, de baixo custo e fácil aplicabilidade quando comparado à marcadores como IL-6, IL-1- β , TNF- α e trombomodulina; e com apenas a realização do cálculo de divisão entre o número absoluto de linfócitos e o número absoluto de monócitos, obtém-se então o índice (BALTA *et al.*, 2015).

A RLM foi proposta não somente com um marcador relacionado aos processos inflamatórios, mas também como marcador de disfunções endoteliais e assume valores prognósticos e preditivos para condições como síndromes metabólicas, doenças cardiovasculares, disfunção da tireoide, doenças hepáticas, doenças renais e inflamações crônicas em geral. Este marcador também revelou ótima aplicabilidade em estudos clínicos envolvendo pacientes com alterações renais, como o carcinoma urotelial (BALTA *et al.*, 2015).

No caso, os valores mais baixos do RLM, é associado aos piores estadiamentos de neoplasias e inflamações, evidenciando pior prognóstico (GOTO *et al.*, 2018).

Os linfócitos e os monócitos são células importantes nos processos inflamatórios e dependendo das citocinas “ativadas” são capazes de aumentar ou controlar a inflamação (FEISTAUER *et al.*, 2017). Os linfócitos executam a função de

controlar o processo por comandos através da polarização de vias (Th0, Th1, Th2 e Th17) e por citotoxicidade. A elevação no número de linfócitos aumenta o score do índice RLM e esse fato é associado ao controle da resposta imunológica em tal condição. Do contrário, a redução no número de linfócitos representa uma resposta imune insuficiente. Quando o número de monócitos está aumentando, representa maior poder inflamatório, pois os monócitos são capazes de produzir através da resposta M1 um elenco de citocinas inflamatórias após migrarem para o sítio de inflamação; e sua elevação na corrente sanguínea representa maior quantidade de células para migração (STEEN *et al.*, 2019; GOTO *et al.*, 2018)

O Índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri) consiste na relação neutrófilo-linfócito e relação monócito-linfócito, apresentando valor prognóstico e preditivo em diversos quadros neoplásicos e inflamatórios sistêmicos. Sendo de fácil obtenção, basta apenas multiplicar o número absoluto de neutrófilos com o número absoluto de monócitos e por fim dividir pelo número de linfócitos. A correlação é evidente entre valores mais elevados e progressão do processo inflamatório nas doenças crônicas (HE *et al.*, 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o perfil inflamatório por meio dos mediadores imunes e índices derivados do hemograma em pacientes pediátricos com doença renal crônica de acordo com as diferentes etiologias/estágios.

3.2. Objetivos específicos

Avaliar em pacientes pediátricos com doença renal crônica de diferentes etiologias e estágios, caracterizados por exames clínicos e laboratoriais:

- As concentrações das citocinas IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL4 e IL-10 entre os pacientes pediátricos com DRC e o grupo controle, e em

relação às diferentes etiologias/estágios, bem como em uso ou não de imunossupressores;

- O perfil inflamatório por meio de índices derivados do hemograma relação neutrófilo-linfócito (RNL), relação neutrófilo-linfócito derivada (dRNL), relação linfócito-monócito (RLM) e o índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Casuística

4.1.1. Aspectos éticos

O presente estudo é um subprojeto do projeto intitulado “Doença renal crônica na infância: avaliação da hemostasia, do estresse oxidativo e implicações clínicas” previamente aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP-UFMG) com Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE – 07513513.9.0000.5149) (**Anexo1**) que foi iniciado pelas ex-estudantes do Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas Rívia Mara Morais e Silva e Letícia Parreiras Nunes Sousa, no qual dar-se-á continuidade com os estudos inflamatórios por Aislander Junio da Silva, aluno do Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas, acompanhado e orientado pela Prof.^a. Patrícia Nessler Alpoim e coorientado pela Prof.^a. Luci Maria Sant’Ana Dusse e Prof.^a. Ana Paula Lucas Mota.

O esclarecimento dos objetivos da pesquisa, utilizando-se linguagem clara, foi feito pelos pesquisadores, a todas as crianças envolvidas no estudo e seus responsáveis. As amostras biológicas, bem como os dados obtidos a partir dos experimentos, ficaram disponíveis em biorrepositório e banco de dados, respectivamente, para desenvolvimento de novas pesquisas.

O corrente estudo utilizou amostras de soro, que foram mantidas em um biorrepositório a -80°C.

4.2. Seleção dos participantes do estudo e caracterização dos grupos

A seleção dos pacientes pediátricos foi feita nos anos de 2013 e 2014 pelas ex-estudantes Rívia Silva e Leticia Sousa, em conjunto com os médicos da Unidade de Nefrologia Pediátrica do Hospital das Clínicas/UFMG. Esses pacientes já possuíam diagnóstico de DRC em estágios variados e eram acompanhados periodicamente nesta Unidade.

Inicialmente, analisaram os prontuários de 84 pacientes que tinham consulta marcada na Unidade de Nefrologia Pediátrica do Hospital das Clínicas/UFMG no período de fevereiro de 2013 a março de 2014.

Considerando os critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos, 53 destes pacientes foram incluídos no estudo e 31 não foram. Os prontuários foram estudados e dados laboratoriais foram extraídos para confecção inicial do banco de dados.

Um grupo-controle foi composto por crianças e adolescentes declaradamente saudáveis, selecionados na comunidade em geral, no Centro Pedagógico da UFMG e no Colégio Técnico da UFMG, com idade e sexo pareados com os pacientes com DRC.

Portanto, foram efetivamente incluídos no estudo 95 participantes, que foram distribuídos em dois grupos, o de pacientes com DRC e o controle.

Da quantidade original, foi possível resgatar um total de 85 amostras para o presente estudo, sendo 52 de pacientes pediátricos com DRC e 33 amostras de controles saudáveis. A etiologia da DRC incluiu *CAKUT*, glomerulopatias, doenças císticas e tubulopatias. Todos incluem estágios que variam do 1 a 4.

Para as análises de comparação dos mediadores imunes e índices derivados do hemograma, as crianças e adolescentes com DRC foram distribuídas em três grandes grupos (I, II e III), sendo que os grupos I e II foram subdivididos em dois subgrupos, IA e IB e IIA e IIB, respectivamente, como apresentado a seguir:

Grupo I (n=20): crianças com DRC causada por doenças glomerulares, distribuídas em dois subgrupos:

Subgrupo IA – DRC em estágios 1 ou 2 (n=12)

Subgrupo IB - DRC em estágios 3 ou 4 (n=08)

Grupo II (n=25): crianças com DRC causada *CAKUT*, distribuídas em dois subgrupos:

Subgrupo IIA – DRC em estágios 1 ou 2 (n=09)

Subgrupo IIB - DRC em estágios 3 ou 4 (n=16)

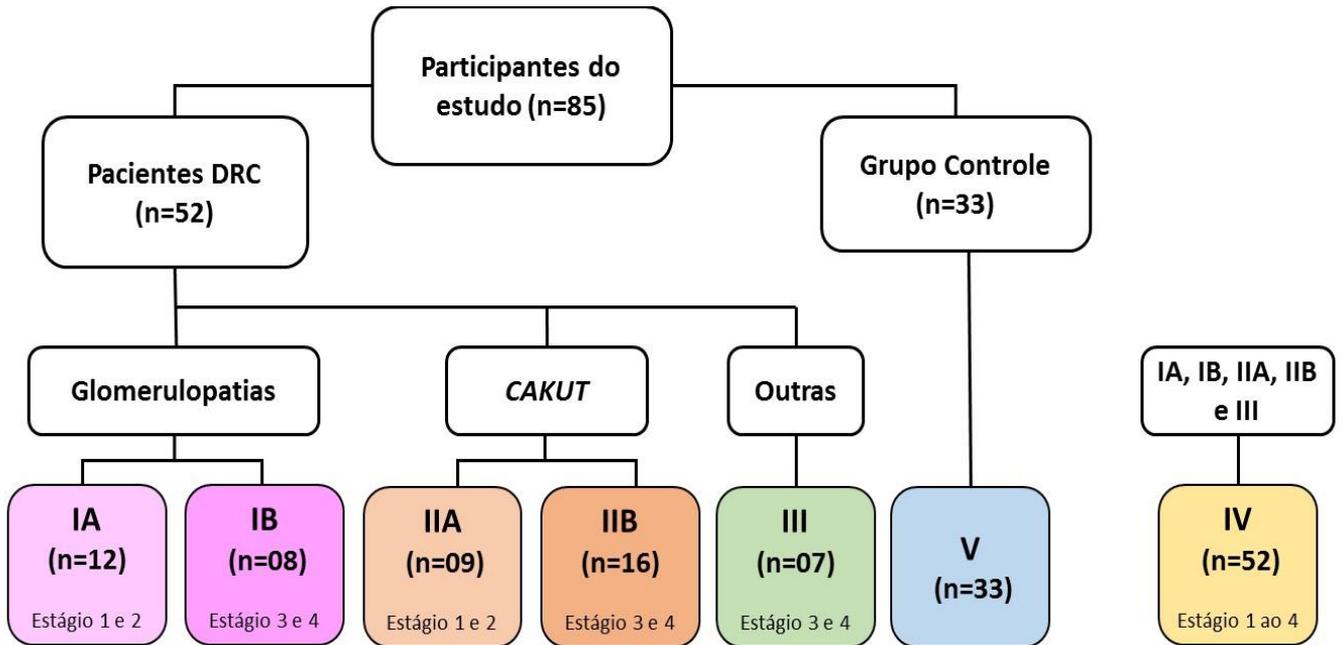
Grupo III (n=07): crianças com DRC em estágios 3 ou 4 por outras etiologias distintas de doença glomerular ou *CAKUT*, sendo elas tubulopatias, cistites ou outras.

Um grupo maior (**Grupo IV**), composto por todos os pacientes com DRC, independente da etiologia (subgrupos IA, IB, IIA, IIB e o grupo III), foi criado.

O grupo-controle (**Grupo V**) foi composto por crianças saudáveis selecionadas na comunidade em geral, no Centro Pedagógico da UFMG e no Colégio Técnico da UFMG, com idade e sexo pareados com as crianças com DRC (n=33).

O fluxograma (**Figura 10**) a seguir ilustra a distribuição dos participantes do estudo entre os grupos.

Figura 10 - Distribuição dos participantes do estudo entre os grupos



Grupo I - Subgrupo IA: Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); **Subgrupo IB:** Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); **Grupo II - Subgrupo IIA:** CAKUT – DRC estágios 1 e 2 (n=9); **Subgrupo IIB:** CAKUT – DRC estágios 3 e 4 (n=16); **Grupo III:** Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); **Grupo IV:** Grupo DRC Total (n=52); **Grupo V:** Controle (n=33).

Para as análises de comparações entre os grupos de pacientes com DRC em uso de imunossupressores ou não, bem como comparações com controles, foram criados os grupos IC, IIC e IIIC.

Grupo IC (n=12): crianças com DRC em uso de algum ou alguns imunossupressores.

Grupo IIC (n=40): crianças com DRC sem uso de imunossupressores.

Grupo IIIC (n=33): composto por crianças saudáveis, grupo controle.

4.2.1. Critérios de inclusão

4.2.1.1. Grupo de pacientes com DRC

Grupo IA

- Apresentar DRC por doença glomerular em estágios 1 ou 2;
- Ter idade inferior a 18 anos, no momento de coleta da amostra biológica.

Grupo IB

- Apresentar DRC por doença glomerular em estágios 3 ou 4;
- Ter idade inferior a 18 anos, no momento de coleta da amostra biológica.

Grupo IC

- Apresentar DRC por qualquer etiologia independente do estágio;
- Fazer uso de imunossupressor.

Grupo IIA

- Apresentar DRC por *CAKUT* em estágios 1 ou 2;
- Ter idade inferior a 18 anos, no momento de coleta da amostra biológica.

Grupo IIB

- Apresentar DRC por *CAKUT* em estágios 3 ou 4;
- Ter idade inferior a 18 anos, no momento de coleta da amostra biológica.

Grupo IIC

- Apresentar DRC por qualquer etiologia independente do estágio;
- Não fazer uso de imunossupressor.

Grupo III

- Apresentar diagnóstico de DRC, por outras etiologias distintas de doença glomerular ou *CAKUT*, em estágios 3 ou 4;
- Ter idade inferior a 18 anos, no momento de coleta da amostra biológica.

Grupo IV: Grupo formado por crianças e adolescentes com DRC em estágio 1 ao 4 por qualquer etiologia. Junção dos grupos IA, IB, IIA, IIB e III.

4.2.1.2. Grupo controle

O grupo controle foi composto por crianças e adolescentes declaradamente saudáveis, com idade e gênero compatíveis com os pacientes com DRC.

Grupo V e Grupo IIIC

- Ser clinicamente saudável;
- Idade e sexo pareáveis com as crianças e adolescentes com DRC.

4.2.2. Critérios de exclusão

4.2.2.1. Grupo de pacientes com DRC

- Idade superior a 18 anos.
- Idade inferior a 2 anos ou baixo peso.
- Portadores de DRC com o RFG abaixo de 15mL/min/1,73m³ e em terapia de substituição renal (hemodiálise e diálise peritoneal).
- Portadores de doenças infectocontagiosas.
- Portadoras de processo infeccioso e/ou inflamatório na data da coleta ou até três semanas precedentes.
- Portadores de diabetes *mellitus*.
- Portadores de outras doenças intercorrentes, tais como câncer, doenças autoimunes, doenças hepáticas, distúrbios hormonais e anemias.
- Portadores de distúrbios plaquetários ou da coagulação.
- Em uso de medicamentos polivitamínicos ou hormônios contraceptivos.

4.2.2.2. Grupo Controle

- Idade superior a 18 anos.
- Idade inferior a 2 anos ou baixo peso.
- Diagnosticados com qualquer patologia renal e do trato urinário.
- Portadores de doenças infectocontagiosas, câncer, doenças autoimunes, doenças hepáticas, distúrbios hormonais.
- Portadores de processo infeccioso e/ou inflamatório na data da coleta ou até três semanas precedentes.
- Portadores de diabetes *mellitus* ou com outras doenças metabólicas
- Portadores de distúrbios plaquetários ou de coagulação.
- Em uso de quaisquer medicamentos anti-inflamatórios, hormônios contraceptivos ou polivitamínicos.

4.3. Amostras biológicas

As amostras de soro utilizadas no presente estudo estavam armazenadas em microcubos mantidos a -80°C . As mesmas foram obtidas por coleta venosa em tubos do sistema Vacutainer® sem anticoagulante para obtenção de 5,0mL de soro. Este foi obtido após centrifugação a 3000g durante 15 minutos.

4.4. Métodos

4.4.1. Determinação dos níveis séricos dos mediadores imunes

A técnica empregada para determinação dos níveis séricos dos mediadores imunes dos pacientes com DRC e dos controles foi o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) - Ensaio de imunoabsorção enzimático sanduíche *in house*.

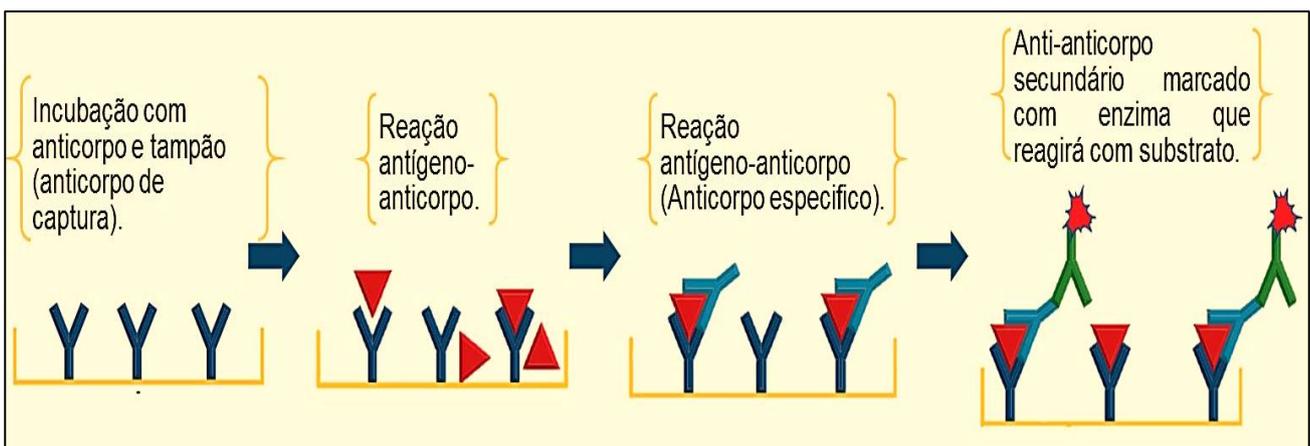
As etapas da técnica de ELISA *in house* consistiram na sensibilização dos anticorpos na superfície da placa, seguida da remoção dos que não se ligaram à placa, por lavagens sucessivas dessa. Depois dessa lavagem para tirar o excesso

de anticorpo de captura, foi feito o bloqueio da placa com uma solução concentrada de BSA para bloquear os sítios inespecíficos. Seguido do tempo de incubação, realizou-se a lavagem da placa e adição as amostras e os controles.

Posteriormente, adicionou-se um anticorpo de detecção biotilado que se ligou ao antígeno da placa. Após o tempo necessário para ocorrer a ligação antígeno-anticorpo, o excesso de anticorpo foi retirado por lavagens sucessivas. Por fim, adicionou-se um conjugado avidina-peroxidase, que é um anticorpo de detecção marcado, ou seja, ligado a uma enzima que irá produzir cor em reação com um substrato. A cor produzida foi quantificada por leitura espectrofotométrica com absorbância proporcional à quantidade de antígeno na amostra de soro (DUTTA; PENSABIO, 2019).

No período de incubação ocorreu a reação do anticorpo de captura (anticorpo adsorvido na placa) com antígeno pesquisado, presente na amostra; então foi adicionado um anticorpo específico (anticorpo de detecção) que é direcionado ao antígeno da amostra já ligado ao anticorpo de captura. (PENSABIO, 2019; ABCAM, 2020). A **figura 11** ilustra os processos das ligações antígeno-anticorpo por meio da técnica de ELISA sanduíche.

Figura 11- Etapas da reação por ELISA sanduíche



Fonte: (Adaptado de PENSABIO, 2019; ABCAM, 2020).

Para determinação das concentrações séricas da IL-17, IL-33 e CXCL16 foram utilizando kits comerciais PEPROTECH®. Para determinação da AnxA1 foi utilizado o kit da CAYMAN CHEMICAL®. Os kits contêm anticorpo de captura, anticorpo de

detecção, proteína recombinante, conjugado para reação (avidina), PBS (*Phosphate buffered saline*) e ABTS (substrato), bem como o TMB (substrato) para AnxA1.

Microplacas de poliestireno foram sensibilizadas com 50µL/poço de anticorpo monoclonal de captura previamente diluído. A diluição do anticorpo de captura foi realizada adicionando 25µL (podendo ser variável de acordo com o kit) de anticorpo a 5,0mL de solução de tampão fosfato salino (PBS) 1x. A solução de PBS 1x contém cloreto de sódio (NaCl) (8g), cloreto de potássio (KCl) (0,2g), fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₄) (0,2g) e fosfato monobásico de potássio (KH₂PO₄) (1,19g) em água destilada.

Após incubação a 4°C *overnight*, os anticorpos de captura não ligados foram removidos por meio de quatro lavagens sucessivas. As lavagens foram realizadas utilizando-se, em cada poço da placa, 300µL de solução de PBS 1x contendo 0,1% de *Tween 20* (PBS/*Tween*).

Seguida à lavagem, foi feito o bloqueio, adicionando a cada poço da microplaca, 300µL de solução de bloqueio contendo 1% de albumina sérica bovina (BSA) diluída em PBS 1x (PBS/BSA 1%) e posteriormente, incubação por 2 horas à temperatura ambiente. Após a incubação, a solução de bloqueio foi descartada e a microplaca submetida a quatro lavagens com PBS/*Tween*. Em seguida, as amostras e os padrões foram adicionados. Após 2 horas de incubação à temperatura ambiente foram realizadas quatro lavagens sucessivas da placa.

Posteriormente, os anticorpos de detecção biotinilados foram adicionados (50µL) e a placa foi incubada por 2 horas à temperatura ambiente. Após quatro lavagens, 100µL da peroxidase ligada à avidina foi adicionada.

Por fim, 100µL do substrato (ABTS), foi adicionado para formação de cor. A leitura foi feita em comprimentos de onda de 405nm com correção e ajuste a 650nm em espectrofotômetro (*Endpoint Emax, Molecular Devices, Rochester, NY, USA*).

Para determinação dos níveis séricos da IL-4 e da IL-10 foram utilizados os kits da QUANTIKINE® USA R&D Systems Inc. Os kits contêm microplaca revestida com anticorpo, padrão, anticorpo conjugado à enzima, diluentes de ensaio, calibradores, tampão de lavagem e reagentes de cor.

Os reagentes e padrões de trabalho foram preparados. Foi adicionado a cada poço da microplaca o reagente de ensaio na quantidade de 100µL para IL-4 e 50µL para IL-10; e em seguida foram adicionados os padrões; 50µL para IL-4 e 200µL para IL-10. O mesmo volume de soro foi adicionado para cada placa correspondente às citocinas. Após 2 horas de incubação a placa foi lavada três vezes com o tampão de lavagem, utilizando pipeta multicanal (400µL/poço) e adicionou-se 200µL do anticorpo de detecção marcado com a peroxidase para as duas citocinas.

Após 2 horas de incubação a placa foi lavada mais três vezes e 200µL da solução de substrato foram adicionados a cada poço para ambas as interleucinas. As placas foram cobertas com papel alumínio para proteção luminosa à temperatura ambiente por 20 minutos.

Finalmente, 20µL da solução de parada foi adicionada e após 30 minutos a leitura foi feita em comprimentos de onda de 405nm com correção e ajuste a 650nm em espectrofotômetro (*Endpoint Emax, Molecular Devices, Rochester, NY, USA*).

4.4.2. Obtenção dos índices derivados do hemograma

Os índices derivados do hemograma escolhidos para o estudo foram a relação neutrófilo-linfócito (RNL); relação neutrófilo-linfócito derivado (dRNL); relação linfócito-monócito (RLM) e índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri).

Os índices foram obtidos a partir de cálculos que relacionam a contagem global dos leucócitos, bem como dos neutrófilos, monócitos e linfócitos. Os dados do hemograma para cálculo dos índices foram obtidos do banco de dados criado anteriormente a partir do prontuário dos pacientes selecionados para o estudo. O hemograma dos participantes do grupo controle foi feito no equipamento Counter-Coulter T-890 no laboratório de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/ Faculdade de Farmácia da UFMG.

A razão entre o número absoluto de neutrófilo e de linfócito (RNL) foi obtida pela expressão a seguir.

$$RNL = \frac{n^{\circ} \text{ absoluto de Neutr\u00f3filos}}{n^{\circ} \text{ absoluto de Linf\u00f3citos}}$$

O dRNL foi calculado pela raz\u00e3o entre o n\u00famero absoluto de neutr\u00f3filos e a diferen\u00e7a entre global de leuc\u00f3citos e n\u00famero absoluto de neutr\u00f3filos, conforme a express\u00e3o a seguir.

$$dRNL = \frac{n^{\circ} \text{ absoluto de Neutr\u00f3filos}}{(n^{\circ} \text{ global de leuc\u00f3citos}) - (n^{\circ} \text{ absoluto de neutr\u00f3filos})}$$

A raz\u00e3o entre o n\u00famero absoluto de linf\u00f3citos e de mon\u00f3citos (RLM) foi obtida pela express\u00e3o a seguir.

$$RLM = \frac{n^{\circ} \text{ absoluto de Linf\u00f3citos}}{n^{\circ} \text{ absoluto de Mon\u00f3citos}}$$

E por fim, o \u00edndice Siri foi calculado pela multiplica\u00e7\u00e3o do n\u00famero absoluto de neutr\u00f3filos pelo de mon\u00f3citos e dividido pelo n\u00famero absoluto de linf\u00f3citos, conforme mostra a express\u00e3o a seguir.

$$Siri = \frac{n^{\circ} \text{ absoluto de Neutr\u00f3filos} \times n^{\circ} \text{ absoluto de mon\u00f3citos}}{n^{\circ} \text{ absoluto de Linf\u00f3citos}}$$

Todos os c\u00e1lculos foram realizados por meio de planilha da Microsoft Excel \u2122.

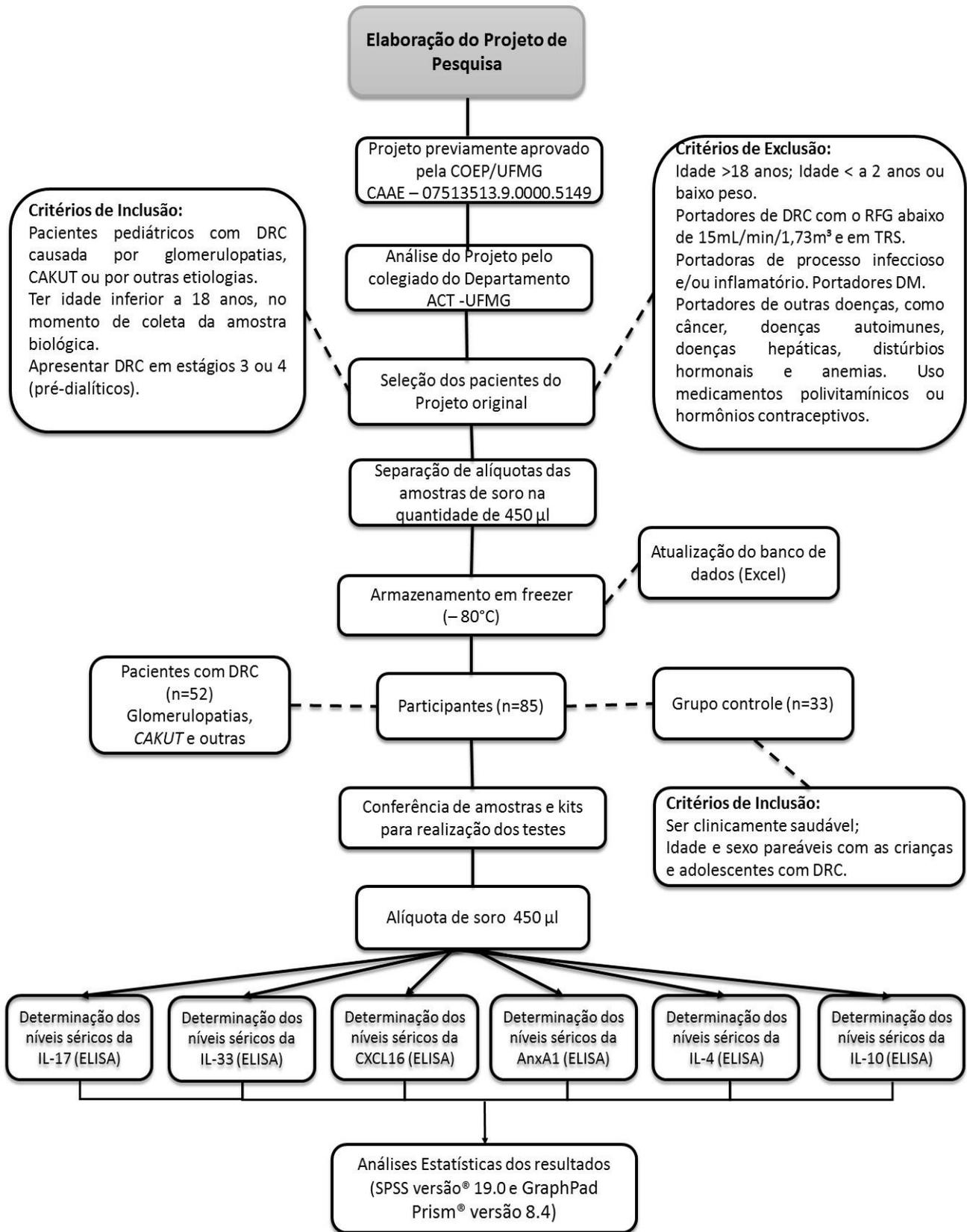
4.4.3. An\u00e1lises estat\u00edsticas

A an\u00e1lise estat\u00edstica dos dados foi feita utilizando os programas SPSS\u2122 (vers\u00e3o 19.0) e GraphPad Prism\u2122 (vers\u00e3o 8.4) A normalidade dos dados foi testada pelo m\u00e9todo Shapiro-Wilk. Os dados param\u00e9tricos (altura, peso, hem\u00e1cias,

hemoglobina, hematócrito, TFG, ureia, creatinina, ácido úrico, sódio, potássio, cloro, cálcio, proteínas totais, albumina, LDL e HDL) foram apresentados como média \pm desvio padrão. Para os dados não paramétricos (idade, IMC, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, plaquetas, fósforo, magnésio, PTH, colesterol total e triglicérides) foram apresentados como mediana e intervalo interquartilico. A comparação das medianas das variáveis contínuas (IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL4 e IL-10) (RNL, dRNL, RLM e Siri) para os grupos foi feita pelo teste de *Kruskal-Wallis*. A comparação dos resultados entre dois grupos foi feita pelo pós-teste de *Dunn*. Para dados normais aplicou-se o teste de *Turkey* após ANOVA.

Foram consideradas como diferenças significativas valores de $p \leq 0,05$.

4.5. Fluxograma do delineamento experimental



5. RESULTADOS

5.1. Características clínicas dos participantes

O presente estudo incluiu 85 crianças e adolescentes, sendo 52 portadoras de DRC causada por diferentes etiologias e 33 controles saudáveis com idades compatíveis aos pacientes. Foram alocadas em sete grupos (IA, IB, IIA, IIB, III, IV e V).

A análise percentual das causas da DRC nas crianças e adolescentes mostrou que as glomerulopatias, abrangendo todos os estágios (1, 2, 3 e 4) representavam um total de 38,45%, sendo 23,07% pacientes em estágios iniciais (1 ou 2) e 15,38 em estágios avançados (3 ou 4). O grupo DRC por *CAKUT* representou 48,06%, sendo 17,30% em estágios iniciais (1 ou 2) e 30,76% em estágios avançados (3 ou 4). As outras causas de DRC (tubulopatias, doenças císticas, dentre outras) representou 13,46% dos casos e todos estavam em estágios mais avançados (3 e 4). A **Tabela 3** mostra a distribuição de frequência dos pacientes do estudo.

Tabela 3 – Distribuição de frequências por grupos de etiologia da DRC e estágios

Etiologias	Estágios		Percentil Acumulado (%)
	1 ou 2	3 ou 4	
Glomerulopatias [n(%)]	12 (23,07)	8 (15,38)	38,45
CAKUT [n(%)]	9 (17,30)	16 (30,76)	48,06
Outras [n(%)]	-	7 (13,46)	13,46
Total (%)			100

A mediana e intervalo interquartilico da idade dos pacientes com DRC foi de 13,5 (5,0) anos e dos participantes do grupo controle 12,0 (5,0).

Os dados clínicos de todos os participantes do estudo estão apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4 – Características clínicas das crianças e adolescentes participantes do estudo

Parâmetros	Subgrupo	Subgrup	Subgrup	Subgrup	Grupo III (n=7)	Grupo IV (n=52)	Grupo V (n=33)
	IA (n=12)	o IB (n=8)	o IIA (n=9)	o IIB (n=16)			
Idade (anos)^b	11,50 (4,0)	13,50 (5,0)	14,0 (5,0)	13,50 (5,0)	15,0 (8,0)	14,0 (5,0)	12,0 (5,0)
Sexo^c							
Masculino [n(%)]	8 (67)	4 (50)	4 (44)	14 (88)	2 (29)	32 (62)	21 (54)
Feminino [n(%)]	4 (33)	4 (50)	5 (56)	2 (12)	5 (71)	20 (48)	12 (36)
Altura^a	1,43 (0,12)	1,45 (0,26)	1,49 (0,15)	1,42 (0,26)	1,42 (0,29)	1,43 (0,21)	1,56 (0,16)
Peso^a	44,28 (16,12)	39,54 (15,23)	43,26 (15,08)	35,75 (17,49)	32,94 (14,31)	39,22 (15,99)	49,58 (16,45)
IMC (Kg/m²)^b	20,60 (7,50)	16,65 (8,78)	17,90 (9,10)	15,85 (3,47)	14,20 (3,60)	17,35 (5,65)	19,38 (3,49)
Pressão arterial							
Sistólica^b	100 (18,0)	105 (19,0)	110 (17,0)	110 (25,0)	110 (26,0)	109 (16,25)	-
Diastólica^b	60,0 (12,0)	70,0 (17,0)	70,0 (17,0)	70,0 (20,0)	65,0 (22,0)	70,0 (10,0)	
Medicamento hipotensor [n(%)]^c							
Losartan	3 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (29)	5 (10)	0 (0)
IECA [n(%)]^c	8 (67)	4 (50)	4 (44)	10 (63)	4 (57)	30 (58)	0 (0)
Omega 3^c	0 (0)	2 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (4,0)	0 (0)
Sinvastatina^c	2 (17)	4 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (12)	0 (0)
Medicamentos imunossupressores [n(%)]^c	8 (67)	4 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	12 (23)	0 (0)
Tratamento para anemia^c	0 (0)	2 (25)	0 (0)	0 (0)	3 (43)	5 (10)	0 (0)

^a Distribuição normal: Variáveis apresentadas como média e desvio padrão.

^b.Distribuição não normal: Variáveis apresentadas como mediana e intervalo interquartilico.

^c Valor absoluto e relativo.

- Dados não encontrados.

Os dados paramétricos são apresentados como média ± desvio padrão. Os dados não-paramétricos estão apresentados como mediana e intervalo interquartilico (avaliação pelo teste Shapiro-Wilk de normalidade). IMC: índice de massa corporal; DRC: doença renal crônica; IECA: inibidores da enzima conversora de angiotensina; ARA: antagonistas dos receptores de angiotensina.

Grupo I: Glomerulopatias – DRC todos os estágios (n=20); **Subgrupo IA:** Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); **Subgrupo IB:** Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); **Grupo II:** *CAKUT* – DRC todos os estágios (n=25); **Subgrupo IIA:** *CAKUT* – DRC estágios 1 e 2 (n=9); **Subgrupo IIB:** *CAKUT* – DRC estágios 3 e 4 (n=16); **Grupo III:** Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); **Grupo IV:** Grupo DRC estágio 1 ao 4 (IA, IIA, IB, IIB, III) (n=52); **Grupo V:** Controle (n=33).

As características clínicas dos participantes do estudo foram extraídas do banco de dados anteriormente preparado.

5.2. Parâmetros laboratoriais

Os dados hematológicos e bioquímicos dos pacientes com DRC e dos controles também foram extraídos do banco de dados e podem ser visualizados. A **Tabela 5** mostra os parâmetros laboratoriais dos participantes do estudo.

Tabela 5 - Parâmetros laboratoriais das crianças e adolescentes dos grupos IA, IB, IIA, IIB, III e V

Parâmetros	Subgrupo IA (n=12)	Subgrupo IB (n=8)	Subgrupo IIA (n=9)	Subgrupo IIB (n=16)	Grupo III (n=7)	Grupo V (n=33)	p
Hemácias (nº x 10 ⁶ /mm ³) ^a	4,59 (0,39)	4,41 (1,27)	4,39 (0,42)	4,39 (0,68)	4,02 (0,66)	4,75 (0,44)	0,095
Hemoglobina (g/dL) ^a	13,9 (1,24)	12,08 (2,32)	12,57 (0,99)	12,24 (1,22)	11,78 (1,76)	13,46 (1,17)	0,006
Hematócrito (%) ^a	39,01 (3,68)	35,83 (6,71)	37,77 (2,38)	37,34 (4,18)	35,90 (6,05)	39,99 (3,92)	0,069
Plaquetas (nº x 10 ³ /mm ³) ^b	314,50 (103,25)	269,00 (427,75)	241,00 (76,00)	244,00 (56,50)	258,00 (198,50)	282,00 (72,25)	0,146
Global de leucócitos (nº x 10 ³ /mm ³) ^b	5,97 (3,90)	13,40 (7,20)	6,04 (2,85)	2,80 (2,52)	12,54 (11,48)	5,70 (1,90)	0,257
Neutrófilo (nº x 10 ³ /mm ³) ^b	2,40 (1,79)	11,10 (7,69)	3,59 (2,29)	2,70 (1,70)	9,11 (11,02)	2,81 (1,58)	0,094
Linfócito (nº x 10 ³ /mm ³) ^b	2,65 (1,29)	2,69 (2,51)	2,00 (1,21)	2,37 (2,10)	2,54 (1,14)	2,41 (0,78)	0,566
Monócito (nº x 10 ³ /mm ³) ^b	0,60 (0,60)	0,60 (0,10)	0,3 (0,2)	0,35 (0,22)	0,45 (0,10)	0,20 (0,10)	0,002

Eosinófilo (n° x 10³/mm³)^b	0,24 (0,19)	0,46 (0,52)	0,32 (0,34)	0,29 (0,40)	0,33 (0,29)	0,14 (0,20)	0,235
TFG (mL/min/1,73m²)^a	-	26,37 (15,79)	85,33 (23,91)	33,57 (14,64)	36,50 (11,50)	-	<0,001
Ureia (mg/dL)^a	-	83,25 (26,04)	40,50 (10,19)	102,8 (43,85)	90,0 (10,68)	-	<0,001
Creatinina (mg/dL)^a	-	3,67 (1,71)	1,15 (0,37)	3,02 (1,18)	2,59 (0,95)	-	<0,001
Ácido úrico(mg/dL)^a	-	5,82 (1,49)	6,87 (1,71)	7,11 (1,32)	6,17 (1,25)	-	<0,001
Sódio (mmol/L)^a	-	141,00 (3,16)	140,83 (2,64)	142,10 (2,60)	139,00 (1,83)	-	0,282
Potássio (mmol/L)^a	-	4,41 (1,04)	4,72 (0,34)	5,19 (0,60)	4,93 (0,59)	-	0,041
Cloro (mmol/L)^a	102,57 (1,90)	106,00 (5,65)	-	106,00 (1,41)	-	-	0,008
Fósforo (mg/dL)^b	5,10 (1,00)	5,25 (0,0)	-	5,40 (0,29)	-	-	0,644
Cálcio (mg/dL)^a	9,55 (0,43)	10,00 (0,56)	-	9,45 (0,21)	-	-	0,081
Magnésio (mg/dL)^b	1,90 (0,50)	1,75 (0,0)	-	-	-	-	0,477
PTH (pg/mL)^b	-	252,00 (418,13)	62,55 (43,53)	176,00 (188,30)	132,50 (17,00)	-	0,006
Proteínas totais (g/dL)^a	6,56 (1,22)	-	-	7,73 (0,38)	-	-	0,154
Albumina (g/dL)^a	4,17 (0,38)	4,15 (0,07)	-	3,85 (0,21)	-	-	0,484
Colesterol total (mg/dL)^b	-	161,00 (102,00)	155,50 (35,00)	150,00 (75,00)	166,00 (38,00)	-	0,386
LDL (mg/dL)^a	-	82,85 (12,82)	89,98 (13,07)	78,65 (9,98)	76,50 (38,89)	-	0,442
HDL (mg/dL)^a	-	52,00 (15,66)	45,50 (11,02)	55,14 (26,55)	56,50 (0,71)	-	0,526
Triglicérides (mg/dL)^b	-	95,00 (519,25)	80,50 (87,50)	89,00 (105,00)	165,00 (80,00)	-	0,228

^a Distribuição normal: Dados paramétricos são apresentados como média ± desvio padrão (comparação por Teste ANOVA).

^b Distribuição não normal: Dados não-paramétricos, apresentados como mediana (intervalo interquartil) (comparação por Kruskal wallis).

^c Valor absoluto e relativo.

- Dados não encontrados.

Grupo I: Glomerulopatias – DRC todos os estágios (n=20); **Subgrupo IA:** Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); **Subgrupo IB:** Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); **Grupo II:** *CAKUT* – DRC todos os estágios (n=25); **Subgrupo IIA:** *CAKUT* – DRC estágios 1 e 2 (n=9); **Subgrupo IIB:**

CAKUT – DRC estágios 3 e 4 (n=16); **Grupo III:** Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); **Grupo V:** Controle (n=33).

5.3. Avaliação dos mediadores imunes

Os níveis séricos de IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10 foram determinados nas crianças e adolescentes do estudo. A **Tabela 6** mostra os resultados das medianas dos mediadores mensurados para cada grupo. Na **Tabela 7** estão descritas as medianas dos níveis séricos obtidos ao agrupar todos os pacientes com DRC em estágios 1 a 4 independente da etiologia (Grupo IV) e grupo controle (Grupo V).

Tabela 6 – Níveis séricos dos mediadores imunes obtidos para os grupos avaliados

Grupos	Subgrupo IA	Subgrupo IB	Subgrupo IIA	Subgrupo IIB	Grupo III	Grupo V	p
Parâmetros	(n=12)	(n=8)	(n=9)	(n=16)	(n=7)	(n=33)	
IL-17 (pg/mL)	34,98 (48,160)	11,47 (25,81)	11,47 (23,51)	16,05 (13,77)	11,47 (25,81)	63,07 (40,14)	p<0.001*
IL-33 (pg/mL)	197,22 (308,68)	120,05 (126,49)	192,94 (278,67)	270,11 (379,44)	132,91 (87,90)	334,42 (261,53)	0.014*
CXCL16 (pg/mL)	156,41 (170,45)	140,36 (156,42)	168,45 (43,12)	192,50 (128,34)	84,22 (284,74)	260,68 (213,56)	0.007*
AnxA1 (pg/mL)	36,70 (23,40)	42,25 (64,90)	35,65 (26,95)	36,10 (15,15)	39,55 (34,90)	44,60 (42,72)	0.484
IL-4 (pg/mL)	-	9,24 (15,57)	1,49 (8,55)	2,13 (24,37)	0,59 (38,39)	0,0 (9,49)	0.599
IL-10 (pg/mL)	-	11,19 (36,44)	13,44 (10,95)	12,64 (18,12)	13,85 (26,15)	11,51 (15,25)	0.786

*p<0,05 (comparação pelo teste de Kruskal Wallis).

Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil)

Grupo I: Glomerulopatias – DRC todos os estágios (n=20); **Subgrupo IA:** Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); **Subgrupo IB:** Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); **Grupo II:** **CAKUT** – DRC todos os estágios (n=25); **Subgrupo IIA:** **CAKUT** – DRC estágios 1 e 2 (n=9); **Subgrupo IIB:** **CAKUT** – DRC estágios 3 e 4 (n=16); **Grupo III:** Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); **Grupo V:** Controle (n=33). IL-17: Interleucina 17; IL-33: Interleucina 33; CXCL16: Quimiocina CXC 16; AnxA1: Anexina A1; IL-4: Interleucina 4; IL10: Interleucina 10.

Tabela 7 – Níveis séricos dos mediadores imunes avaliados em todas as crianças e adolescentes com DRC e grupo controle

Parâmetros	Grupo IV (n=52)	Grupo V (n=33)	p
IL17 (pg/mL)	15,48 (16,92)	63,07 (40,14)	p< 0,001*
IL33 (pg/mL)	201,51 (150,07)	334,42 (261,53)	0,013*
CXCL16 (pg/mL)	174,46 (156,42)	260,68 (213,56)	p< 0,001*
AnxA 1 (pg/mL)	37,45 (9,70)	44,60 (42,72)	0,196
IL-4 (pg/mL)	2,13 (11,16)	0,0 (9,49)	0,148*
IL-10 (pg/mL)	14,65 (17,99)	11,51 (15,25)	0,267*

*p<0,05 (comparação por Mann-Whitney).

Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (comparação por Mann-Whitney)

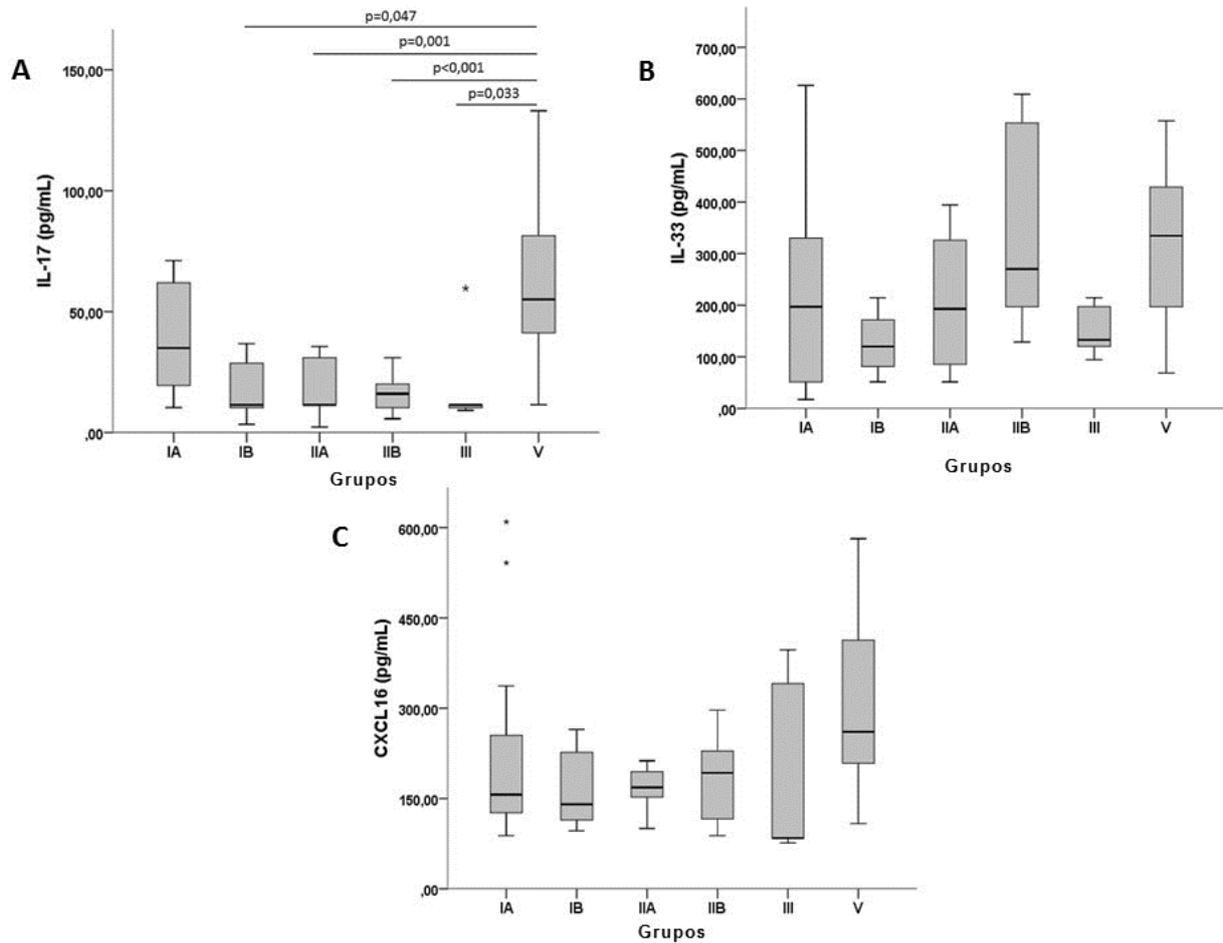
Grupo IV: Grupo DRC estágio 1 ao 4 (n=52); **Grupo V:** Controle (n=33). IL-17: Interleucina 17; IL-33: Interleucina 33; CXCL16: Quimiocina CXC 16; AnxA1: Anexina A1; IL-4: Interleucina 4; IL10: Interleucina 10.

A distribuição dos valores dos níveis plasmáticos de IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10 para os seis grupos (IA, IB, IIA, IIB, III e V) está apresentada nas **figuras 12 e 13**.

Para a IL-17, sua comparação entre os seis grupos apresentou valor de p<0,001. Nas múltiplas comparações entre os grupos; as diferenças foram encontradas entre IB e V (p=0,0047); IIA e V (p=0,001); IIB e V (p<0,001) e por fim III e V (p=0,033); em que os valores foram menores em todos os grupos (IB, IIA, IIB e III) quando comparado ao grupo de crianças saudáveis (V).

Não foram obtidas diferenças entre os seis grupos para a IL-33 e para a CXCL16 quando as comparações pareadas foram realizadas.

Figura 12 – Distribuição dos valores dos níveis séricos de IL-17, IL-33 e CXCL16 para os seis grupos estudados.



A) Níveis séricos da IL-17 nos grupos; B) Níveis séricos da IL-33 nos grupos; C) Níveis séricos da CXCL16 nos grupos.

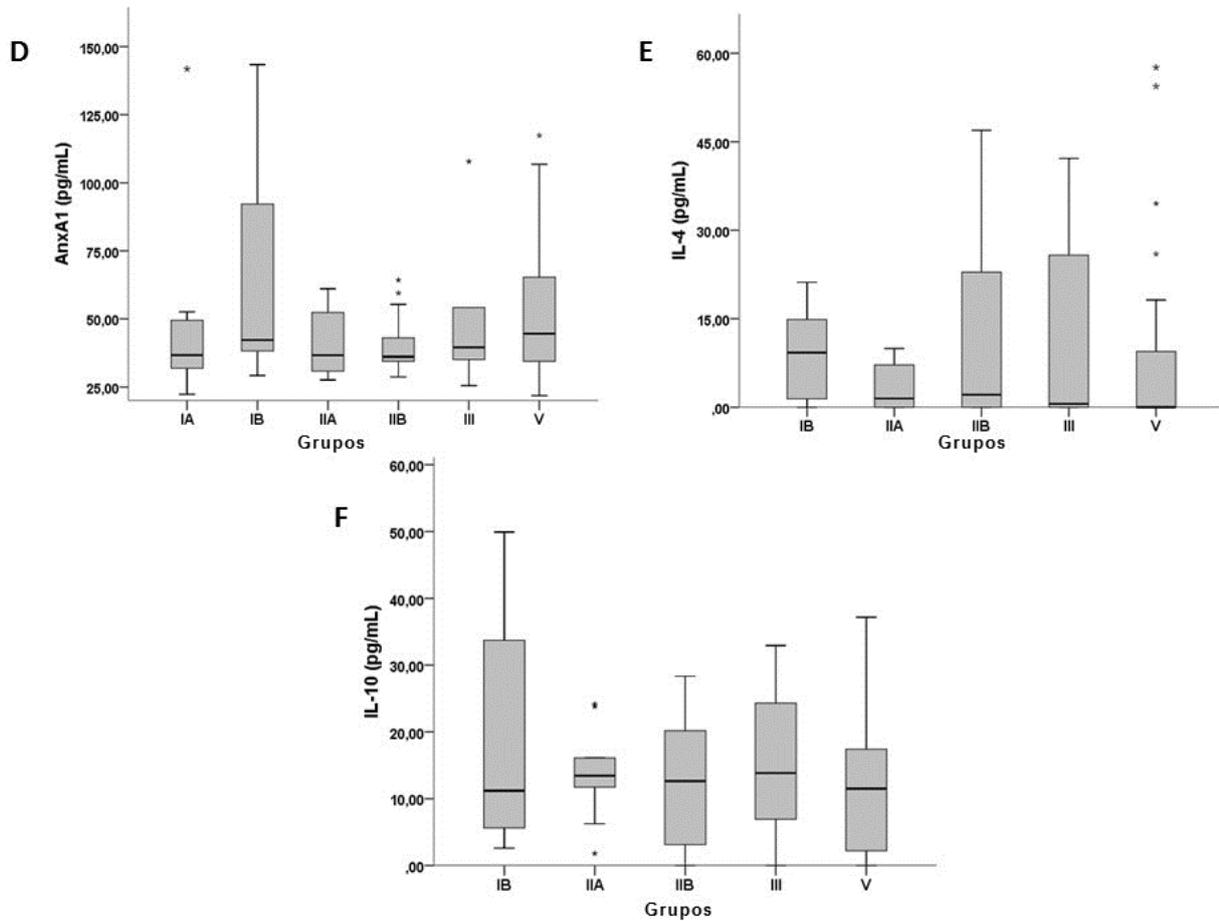
IL-17: Interleucina 17; IL-33: Interleucina 33; CXCL16: Quimiocina CXC 16; pg/mL: picograma por mililitro; Subgrupo IA: Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); Subgrupo IB: Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); Subgrupo IIA: *CAKUT* – DRC estágios 1 e 2 (n=9); Subgrupo IIB: *CAKUT* – DRC estágios 3 e 4 (n=16); Grupo III: Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); Grupo V: Controle (n=33).

Não foi encontrada diferença entre os níveis de AnxA1 entre os grupos avaliados (IA, IB, IIA, IIB, III, V) (p=0,484).

Não foi encontrada diferença entre os níveis de IL-4 entre os grupos avaliados (IA, IB, IIA, IIB, III, V) (p=0,599).

Por fim, não foi encontrada diferença entre os níveis de IL-10 entre os grupos avaliados (IA, IB, IIA, IIB, III, V) (p=0,786).

Figura 13 – Distribuição dos valores dos níveis séricos de AnxA1, IL-4 e IL-10 para os seis grupos estudados.



D) Níveis séricos da AnxA1 nos grupos; E) Níveis séricos da IL-4 nos grupos; F) Níveis séricos da IL-10 nos grupos.

AnxA1: Anexina A1; IL-4: Interleucina 4; IL-10: Interleucina 10; pg/mL: picograma por mililitro; Subgrupo IA: Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); Subgrupo IB: Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); Subgrupo IIA: *CAKUT* – DRC estágios 1 e 2 (n=9); Subgrupo IIB: *CAKUT* – DRC estágios 3 e 4 (n=16); Grupo III: Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); Grupo V: Controle (n=33). OBS: Grupo IA dados faltantes.

Os níveis séricos da IL-17, da IL-33 e da CXCL16 foram significativamente menores no grupo IV (pacientes com DRC) quando comparados ao grupo controle.

Para IL-17, o grupo IV apresentou valor da mediana de 15,48 (16,92) comparado à 63,07 (40,14) do grupo controle com valor $p < 0,001$.

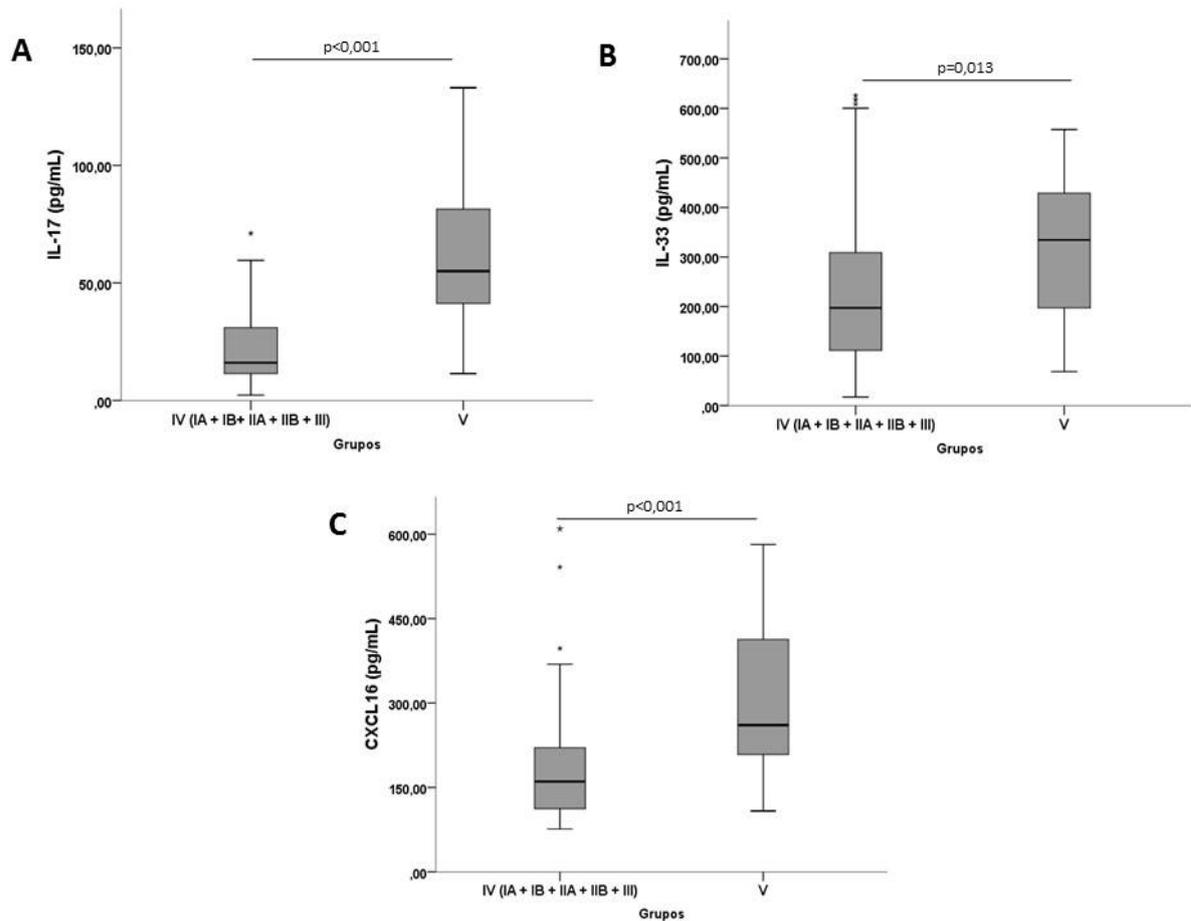
Os níveis plasmáticos de IL-33 para o grupo IV foram de 201,51 (150,07) e para o grupo controle de 334,42 (261,53), $p = 0,013$.

Os níveis de CXCL16 também foram significativamente menores nos pacientes portadores da DRC (Grupo IV) 174,46 (156,42) e controle 260,68 (213,56), $p < 0,001$.

Já para as citocinas AnxA1, IL-4 e IL-10 não houveram diferenças quando os grupos IV e controle foram comparados.

A distribuição dos valores dos níveis séricos de IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10 para os dois grupos IV e V (DRC e controle) está apresentada na **figura 14 e 15**.

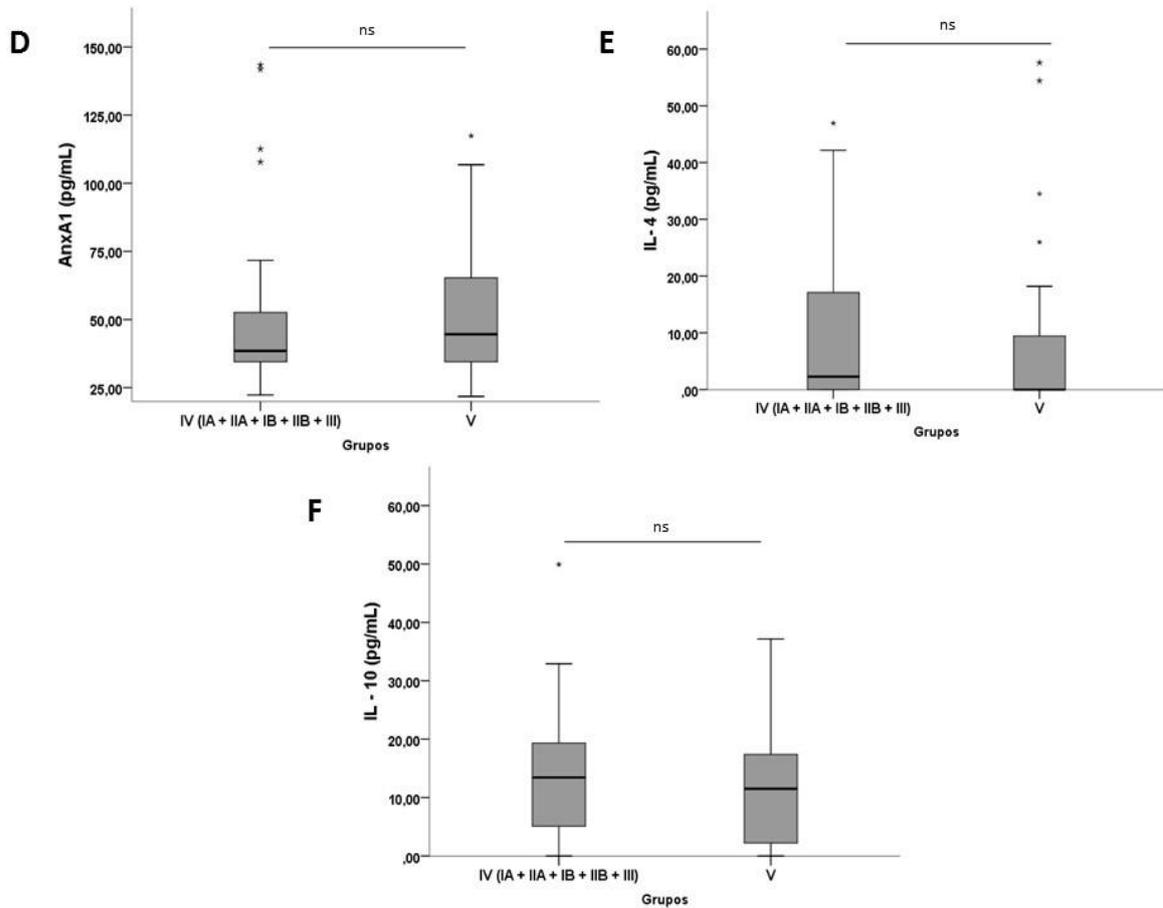
Figura 14 – Distribuição dos valores dos níveis plasmáticos de IL-17, IL-33 e CXCL16 para os grupos IV e Controle.



A) Níveis séricos de IL-17 entre grupos DRC e controle; B) Níveis séricos de IL-33 entre grupos DRC e controle; C) Níveis séricos de CXCL16 entre grupos DRC e controle.

IL-17: Interleucina 17; IL-33: Interleucina 33; CXCL16: Quimiocina CXC 16; pg/mL: picograma por mililitro; Grupo IV (IA, IB, IIA, IIB e III): Grupo DRC (n=52); Grupo V: Controle (n=33).

Figura 15 – Distribuição dos valores dos níveis plasmáticos de AnxA1, IL4 e IL-10 para os grupos IV e Controle.



D) Níveis séricos de AnxA1 entre grupos DRC e controle; E) Níveis séricos de IL-4 entre grupos DRC e controle; F) Níveis séricos de IL-10 entre grupos DRC e controle.

AnxA1: Anexina A1; IL-4: Interleucina 4; IL-10: Interleucina 10; pg/mL: picograma por mililitro; Grupo IV (IA, IB, IIA, IIB e III): Grupo DRC (n=52); Grupo V: Controle (n=33).

5.3.1. Avaliação dos mediadores imunes entre grupos com e sem o uso de imunossupressores

A **Tabela 8** mostra os níveis plasmáticos da IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL4 e IL-10 nos grupos IC, IIC e IIIC.

Tabela 8 - Níveis plasmáticos dos mediadores imunes avaliados nos grupos de pacientes com DRC em uso ou não de imunossupressores

Grupos	Grupo IC	Grupo IIC	Grupo IIIC	p
Parâmetros	(n=12)	(n=40)	(n=33)	
IL-17 (pg/mL)	23,51 (60,20)	16,05 (18,35) ^a	63,07 (40,14) ^a	p<0.001*
IL-33 (pg/mL)	94,32 (445,88)	205,80 (154,36)	334,42 (222,94)	0.026*
CXCL16 (pg/mL)	152,40 (429,12)	180,48 (96,26) ^b	276,72 (200,52) ^b	p<0.001*
AnxA1 (pg/mL)	38,80 (31,70)	37,70 (10,10)	44,60 (54,20)	0.352
IL-4 (pg/mL)	14,86 (17,67)	1,98 (10,34)	0,0 (18,20)	0.269
IL-10 (pg/mL)	6,21 (9,92)	14,83 (18,70)	12,14 (18,21)	0.295

*p<0,05 (comparação pelo teste de Kruskal Wallis).

^a pos-teste dunn p<0,0001 – Diferença entre Grupo IIC e IIIC.

^b pos-teste dunn p=0,0004 - Diferença entre Grupo IIC e IIIC.

Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil)

Grupo IC: DRC em uso de imunossupressores (n=12); **Grupo IIC:** DRC sem uso de imunossupressores (n=40); **Grupo IIIC:** Controle (n=33). IL-17: Interleucina 17; IL-33: Interleucina 33; CXCL16: Quimiocina CXCL 16: pg/mL: picograma por mililitro.

Nas comparações entre os grupos IC, IIC e IIIC houveram diferenças para as citocinas IL-17, IL-33 e CXCL16.

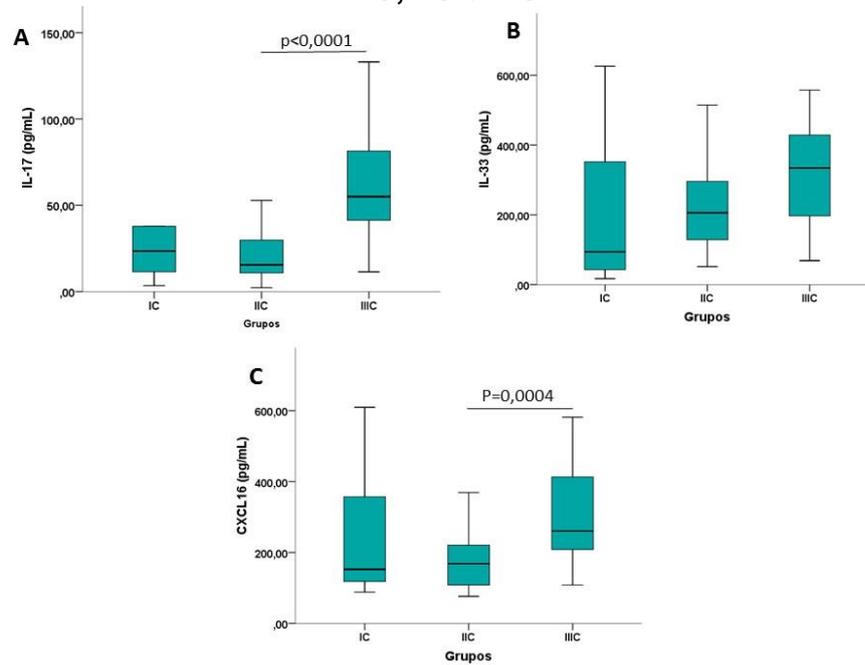
Nas múltiplas comparações com pós-teste de Dunn, foram encontradas diferenças para a IL-17 entre os grupos IIC e IIIC, onde o grupo de pacientes com DRC sem uso de imunossupressores apresentou-se valores menores em relação ao grupo controle (p<0,0001).

Nas múltiplas comparações para a CXCL16 foi encontrada diferença entre os grupos IIC e IIIC, onde o grupo de pacientes com DRC sem uso de imunossupressores apresentou-se níveis menores em relação ao grupo controle (p=0,0004).

Com relação a IL-33, mesmo quando detectada diferença entre grupos na análise inicial (p=0,026), o pós-teste não revelou diferença. Para AnxA1, IL-4 e IL-10 não houve diferença, comparando todos os grupos.

A distribuição dos valores dos níveis plasmáticos de IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10 para os grupos IC, IIC e IIIC está apresentada nas **Figuras 16 e 17**.

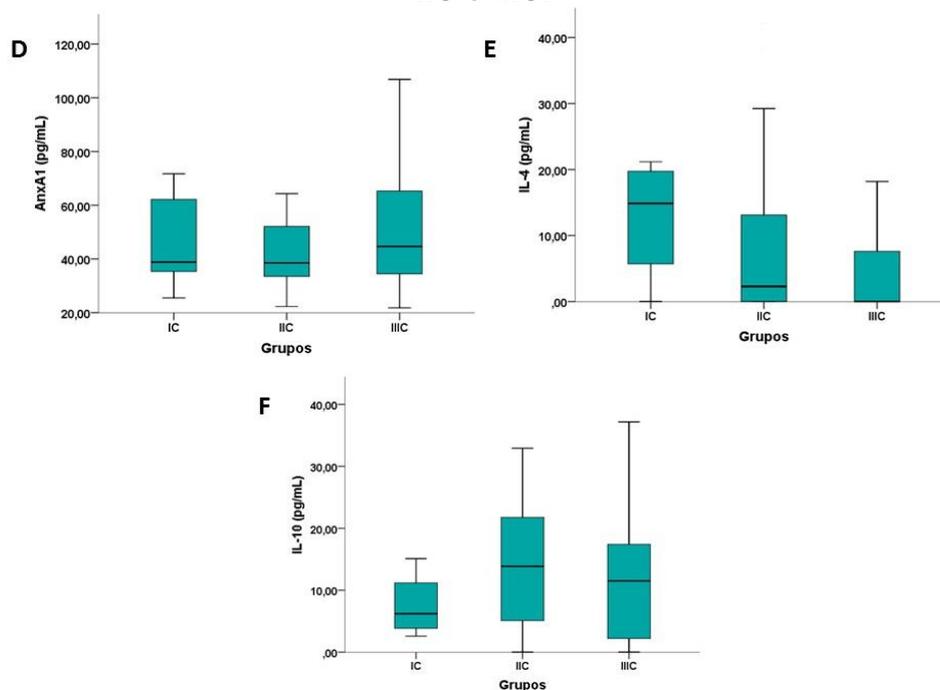
Figura 16 – Distribuição dos valores de IL-17, IL-33 e CXCL16 para os grupos IC, IIC e IIIC.



A) Níveis séricos da IL-17 nos grupos; B) Níveis séricos da IL-33 nos grupos; C) Níveis séricos da CXCL16 nos grupos.

IL-17: Interleucina 17; IL-33: Interleucina 33; CXCL16: Quimiocina CXC 16; pg/mL: picograma por mililitro; Grupo IC: DRC em uso de imunossupressores (n=12); Grupo IIC: DRC sem uso de imunossupressores (n=40); Grupo IIIC: Controle (n=33).

Figura 17 – Distribuição dos valores de AnxA1, IL-4 e IL-10 para os grupos IC, IIC e IIIC.



D) Níveis séricos da AnxA1 nos grupos; E) Níveis séricos da IL-4 nos grupos; F) Níveis séricos da IL-10 nos grupos.

AnxA1: Anexina A1; IL-4: Interleucina 4; IL-10: Interleucina 10; pg/mL: picograma por mililitro;; Grupo IC: DRC em uso de imunossupressores (n=12); Grupo IIC: DRC sem uso de imunossupressores (n=40); Grupo IIIC: Controle (n=33).

5.4. Avaliação dos Índices derivados do hemograma

A **Tabela 9** mostra as medianas dos grupos dos participantes do estudo (IA, IB, IIA, IIB, III e V) e a **Tabela 10** mostra as medianas dos índices derivados do hemograma das crianças e adolescentes com DRC estágio 1 ao 4 (grupo IV) e controles (V).

Tabela 9 – Índices derivados do hemograma dos grupos avaliados

Grupos	Subgrupo IA (n=12)	Subgrupo IB (n=8)	Subgrupo IIA (n=9)	Subgrupo IIB (n=16)	Grupo III (n=7)	Grupo V (n=33)	p
RNL	1,0 (0,79)	2,43 (10,17)	1,30 (1,27)	1,28 (0,81)	2,84 (2,27)	1,13 (0,64)	0,022*
dRNL	0,70 (0,60)	1,90 (5,28)	0,90 (0,85)	0,90 (0,53)	1,85 (0,25)	0,90 (0,45)	0,099
RLM	3,70 (3,60)	4,60 (5,10)	6,10 (11,25)	6,70 (2,95)	5,30 (3,97)	11,00 (4,50)	p<0,001*
Siri	0,90 (0,80)	1,65 (6,25)	0,30 (0,60)	0,50 (0,52)	0,25 (1,0)	0,20 (0,10)	0,003*

*p<0,05 (comparação por Kruskal Wallis).

Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (comparação por Kruskal Wallis).

Grupo I: Glomerulopatias – DRC todos os estágios (n=20); **Subgrupo IA:** Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); **Subgrupo IB:** Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); **Grupo II:** *CAKUT* – DRC todos os estágios (n=25); **Subgrupo IIA:** *CAKUT* – DRC estágios 1 e 2 (n=9); **Subgrupo IIB:** *CAKUT* – DRC estágios 3 e 4 (n=16); **Grupo III:** Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); **Grupo V:** Controle (n=33). RNL: Relação neutrófilo/linfócito; dRNL: Relação Neutrófilo-Linfócito derivado; RLM: Relação Linfócito-Monócito; Siri: Índice de resposta à inflamação sistêmica.

Tabela 10 – Índices derivados do hemograma das crianças e adolescentes com DRC estágio 3 ou 4 e grupo controle

Parâmetros \ Grupos	Grupo IV (n=52)	Grupo V (n=33)	p
RNL	1,43 (1,10)	1,13 (0,64)	0,104
dRNL	1,05 (0,83)	0,90 (0,45)	0,463
RLM	6,00 (3,88)	11,00 (4,50)	p< 0,001*
Siri	0,60 (0,73)	0,20 (0,10)	0,001*

*p<0,05 (comparação por Mann-Whitney).

Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (comparação por Mann-Whitney)

Grupo IV: Grupo DRC estágio 1 ao 4 (n=52); **Grupo V:** Controle (n=33). RNL: Relação neutrófilo/linfócito; dRNL: Relação Neutrófilo-Linfócito derivado; RLM: Relação Linfócito-Monócito; Siri: Índice de resposta à inflamação sistêmica.

A distribuição dos valores das medianas dos índices derivados do hemograma (RNL, dRNL, RLM e Siri) para os seis grupos (IA, IB, IIA, IIB, III e V) está apresentada na **figura 18**.

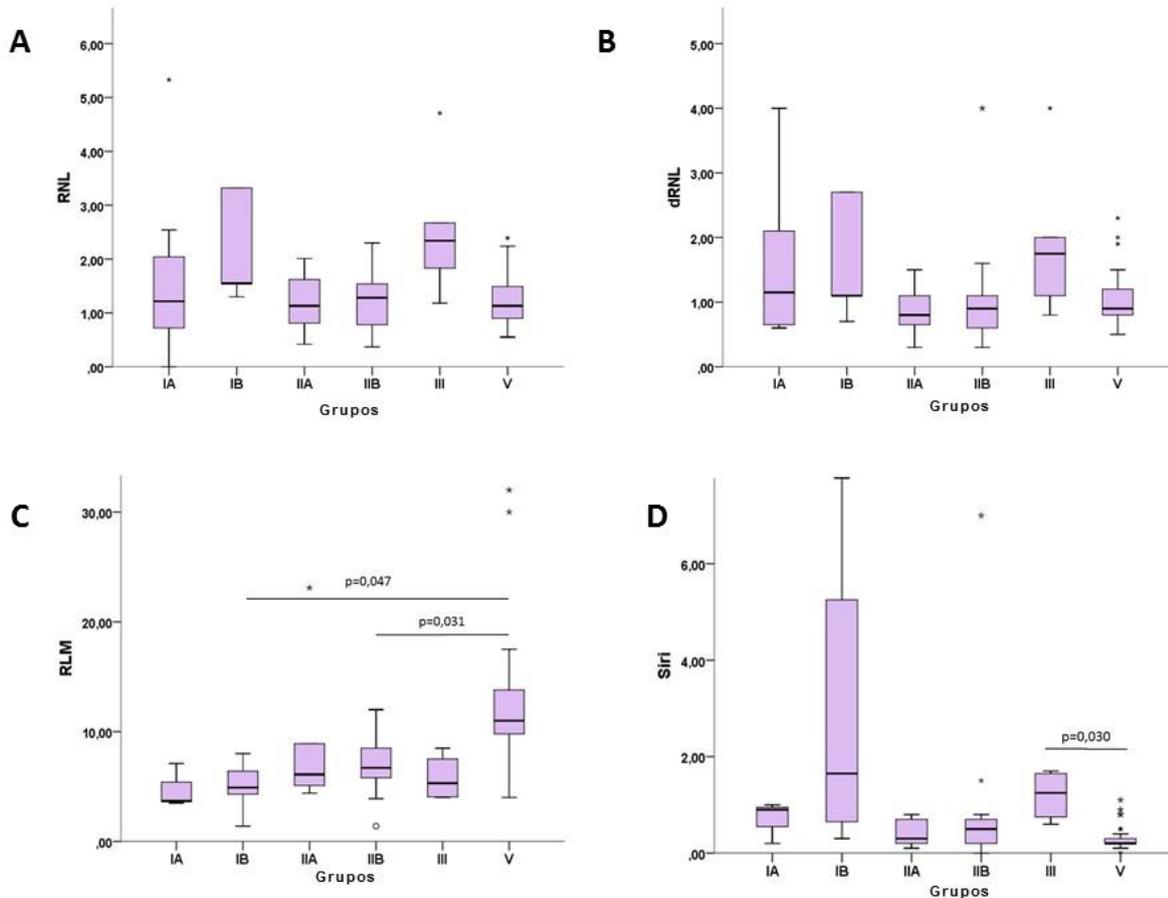
As múltiplas comparações entre os seis grupos não apresentaram nenhuma diferença para a RNL, mesmo a comparação global apresentando p=0,022.

Não houve diferença do parâmetro dRNL entre os seis grupos estudados (p=0,099).

Para a RLM, observou-se diferença ao comparar os seis grupos (p<0,001). Nas múltiplas comparações, a RLM foi menor ao comparar o grupo IB versus V e IIB versus V (p=0,047 e p=0,031, respectivamente).

Para o Siri, a comparação revelou diferença entre os seis grupos (p=0,003). Os valores de Siri foram maiores no grupo III em relação ao grupo V (p=0,030).

Figura 18 – Distribuição dos valores de RNL, dRNL, RLM e Siri para os seis grupos estudados.



A) Valores de RNL nos grupos; B) Valores de dRNL nos grupos; C) Valores de RLM nos grupos; D) Valores de Siri nos grupos.

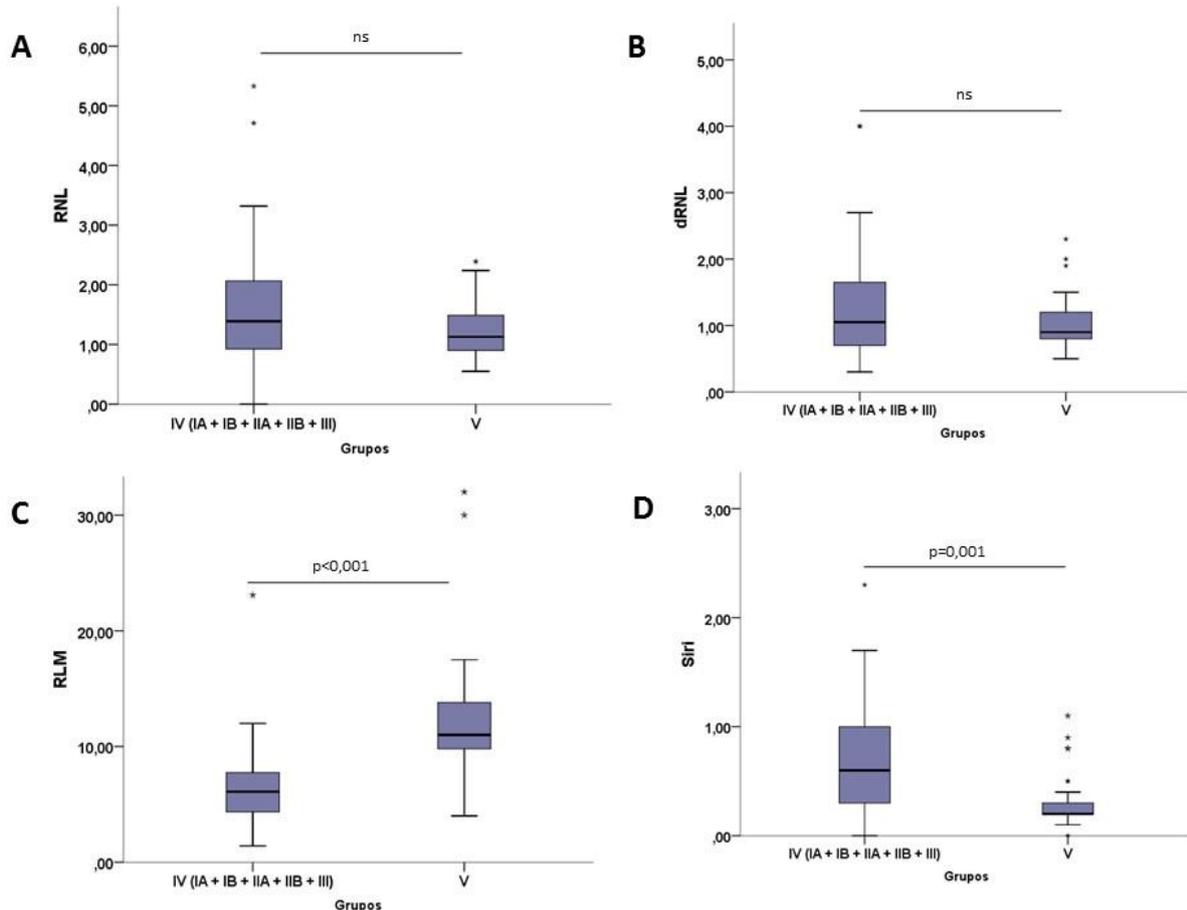
RNL: Relação neutrófilo/linfócito; dRNL: Relação neutrófilo/linfócito derivado; RLM: Relação Linfócito-Monócito; Siri: Índice de resposta à inflamação sistêmica; Subgrupo IA: Glomerulopatias – DRC estágios 1 e 2 (n=12); Subgrupo IB: Glomerulopatias – DRC estágios 3 e 4 (n=8); Subgrupo IIA: *CAKUT* – DRC estágios 1 e 2 (n=9); Subgrupo IIB: *CAKUT* – DRC estágios 3 e 4 (n=16); Grupo III: Outras etiologias – DRC estágios 3 e 4 (n=7); Grupo V: Controle (n=33).

A comparação dos índices derivados do hemograma do grupo de pacientes com DRC (IV) ao controle (V), revelou diferenças significativas para os índices RLM e Siri ($p < 0,001$ e $p = 0,001$, respectivamente). Para o RNL e dRNL não houverem diferenças ($p = 0,104$ e $p = 0,463$, respectivamente).

O grupo IV apresentou valores de RLM igual a 6,00 (3,88) e o grupo V de 11,00 (4,50). Para o Siri as medianas foram de 0,60 (0,73) e 0,20 (0,10) para os grupos IV e V, respectivamente.

A distribuição dos valores RNL, dRNL, RLM e Siri para os dois grupos (IV e controle) está apresentada na **figura 19**.

Figura 19 – Distribuição dos valores de RNL, dRNL, RLM e Siri para para os grupos IV e Controle.



A) Valores de RNL nos grupos DRC e controle; B) Valores de dRNL nos grupos DRC e controle; C) Valores de RLM nos grupos DRC e controle; D) Valores de Siri nos grupos DRC e controle.

RNL: Relação neutrófilo/linfócito; dRNL: Relação neutrófilo/linfócito derivado; RLM: Relação Linfócito-Monócito; Siri: Índice de resposta à inflamação sistêmica; Grupo IV (IA, IB, IIA, IIB, III) Grupo DRC (n=52); Grupo V: Controle (n=33).

6. DISCUSSÃO

6.1. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DRC

Dentre as etiologias que permeiam o grupo de pacientes com DRC, a *CAKUT* foi a que apresentou a maior frequência (48,06%) seguida de glomerulopatias (38,45%). Conforme BELANGERO, NOGUEIRA e outros (2016) essas são as

principais causas responsáveis por provocar a DRC na infância. INGELFINGER (2016) ao avaliar crianças e adolescentes com DRC nos Estados Unidos revelou que a *CAKUT* lidera o ranking das principais causas de DRC nas crianças em idade pré-escolar, enquanto a glomerulopatia é mais frequente em crianças e adolescentes em idade escolar. Em concordância, no presente estudo, as crianças com DRC causada por glomerulopatias, apresentaram mediana de idade correspondente a idade escolar, de 10 a 19 anos. Para os pacientes com DRC por *CAKUT*, a mediana de idade foi de 1 a 10 anos.

INGELFINGER (2016) também relatou que outras causas como doenças císticas, SHU e doenças isquêmicas constituem causas menos frequentes da DRC na infância. No presente estudo, apenas 13,46% das crianças e adolescentes com DRC, apresentaram causa distinta de *CAKUT* e glomerulopatias.

Em relação ao gênero da criança, houve predomínio do masculino, exceto para os grupos com DRC por glomerulopatias em estágios avançados e outras causas. Conforme SOUSA (2015), o número de crianças do sexo masculino é mais frequente, porém não se sabe se existe alguma relação entre o gênero e a patogênese da DRC. De acordo com estudo de NOGUEIRA e colaboradores (2011), o levantamento de dados em população pediátrica com DRC no Brasil, o gênero masculino representava 54% em relação ao feminino (46%).

A estatura das crianças e adolescentes com DRC variou dentre os grupos estudados. Os grupos de pacientes com DRC por glomerulopatias em estágios iniciais, *CAKUT* em estágios avançados e outras causas, apresentaram valores abaixo do valor médio para altura, de acordo com a idade segundo a SBP (2020). Sabe-se que a progressão da DRC é capaz de promover várias alterações orgânicas relacionadas ao metabolismo bioquímico de substâncias como vitamina D, íons como sódio, fósforo, potássio e cálcio, alterando o perfil de eletrólitos. Além disso, provoca também distúrbios endócrinos, decorrente de influências do processo inflamatório que permeia a DRC. Isso resulta em alterações dos níveis de PTH, cálcio, e do hormônio GH, comprometendo o crescimento ósseo e, conseqüentemente, a estatura da criança (BECHERUCCI *et al.*, 2016; MORAIS E SILVA, 2016).

Com relação ao IMC, de acordo com a SBP (2020), na faixa etária de 11 a 15 anos o valor do IMC é de 15,5 a 19,5. No presente estudo, apenas o grupo IA apresentou IMC inferior a 15,5. Sabe-se que nas glomerulopatias, o processo inflamatório com disfunção endotelial pode aumentar os níveis séricos de IL-1 e IL-6 e as citocinas podem alterar o perfil endócrino do PTH, cálcio e GH, provocando alterações no crescimento da criança (AKCHURIN *et al.*, 2015)

Segundo Ministério da Saúde (2014) é recomendável que as crianças com DRC mantenham a PA inferior a 130/80mmHg. No presente estudo, todos os grupos apresentaram pressão arterial inferior ao preconizado. Mesmo que a hipertensão arterial não seja uma etiologia frequente na DRC em crianças, ela pode ser consequência do processo de acometimento renal. Está bem estabelecido que a DRC pode resultar no comprometimento do SRAA que está relacionado ao controle da PA (HALL *et al.*, 2011; MARTINELLI, 2013). Sabe-se que o SRAA no paciente com DRC desencadeia a hiperfiltração glomerular, com consequente proteinúria, e essa, estimula o SRAA, num mecanismo de *feedback* positivo. Além disso, a angiotensina II é capaz de causar lesões nas células tubulares renais, comprometendo a função dos rins (NORLANDER *et al.*, 2014). Dessa forma, torna-se necessário o uso de medicamentos que atuem no SRAA para prevenir a lesão renal e a progressão da doença. O uso de inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) contribui para o controle do SRAA, evitando o processo lesivo mediado pela angiotensina II e regula a PA (HALL *et al.*, 2011). No presente estudo, 58% das crianças e adolescentes com DRC utilizam IECA e, dessa forma, mantém os níveis pressóricos inferiores a 130/80mmHg.

Os rins são responsáveis por 90% da secreção da eritropoietina (EPO), os outros 10% ficam a cargo do fígado. A EPO é sintetizada pelas células justaglomerulares renais em resposta à redução na tensão de oxigênio sanguíneo. A EPO age diretamente na medula óssea estimulando a eritropoese (HALL *et al.*, 2011; HENRY, 2012). Está bem estabelecido que pacientes com DRC têm um comprometimento da produção de EPO que é inversamente proporcional ao avanço da doença. Dessa forma, é recomendável o uso profilático de EPO recombinante a fim de evitar o estabelecimento de anemia. No corrente estudo, apenas 10% dos pacientes utilizam EPO, sendo todos em estágios avançados. Desses, 25% tinham

DRC por glomerulopatias em estágios avançados (grupo IIA) e 43% DRC por outras causas em estágios avançados (grupo III).

Segundo o Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ) (2019), os valores de referência para o hemograma pediátrico variam de acordo com a idade. Para crianças com idades entre 1 e 6 anos os valores de hemácias, hemoglobina e hematócrito são: $4,5 \pm 0,6 \times 10^{12}/L$; $12,6 \pm 1,5 \text{ g/dL}$; $37 \pm 3 \%$; respectivamente. Para crianças com idade entre 6 e 12 anos os valores de hemácias, hemoglobina e hematócrito são: $4,5 \pm 0,6 \times 10^{12}/L$; $12,5 \pm 1,5 \text{ g/dL}$; $40 \pm 3 \%$; respectivamente. Para crianças com idade acima de 12 anos, pode ser aplicado valores do hemograma adulto, com valores de $5,0 \pm 1,5 \times 10^{12}/L$; $14,0 \pm 2 \text{ g/dL}$; $35 \pm 10 \%$. No presente estudo, todos os grupos avaliados apresentaram parâmetros eritrocitários dentro do valor de referência, inclusive os grupos em estágios avançados. Cumpre ressaltar que 16% dos pacientes em estágio avançado estavam em tratamento com EPO recombinante para prevenção de anemia.

Com relação à contagem de plaquetas, todos os grupos apresentaram valores entre $150 \text{ a } 450 \times 10^3/\text{mm}^3$, que é o valor de referência preconizado pelo PNCQ (2019).

Com relação à contagem global de leucócitos, os grupos glomerulopatias e *CAKUT* estágios iniciais, e grupo controle (IA, IIA e V) apresentaram valores normais, de acordo com o preconizado pela PNCQ (2019), ou seja, crianças de 2 a 12 anos, $5,0 \text{ a } 13,0 \times 10^9/L$ e a partir de 12 anos, $4,0 \text{ a } 11,0 \times 10^9/L$. A contagem diferencial de leucócitos revelou que os grupos com DRC causada por glomerulopatias em estágios avançados e outras etiologias (IB e III) apresentaram neutrofilia ($11,10 \text{ e } 9,11 \times 10^3/\text{mm}^3$), respectivamente, sendo os valores de referência $2,0 \text{ a } 7,0 \times 10^3/\text{mm}^3$. De acordo com GAVINS (2012) e ALMEIDA (2016) a inflamação nas doenças crônicas é caracterizada pelo predomínio dos fenômenos vasculares com aumento da permeabilidade e aumento do número de neutrófilos, para que esses realizem seu papel no sítio inflamatório através da diapedese. É por meio desse processo, que essas células migram da corrente sanguínea para o sítio de inflamação onde são requisitadas, a fim de atuarem numa resposta inflamatória/regenerativa.

De acordo com BALTA e outros (2015), os monócitos são células altamente reativas nos processos inflamatórios. Nos tecidos, eles atuam em ambas respostas imunológicas, M1 ou M2, e dependendo do estímulo; exacerbam ou atenuam a inflamação. Os valores das medianas da contagem de monócitos de cada grupo mantiveram-se dentro dos valores de referência preconizada pela PNCQ (2019), de 0,2 a $1,0 \times 10^3/\text{mm}^3$. Para linfócitos e eosinófilos os valores das medianas em todos os grupos mantiveram-se dentro dos valores de referência preconizadas pelo PNCQ (2019), ou seja, de 1,0 a $3,0 \times 10^3/\text{mm}^3$ para linfócitos e 0,02 a $0,5 \times 10^3/\text{mm}^3$ para eosinófilos.

O status da função renal é avaliado, laboratorialmente, pela determinação de marcadores como a TFG, creatinina, ureia e ácido úrico. Alterações nesses parâmetros é sugestivo de comprometimento da função renal (MOTTA, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). A DRC é classificada de acordo com a TFG e quanto maior for a progressão da doença, menor a TFG e mais elevados estão os níveis séricos de ureia, creatinina e ácido úrico (RENNKE, 2009; MANUAL MERK. SHARP & DOHME, 2020). No presente estudo foram obtidas diferenças na TFG entre os grupos avaliados. Os grupos glomerulopatias, *CAKUT* e outros, apresentaram médias de TFG inferior aos valores de referência, o que possibilitou a classificação do estágio dos pacientes participantes desse estudo. Observa-se que os grupos em estágios avançados da DRC (IB, IIB e III) apresentaram menores TFG corroborando os achados na literatura (MOTTA, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; KDIGO, 2013; KIRSZTAJN *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2015; DUSSE *et al.*, 2017).

O valor de referência para a ureia é de 8 a 36 mg/dL para a população pediátrica segundo GOLD ANALISA (2020). Todos os grupos avaliados nesse estudo apresentaram níveis séricos de ureia superiores aos valores de referência e os grupos com DRC em estágio avançado apresentaram níveis ainda mais elevados. A creatinina também apresentou níveis séricos elevados em todos os grupos. De acordo com a GOLD ANALISA (2020) os níveis séricos normais variam entre 0,42 e 1,06 de acordo com a idade pediátrica. Nos grupos em estágios avançados esses níveis foram ainda mais elevados (IB, IIB e III).

De acordo com os valores de referências disponibilizados pela GOLD ANALISA (2020) o valor sérico do ácido úrico para a faixa pediátrica é de 0,5 a

6,0mg/dL. Na presença da DRC o ácido úrico fica retido no sangue elevando os níveis circulantes (BASTOS *et al.*, 2011; NEVES *et al.*, 2020). Em concordância com a literatura, valores acima dos valores de referência foram obtidos para os grupos *CAKUT* e outras etiologias.

A regulação do balanço hidroeletrólítico é obtida pela relação de ganho e perda, ou seja, se houver perda de eletrólitos, ocorrerá a perda de água. Se a ingestão de sódio (Na^+) for elevada, sua reabsorção pelos túbulos renais é reduzida e, conseqüentemente, há formação de maior quantidade de urina. O cloro (Cl^-) também participa desse processo, porém uma menor quantidade é eliminada. Essa regulação também acontece pela atuação de outros íons como, potássio (K^+), Ca^{2+} e fosfato (PO_4^{3-}). No entanto, lesões renais resultam na alteração da função dos túbulos renais e conseqüentemente, ocorre o comprometimento do balanço hidroeletrólítico do indivíduo (RENKEE *et al.*, 2009; HALL *et al.*, 2011). De acordo com os valores de referência disponibilizados pela GOLD ANALISA os valores de sódio para a faixa pediátrica varia de 132 a 145mEq/L e de potássio 3,5 a 5,1mEq/L. Todos os grupos avaliados apresentaram resultados de Na e K, dentro dos valores de referência. Isso se justifica, já que pacientes com DRC a partir do segundo estágio fazem determinações periódicas, desses íons e quando ocorre qualquer alteração dos níveis séricos, medidas de intervenção são adotadas a fim de restabelecer o equilíbrio hidroeletrólítico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Para todos os grupos avaliados, os valores médios do cloro estão dentro da faixa de referência, dada GOLD ANALISA (2020) de 97 a 106 mEq/L.

O equilíbrio dos níveis de cálcio é controlado pela ação do PTH, produzido pelas glândulas paratireoides. Em casos de perda cálcica ou redução da taxa de concentração desse no sangue, o PTH atua a nível renal promovendo reabsorção do Ca^{2+} e estimula a liberação desse pelo tecido ósseo. O PTH também atua nos rins reduzindo a reabsorção de PO_4^{3-} (RENKEE *et al.*, 2009; HALL *et al.*, 2011). O valor do cálcio sérico varia de 8,8 a 10,8 mg/dL (GOLD ANALISA, 2020) em pacientes com idade pediátrica e do PTH de 18,5 a 88,0pg/mL. Os níveis séricos de cálcio dos pacientes com DRC estavam dentro dos valores de referência, uma vez que esses são acompanhados e tratados nas unidades básicas de saúde e de atenção terciária, quando necessário (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). No entanto, os níveis séricos do PTH apresentaram-se bem elevados quando comparados aos valores de

referência, principalmente nos grupos em estágios avançados. Esse aumento se justifica, pois, nas doenças renais ocorre alteração dos níveis de cálcio por perda na urina. Para prevenir essa perda, há maior liberação de PTH, com consequente elevação desse na circulação, na tentativa de evitar a perda do cálcio (BECHERUCCI *et al.*, 2016).

O colesterol total desejável em indivíduos em idade infantil é inferior a 170mg/dL (GOLD ANALISA, 2020). Sabe-se que na DRC, especialmente as causadas por glomerulopatias, ocorre a alteração do perfil lipídico por perdas renais e consequente estímulo para produção hepática de lipoproteínas (RENKEE *et al.*, 2009). Todos os grupos do estudo apresentaram medianas de colesterol total dentro dos valores de referência.

6.2. Mediadores imunes

A inflamação é um processo que surge como uma forma de defesa do nosso organismo, a fim de eliminar qualquer agente agressivo, seja infeccioso ou lesivo. O processo inflamatório auxilia a reparação da lesão tecidual e a manutenção da homeostasia. A homeostase nesse processo ocorre em tempo e espaço específico e envolve o balanço de mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios/pró-resolutivos. Tudo isso é essencial para o controle dos eventos nocivos, sejam infecciosos ou não. Por outro lado, quando o processo inflamatório se prolonga por um desequilíbrio intrínseco ou estímulos lesivos frequentes, esse promove a destruição tecidual com recorrente liberação de DAMP's; mantendo naquele local uma inflamação contínua (GAVINS *et al.*, 2012).

Nos pacientes com processos inflamatórios crônicos, a determinação de marcadores inflamatórios plasmáticos poderia apresentar valores abaixo do esperado em consequência da migração dessas moléculas para o sítio inflamatório. Conforme BISWAS (2019), nos estágios mais avançados da DRC a infiltração de linfócitos T regulatórios é muito comum, visando intermediar o controle do processo inflamatório com consequente redução da concentração de citocinas pró-inflamatórias (AKCHURIN *et al.*, 2015; CAYROL *et al.*, 2018; BISWAS, 2019; OREJUDO *et al.*, 2019).

Dessa forma, para avaliar a resposta inflamatória bem como reflexo sistêmico, no presente estudo foram determinados os níveis séricos dos mediadores imunes IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10 e os índices derivados do hemograma como, RNL, dRNL, RLM e Siri.

6.2.1. Interleucina 17 (IL-17)

Desde sua descoberta em 1999, a IL-17 continua sendo uma citocina obscura na sinalização de células T. A IL-17 é uma molécula de comportamento enigmático e tem sido considerada como alvo terapêutico para bloqueio nas doenças autoimunes. A IL-17 vem recebendo muita atenção da comunidade científica por sua atividade pró-inflamatória e tem sido apontada como a molécula mais importante nas doenças humanas, por sua função na prevenção do desenvolvimento do câncer, inflamação crônica e infecções. No entanto, ao longo da história da IL-17 uma de suas funções de destaque é a pró-inflamatória. Contrapondo isso, de acordo com BISWAS (2019), o balanço da IL-17 parece ter função em atenuar o processo inflamatório por promover um *feedback* negativo. A IL-17 possui ações incógnitas que precisam ainda ser elucidadas frente a condições fisiopatológicas diversas (AMATYA *et al.*, 2017; McGEACHY *et al.*, 2019; BISWAS, 2019).

No presente estudo níveis reduzidos de IL-17 foram obtidos nos grupos, glomerulopatias estágios avançados (IB), *CAKUT* estágios iniciais e avançados (IIA e IIB), outras etiologias (III) comparando-se com grupo controle (V) (**Figura 12-A**). WANG e colaboradores (2013) e ZHAI e colaboradores (2020) propuseram que o aumento dos níveis séricos da IL-17 estaria associado a redução da sobrevivência dos podócitos e avanço da DRC por causas glomerulares. Entretanto, CAYROL *et al.*, 2018 propuseram que o avanço do processo inflamatório parenquimatoso poderia reduzir as moléculas inflamatórias do sítio intravascular, que migrariam para sítio de inflamação, ou seja, no parênquima renal.

Os níveis de IL-17 foram menores nos grupos de pacientes com DRC (IV) comparando-se ao grupo controle (V), $p < 0,001$ (**Figura 14-A**). McGEACHY e outros (2019) afirmaram que a IL-17 possui interações com receptores IL-17RA, IL-17C e os *Toll-Like Receptors* (TLR's) e outros receptores ainda não identificados. Em

condições fisiopatológicas diferentes, mediante interações com receptores não conhecidos, suas interações são ocultas, resultando em níveis séricos inexplicáveis quando se compara grupo caso e grupo controle. Em modelos murinos com glomerulonefrite induzida, a IL-17 pareceu atenuar o processo estabilizando o avanço da destruição tecidual (BISWAS,2019). Tem sido admitido que alguns polimorfismos da IL-17 estão associados ao risco da DRC, especialmente o alelo rs4819554A, onde esse SNP promove o aumento da expressão do receptor da IL-17 (IL-17RA) nos rins, promovendo o avanço da DRC (BISWAS,2019). Dessa forma, o aumento da expressão dos receptores da IL-17 no avanço da DRC poderia promover a redução da IL-17 circulante nos pacientes com DRC (BISWAS,2019). Em concordância com essa premissa, no presente estudo os níveis de IL-17 nos grupos com glomerulopatias em estágios avançados (IB), *CAKUT* em estágios iniciais e avançados (IIA e IIB) e de outras etiologias (III) se apresentaram menores em comparação ao grupo controle (V).

A redução da expressão do receptor IL-17RA em modelos murinos reduziu o desenvolvimento da glomerulonefrite, controlando o desenvolvimento da inflamação intersticial e o conseqüente desenvolvimento da DRC. Níveis ideais de IL-17 parecem conferir um ambiente renal protetor contra infecções e processos inflamatórios (BISWAS, 2019).

OREJUDO e colaboradores (2019) em um estudo utilizando camundongos, fizeram a infusão da IL-17 para avaliação do impacto da elevação dos seus níveis séricos. Concluíram que houve aumento significativo da PA, embora não tenha ocorrido comprometimento da função renal, avaliada pela determinação da ureia e creatinina séricas. Mas a albumina teve sua excreção urinária aumentada nesses animais. A infusão de IL-17 não promoveu lesões renais nos camundongos e análises histológicas mostraram que a arquitetura renal permaneceu intacta sem lesões tubulares e/ou processos fibróticos. No entanto, constatou-se uma infiltração de monócitos, neutrófilos e linfócitos T no tecido renal. Paradoxalmente, OREJUDO e colaboradores (2019) fizeram o bloqueio da IL-17 com anticorpos monoclonais e demonstraram uma redução de infiltração celular renal. Interessantemente, houve o aumento renal da Calicreína-1 (sistema que reduz a expressão da IL-17).

Como níveis elevados de IL-17 já foram associados a lesões renais, terapias de bloqueio da IL-17, como tratamento do processo inflamatório renal, têm sido

sugeridas. No estudo de OREJUDO e colaboradores (2019), o bloqueio da IL-17, por deleção de genes ou farmacológico, resultou tanto na redução, como no aumento do processo fibrótico. O que permite inferir que o bloqueio da IL-17 não foi eficiente para reduzir o desenvolvimento da fibrose renal.

6.2.2. Interleucina 33 (IL-33)

No presente estudo todos os grupos de pacientes com DRC apresentaram níveis séricos de IL-33 menores quando comparados ao grupo controle (**Figura 12-B e Figura 14-B**). YANG e colaboradores (2016) demonstraram que não há diferença dos níveis séricos de IL-33 quando se compara os grupos DRC e controle, contudo esse estudo não revela a idade dos participantes da pesquisa. Propuseram que existe uma associação entre os níveis séricos da IL-33 e da sST2 em pacientes com DRC e aqueles com a doença em estágios mais avançados que apresentam níveis séricos elevados da sST2. Sugeriram, ainda, que os níveis de IL-33 e sST2 são relevantes para a progressão da deterioração da função renal.

Contrariamente, CAYROL e colaboradores (2018) demonstraram que na DRC com lesões de células epiteliais renais, a IL-33 pode se mostrar elevada, tanto na corrente sanguínea, como no parênquima renal. Um fator observado entre a dinâmica da IL-33 e ROS foi que a presença desse último, é capaz de inativar as moléculas de IL-33, por provocar sua clivagem. Esses pesquisadores propuseram que a fragmentação da IL-33 reduz sua disponibilidade (avaliando por métodos de quantificação da forma íntegra). Admitiram que a clivagem da IL-33 pode ocorrer tanto no domínio nuclear, quanto no domínio do receptor.

Sabe-se que o processo inflamatório nas doenças crônicas promove além da geração de ROS, o aumento de proteases que também são capazes de degradar a IL-33 reduzindo sua biodisponibilidade (CAYROL et al., 2018). Portanto, uma possível hipótese do presente estudo é a de que a degradação da IL-33 em pacientes pediátricos com DRC interferiu na sua dosagem pelo método de ELISA e conseqüentemente, os níveis de IL-33 se mostraram menores nos grupos DRC quando comparado aos controles.

Sabe-se que as células que apresentam o receptor de IL-33 (ST2) como linfócitos, eosinófilos, linfócitos Th1 e Th2, linfócitos NK, linfócitos TCD8+ e neutrófilos em um processo imunológico podem liberar formas solúveis do receptor ST2 denominada sST2. A forma solúvel se liga a IL-33 inativando-a. Portanto, funciona como um controle negativo, ou seja, quando há excesso de sST2, ocorre redução da quantidade disponível da IL-33 e, conseqüentemente, controla a polarização da resposta pela via Th2 mediada por ação da IL-33. No presente estudo, a avaliação laboratorial da IL-33 utilizou um kit diagnóstico que detecta somente a forma ativa (intacta) dessa citocina. Dessa forma, o complexo formado, IL-33-sST2 permite inferir que os níveis séricos de IL-33 nos pacientes com DRC eram maiores que os obtidos laboratorialmente (YANG *et al.*, 2016).

Em modelos murinos, a neutralização da IL-33 por meio da sST2, foi capaz de reduzir a infiltração de linfócitos TCD4+ nos rins, modulando uma resposta regulatória, com conseqüente redução de lesões renais como necroses tubulares, lesões glomerulares e apoptose de células renais. Portanto, estratégias para o bloqueio da IL-33 nos rins poderia ser alvo para o tratamento da DRC, bem como para retardar avanço do processo fibrótico. Entretanto, o impacto de tal estratégia precisa ser rigorosamente avaliado (YANG *et al.*, 2016).

Na DRC o processo inflamatório se apresenta de forma complexa, onde citocinas de caráter dual podem exercer função tanto pró como anti-inflamatória. YANG e colaboradores (2016) em um estudo de correlação entre a IL-33 e marcadores inflamatórios clássicos como a Velocidade de hemossedimentação (VHS) e PCR, verificaram que o aumento da IL-33 foi positivamente correlacionado ao aumento dos marcadores inflamatórios, demonstrando a atividade pró-inflamatória aguda na DRC.

6.2.3. Quimiocina CXC 16 (CXCL16)

A CXCL16 é caracterizada como uma quimiocina de caráter pró-inflamatório. Suas funções compreendem quimioatratividade de células imunes, como macrófagos e células T e também miofibroblastos oriundos da medula óssea. A CXCL16 é apontada como uma citocina importante para o desenvolvimento fibrótico, devido ao aumento de deposição colagenosa em matrizes extracelulares em sítios inflamatórios (IZQUIERDO *et al.*, 2014; NORLANDER *et al.*, 2014; ADBEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

ADBEL-MESSEIH e colaboradores (2020) demonstraram que pacientes com DRC, em estágios mais avançados e em processo dialítico, apresentaram níveis séricos elevados de CXCL16 quando comparados ao grupo controle. Demonstraram, também, um aumento de marcadores associados ao estado inflamatório (PTH e PCR) e correlação positiva desses marcadores com a CXCL16. Por outro lado, no presente estudo, todos os grupos de pacientes com DRC (IA, IB, IIA, IIB e III) apresentaram valores séricos menores quando comparados ao controle (V) (**Figura 12-C**). Entre os grupos de pacientes com DRC, os grupos *CAKUT*, tanto em estágios iniciais, como avançados apresentaram os maiores valores. Tem sido admitido que a inflamação na DRC se apresenta de forma multifacetada, envolvendo inúmeros fatores como estilo de vida, idade, estado clínico do paciente, comorbidades, estresse oxidativo, infecções, obesidade, e fatores genéticos (AKCHURIN *et al.*, 2015; ADBEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

Sabe-se que a liberação da CXCL16 por células renais mediante um processo lesivo, poderia ser sequestrada após a infiltração de células imunológicas que contenham o CXCR6, ou mesmo pelas próprias células renais como células epiteliais e podócitos capazes de apresentar o CXCR6 (ADBEL-MESSEIH *et al.*, 2020). Isso poderia justificar os níveis reduzidos de CXCL16 obtidos, no presente estudo para os pacientes com DRC nos estágios iniciais e avançados (IV) em relação ao grupo controle (V) (**Figura 14-C**). Entretanto, em pacientes com insuficiência renal aguda a CXCL16 se apresentou elevada em amostras urinárias por meio do estudo histológico o aumento da CXCL16 foi observado nas células epiteliais dos túbulos renais que sofreram necrose. Nesse mesmo grupo foi observado correlação positiva entre o aumento da CXCL16 urinária e a proteinúria.

Pacientes com nefropatia envolvendo os túbulos renais apresentaram níveis elevados da CXCL16 urinária em relação ao grupo de pacientes controle (IZQUIERDO *et al.*, 2014). No estudo de LIN e colaboradores (2011) foi evidenciado o aumento sérico da CXCL16 em pacientes com piores estágios da DRC, sugerindo que a CXCL16 estaria associada ao desenvolvimento da DRC.

O estado urêmico dos pacientes com DRC é um fator que pode causar hiperativação do sistema imune levando ao aumento sérico de mediadores inflamatórios como citocinas e quimiocinas clássicas, de fase aguda (PCR), provenientes de lesões endoteliais e parenquimatosas. Dessa forma, a ação da imunidade adaptativa com fim regulatório é capaz de reduzir as moléculas de atividade pró-inflamatória numa espécie de *feedback* negativo, visando o controle da inflamação tendo a consequente redução da presença das citocinas e marcadores inflamatórios no estado crônico (VIANNA *et al.*, 2011; AKCHURIN *et al.*, 2015; ADBEL-MESSEIH *et al.*, 2020).

6.2.4. Anexina A1 (AnxA1)

Segundo OLIANI e colaboradores (2006); TAKAOKA e colaboradores (2017) a AnxA1 apresenta influência anti-inflamatória na DRC, onde seus níveis aumentados revelaram controle no processo de transmigração leucocitária e consequente atenuação do processo inflamatório/fibrótico. Porém, em relação a sua atividade pró-inflamatória, a AnxA1 gera um produto clivado pelo receptor FPR sendo capaz de promover a transmigração neutrofílica via I-CAM-endotélio vascular. Além disso, esse fragmento resultante do processo de clivagem é capaz de quimioatrair leucócitos que tenham o receptor FPR (neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos) ao sítio de inflamação. Entretanto, no presente estudo, não houveram diferenças entre os grupos avaliados (**Figura 13-D e Figura 15-D**).

As formas clivadas da AnxA1 apresentam um peso molecular de 4 KDa, portanto, essas formas clivadas poderiam não ser detectadas pelos kits devido ao baixíssimo peso molecular. Com a determinação da forma não clivada (intacta), visa-se avaliar a função anti-inflamatória (GAVINS *et al.*, 2012).

Conforme GAVINS e colaboradores (2012) onde há a falta da AnxA1, a inflamação é exacerbada e prolongada. O mesmo evidencia que a falta da AnxA1 foi associada ao aumento da atividade inflamatória em sítio de injúrias como pulmões, artrites, inflamações crônicas, sendo possível detectar o aumento de eosinófilos e neutrófilos, onde a falta da molécula não comprometeu de modo significativo a transmigração celular. Em suma, a AnxA1 apresenta diferentes papéis em vários contextos fisiopatológicos. Sendo assim, fica o propósito da elucidação de sua função anti ou pró-inflamatória, sendo necessárias mais investigações acerca de suas funções em diferentes estados fisiopatológicos.

Estudo realizado por NEYMEYRER e colaboradores (2015) mostra em modelos murinos com DRC o aumento da AnxA1 no parênquima. Foi evidenciado o aumento da proteína em regiões com maior processo fibrótico e com macrófagos e neutrófilos. Neste sentido, sugere-se que a AnxA1 controla o processo fibrótico a fim de retardar o avanço da DRC, reduzindo a produção de mediadores inflamatórios pelos macrófagos, a ação fibroblástica e a transmigração de neutrófilos ou acentuar todo esse processo dependendo do perfil de citocinas presentes no sítio de ação imunológica.

6.2.5. Interleucina 4 (IL-4) e 10 (IL-10)

Sabe-se que a IL-4 e IL-10 são Interleucinas classicamente conhecidas como citocinas de caráter anti-inflamatório (GUZZI *et al.*, 2019). Ambas estão relacionadas à regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias como, IL-1 β , TNF- α , IL-2, IL-6, dentre outras (STEEN *et al.*, 2019).

SZIKSZ e colaboradores (2015) apontam que o grupo estudo com DRC que revelou níveis séricos reduzidos da IL-10, apresentaram maior avanço da DRC, em detrimento a deposição colagenosa e desenvolvimento de processo fibrótico, quando comparado ao grupo controle. A IL-10 é produzida majoritariamente por células Treg. Sua principal função é suprimir as vias pró-inflamatórias como a Th1 e Th17, exercendo efeito regulatório e controlando o avanço do processo lesivo mediado pela inflamação (STEEN *et al.*, 2019). OKADA e colaboradores (2012) demonstraram que pacientes com DRC apresentaram níveis séricos reduzidos da IL-

4 e aumento da IL-6, fazendo correlação ao avanço da DRC. A IL-4 é produzida por linfócitos do subtipo Th2 no sítio inflamatório, capaz de influenciar a redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, e de induzir a polarização de macrófagos M2. A IL-4 foi associada à redução da inflamação na DRC, aumento da angiogênese e controle processo fibrótico renal GUZZI e colaboradores, STEEN e colaboradores (2019). Entretanto, no presente estudo não houveram diferenças nos níveis séricos da IL-4 e de IL-10 entre os grupos de pacientes com DRC (**Figuras 13-E, 13-F**), assim como ao comparar todos os pacientes independente da etiologia do estágio 1 ao 4 (grupo IV) ao grupo controle (V) (**Figuras 15-E e 15-F**). Da mesma forma, não houveram diferenças quando se comparou os níveis séricos de IL-4 e IL-10 entre os grupos (IA, IB, IIA, IIB, III e V).

A IL-4 e a IL-10 foram associadas à redução do avanço da DRC (STEEN *et al.*, 2019). TANG (2020) demonstrou que o uso exógeno da IL-10 em modelos experimentais foi capaz de controlar o processo da insuficiência renal com consequente reparo parenquimatoso. Propôs que a IL-10 poderia ser um alvo terapêutico no controle do avanço da DRC.

6.3. Pacientes com DRC em uso ou não de imunossupressores

Os glicocorticoides (GC) estão entre os medicamentos de ação anti-inflamatória mais utilizados devido a sua eficácia no tratamento de doenças crônicas inflamatórias, como asma, artrite reumatoide, dermatites, doença inflamatórias intestinais, dentre outras. Seu mecanismo de ação está centrado no aumento ou redução da transcrição de moléculas envolvidas nas respostas imunológicas (PEREIRA *et al.*, 2007; TORRES *et al.*, 2012).

Os GC se ligam a receptores que podem impedir a ativação no complexo NF κ B, resultando na redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-2, IL-6 e TNF α , atenuando principalmente a resposta em Th1 (TORRES *et al.*, 2012; ECHEVERRI *et al.*, 2013). Em contrapartida, os resultados revelam que não houveram diferenças nos níveis das citocinas (IL-17, IL-33, CXCL16) entre os grupos DRC imunossuprimidos ou não (IC e IIC) quando se trata dos níveis plasmáticos das citocinas pró-inflamatórias (**Figura 16-A, B e C**). Sugere-se que pela

dinâmica da DRC, a migração das citocinas para a região do processo inflamatório, bem como a degradação das moléculas imunes pelo processo urêmico e estresse oxidativo são capazes de influenciar nos níveis plasmáticos das mesmas, não sendo possível diferenciá-las mesmo mediante o uso de imunossuppressores (McGEACHY *et al.*, 2019; AKCHURIN *et al.*, 2015; ADBEL-MESSEIH *et al.*, 2020)

Além do mais, os GC's, expande a ação das células Treg e promove o aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10, IL-12 e a AnxA1. Esta última, reduz a saída dos neutrófilos do compartimento vascular para o interstício (TORRES *et al.*, 2012; ECHEVERRI *et al.*, 2013). Em contrapartida, não houveram diferenças quando se comparam os níveis plasmáticos das citocinas anti-inflamatórias (AnxA1, IL-4 e IL-10) do estudo entre pacientes DRC em uso de imunossupressor ou não e controle (**Figura 17-D, E e F**).

Já os inibidores da calcineurina, como a ciclosporina são utilizados como medida alternativa nos casos em que os pacientes apresentem resistência aos GC's. A ciclosporina está associada a redução da atividade das células T. O fármaco em questão se liga à ciclofilina, bloqueando-a e impedindo a ligação da calcineurina na mesma, tendo como consequência a inibição da síntese de IL-2 e portanto, efeito anti-inflamatório. Além disso, possuem ação extracelular (fora do linfócito), reduzindo a quantidade de células e citocinas inflamatórias da via Th1 e também reduzindo moléculas de adesão vascular como o V-CAM, que viabilizam a diapedese. Entretanto, não houveram diferenças entre os grupos avaliados (IC, IIC), A ciclosporina demonstra-se eficaz no tratamento de pacientes pediátricos com síndrome nefrótica para o controle da resposta inflamatória, contudo, esse fármaco a longo prazo apresenta nefrotoxicidade (PEREIRA *et al.*, 2007; ECHEVERRI *et al.*, 2013).

Somente houve diferenças entre DRC sem o uso de imunossuppressores e controle (IIC e IIIC) para as citocinas IL-17 e CXCL16; diferenças já explicadas ao longo de tópicos anteriores a respeito dos pacientes DRC versus controle (**Figura 14-A e B**).

6.4. Índices derivados do hemograma

6.4.1. Relação neutrófilo-linfócito (RNL) e Relação neutrófilo-linfócito derivado (dRNL)

A RNL é um marcador de fácil aplicação e um preditor relevante na avaliação da inflamação nas doenças crônicas de caráter inflamatório. A RNL constitui um ótimo índice para correlacionar a progressão da DRC e apresenta valor preditivo positivo em relação a TFG, que é proporcional ao avanço da doença. Dessa forma, quanto maior o valor da RNL menor a TFG (BRITO, 2019).

No presente estudo, os grupos em estágios avançados da DRC, glomerulopatias em estágios avançados (IB) e outras etiologias apresentaram maiores valores de RNL em relação ao grupo controle (V). Isso demonstra que; o avanço da DRC com deterioração da função renal está associado à inflamação (BRITO, 2019). No entanto, não houve diferença quando se comparou os grupos de pacientes com DRC (todas as etiologias estágio 1 ao 4) (IV) com o grupo controle (V) (**Figura 19-A**), já que o grupo IV abriga também pacientes com DRC em estágios iniciais onde a TFG não se apresenta tão alterada.

A RNL foi determinada nas doenças cardíacas e mostrou-se capaz de prever arritmias cardíacas, assim como mortalidade em pacientes com síndrome coronariana aguda (BRITO, 2019).

O valor de RNL varia de estudo para estudo e deve sempre ser comparado ao grupo controle (BRITO, 2019; LIU *et al.*, 2020). Os valores podem variar de acordo com a doença avaliada e isso vem sendo observado na COVID-19, apendicite, diabetes, hipertensão arterial, doença hepática, carcinomas e DRC (LIU *et al.*, 2020). Para o dRNL não houve diferença quando se comparou os grupos com DRC entre si ou em relação ao controle (V) (**Figura 19-B**). Paradoxalmente, o dRNL tem sido considerado um marcador útil para determinação da inflamação sistêmica e prognóstico de neoplasias no TGI, nas mamas, nos pulmões e nos rins (ESKIIZMIR *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2020), porém não foram encontrados estudos que compare a dRNL entre grupos de pacientes com DRC e controle.

No câncer, a contagem de linfócitos foi inversamente correlacionada à sua progressão do e quanto maior o dRNL, pior foi o prognóstico. Sabe-se que os

linfócitos são responsáveis pela resposta anticâncer, onde as células TCD8+ controlam a atividade tumoral por poder citotóxico (ESKILZMIR *et al.*, 2019).

6.4.2. Relação linfócito-monócito (RLM)

A RLM corresponde à razão entre o número absoluto de linfócitos e monócitos e sua interpretação consiste em quanto menor esse índice em relação ao grupo controle, maior o processo inflamatório (GOTO *et al.*, 2018). No presente estudo, o RLM apresentou menor valor no grupo de pacientes com DRC comprando-se ao grupo controle, o que sugere maior grau de inflamação nesses pacientes (**Figura 19-C**). Para os pacientes com glomerulopatias em estágios avançados (IB) e *CAKUT* em estágios avançados (IIB), a RLM apresentou valores significativamente menores em relação ao grupo controle (V) (**Figura 18-C**), sugerindo que quanto maior o avanço da DRC, maior o grau inflamatório (GUZZI *et al.*, 2019; RAJ *et al.*, 2020).

A RLM apresentou-se menor nos grupos com glomerulopatias em estágios iniciais e avançados (IA e IB). Sabe-se que nas glomerulopatias, o processo inflamatório lesivo afeta as células endoteliais glomerulares e, dessa forma, a RLM pode estar associada às disfunções endoteliais (BALTA *et al.*, 2015).

A RLM é um índice de baixo custo e fácil aplicabilidade e tem sido considerada de grande potencial para revelar do *status* inflamatório de doenças crônicas. A RLM poderia ser usado como marcador prognóstico de doenças inflamatórias com aplicação na rotina clínica devido aos seus valores preditivos associados à mortalidade (BALTA, 2015). GOTO e colaboradores (2018) propõem que a RLM é capaz de revelar o grau da inflamação sistêmica em neoplasias como, linfomas, câncer de cólon, pulmão, dentre outros.

6.4.3. Índice de resposta à inflamação sistêmica (Siri)

O Siri é um marcador com alta aplicabilidade, fácil determinação e baixo custo. O cálculo é feito a partir da multiplicação entre o número absoluto de neutrófilos e monócitos dividido pela quantidade de linfócitos. No presente estudo, todos os grupos (glomerulopatias estágios iniciais e avançados, *CAKUT* estágios iniciais e

avanzados e outras etiologias) apresentaram valores de Siri maiores que o grupo controle (V) (**Figura 18-D**). Entretanto, apenas entre os grupos de pacientes com DRC com outras etiologias em estágio avançado e o grupo controle foi obtida diferença (**Figura 18-D**). Quando se comparou o grupo de pacientes com DRC (IV) ao controle (V) o Siri se apresentou elevado no grupo IV (**Figura 19-D**). Sabe-se que quanto maior a progressão da DRC com deterioração da função renal, maior o processo inflamatório parenquimatoso (GUNGOR *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2017).

Esse índice faz uma relação entre neutrófilos, linfócitos e monócitos e permite avaliar a relação da ação inflamatória. Sabe-se que os neutrófilos são capazes de promover a inflamação no microambiente (parênquima renal), inibindo a atividade linfocitária com supressão da resposta regulatórias das células T e ativação de células macrofágicas. Dessa forma, ao elevar o numerador e reduzir o denominador, eleva o *score* do índice Siri relevando o reflexo inflamatório (ZHENG *et al.*, 2019; HE *et al.*, 2021).

O Siri constitui um marcador para prognóstico na predição da resposta à inflamação sistêmica e tem sido utilizado para avaliação do reflexo inflamatório nas doenças inflamatórias agudas e crônicas. Esse índice apresenta ainda valores preditivos para uma variedade de cânceres, como de pâncreas, colo retal, mama, nasofaringe, bexiga, rins, estômago, dentre outros (ZHENG *et al.*, 2019; HE *et al.*, 2021).

HE e colaboradores (2021) admitem que quanto menor o índice Siri em comparação ao grupo controle, melhor o prognóstico e menor predição para mortalidade do indivíduo.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A DRC apresenta aspectos intrínsecos como fatores genéticos, comorbidades, obesidade, estilo de vida, idade, condição imunológica, estresse oxidativo, *status* urêmico e infecções, o que a caracteriza como uma doença multifatorial e heterogênea. A resposta inflamatória no parênquima renal é complexa, apresentando dualidades, dependendo de fatores intrínsecos relacionados a cada paciente como supracitado. Sendo assim, na população pediátrica, essa complexidade é somada a outras peculiaridades, a saber, o crescimento da criança, o perfil endócrino, a adaptação familiar, ambiental e social, os estresses emocionais e orgânicos, bem como as respostas inflamatórias na condição infantil. Dessa forma, torna-se complexa a interpretação dos marcadores inflamatórios avaliados neste estudo, especialmente, os novos marcadores como a IL-17, a IL-33 e a CXCL16.

Foi notória a escassez de informações referentes a tais marcadores imunes na DRC em pacientes pediátricos (IL-17, IL-33, CXCL16, AnxA1, IL-4 e IL-10), da mesma maneira que os índices derivados do hemograma (RNL, dRNL, RLM e Siri). Dessa forma, acredita-se que o presente estudo representa uma contribuição importante para a literatura no que se refere aos alvos para avaliação do perfil inflamatório na população pediátrica com DRC. Espera-se, também, que os resultados obtidos possam auxiliar o delineamento para definição de *scores* dos marcadores laboratoriais para o prognóstico da DRC nas crianças e adolescentes.

8. CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste estudo pioneiro na população pediátrica brasileira permitem concluir que:

- Os níveis séricos de IL-17, IL-33 e CXCL16 mostraram-se promissores para avaliar o *status* inflamatório de crianças e adolescentes com DRC. No entanto, não permitiram diferenciar a etiologia e o estágio da doença.
- Os dados derivados do hemograma, RLM e Siri mostraram-se promissores para avaliar o *status* inflamatório de crianças e adolescentes com DRC de

acordo com a etiologia e o estágio da doença, fazendo menção ao estado pró-inflamado desses pacientes.

- Os níveis séricos das citocinas anti-inflamatórias (AnxA1, IL-4 e IL-10) e os índices (RNL e dRNL) não permitiram diferenciar as crianças e adolescentes com DRC do grupo controle.

9. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

- Um fator limitante do estudo foi a determinação das moléculas imunes apenas no plasma, o que não reflete a concentração dessas no parênquima renal, o sítio onde se instala o processo inflamatório.
- A baixa disponibilidade dos dados na literatura em relação aos marcadores avaliados na população com DRC; principalmente a pediátrica.
- A falta de alguns dados laboratoriais dos prontuários médicos (*missings*).
- A não determinação da PCR, um marcador clássico da inflamação.

10. PERSPECTIVAS DE ESTUDOS

- Avaliar os desfechos clínicos especialmente a função renal e os efeitos sistêmicos associados à inflamação nas crianças e adolescentes com DRC participantes desse estudo.
- Determinar os níveis séricos de PCR, VHS e IL-6, marcadores clássicos da inflamação e correlacionar com os marcadores imunes investigados.
- Analisar o banco de dados disponível de crianças e adolescentes com DRC utilizando ferramentas modernas como a inteligência artificial.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. H.; PILLAI, S. **Cellular and Molecular Immunology**. 8ª ed. California: Elsevier Saunders, 2012.

ABCAM. **Matched antibody pair kits for ELISA**. ABCAM Discover more, Ucrânia, 2020. Disponível em: <https://www.abcam.com/kits/matched-antibody-pair-kits-for-elisa>. Acesso em 03 mai. 2020.

ABCAM. **Sandwich ELISA protocol**. ABCAM Discover more, Ucrânia, 2020. Disponível em: <https://www.abcam.com/protocols/sandwich-elisa-protocol-1>. Acesso em 03 mai. 2020.

ABDEL-MESSEIH, P. L.; ALKADY, M. M.; NOSSEIR, N. M.; TAWFIK, M. S.; **Inflammatory Markers in End-Stage Renal Disease Patients on Hemodialysis**. Journal of Medical Biochemistry, v.39, n.4, p.481-487, 2020.

ABREU, T. T.; NEVES, N. C. S.; ALVES, L. F.; OTONI, A. **Lesão renal glomerular: processo inflamatório e o papel das quimiocinas**. Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR, v. 21, n. 2, p.131-136, 2017.

AKCAY, A.; NGUYEN, Q.; HE, Z.; TURKMEN, K.; LEE, D. W.; HERNANDO, A. A.; ALTMANN, C.; TOKER, A.; PACIC, A.; LJUBANOVIC, D. G.; JANI, A.; FAUBEL, S.; EDELSTEIN, C. L. **IL-33 Exacerbates acute Kidney injury**. Journal of the American Society of Nephrology, v. 22, p. 2057-2067, 2011.

AKCHURIN, O. M.; KASKEL, F. **Update on Inflammation in Chronic Kidney Disease**. Blood Purification, v. 39, p. 84-92, 2015.

ALMEIDA, O. P. **Patologia Oral**. 1ª ed. Brasil. Artes médicas, 2016.

AMATYA, N.; GARG, A. V.; GAFFEN, S. L. **IL-17 Signaling: The Yin and the Yang**. Trends Immunology, v. 38, n. 5, p. 310-322, 2017.

BALTA, S.; DEMIRER, Z.; APARCI, M.; YILDIRIM, A. O.; OZTURK, C. **The lymphocyte-monocyte ratio in clinical practice**. Journal Clinical of Pathology. v. 0, n. 0, p. 1, 2015.

BARRETO, F. C.; STINGHEN, A. E. M.; OLIVEIRA, R. B.; FRANCO, A. T. B.; MORENO, A. N.; BARRETO, D. V.; FILHO, R. P.; DÜEKE, T. B.; MASSY, Z. A. **Em busca de uma melhor compreensão da doença renal crônica: uma atualização em toxinas urêmicas**. Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 36, n. 2, p. 221-235, 2014.

BASTOS, M. G.; KIRSZTAJN, G. M. **Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável**. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 52, n. 2, p. 248-253, 2010.

BASTOS, M. G.; KIRSZTAJN, G. M. **Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar**

estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011.

BECHERUCCI, F.; ROPERTO, R. M.; MATERASSI, M.; ROMAGNANI, P. **Chronic kidney disease in children.** *Clinical Kidney Journal*, v. 9, n. 4, p. 583-591, 2016.

BELANGERO, V. M. S. **Doença renal crônica na infância: definição, epidemiologia e alerta para o diagnóstico.** Departamento de Pediatria – Faculdade de Ciências Médicas UNICAMP. São Paulo, 2016. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/Doenca_Renal_Cronica_SBP.pdf. Acesso em: 27 mar. 2020.

BELANGERO, V. M. S.; PRATES, L. C.; WATANABE, A.; SCHVARTSMAN, B. S. G.; NUSSENZVEIG, P.; CRUZ, N. A.; ABREU, A. L. S.; PAZ, I. P.; FACINCANI, I.; MORGANTETTI, F. E. C.; SILVA, A. O.; ANDRADE, O. V. B.; CAMARGO, M. F. C.; NOGUEIRA, P. C. K. **Prospective cohort analyzing risk factors for chronic kidney disease progression in children.** *Jornal de Pediatria*, v. 94, n.5, p. 525-531, 2018.

BIOCLIN. **Creatinina K016 – Instruções para uso.** QUIBASA QUÍMICA LTDA. Minas Gerais, 2018. Bula reagente.

BISWAS, P. S. **Interleukin-17 in renal immunity and autoimmunity.** *Journal of Immunology*, v. 201, n. 11, p. 3153-3159, 2019.

BRITO, G. M. C. **Relação Neutrófilos/Linfócitos e Relação Plaquetas/Linfócitos como marcadores de inflamação em pacientes renais crônicos não dialíticos.** Dissertação (Mestrado em Saúde do Adulto) – Universidade Federal do Maranhão. 2019.

CAYROL, C.; GIRARD, J. P. **Interleukin 33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family.** *Wiley Immunological Reviews*, v. 281, p. 154-168, 2018.
CEPA. **Instruções de uso creatinina – Jaffé cinético e ponto final.** MBIolog Diagnósticos Ltda. Minas Gerais, 2011. Bula reagente.

CEPA. **Instruções de uso creatinina – Jaffé cinético e ponto final.** MBIolog Diagnósticos Ltda. Minas Gerais, 2011. Bula reagente.

CHEN, W. Y.; LI, L. C.; YANG, J. L. **Emerging roles of IL-33/ST2 axis in renal diseases.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 783, p. 1-15, 2017.

CHEVALIER, R. L.; THORNHILL, B. A.; FORBES, M. S.; KILEY, S. C. **Mechanisms of renal injury and progression of renal disease in congenital obstructive nephropathy.** *Pediatric Nephrology Magazine*, v. 25, p. 687-697, 2009.

DHABHAR, F. S. **Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful.** *Stanford Immunology*, v. 58, p. 193-210, 2014.
DUBOIS, D. DUBOIS E. F. **A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known.** *Archives of Internal Medicine*, v. 17, p. 863-871, 1916.

DUSSE, L. M. S.; RIOS, D. R. A.; SOUSA, L. P. N.; MORAES, R. M. M.; DOMINGUETI, C. P.; GOMES, K. B. **Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente?** Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 49, n. 1, p. 41-51, 2017.

DUTTA, S. S. **Ensaio Enzima-ligado da imunoabsorção (ELISA): Metodologia.** News Medical Life Sciences, 2019. Disponível em: [https://www.news-medical.net/life-sciences/Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay-\(ELISA\)-Methodology-\(Portuguese\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay-(ELISA)-Methodology-(Portuguese).aspx). Acesso em: 03 mai. 2020.

ECHEVERRI, C. V.; VALENCIA, G. A. Z.; GAYUBO, A. K. S.; OCHOA, C. L.; ROSAS, L. F. R.; MUÑOZ, L. C.; SIERRA, J.; ZULETA, J. J.; RUIZ, J. J. V. **Tratamento com imunossupressor em crianças com síndrome nefrótica resistente à corticoesteróide: experiência de único centro.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 35, n. 3, p. 200-205, 2013.

ESKIIZMIR, G.; UZ, U.; ONUR, E.; OZYURT, B.; CIKRIKCI, G. K.; SAHIN, N.; ORAN, A.; CELIK, O. **The evaluation of pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio and derived neutrophil-lymphocyte ratio in patients with laryngeal neoplasms.** Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, v. 85, n. 5, p. 578-587, 2019.

FEISTAUER, M. A. V.; LAZARETTI, A. S.; POETA, J.; RONCADA, C. **Associação entre Interleucina-6 e doença renal crônica: uma revisão sistemática.** Revista de Ciências Médicas, v. 26, n. 3, p. 107-116, 2017.

GAVINS, F. N. E.; HICKEY, M. J. **Annexin A1 and the regulation of innate and adaptive immunity.** Frontiers in Immunology, v. 3, n. 354, p. 1-11, 2012.

GOLD ANALISA DIAGNÓSTICA. **Valores de Referências Pediátricos.** Belo Horizonte, Brasil, 2020. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7BD401AF49-4193-4C42-99CD-E552F6E2F7C2%7D_Valores_de_Referencia_Pediatrico%5B1%5D.pdf. Acesso em: 28 ago. 2021.

GOTO, W.; KASHIWAGI, S.; ASANO, Y.; TAKADA, K.; TAKAHASHI, K.; HATANO, T.; TAKASHIMA, T.; TOMITA, S.; MOTOMURA, H.; HIRAKAWA, K.; OHIRA, M. **Predictive value of lymphocyte-to-monocyte ratio in the preoperative setting for progression of patients with breast cancer.** BMC Cancer, v. 18, n. 1137, p. 1-9, 2018.

GUNGOR, O.; UNAL, H. U.; GUCLU, A.; GEZER, M.; EYLLETEN, T.; GUZEL, F. B.; ALTUNOREN, O.; ERKEN, E.; OGUZ, Y.; KOCYLGIT, I.; YILMAZ, M. L. **IL-33 and ST2 levels in chronic kidney disease: Associations with inflammation, vascular abnormalities, cardiovascular events, and survival.** Journal Plos One, v. 12, n. 6, p. 1-14, 2017.

GUZZI, F., CIRILLO, L., ROPERTO, R. M., ROMAGNANI, P., LAZZERI, E. **Molecular Mechanisms of the Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease**

Transition: An Updated View. International Journal of Molecular Sciences, v. 4941, n. 20, 2019.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Tratado de Fisiologia Médica.** 12ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HE, Q.; LI, L.; REN, Q. **The Prognostic value of preoperative systemic inflammation response index (Siri) in patients with High-grade glioma and the establishment of a nomogram.** Frontiers in Oncology. v. 11, 2021.

HENRY, J. B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamentos por Métodos Laboratoriais.** 21ª ed. Rio de Janeiro: Editora Manole, 2012.

INFANTE-DUARTE, C.; HORTON, H. F.; BRYNE, M. C.; KAMRADT, T. **Microbial Lipopeptides Induce the Production of IL-17 in Th Cells.** The Journal of Immunology, v. 165, p. 6107-6115, 2000.

INGELFINGER, J. R.; KALANTAR-ZADEH, K.; SCHAEFER, F. **Em tempo: evitando as consequências da doença renal crônica – foco na infância.** Revista Paulista de Pediatria, v. 34, n. 1, p. 5-10, 2016.

IZQUIERDO, M. C.; MARTIN-CLEARY C.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, B.; ELEWA, U.; SANCHEZ-NIÑO, M. D.; CARRERO, J. J.; ORTIZ, A. **CXCL16 in Kidney and Cardiovascular injury.** Cytokine and Growth Factors Reviews, p. 1-35, 2014.
JIN, W.; DONG, C. **IL-17 cytokines in immunity and inflammation.** Emerging Microbes and Infections, v. 60, n. 2, p. 1-5, 2013.

JUNIOR, W. V. O.; SABINO, A. P.; FIGUEIREDO, R. C.; RIOS, D. R. **Inflamação e má resposta ao uso de eritropoetina na doença renal crônica.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 37, n. 2, p. 255-263, 2015.

KA, S. M.; TSAI, P. Y.; CHAO, T. K.; YANG, S. M.; HUNG, Y. J.; CHEN, J. S.; SHIU, H. A.; CHEN, A. **Urine Annexin A1 as an Index for Glomerular Injury in Patients.** Disease Markers, v. 2014, p. 1-12, 2014.
Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO). **Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.** Official Journal of the International Society of Nephrology, v. 3, n. 1, p. 1-135 2013.

KIRSZTAJN, G. M.; FILHO, N. S.; DRAIBE, S. N.; NETTO, M. V. P.; THOMÉ, F. S.; SOUZA, E.; BASTOS, M. G. **Leitura rápida do KDIGO 2012: Diretrizes para avaliação e manuseio da doença renal crônica na prática clínica.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 36, n. 1, p. 63-73, 2014.

KRANE, V.; WANNER, C. **Statins, inflammation and kidney disease.** Nature Reviews Nephrology, v. 7, p. 385-397, 2011.

LABTEST. **A Metodologia enzimática na determinação precisa e direta da creatinina.** Brasil, 2018. Disponível em: <https://labtest.com.br/a-metodologia-enzimatica-na-determinacao-precisa-e-direta-da-creatinina/>. Acesso em: 13 set. 2020.

LABTEST. **Creatinina Enzimática – Instruções para uso.** Labtest Diagnóstico S. A. Brasil, 2018. Bula reagente.

LEE, S. A.; NOEL, S.; SADASIVAM, M. HAMAD, A. R. A.; RABB, H. **Role of immune cells in acute kidney injury and repair.** Nephron Clinical Practice, v. 137, p. 282-286, 2017.

LIMA, H. C. **Fatos e mitos sobre imunomoduladores.** Anais Brasileiro de Dermatologia, v. 82, n. 3, p. 207-221, 2007.

LIN, Z.; GONG, Q.; ZHOU, Z.; ZHANG, W.; LIAO, S.; LIU, Y.; YAN, X.; PAN, X.; LIN, S.; LI, X. **Increased plasma CXCL16 levels in patients with chronic kidney disease.** European Journal of Clinical Investigation, v. 41, n. 8, p. 836-845, 2011.

LIU, Y.; DU, X.; CHEN, J. **Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk for mortality in hospitalized patients with COVID-19.** Journal of Infection. v. 81, p. 6-12, 2020.

MANUAL MERK. SHARP & DOHME. **Doença Renal Crônica.** Kenilworth, NJ, Estados Unidos, 2020. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/dist%C3%BARbios-geniturin%C3%A1rios/doen%C3%A7a-renal-cr%C3%B4nica/doen%C3%A7a-renal-cr%C3%B4nica>. Acesso em: 17 fev. 2020.

MARINHO, A. W. G. B.; PENHA, A. P.; SILVA, M. T.; GALVÃO, T. F. **Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura.** Caderno de Saúde Coletiva, n. 25, v. 3, p. 379-388, 2017.

MARTELLI, A. **Sistema Renal e sua Insuficiência no Controle em Longo Prazo da Pressão Arterial.** UNOPAR Científica, Ciências Biológicas e Saúde, v. 15, n. 1, p. 75-80, 2013.

MARTINS, S. R. **Avaliação da função endotelial e a sua associação com a evolução do enxerto em receptores do transplante renal.** Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Toxicológicas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais, 2017.

MATLOUBIAN, M.; DAVID, A.; ENGEL, S.; RYAN, J. E.; CYSTER, J. G.; **A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo.** Nature Immunology, v. 1, n. 4, p. 298-304, 2000.

McGEACHY, M. J.; CUA, D. J.; GAFFEN, S. L. **The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease.** Cell Press, v. 50, p. 892-906, 2019.

MENEZES, P. D. M.; SESSO, R. C. C.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; NASCIMENTO, M. M. **Censo Brasileiro de Diálise: análise de dados da década 2009-2018.** Brazilian Journal of Nephrology, v. 42, n. 2, p. 191-200, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes Clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica – DRN no sistema único de saúde.** Brasília/DF,

2014. Disponível em:

<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/marco/24/diretriz-cl--nica-drc-versao-final.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças renais: causas, sintomas, diagnóstico, tratamento e prevenção**. Brasília/DF, Brasil, 2020. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-renais>. Acesso em: 17 fev. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia Prático de Matriciamento em Saúde**. Brasília/DF, Brasil, 2011. Disponível em: www.unisite.ms.gov.br. Acesso em: 23 mar. 2020.

MORAES E SILVA, R. M. **Caracterização do perfil de ativação endotelial e disfunção plaquetária na doença renal crônica em pacientes pediátricos**. Tese (Doutorado em Análises Clínicas e Toxicológicas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. 2016.

MOREIRA, J. M. **Fatores neutróficos e marcadores inflamatórios em crianças e adolescentes com doença renal crônica: associação com sintomas depressivos e ansiosos, resiliência e qualidade de vida**. Tese (Doutorado em Neurociências) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais, 2015.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório – Princípios e Interpretações**. 5ª ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2009.

MUNDT, I. A.; SHANAHAN, K. **Exames de Urina e de Fluidos Corporais de Graff**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

NEYMEYER, H.; LABES, R.; REVERTE, V.; SAEZ, F.; STROH, T.; DATHE, C.; HOHBERGER, S.; ZEISBERG, M.; MULLER, G. A.; SALAZAR, J.; BACHMANN, S.; PALIEGE, A. **Activation of annexin A1 signalling in renal fibroblasts exerts antifibrotic effects**. *Acta Physiology*, v. 215, p. 144-158, 2015.

NOGUEIRA, P. C. K.; FELTRAN, L. S.; CAMARGO, M. F.; LEÃO, E. R.; BENNINGHOVER, J. R. C. S.; GONÇALVES, N. Z.; PEREIRA, L. A.; SESSO, R. C. **Prevalência estimada da doença renal crônica terminal em crianças no estado de São Paulo**. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 57, n. 4, p. 443-449, 2011.

NOGUEIRA, P. C. K.; PAZ, I. P. **Signs and symptoms of developmental abnormalities of the genitourinary tract**. *Jornal de Pediatria*, v. 92, n.3, p. 57-63, 2016.

NORLANDER, A. E.; SALEH, M. A.; MADHUR, M. S. **CXCL16: A Chemokine causing chronic kidney disease**. *National Institutes of Health*, v. 62, n. 6, p. 1008-1010, 2014.

NORMANTON, M.; MARTI, L. C. **Dados recentes em IL-17 e células Th17, e implicações na doença do enxerto contra hospedeiro**. *Einstein*, v. 11, n. 2, p. 237-246, 2013.

OLIANI, S. M.; GIL, C. D. **Proteína anti-inflamatória anexina 1: mecanismos celulares e relevância clínica.** Arquivos de Ciências da Saúde, v. 13, n. 4, p. 186-191, 2006.

OLIVEIRA, C. M. B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GEROLA, L. R.; SALOMÃO, R. **Citocinas e Dor.** Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.

OREJUDO, M.; RODRIGUES-DIEZ, R. R.; RODRIGUES-DIEZ, R.; GRACIA-REDONDO, A.; SANTOS-SÁNCHEZ, L.; RÁNDEZ-GARBAYO, J.; CANNATA-ORTIZ, P.; RAMOS, A. M.; ORTIZ, A.; SELGAS, R.; MEZZANO, S.; LAVOZ, C.; RUIZ-ORTEGA, M. **Interleukin 17A Participates in Renal Inflammation Associated to Experimental and Human Hypertension.** Frontiers in Pharmacology, v. 10, n. 1015, p. 1-18, 2019.

PALOMINO, D. C. T.; MARTI, L. C. **Quimiocina e Imunidade.** Revista Einstein, v. 13 n. 3, p. 469-473, 2015.

PENSABIO. **Conheça os diferentes tipos de ELISA.** PENSABIO à serviço da vida, São Paulo, 2019. Disponível em: <https://www.pensabio.com.br/single-post/2019/03/21/Conheca-os-diferentes-tipos-de-ELISA>. Acesso em: 03 mai. 2020.

PEREIRA, A. L. P.; BOLZANI, C. B.; CHARLIN, S. R. **O uso sistêmico de corticosteroides: revisão da literatura.** Medicina Cutânea Ibero-Latina-Americana, v. 35, n.1, p. 35-50, 2007.

PEREIRA, E. R. S.; PEREIRA, A. C.; ANDRADE, G.B.; NAGHETTINI, A. V.; PINTO, F. K. M. S.; BATISTA, S. R.; MARQUES, S. M. **Prevalência da doença renal crônica em adultos atendidos na Estratégia de Saúde da Família.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 38, n. 1, p. 22-30, 2016.

PORTO, J. R.; GOMES, K. B.; FERNANDES, A. P.; DOMINGUETI, C. P. **Avaliação da função renal na doença renal crônica.** Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 49, n. 1, p. 26-35, 2017.

Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ). **Valores de referência Hematológicos para adultos e crianças.** Rio de Janeiro, Brasil, 2019. Disponível em: <https://www.pncq.org.br/uploads/2019/VNH2019.pdf>. Acesso: 27 ago. 2021.

RAJ, D. S.; FILHO, R. P.; KIMMEL, P. L. **Inflammation in Chronic Kidney Disease. Chronic Renal Disease.** 2ª ed. Washington: Elsevier, 2020.

RENNKE, H. G.; DENKER, B. M. **Fisiopatologia Renal: Princípios básicos.** 2ª ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2009.

RIBEIRO, J. A. M.; COSTA, K. N.; RIBEIRO, N. D. S.; FERNANDES, C. K. C.; DINIZ, K. G.; JUNIOR, A. F. G.; SOUZA, S. A. O.; NOGUEIRA, V. S. **Avaliação Laboratorial da ureia e creatinina no município de Firminópolis-Goiás.** Revista Faculdade Montes Belos (FMB), v. 8, n. 1, p. 1-16, 2015).

RIOS, D. R. A., PINHEIRO, M. B., JUNIOR, W. V. O., GOMES, K. B., CARVALHO, A. T., MARTINS-FILHO, O. A., SILVA, A. C. S., DUSSE, L. M. S. **Cytokine Signature in End-Stage Renal Disease Patients on Hemodialysis**. Disease Markers, v. 2017, p. 1-9, 2017.

RYIUZO, M. C.; MACEDO, C. S.; ASSAO, A. E.; FEKETE, S. M. W.; TRINDADE, A. A. T.; BASTOS, H. D. **Insuficiência renal crônica na criança: aspectos clínicos, achados laboratoriais e evolução**. Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 25, n. 4, p. 200-208, 2003.

SOARES, C. M. B.; DINIZ, J. S. S.; LIMA, E. M.; SILVA, J. M. P.; OLIVEIRA, G. R.; CANHESTRO, M. R.; SILVA, V. R.; MUNAIR, A. M.; MOREIRA, M.; SILVA, A. C. S.; OLIVEIRA, E. A. **Doença renal crônica em pediatria – Programa Interdisciplinar de Abordagem Pré-dialítica**. Revista Médica de Minas Gerais, v. 18, n. 1, p. 90-97, 2008.

SOARES, F. C.; AGUIAR, I. A.; CARVALHO, N. P. F.; CARVALHO, R. F.; TORRES, R. A.; SEGHE TO, W.; COELHO, F. A.; OLIVEIRA, M. A. C. A.; ANDRADE, F. M.; COSTA, J. A. **Prevalência de Hipertensão arterial e diabetes mellitus em portadores de doença renal crônica em tratamento conservador do serviço Ubaense de nefrologia**. Revista Científica Fafog Saúde, v. 2, p. 21-26, 2017.

SOBOTTA, J. **Atlas de Anatomia Humana**. 24ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Pacientes em tratamento conservador**. São Paulo, Brasil, 2020. Disponível em: <https://sbn.org.br/publico/nutricao/>. Acesso em: 08 mar. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **SBN 2017 Censo**. SBN informa, Rio de Janeiro, abr mai jun, 2018. Disponível em: <https://arquivos.sbn.org.br/uploads/sbninforma114-2.pdf>. Acesso em 24 jul. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML); SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (SBN). **Passo a passo da implantação da estimativa da taxa de filtração glomerular (eTFG), 2ed**. Brasil, 2015. Disponível em: http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/padronizacao_eTFG_4nov2015.pdf Acesso em: 28 jul. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Doença Renal Crônica em Pediatria: Diagnóstico e Prevenção**. Departamento Científico de Nefrologia, mai. 2020. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/22484c-DC_-_DoenRenal_Cronica-_Diag_e_Prevencao.pdf. Acesso em 24 jul. 2020.

SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO. **Doença renal crônica na infância: tire suas dúvidas**. São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.pediatraorienta.org.br/doenca-renal-cronica-na-infancia-tire-suas-duvidas/>. Acesso em: 30 mar. 2020.

SOEIRO, E. M. D.; HELOU, C. M. B. **Aspectos clínicos, fisiopatológicos e genéticos das tubulopatias hereditárias na infância.** *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 37, n. 3, p. 385-398, 2015.

SOUSA, L. P. N. **Doença Renal Crônica em crianças e adolescentes: Avaliação da Hemostasia, do Estresse oxidativo e Implicações Clínicas.** Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Toxicológicas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. 2015.

STEEN, E. H.; WANG, X.; BALAJI, S.; BUTTE, M. J.; BOLLYKY, P. L.; KESWANI, S. G.; **The role of the Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis.** *Wound Healing Society*, v. 00, n. 00, 2019.

STRASINGER, S. K.; DI LORENZO, M. S. **Urinálise e Fluidos Corporais.** 5ª ed. São Paulo: LMP Editora, 2009.

SUGIMOTO, M. A.; VAGO, J. P.; TEIXEIRA, M. T.; SOUSA, L. P. **Annexin A1 and the Resolution of Inflammation: Modulation of Neutrophil Recruitment, Apoptosis and Clearance.** *Journal of Immunology Research*, v. 2016, p. 1-13, 2015.

SZIKSZ, E.; PAP, D.; LIPPAI, R.; BÉRES, N. J.; FEKETE, A.; SZABÓ, A. J.; VANNAY, A. **Fibrosis Relates Inflammatory Mediators: Role of the IL-10 Cytokine Family.** *Mediators of Inflammation*, v. 2015, p. 1-15, 2015.
TAKAOKA, R. T.; SERTÓRIO, N. D.; SALES, K. L.; PINTO, K. B.; GIROL, A. P. **Proteína Anexina A1: Alvo terapêutico nos processos inflamatórios.** *CuidArte Enfermagem*, v. 11, n. 2, p. 180-186, 2017.

TANG, T. T.; WANG, B.; WU, M.; LI, Z. L.; FENG, Y.; CAO, J. Y.; YIN, D.; LIU, H.; TANG, R. N.; CROWLEY, S. D.; LV, L. L.; LIU, B. C. **Extracellular vesicle-encapsulated IL-10 as novel nanotherapeutics against ischemic AKI.** *Science Advances*, v.6, p. 1-13, 2020.
THOMÉ, F. S.; SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; LUGON, J. R.; MARTINS, C. T. **Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2017.** *Brazilian Journal of Nephrology*, v. 41, n. 2, p. 208-214, 2019.

TORRES, R. C.; INSUELA, D. B. R.; CARVALHO, V. F. **Mecanismos celulares e moleculares da ação anti-inflamatória de glicocorticoides.** *Corpus et Scientia*, v. 8, n. 2, p. 36-51, 2012.

VARELLA, P. P. V.; FORTE, W. C. N. **Citocinas: revisão.** *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, v. 24, n. 4, p. 146-154, 2001.

VIANNA, H.R.; SOARES, B. M.; TAVARES, M. S.; TEIXEIRA, M. M.; SILVA, A. C. S. **Inflamação na doença renal crônica: papel das citocinas.** *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 33, n. 3, p. 351-364, 2011.

VILLACORTA, H.; MAISEL, A. S. **Teste com ST2 solúvel: Um biomarcador promissor no tratamento da insuficiência cardíaca.** *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v. 106, n. 2, p. 145-152, 2016.

VOLOSHYNA, I.; MUCCI, T.; SHER, J.; FONACIER, L. S.; LITTLEFIELD, M. J.; CARSONS, S.; REISS, A. B. **Plasma IL-33 in atopic patients correlates with pro-inflammatory cytokines and changes cholesterol transport protein expression: a surprising neutral overall impact on atherogenicity.** *Clinical and Experimental Allergy*, v. 45, p. 1554-1565, 2015.

WANG, L.; LI, Q.; WANG, L.; LI, C.; YANG, H.; WANG, X.; TAO, H. **The Role of Th17/IL-17 in the Pathogenesis of Primary Nephrotic Syndrome in Children.** *Kidney and Blood Pressure Research*, v. 37, p. 332-345, 2013.

YANG, F.; ZHU, P.; DUAN, L.; YANG, L.; WANG, J. **IL-33 and Kidney disease.** *Molecular Medicine Reports*, v. 13, p. 3-8, 2016.

ZHAI, S.; SUN, B.; ZHANG, Y.; ZHAO, L.; ZHANG, L. **IL-17 aggravates renal injury by promoting podocyte injury in children with primary nephrotic syndrome.** *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 20, p. 409-417, 2020.

ZHAO, L.; WU, F.; JIN, L.; LU, T.; YANG, L.; PAN, X.; SHAO, C.; LI, X.; LIN, Z. **Serum CXCL16 as a novel marker of renal injury in type 2 diabetes mellitus.** *Plos One*, v. 9, n.1, p. 1-7, 2014.

ZHEN, J.; LI, Q.; ZHU, Y.; YAO, X.; WANG, L.; ZHOU, A.; SUN, S. **Increased serum CXCL16 is highly correlated with blood lipids, urine protein and immune reaction in children with active nephrotic syndrome.** *Diagnostic Pathology*, v. 9, n. 23, p. 1-8, 2014.

ZHENG, Y.; CHEN, Y.; CHEN J.; CHEN, W.; PAN, Y.; BAO, L.; GAO, X. **Combination of Systemic Inflammation Response Index and Platelet-to-Lymphocyte Ratio as a Novel Prognostic Marker of Upper Tract Urothelial Carcinoma after Radical Nephroureterectomy.** *Frontiers in Oncology*, v. 9, p. 1-14, 2019.

ANEXOS**Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Projeto: CAAE –07513513.9.0000.5149

**Interessado(a): Profa. Luci Maria Sant'Ana Dusse
Departamento de Produtos Farmacêuticos
Faculdade de Farmácia - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 02 de maio de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Doença renal crônica na infância: avaliação da hemostasia, do estresse oxidativo e implicações clínicas**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


**Profa. Maria Tereza Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

Anexo 2 – Participação em Congresso

Certificate of Attendance



This is to certify that

Aislander SILVA

attended

**ISTH 2021: XXIX CONGRESS OF THE INTERNATIONAL
SOCIETY ON THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS**

held between

Saturday, July 17, 2021

to

Wednesday, July 21, 2021