



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária Nefrologia

### **Análise de biomarcadores urinários e séricos na progressão da doença poliquística renal autossómica dominante**

Carla Daniela Ferreira Novais

---

**Abril'2019**





LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária Nefrologia

### **Análise de biomarcadores urinários e séricos na progressão na doença poliquística renal autossómica dominante**

Carla Daniela Ferreira Novais

**Orientado por:**

Professor Dr. Edgar Avito Fernandes de Almeida

---

**Abril'2019**



**Índice**

Glossário.....	6
Resumo .....	7
Abstract.....	8
Introdução.....	9
Materiais e Métodos .....	15
Resultados.....	17
Discussão.....	19
Conclusão .....	24
Agradecimentos .....	25
Bibliografia.....	26
Tabelas e Figuras .....	30

## **Glossário**

$\alpha$ -GST –  $\alpha$ -glutatioão S-Transferase

ADH – Hormona Anti-diurética

cAMP – 3'5'-adenosina-monofosfato-cíclico

CS – Creatinina Sérica

DPRAD – Doença Poliquística Renal Autossômica Dominante

DRC – Doença Renal Crónica

DRT – Doença Renal Terminal

Hb – Hemoglobina

Hp – Haptoglobina

HTA – Hipertensão Arterial

PC1 – Policistina 1

PC2 – Policictina 2

TC – Tomografia Computorizada

TR – Tamanho Renal

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

TSR – Terapia de Substituição Renal

VRT – Volume Renal Total

## **Resumo**

A doença renal poliquística autossômica dominante (DPRAD) é uma doença hereditária que se caracteriza pela formação de quistos renais. Devido ao aumento de tamanho dos quistos e à formação de fibrose intersticial, há diminuição da função renal, podendo culminar na necessidade de terapia de substituição renal (TSR).

Caracterizou-se uma amostra de 22 doentes com DPRAD e analisou-se a presença dos biomarcadores urinários  $\alpha$ -glutatio s-transferase ( $\alpha$ -GST) e haptoglobina (Hp), bem como a sua relação com a taxa de filtração glomerular (TFG) e a creatinina sérica ao fim de 5 anos de seguimento em consulta de nefrologia. Adicionalmente, compararam-se os biomarcadores da amostra da população doente com a amostra de uma população de controlo composta por 17 indivíduos sem patologia renal diagnosticada.

Com este estudo verificamos que os doentes com DPRAD apresentaram valores aumentados de  $\alpha$ -GST urinário em relação ao grupo controlo. Com o passar dos anos verificou-se um expectável agravamento da função renal, segundo a creatinina sérica ou TFG, mas também se verificou um aumento na urina do biomarcador  $\alpha$ -GST com a progressão. A creatinina sérica esteve diretamente correlacionada com os biomarcadores urinários na população com DPRAD. Assim, a  $\alpha$ -GST e a Hp estão associados a lesão renal e poderão ser úteis na identificação precoce na história natural do declínio da função renal nestes doentes, sendo úteis na identificação de possíveis candidatos a novas terapêuticas, como o Tolvaptan, que diminui a velocidade de progressão da doença.

**Palavras Chave:** DPRAD,  $\alpha$ -GST, Hp, progressão

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

## **Abstract**

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is a hereditary disease characterized by the formation of renal cysts. Due to increased cystic size and interstitial fibrosis formation, there is a decrease in renal function, which may lead to the need of renal replacement therapy (RRT).

A sample of 22 patients with ADPKD was characterized and the presence of the  $\alpha$ -glutathione s-transferase ( $\alpha$ -GST) and haptoglobin (Hp) biomarkers, as well as their relationship with the glomerular filtration rate (GFR) and serum creatinine after 5 years of follow-up in nephrology consultation was analyzed. In addition, the biomarkers of the diseased population were compared to a control sample composed of 17 individuals without diagnosed kidney disease.

With this study we verified that the patients with ADPKD had increased values of  $\alpha$ -GST in relation to the control group. Over the years there was an expected worsening of renal function according to serum creatinine or GFR, and there was also an increase in the  $\alpha$ -GST biomarker with progression. Serum creatinine was directly correlated with urinary biomarkers in the sample of the population with ADPKD. Therefore  $\alpha$ -GST and Hp are associated with renal damage and may be useful in early identification of the decline in renal function in these patients. They also might be helpful in identifying potential candidates for new therapeutics, such as Tolvaptan, which contributes to a decrease in ADPKD progression rate.

**Key Words:** ADPKD,  $\alpha$ -GST, Hp, progression

## **Introdução**

A doença poliquística renal autossômica dominante (DPRAD) é uma doença monogénica que afeta entre 1:400 e 1:1000 indivíduos em todo o mundo, perfazendo 5% dos doentes com doença renal terminal (DRT).<sup>1,2,3</sup>

Esta patologia caracteriza-se pela formação bilateral progressiva de quistos renais e é causada por mutações nos genes PKD1, localizado no cromossoma 16p13, e PKD2, localizado no cromossoma 4q21-q23. O gene PKD1 codifica a policistina 1 (PC1), correspondendo a 85% dos casos de DPRAD; o gene PKD2, por sua vez, codifica a policistina 2 (PC2), sendo responsável por 15% dos casos desta doença. A PC1 e a PC2 são proteínas transmembranares e encontram-se interligadas, regulando a função uma da outra. Forma-se, assim, o complexo PC1/2 que possui diversas funções a nível celular e das vias de sinalização, bem regulação do fluxo de cálcio.<sup>1,3,5</sup>

Este complexo encontra-se ao nível dos cílios primários, sendo que defeitos ao seu nível resultam num conjunto de doenças denominadas de ciliopatias. De facto, dentro das ciliopatias, o fenótipo mais comum é a formação de quistos renais. Assim, a perda da função ciliar da PC1/2 leva, em última análise, ao aumento do cAMP o que promove a atividade da proteína cinase A, resultado na proliferação celular e na secreção de fluído, originando quistos. O crescimento dos quistos resulta em fibrose intersticial, desarranjo da arquitetura renal, levando à degradação progressiva da função dos rins. A evolução culmina em doença renal terminal e, conseqüentemente, na necessidade de terapêutica de substituição renal, sendo esta doença a quarta causa a nível mundial de necessidade de TSR.<sup>1,3,5</sup>

A doença tem como principais sintomas a dor lombar ou nos flancos e a hematuria, cursando com o aparecimento de hipertensão arterial secundária. Com o evoluir da doença, a dor torna-se crónica e o aumento contínuo dos rins devido aos quistos leva ao aumento do volume abdominal e conseqüente aparecimento de hérnias da parede abdominal. Porém, as conseqüências mais gravosas para o doente são as complicações cardiovasculares e as infeções dos quistos requerendo tratamento com fluoroquinolonas. Eventualmente, será necessário o transplante de um rim com dador compatível, com o objetivo de diminuir a gravidade destas complicações que são causa de morte destes doentes.<sup>1,5,6</sup>

Para além do rim, há também formação de quistos no fígado e pâncreas, o que torna a DPRAD uma patologia sistémica. Em casos raros podem originar neoplasia maligna, sendo a sua incidência semelhante à da população em geral.<sup>1,5</sup>

Geralmente o diagnóstico é feito em idades inferiores a 30 anos, mas os doentes podem manter-se assintomáticos até à quarta ou quinta décadas de vida. Desta forma, visto ser uma patologia com diversas repercussões a nível sistémico e ao nível da qualidade de vida dos doentes, é necessário a proceder à investigação diagnóstica no caso de haver história familiar de DPRAD.<sup>1,18</sup>

Se a doença tiver origem na mutação do gene PKD1, deve-se realizar uma ecografia renal, sendo o diagnóstico imagiológico: se o doente em questão tiver entre 15 e 30 anos, considera-se o diagnóstico de DPRAD se se identificar pelo menos dois quistos renais uni ou bilateralmente; nos indivíduos entre 30 e 59, se pelo menos dois quistos em cada rim; e nos indivíduos com idade superior a 60 anos, pelo menos quatro quistos em cada rim.<sup>1,7,8</sup>

Uma vez que as mutações no PKD2 resultam quer em formas moderadas da doença, quer num início mais tardio da mesma, os critérios enumerados anteriormente são pouco sensíveis nestes casos, resultando em falsos negativos.<sup>1,7</sup>

A tomografia computadorizada e a ressonância magnética modo T2 podem ser utilizadas nestes casos, uma vez que detetam quistos de dimensões mais reduzidas. No entanto, para além de a maioria dos quistos terem ainda dimensões inferiores ao poder de deteção destes exames imagiológicos, a TC tem o risco de nefrotoxicidade devido à injeção de contraste e são ambos métodos imagiológicos pouco custo-efetivos. Os testes genéticos apenas se aplicam em casos que suscitem dúvidas no diagnóstico ou num potencial dador de rim familiar do doente que tenha idade inferior a trinta anos e ainda não tenham sido detetados quistos renais ecograficamente.<sup>1,7</sup>

Atualmente não existe tratamento específico que impeça o crescimento dos quistos e o conseqüente declínio da função renal. Desta forma, a terapêutica da DPRAD centra-se essencialmente na redução da morbilidade e mortalidade resultantes das complicações desta doença.<sup>1,9</sup>

O controlo da pressão arterial é essencial pois esta contribui quer para o aumento do risco cardiovascular quer para a rápida progressão para DRT. Os inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona são os fármacos de eleição neste caso. A dor abdominal e nos flancos provocada pelo aumento acentuado dos rins pode ser incapacitante num

pequeno grupo de doentes. Desta forma, a nefrectomia pode ser considerada em doentes com doença renal terminal.<sup>1,9,10</sup>

O único tratamento verdadeiramente curativo para estes doentes é o transplante renal. Este apenas pode ser considerado quando se atinge DRT, o que acontece em cerca de 70% dos doentes entre a quarta e a sétima décadas de vida. Contudo, enquanto o transplante não é possível, os doentes com DRT necessitam de hemodiálise.<sup>1,10,17</sup>

Quanto à progressão da doença, têm-se desenvolvido fármacos promissores que atuam ao nível da redução da velocidade de progressão da doença. De facto, existem várias terapêuticas em estudo que interferem ao nível da proliferação celular, tais como os análogos da somatostatina, os inibidores da mTOR, como o Sirolimus e o Everolimus, e, aqueles que parecem ser os mais promissores, os antagonistas do recetor V2 da vasopressina.<sup>1</sup>

Vários estudos demonstraram que a hormona antidiurética e o seu segundo mensageiro (cAMP) promovem a proliferação celular dos quistos e a secreção de fluido, com conseqüente crescimento quístico. A sua supressão através do bloqueio do recetor V2 da vasopressina no tubo coletor reduz esse efeito e protege o rim. Desta forma, estas conclusões justificam o estudo do Tolvaptan, um antagonista do recetor V2, nos doentes com DPRAD.<sup>1</sup>

De facto, foi demonstrado que o Tolvaptan abrandou o crescimento renal e o declínio da função renal, bem como das complicações relacionadas com a DPRAD (HTA, dor, hematúria, nefrolitíase). Além disto, estudos verificaram que há diminuição do volume renal total com esta terapêutica.<sup>11</sup>

Uma vez que é uma doença hereditária, a DPRAD é transmitida de geração em geração pelo progenitor afetado, sendo que cada filho tem 50% de hipótese de herdar o gene mutado. Este gene tem uma penetrância completa, contudo existe uma grande variabilidade intrafamiliar no que se refere à idade em que o doente atinge o estadió terminal da doença. Isto leva a que haja uma grande dificuldade em prever a progressão individual desta patologia. Por esta razão, são necessários biomarcadores que auxiliem no diagnóstico, na avaliação da progressão e no resultado do tratamento de determinada doença.<sup>5,12,13,14,20</sup>

A cistogénese na DRPAD é um processo complexo, caracterizado por anomalias da proliferação celular, da secreção de fluidos, da formação de matriz extracelular e da polaridade celular. O processo resulta na diminuição da função da

barreira de filtração, na diminuição da reabsorção tubular, no aumento da proteínas e na libertação de marcadores por células inflamatórias, que podem ser libertadas na urina dos doentes. Atualmente a monitorização deste processo baseia-se na avaliação da creatinina sérica, da taxa de filtração glomerular e no volume renal total.<sup>15,16</sup>

A creatinina sérica é um produto da degradação da fosfocreatina e traduz a perda de função renal. No entanto, para além de ser filtrada pelo glomérulo, esta é também secretada no túbulo contornado proximal, pelo que pode haver uma sobrestimação da função renal. Por sua vez, a taxa de filtração glomerular é calculada com base em diferentes parâmetros, como a idade, o sexo, a raça para além do valor da creatinina sérica. No entanto, devido à hiperfiltração compensatória dos nefrónios saudáveis, a TFG pode manter-se estável durante décadas. Concomitantemente, estudos demonstraram que existem períodos de estabilidade ao nível do declínio da função renal e períodos de declínio rápido, podendo os primeiros ocorrer mesmo em estadios mais avançados da doença. Desta forma, a creatinina e a TFG têm uma capacidade limitada para avaliar a doença e prever a sua progressão nos estadios mais precoces.<sup>1,5,10,13,18</sup>

Por sua vez, o volume renal total, determinado através de ressonância magnética de alta resolução, é considerado um melhor marcador da progressão da doença, pois, para além de ser possível detetar um aumento das dimensões e volume dos quistos, este aumento está relacionado com o declínio da função renal nos estadios iniciais da doença.<sup>1,8,10,13,21</sup>

Atualmente, com o surgimento de interesse em terapêuticas experimentais potencialmente modificadoras da doença, como o Tolvaptan, tem surgido a necessidade de novos biomarcadores para monitorização da doença. Nos últimos anos surgiram diversas publicações a sugerir que os biomarcadores urinários têm potencial na previsão da evolução da doença. Destes destacam-se a haptoglobina (Hp), a *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), a molécula de lesão renal-1 (KIM-1) e a uromodulina.<sup>1,2,13,16,28</sup>

A **haptoglobina** (Hp) é uma proteína sérica de fase aguda produzida principalmente pelos hepatócitos em resposta à secreção de interleucina (IL)-6, IL-1 e fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ . A sua função primária é ligar-se à hemoglobina (Hb) livre após a hemólise, prevenindo, desta forma, a excreção renal de ferro, bem como proteger os vasos sanguíneos do stress oxidativo causado por este. O complexo haptoglobina-hemoglobina (Hp-Hb) liga-se ao recetor CD163 presente nos hepatócitos e

células de kupffer, sendo eliminado por estas células. Desta forma, a haptoglobina previne o dano causado nos tecidos pelo stress oxidativo.<sup>6,22,23</sup>

Em condições normais, o complexo Hp-Hb, devido às suas dimensões e à sua carga negativa, não é filtrado no glomérulo. A sua presença na urina pode, desta forma, significar diminuição da função renal. Para além disto, a haptoglobina em situações particulares de stress pode ser produzida ao nível do túbulo contornado proximal, sendo eliminada na urina desde uma fase precoce da diminuição da função renal. Por estas razões, a Hp urinária tem sido apontada como um biomarcador candidato à predição do declínio precoce da função renal. Em adição, a haptoglobina também previne o dano causado nos tecidos pelo stress oxidativo.<sup>24,25</sup>

A Hp é constituída por duas cadeias leves  $\alpha$  e duas cadeias  $\beta$  pesadas, ligadas entre si de forma covalente por pontes persulfureto. Devido à existência de dois alelos autossômicos codominantes, HP1 e HP2, a cadeia  $\alpha$  possui duas formas principais ( $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ ), dando origem a três fenótipos possíveis – HP1.1, HP2.1 e HP2.2.<sup>6,22</sup>

Devido à presença de ferro na sua constituição, a hemoglobina livre decorrente da hemólise intravascular tem a capacidade de catalisar a formação de radicais livres de oxigénio, provocando danos importantes a nível das células endoteliais. A depuração de Hb livre pela Hp é maior nos indivíduos que possuem o fenótipo HP 1.1, conferindo uma maior proteção contra o dano oxidativo. Uma vez que os três fenótipos possuem a mesma capacidade de ligação à Hb, esta variação no seu poder anti-oxidativo poderá ser reflexo dos seus diferentes tamanhos. A proteína HP 2.2 por ter um tamanho superior à proteína HP1.1, remove o ferro para o espaço extravascular a um ritmo mais lento, permanecendo a Hb em circulação durante mais tempo. Assim, os indivíduos com este fenótipo (HP 2.2) sujeitos a maior stress oxidativo e a todas as consequências que daí advêm.<sup>41,42</sup>

A  **$\alpha$ -glutatio S-Transferase** ( $\alpha$ -GST) pertence a uma superfamília de proteínas enzimáticas que tem um papel importante nas reações de destoxificação celular. Ao nível renal, a  $\alpha$ -GST encontra-se presente nas células epiteliais do túbulo contornado principal. Por esta razão, quando esta enzima é libertada na urina em resposta à lesão tubular, pode permitir a localização primordial dessa lesão. Dado que a DPRAD atinge toda a extensão do nefrónio, este biomarcador parece ser promissor na monitorização da fibrose intersticial renal e, conseqüentemente, na progressão da doença.<sup>26,27,29</sup>

Posto isto, este trabalho tem como **objetivos** avaliar a concentração na urina dos biomarcadores  $\alpha$ -GST e haptoglobina nos diferentes estádios de progressão da DPRAD; verificar a existência de correlação entre a diminuição da TFG e os valores dos biomarcadores  $\alpha$ -GST e haptoglobina urinários; correlacionar os biomarcadores em estudo com a progressão da doença.

## **Materiais e Métodos**

### **1. População**

Para este estudo foram recrutados 23 doentes com DPRAD seguidos em consulta de nefrologia no Hospital Beatriz de Ângelo durante pelo menos 60 meses, diagnosticados de acordo com os Critérios de Ravine e com pelo menos cinco determinações de seriadas de creatinina sérica ao longo do follow-up. Os critérios de exclusão foram os seguintes: gravidez, hematúria macroscópica no dia da recolha da amostra de urina, presença de causas de lesão renal aguda e recusa de assinatura do consentimento informado. Foi ainda selecionada uma amostra da população de controlo composta por 17 indivíduos sem doença renal diagnosticada, devidamente emparelhados com os doentes com DPRAD para a idade, género e creatinina sérica. O estudo foi aprovado pela Comissão de ética do Hospital Beatriz Ângelo e todos os participantes assinaram o consentimento informado.

Além dos dados demográficos, foram também colhidos os valores de creatinina sérica basal e de TFG basal, bem como dados clínicos no início do follow-up referentes ao controlo da pressão arterial, eventos urológicos (cólicas renais, episódios de hematúria macroscópica) e cardiovasculares (síndrome coronário agudo, acidentes vasculares cerebrais, etc) e episódios de internamento.

### **2. Determinação dos biomarcadores**

No início do seguimento em consulta de nefrologia (T0) foram determinados os valores de creatinina sérica e da TFG na amostra da população com DPRAD. Após os 60 meses, ou seja, 5 anos (T5) de seguimento, foram determinados novamente os valores de creatinina sérica e da TFG, bem como o volume renal e os valores dos biomarcadores  $\alpha$ -GST e Hp séricos e urinários.

Após determinações seriadas da creatinina sérica, a progressão da função renal da amostra da população em estudo será avaliada pelo declínio da taxa de filtração glomerular estimada usando a fórmula CKD-EPI. A primeira urina da manhã foi colhida em condições assépticas, tendo sido processada até 12 horas após a colheita. Após a centrifugação, foi adicionado às amostras um tampão estabilizador urinário para a determinação do  $\alpha$ -GST e Hp. Estas foram conservadas a -20°C.

Os biomarcadores  $\alpha$ -GST e Hp foram determinados por ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e as 3 variantes fenotípicas do gene *HP* (HP1.1, HP2.1, HP2.2) foram

determinados pela técnica de electroforese em gel de poliacrilamida de acordo com o protocolo aplicado no Laboratório de Genética-FMUL.<sup>19</sup>

### **3. Análise Estatística**

Foi realizada uma análise descritiva da amostra da população em estudo. Avaliou-se a normalidade dos parâmetros analisados usando o teste de Shapiro-Wilk e foi utilizado o teste t-student ou Mann-Whitney para a comparação entre grupos. Foram utilizadas correlações de Spearman para averiguar a existência de associação entre os biomarcadores analisados, a taxa de filtração glomerular e a creatinina sérica. Foi aplicado o teste de qui-quadrado para comparação de frequências. As análises estatísticas foram realizadas utilizando a versão SPSS 24.0. Resultados com  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## **Resultados**

A média das idades dos doentes com DPRAD selecionados para este estudo foi de 42 anos, sendo a maioria do sexo feminino (56,0%). Por sua vez, a média das idades dos indivíduos da amostra da população de controlo foi de 29 anos, sendo a maioria também do sexo feminino (82,4%). No que toca aos valores de creatinina sérica T5, não se verificou diferenças estatisticamente significativa entre a amostra da população doente e a amostra da população de controlo (Tabela 1).

Ao fim de 5 anos de follow-up, há uma diminuição da função renal da amostra da população com DPRAD. Tal como o documentado pela literatura, verificou-se uma diminuição da TFG, bem como um aumento da creatinina sérica (Figura 1).

Adotando a classificação K.D.I.G.O. para a divisão em estadios da DRC e agrupando os doentes em estadios precoces (estadios 1 e 2) e avançados (estadios 3, 4 e 5), verificou-se que em T5, 54,8% dos doentes se encontravam em estadios precoces e 14,4% nos estadios mais avançados. Comparando T0 com T5, verificou-se que em T5 há um aumento da percentagem de doentes em estadio 2 (9,5% em T0 versus 31,0% em T5). Adicionalmente, ao fim dos 5 anos de follow-up, há doentes que se encontram em estadio 5 (2,4%), algo que não acontecia no início do follow-up. Isto revela que, embora pouco acentuada, houve progressão da doença ao longo dos 5 anos de seguimento da amostra da população em estudo (Figura 2).

Após a determinação do tamanho renal por métodos ecográficos em T5, obteve-se a média do tamanho renal dos doentes agrupados por estadio de DRC. Verificou-se que os doentes em estadio 4 apresentam um volume renal superior ao dos doentes que se encontram em estadios menos avançados de doença (Figura 3). Os biomarcadores  $\alpha$ -GST e Hp séricos e urinários não estiveram associados ao tamanho do rim.

Neste momento (T5), os doentes que se encontram nos estadios mais avançados apresentam um maior agravamento da função renal por diminuição da TFG ( $p < 0,001$ ) e aumento da creatinina sérica ( $p = 0,015$ ). Isto mostra que, tal como vem descrito na literatura, o expectável declínio da função renal em doentes com DPRAD refletindo-se nos estadios, em que os doentes em estadios K.D.I.G.O. mais avançados possuem uma maior deterioração da função renal (Figura 4).

Analisando o biomarcador  $\alpha$ -GST urinário na amostra da população de controlo ( $n=17$ ) e, após comparação com o  $\alpha$ -GST urinário da amostra da população em estudo, observamos uma diferença estatisticamente significativa entre o biomarcador da amostra

de controlo e a da amostra da população com DPRAD ( $p < 0,001$ ) (Figura 5). Uma vez que não temos dados relativos ao biomarcador da Hp na amostra de população de controlo, não foi possível averiguar se existe diferenças entre os controlos e a amostra da população com a doença.

No que toca aos biomarcadores Hp urinário e  $\alpha$ -GST sérico segundo os estadios K.D.I.G.O., verificou-se, a existência de uma tendência para a associação entre os biomarcadores e os estadios avançados ( $p=0,077$  e  $p=0,098$  respetivamente) (Figura 5). Estes resultados revelam que poderá haver um aumento destes biomarcadores com a progressão da doença ao longo do tempo. Não se verificaram diferenças significativas dos valores da Hp sérica de acordo com os estadios, apesar de estes terem sido mais elevados ( $P=0.100$ ).

Através da aplicação dos testes de correlação de Spearman, verificou-se uma correlação estatisticamente significativa entre os valores da TFG ao fim dos 5 anos de seguimento com os biomarcadores séricos Hp e  $\alpha$ -GST ( $p=0,039$  e  $p=0,038$ , respetivamente), bem como uma tendência entre os valores destes biomarcadores e a creatinina sérica T5 ( $p=0,054$  e  $p=0,067$ , respetivamente) (Tabela 2). Estas correlações parecem indicar que estes biomarcadores séricos se comportam como os valores da creatinina em relação à TFG.

No que toca aos biomarcadores urinários Hp e  $\alpha$ -GST, constatou-se que ambos se correlacionam com a  $\Delta$  (T5-T0) da creatinina sérica ( $p=0,037$  e  $p=0,048$  respetivamente). Adicionalmente, há uma tendência relativamente à correlação entre a Hp urinária e o valor da creatinina sérica T5 ( $p=0,058$ ). Tendo em conta estes resultados, o aumento dos biomarcadores urinários e séricos em estudo estão correlacionados com o declínio da função renal verificada na amostra da população com DPRAD (Tabela 2).

Por sua vez, o biomarcador  $\alpha$ -GST urinário correlaciona-se de forma significativa com os biomarcadores Hp urinário ( $p=0,000$ ) e  $\alpha$ -GST sérico ( $p=0,038$ ), verificando-se um aumento simultâneo destes biomarcadores na amostra da população com a doença (Tabela 2).

Após a determinação dos fenótipos da Hp constatou-se que 20 doentes possuem os fenótipos associados a melhor prognóstico da doença (HP1.1 e HP2.1) e 2 doentes apresentavam o fenótipo HP2.2. Verificou-se uma associação significativa entre a  $\Delta$  (T5-T0) TFG e o fenótipo 2.2 da Hp ( $p=0,000$ ), pelo que este parâmetro se relaciona com o declínio da TFG à medida que a doença evolui ao longo do tempo.

## **Discussão**

Conforme o descrito na literatura, houve uma deterioração da função renal demonstrada pela diminuição da TFG e aumento da creatinina sérica ao fim dos 5 anos de seguimento em consulta de nefrologia.<sup>1,5,6,30</sup>

No que toca aos biomarcadores séricos Hp e  $\alpha$ -GST obteve-se uma correlação com a TFG ao fim de cinco anos de follow-up, bem como uma tendência para a associação entre  $\alpha$ -GST e os estadios K.D.I.G.O.

O processo de formação de quistos que ocorre na DPRAD resulta na diminuição da função da membrana de filtração, levando à diminuição da sua permeabilidade. Esta diminuição da sua função é traduzida pela diminuição da TFG e pela presença de moléculas na urina que, em condições normais, não estariam presentes. É o caso da albumina e, possivelmente, da haptoglobina. Simultaneamente, nesta patologia existe um processo inflamatório em curso, com formação de fibrose e libertação de mediadores inflamatórios. Para combater esse processo, quer os hepatócitos, quer as células do nefrónio, vão produzir e libertar haptoglobina como medida de proteção.<sup>5,16,23,35</sup> De facto, a haptoglobina, para além de proteger contra o stress oxidativo através da sua ligação à hemoglobina livre, também tem propriedades anti-inflamatórias, pois inibe a síntese de prostaglandinas.<sup>41,42</sup> Posto isto, sendo a creatinina sérica e a TFG os parâmetros utilizados para avaliar a função renal, é compreensível que a Hp urinária se correlacione de forma significativa com  $\Delta$  (T5-T0) da creatinina sérica e a Hp sérica se correlacione com a TFG T5. Desta forma, a haptoglobina poderá ser um potencial biomarcador de lesão renal com utilidade na avaliação da progressão da DPRAD.

Relativamente à  $\alpha$ -GST urinária, obteve-se uma correlação com a  $\Delta$  (T5-T0) da creatinina sérica e com a Hp urinária. Não se verificou, porém, uma associação entre a  $\alpha$ -GST urinária e os estadios K.D.I.G.O., ao contrário do constatado para a  $\alpha$ -GST sérica.

Tendo em conta a correlação entre a  $\Delta$  (T5-T0) da creatinina sérica com  $\alpha$ -GST urinário e Hp urinária, uma correlação significativa entre estes dois biomarcadores significa que para os mesmos estadios K.D.I.G.O., estes biomarcadores parecem ter uma particular eficácia na identificação de variações na creatinina sérica.

Segundo a bibliografia consultada, os nefrónios primitivos demonstram positividade para a  $\alpha$ -GST e a  $\pi$ -GST em toda a sua extensão entres as 12 e as 36 semanas de gestação. Este padrão de expressão muda entre as 36 e as 40 semanas, sendo que após a 40<sup>a</sup> semana de gestação, a  $\alpha$ -GST é expresso no túbulo contornado proximal, enquanto

que a  $\pi$ -GST está restrito ao túbulo contornado distal e tubo coletor. O que acontece nos rins dos doentes com DPRAD é que o epitélio dos quistos expressam quer o  $\alpha$ -GST e a  $\pi$ -GST em toda a sua extensão e os nefrónios sem quistos expressam essas enzimas da forma descrita anteriormente. Após o nascimento, a expressão da  $\alpha$ -GST parece ser consequência da proliferação celular e do aumento das dimensões do nefrónio.<sup>26,36</sup>

Na DPRAD há uma perda de diferenciação das células epiteliais levando à produção de  $\alpha$ -GST segundo o padrão fetal, o que sugere que o aparecimento desta isoforma esteja relacionada com o atraso da maturação tubular. Posto isto, é expectável a associação entre biomarcador  $\alpha$ -GST urinário e esta patologia.

As células do túbulo contornado proximal têm uma elevada atividade metabólica e grande consumo de oxigénio, pelo que é expectável que sejam produzidas elevadas quantidades de radicais livres. Sendo a  $\alpha$ -GST uma enzima importante na fase II de desintoxicação celular, esta vai ser naturalmente produzida e libertada na urina em pequenas quantidades. No entanto, estudos demonstraram que em situações de lesão renal causada quer por patologia, quer por toxinas exógenas, a excreção de  $\alpha$ -GST urinária encontrava-se aumentada.<sup>27,29,32,37</sup>

De facto, com os dados, parece haver uma diferença entre os valores de  $\alpha$ -GST urinária no grupo controlo e os doentes com DPRAD. Posto isto, este biomarcador está associado à lesão renal, o que está de acordo com o descrito anteriormente. No entanto, o facto de esta enzima poder estar aumentada noutras situações em que o rim se encontra disfuncional torna-a pouco especifica quanto ao local da lesão.<sup>38</sup>

Analisando apenas os indivíduos que se encontram nos estadios 1 e 2 da classificação K.D.I.G.O. de ambas as populações, não se conseguiu apurar a mesma diferença. Porém existe uma tendência estatística para tal ( $p=0,055$ ), pelo que a  $\alpha$ -GST urinária poderá ser preditor de doença, sendo este um dos resultados que esperamos apresentar aquando da finalização deste estudo.

A enzima  $\alpha$ -GST urinária é excretada mesmo em lesões de baixo grau, sendo que estudos demonstraram que esta é libertada quando a função renal ainda está preservada. Isto acontece porque inicialmente as células mais afetadas são as tubulares proximais, levando à perda urinária de  $\alpha$ -GST, sendo esta informativa de que há lesão ou disfunção tubular. No entanto, à medida que a lesão tubular progride e começa a afetar as partes mais distais do nefrónio, como o tubo coletor, verifica-se uma descida da  $\alpha$ -GST, algo que ainda não é totalmente entendido.<sup>34,37</sup> Assim, dada a escassa informação existente

atualmente, é necessária a realização de mais estudos para melhor compreender o papel desta enzima na doença renal, em particular na DPRAD.

Ao contrário do que seria expectável, não se verificou uma associação entre os biomarcadores urinários e os estadios K.D.I.G.O., tendo-se observado apenas uma tendência para a correlação entre os estadios e a Hp urinária. Este facto é compreensível uma vez que não se obteve uma correlação com a TFG. A diminuição da TFG não é linear. Existem períodos de estabilidade e de declínio rápido, sendo que os períodos de estabilidade podem ocorrer mesmo na doença avançada. De facto, este padrão é observado em cerca de 40% dos doentes com DPRAD.<sup>30,38</sup> Assim sendo, este facto em conjunto com uma amostra de tamanho reduzido poderá explicar os resultados obtidos.

A determinação do tamanho renal foi efetuada por métodos ecográficos. No entanto, este método está associado a uma grande variabilidade intra e inter-operador, o que poderá explicar o facto de os biomarcadores  $\alpha$ -GST e Hp séricos e urinários, neste trabalho, não estarem associados ao tamanho do rim. Para ultrapassar esta limitação da ecografia, os melhores métodos imagiológicos para determinar o tamanho renal e, conseqüentemente, o volume renal total são a tomografia computadorizada e a ressonância magnética. Entre estes dois exames de imagem, aquele que tem maior vantagem em ser utilizado é a RM, pois, para além de o doente não ser exposto a radiação, também permite estimar o volume dos quistos através da injeção de contraste.<sup>43</sup> O estudo CRISP demonstrou que o volume total dos quistos e o VRT estão correlacionados de forma inversa com a TFG, pelo que o VRT é um parâmetro útil na previsão da deterioração da função renal na DPRAD.<sup>44</sup>

Como já foi referido anteriormente, uma das limitações deste trabalho foi o tamanho reduzido da amostra da população em estudo. Um dos critérios de exclusão foi a recusa de amostras de urina com presença de hematúria macroscópica no dia da colheita por inviabilizar a determinação dos biomarcadores através de ensaios imunoenzimáticos. Este facto fez com que a seleção dos doentes tenha sido restrita. O aparecimento de hematúria decorrente da rotura dos quistos é um dos principais sintomas que motivam os doentes a procurar o médico e motivam o diagnóstico de DPRAD. Esta ocorre em aproximadamente 40% dos doentes, podendo recorrer durante o curso da doença.<sup>1,5,40</sup>

O percurso desta doença é muito heterogéneo dependendo de fatores genéticos, da idade em que são detetados os primeiros quistos e de início da HTA, do volume renal esperado para a idade, bem como das complicações cardiovasculares e outras doenças

concomitantes. Para além destes fatores intrínsecos ao doente, a obtenção de biomarcadores preditores de progressão de doença é, também, influenciada por fatores ambientais.<sup>6,18,38</sup> Na realização deste trabalho, conseguiu-se controlar alguns dos fatores mencionados através dos critérios de inclusão e exclusão. No entanto, como existe uma grande variabilidade entre os fatores ambientais e de eventos da vida dos doentes, estes devem ser tidos em consideração como uma possível limitação deste estudo. Uma vez que o tempo de follow-up também tem influência na identificação dos biomarcadores, este deverá ser maior em próximos trabalhos.

Analisando a correlação de Hp sérica com a TFG T5, bem como a correlação de Hp urinária com a  $\Delta$  (T5-T0) da creatinina sérica, considera-se provável que com o progressivo declínio da função renal haja um aumento da concentração de Hp a nível sérico e a nível urinário. A Hp sérica é modulada por várias situações como inflamação, hemólise ou doença hepática, pelo que é expectável que não seja um bom biomarcador quanto à situação renal do doente. Porém, segundo Kharbanda *et al.* nos indivíduos que possuem o fenótipo HP2.2, o nível de Hp urinária não difere entre os indivíduos com função renal comprometida ou preservada. Este achado sugere que o aumento no nível de Hp urinária seja, provavelmente, devido ao aumento da sua expressão *in situ* em tecidos renais.<sup>22</sup>

O gene da haptoglobina possui três forma fenotípicas diferentes (HP1.1, HP2.1, HP2.2), sendo que o fenótipo HP1.1 é a forma que possui maior poder anti-inflamatório e de proteção contra as ações nocivas das espécies livres de oxigénio. Por sua vez, estas propriedades são menos pronunciadas nos indivíduos que apresentam o fenótipo HP2.2. assim, este fenótipo é considerado em diversos trabalhos como um fator de risco para diversas doenças, como hipertensão ou nefropatia diabética.<sup>31</sup> Existem ainda diversos estudos que correlacionam a presença deste fenótipo com o declínio da função renal, sendo considerado fator de risco para progressão para doença renal terminal (DRT).<sup>23,24</sup> Em concordância com os estudos já existentes, observou-se uma associação entre  $\Delta$  (T5-T0) TFG e os fenótipos da haptoglobina, sendo esta associação mais significativa para o fenótipo HP2.2. Conforme o que foi dito anteriormente e considerando que a DPRAD é uma doença com um componente pró-inflamatório, faz sentido que este fenótipo se relacione com o declínio da TFG e, desta forma, com a progressão e agravamento da doença.

O gene da haptoglobina e alguns dos genes que estão na origem da DPRAD, nomeadamente o gene PKD1, localizam-se no cromossoma 16. Porém, diversos estudos demonstraram que os dois loci não se encontram interligados, sendo a expressão destes genes independente um do outro.<sup>31,39</sup> Por outro lado, a reduzida dimensão da amostra deste estudo pode ter sido uma limitação a este nível. Estas são algumas hipóteses que podem explicar o facto de não haver uma correlação entre a TFG e a Hp urinária, apesar de os fenótipos da haptoglobina estarem associados à diminuição da TFG.

Para investigação futura seria interessante determinar o biomarcador Hp na amostra de população controlo e verificar se existem diferenças significativas em comparação com o mesmo biomarcador na amostra da população com a doença. Desta forma poderíamos verificar se os resultados obtidos neste estudo com doentes com diabetes *mellitus* tipo 2 são reprodutíveis na nossa amostra da população com DPRAD.

## **Conclusão**

Concordante com a literatura, ao fim dos 5 anos de follow-up, verificou-se um comprometimento da função renal nos doentes com DPRAD, uma vez que se observou na amostra em estudo um aumento dos valores de creatinina sérica e uma diminuição da TFG.

A DPRAD tem uma taxa de progressão muito variável, pelo que são necessários marcadores de progressão para prever o prognóstico e selecionar os doentes para novos tratamentos, como o Tolvaptan. Os biomarcadores selecionados para este estudo parecem permitir uma monitorização da progressão da doença. No entanto, estes resultados são ainda preliminares e deverão ser reforçados com um aumento da amostra e do tempo de follow-up e com uma recolha mais pormenorizada de fatores que possam interferir com os valores de Hp e  $\alpha$ -GST séricos e urinários.

## **Agradecimentos**

Obrigada,

Aos meus pais por nunca me deixarem cair ao mais pequeno obstáculo. Sem o vosso apoio e confiança a servir de âncora durante estes seis anos de curso, este teria sido um caminho muito mais penoso de percorrer.

À Beatriz por ser a minha companheira de aventuras académicas e não só durante os últimos anos. Apareceste na minha vida um ano mais tarde do que o que deverias, mas estiveste sempre presente nos momentos em que deverias estar. Apesar de achares que não, és aquela Ansiedade que todos deveríamos ter nas nossas vidas. Juntas aventuramos pelos caminhos da investigação e descobrimos todo um mundo de possibilidades para além da prática clínica, no qual podemos continuar a contribuir para o bem-estar dos doentes.

À Andreia e à Carolina, pela vossa paciência, apoio e disponibilidade durante o ano de projeto GAPIC e durante todo o processo de escrita desta tese. Vocês foram cruciais no decurso deste projeto e são a razão pela qual eu vejo a investigação e a bioestatística com outros olhos.

Ao Professor Edgar Almeida, pela oportunidade de poder integrar esta equipa maravilhosa. Sem a sua dedicação a este projeto nada teria sido possível. Nos momentos mais críticos, a sua tranquilidade sempre me ajudou a encontrar a confiança que precisava para continuar.

## **Bibliografia**

1. Jameson, J., Fauci, A., Kasper, D., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J., Loscalzo, J. and Harrison, T. *Harrison's principles of internal medicine*. 19th edition, McGraw-Hill Education, New York. Chapter 339, pp.1850-1856 (2015).
2. Kistler, A. D. et al. *Urinary Proteomic Biomarkers for Diagnosis and Risk Stratification of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Multicentric Study*. PLoS One 8, (2013).
3. Willey, Cynthia J., et al. *Prevalence of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in the European Union*. Nephrology Dialysis Transplantation, (2016).
4. Ong, A. C. M., Devuyst, O., Knebelmann, B. & Walz, G. *Autosomal dominant polycystic kidney disease: The changing face of clinical management*. Lancet 385, 1993–2002 (2015).
5. Grantham, Jared J. *Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease*. New England Journal of Medicine, vol. 359, no. 14, 1477–1485 (2008).
6. Santos, A. C. C. *Estudo dos Genes Modificadores da Doença Poliquística Renal Associados à Doença Cardiovascular*. Universidade de Lisboa, 2015. (Tese de Mestrado).
7. Belibi, F. and Edelstein, C. *Unified Ultrasonographic Diagnostic Criteria for Polycystic Kidney Disease*. Journal of the American Society of Nephrology, 20(1), pp.6-8, (2009).
8. De Almeida, E. *Doença poliquística renal autossómica dominante: clínica, genética e epidemiologia*. Faculdade de Medicina da Univeridade de Lisboa, 2008 (Tese de Mestrado).
9. Torres, V. & Harris, P. *Autosomal dominant polycystic kidney disease: the last 3 years*. Kidney Int. 76, 149–168 (2009).
10. Griggs, R.C., Wing E.J., Fitz G. *Andreoli and Carpenter's Cecil Essentials of Medicine*. 9th edition, Elsevier-Saunders, Philadelphia. Chapter 29, pp.333-334 (2016).
11. Torres, V. E. et al. *Tolvaptan in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease*. N. Engl. J. Med. 367, 2407–2418 (2012).
12. Chapman, A. B. *Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Time for a Change?* J. Am. Soc. Nephrol. 18, 1399–1407 (2007).

13. Petzold, K. et al. *Urinary biomarkers at early ADPKD disease stage*. PLoS One 10, 1–15 (2015).
14. Townsend, D. M. et al. *Novel Role for Glutathione S -Transferase  $\pi$* . J. Biol. Chem. 284, 436–445 (2009).
15. Blanco, G. and Wallace, D. *Novel role of ouabain as a cystogenic factor in autosomal dominant polycystic kidney disease*. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 305(6), (2013).
16. Devarajan, P. *Biomarkers for the early detection of acute kidney injury*. Current Opinion in Pediatrics, 23(2), pp.194-200 (2011).
17. Spithoven, E. et al. *Renal replacement therapy for autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) in Europe: prevalence and survival--an analysis of data from the ERA-EDTA Registry*. Nephrology Dialysis Transplantation, 29 (2014).
18. Brosnahan, G. M. et al. *Patterns of Kidney Function Decline in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Post Hoc Analysis From the HALT-PKD Trials*. Am. J. Kidney Dis. 71, 666–676 (2018).
19. Matos, A., A. Pereira da Silva, M. Clara Bicho, C. Afonso, M. J. Areias, I. Rebelo and M. Bicho *In women with previous pregnancy hypertension, levels of cardiovascular risk biomarkers may be modulated by haptoglobin polymorphism*. Obstet Gynecol Int (2014).
20. Mayeux, R. *Biomarkers: potential uses and limitations*. NeuroRx 1, 182–8 (2004).
21. Chapman, A. B. et al. *Renal structure in early autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD): The Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease (CRISP) cohort*. Kidney Int. 64, 1035–1045 (2003).
22. Gurung, Resham Lal et al. *Genetic markers for urine haptoglobin is associated with decline in renal function in type 2 diabetes in East Asians*. Scientific Reports. 8 (2018).
23. Langlois, M. R., Delanghe, J. R., De Buyzere, M. L., Bernard, D. R. & Ouyang, J. *Effect of haptoglobin on the metabolism of vitamin C*. Am. J. Clin. Nutr. 66, 606–610 (1997).
24. Bhensdadia, N., Hunt, K., Lopes-Virella, M., Michael Tucker, J., Mataria, M., A. & J., Neely, B., Janech, M. and Arthur, J. *Urine haptoglobin levels predict early renal functional decline in patients with type 2 diabetes*. Kidney Int. 25, 368–379 (2013).

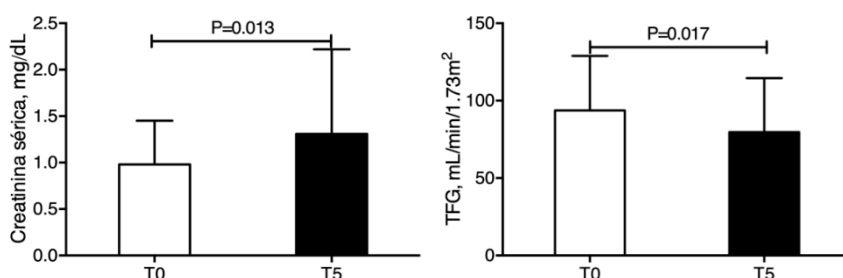
25. Zager, R. A., Vijayan, A. & Johnson, A. C. M. *Proximal tubule haptoglobin gene activation is an integral component of the acute kidney injury “stress response”*. Am. J. Physiol. Physiol. 303 (2012).
26. Hiley, C.; Otter, M. ; Bell, J. ; Strange, C. R.; Keeling, W. J. ; *Immunocytochemical studies of the distribution of alpha and pi isoforms of glutathione s-transferase in cystic renal diseases*. Pediatr. Pathol. 497–504 (1994).
27. Bienias, B. and Sikora, P. *Potential Novel Biomarkers of Obstructive Nephropathy in Children with Hydronephrosis*. Disease Markers, 2018, pp.1-9 (2018).
28. Wasung, M., Chawla, L. and Madero, M. *Biomarkers of renal function, which and when?*. Clinica Chimica Acta, 438, pp.350-357 (2015).
29. Heehan, D., Meade, G., Foley, V., Dowd, C. *Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily*. Biochemical Journal, 360(1), (2001).
30. Furlano, M., Loscos, I., Martí, T., Bullich, G., Ayasreh, N., Rius, A., Roca, L., Ballarín, J., Ars, E. and Torra, R. *Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Clinical Assessment of Rapid Progression*. American Journal of Nephrology, 48(4), pp.308-317 (2018).
31. Awadallah, S. and Hamad, M. *A study of haptoglobin phenotypes in patients with chronic renal failure*. Annals of Clinical Biochemistry, 40(6), pp.680-683 (2003).
32. Kharbanda, R., Lauder, J., Thomson, D., Goulesbrough, D. and Harrison, D. *Heterogeneity of Glutathione S-Transferase Isoenzyme Expression in Renal Disease*. Nephrology Dialysis Transplantation, 6(10), pp.695-700 (1991).
33. Kilty, C., Doyle, S., Hassett, B. and Manning, F. *Glutathione S-transferases as biomarkers of organ damage: applications of rodent and canine GST enzyme immunoassays*. Chemico-Biological Interactions, 111-112, pp.123-135 (1998).
34. Branten, A., Mulder, T., Peters, W., Assmann, K. and Wetzels, J. *Urinary Excretion of Glutathione S Transferases Alpha and Pi in Patients with Proteinuria: Reflection of the Site of Tubular Injury*. Nephron, 85(2), pp.120-126 (2000).
35. Wobeto, V., Zaccariotto, T. and Sonati, M. *Polymorphism of human haptoglobin and its clinical importance*. Genetics and Molecular Biology, 31(3), pp.602-620 (2008).

36. Hiley, C., Bell, J., Hume, R. and Strange, R. *Differential expression of alpha and pi isoenzymes of glutathione S-transferase in developing human kidney*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 990(3), pp.321-324 (1989).
37. Meer, Leonie Van, et al. *Urinary Kidney Biomarkers for Early Detection of Nephrotoxicity in Clinical Drug Development*. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 77(6), pp.947–957 (2014).
38. Messchendorp, A. Lianne, et al. *Urinary Biomarkers to Identify Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Patients With a High Likelihood of Disease Progression*. *Kidney International Reports*, 3(2), pp.291–301 (2018).
39. Watson ML, Wright AF, Macnicol AM, et al *Studies of genetic linkage between adult polycystic kidney disease and three markers on chromosome 16*. *Journal of Medical Genetics*, 24(8), pp.457-461 (1987).
40. Gabow, P. A., Duley, I. & Johnson, A. M. *Clinical Profiles of Gross Hematuria in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease*. *Am. J. Kidney Dis.* 20, pp.140–143 (1992).
41. Wobeto, V., Zaccariotto, T. and Sonati, M. *Polymorphism of human haptoglobin and its clinical importance*. *Genetics and Molecular Biology*, 31(3), pp.602-620 (2008).
42. Clara, M., da Silva, A., Medeiros, R. and Bicho, M. *The Role of Haptoglobin and Its Genetic Polymorphism in Cancer: A Review*. *Acute Phase Proteins* (2013).
43. Irazabal, M. and Torres, V. *Total Kidney Volume and Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Long-Standing Relationship*. *American Journal of Nephrology*, 48(1), pp.65-66 (2018).
44. Alam, A., Dahl, N., Lipschutz, J., Rossetti, S., Smith, P., Sapir, D., Weinstein, J., McFarlane, P. and Bichet, D. *Total Kidney Volume in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Biomarker of Disease Progression and Therapeutic Efficacy*. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(4), pp.564-576 (2015).

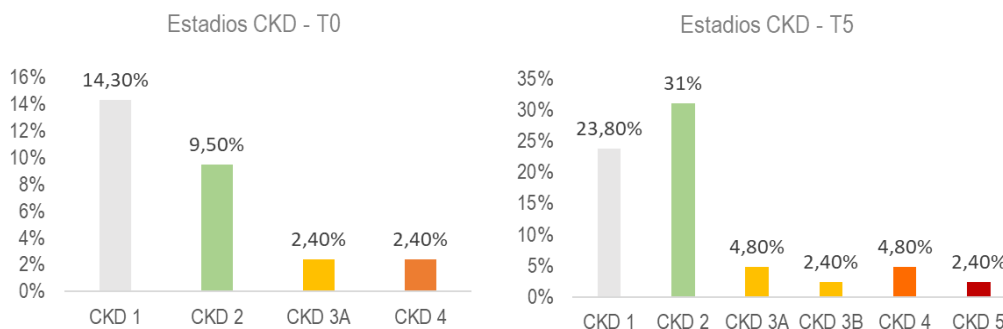
Tabelas e Figuras

	N	Controlo	N	DPRAD	p-value
<b>Idade, anos</b>	17	29,00 (27,00-51,00)	23	42,00 (32,50-48,00)	0,763 <sup>a</sup>
<b>Género, n (%)</b>					
<b>Feminino</b>		14 (82,40)		14 (56,00)	0,102 <sup>b</sup>
<b>Masculino</b>		3 (17,60)		11 (44,00)	
<b>Cr sérica T5 (mg/dL)</b>	6	0,85 (0,81-0,90)	22	0,98 (0,74-1,26)	0,594 <sup>a</sup>

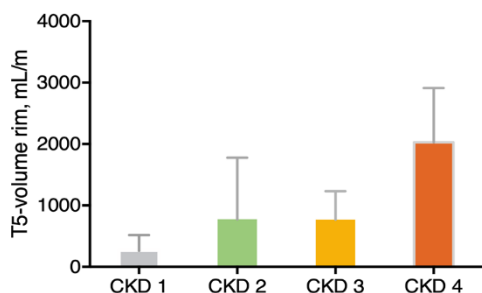
**Tabela 1:** Comparação da idade, género e creatinina (Cr) séria ao fim de 5 anos de seguimento entre doentes com DPRAD e controlos. Os valores apresentados são mediana e P25-P75<sup>a</sup>; p-value para comparações entre DPRAD e controlo, usando o teste de Mann-Whitney; <sup>b</sup> p-value usando o teste do qui-quadrado.



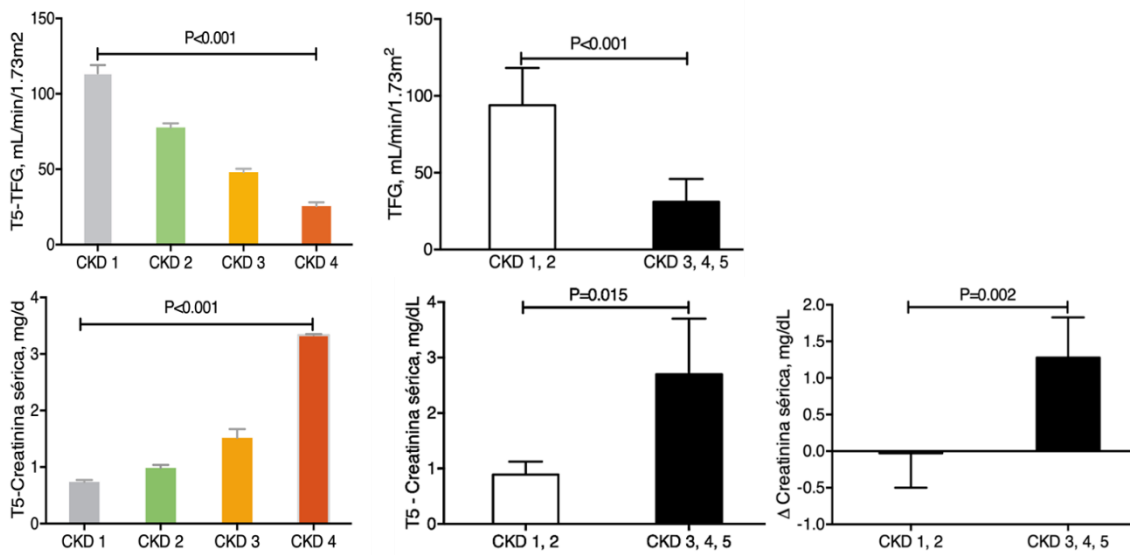
**Figura 1:** Avaliação da função renal segundo a creatinina sérica e taxa de filtração glomerular (TFG) no início do estudo (T0) e ao fim de 5 anos de follow-up (T5). Os valores apresentados são médias ± desvio padrão da média. p-value para comparações de médias entre os momentos T0 e T5, usando o teste t-Student.



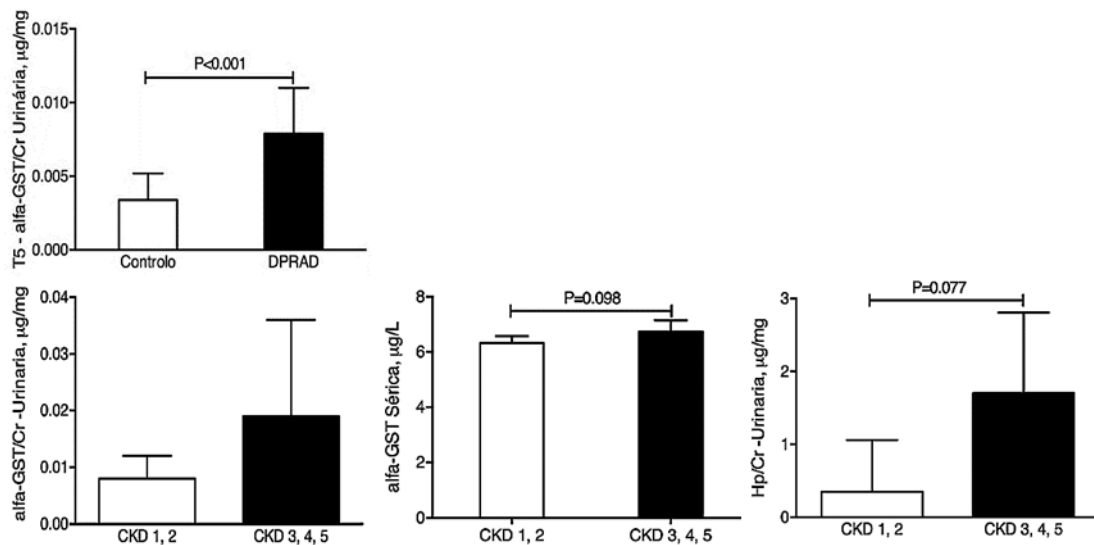
**Figura 2:** Avaliação dos estadios K.D.I.G.O. no início do estudo (T0) e ao fim de 5 anos de follow-up (T5) de follow-up em consulta de nefrologia. Valores apresentados em percentagem (%).



**Figura 3:** Avaliação do volume renal (VR) segundo os estadios K.D.I.G.O. no momento T5. Os valores apresentados são médias ± desvio padrão da média.



**Figura 4:** Avaliação da creatinina sérica T5 e taxa filtrado glomerular (TFG) T5 segundo estadios precoces (CKD 1,2) e avançados (CKD 3,4,5). Os valores apresentados são médias  $\pm$  desvio padrão da média. *p*-values para comparações usando o teste *t*-Student. T5, após 5 anos de follow-up;  $\Delta(T5-T0)$ , diferença entre valores após 5 anos de follow-up e os valores basais.



**Figura 5:** Avaliação dos biomarcadores  $\alpha$ -GST e Haptoglobina (Hp) segundo a amostra de controlo versus a amostra da população com DPRAD e segundo os estadios precoces (CKD 1,2) e avançados (CKD 3,4,5). Os valores apresentados são médias  $\pm$  desvio padrão da média. *P*-values para comparações usando o teste *t*-Student. T5, após 5 anos de follow-up

		Hp/Cr urinárias (mg/dL)	Hp sérica T5 (ng/mL)	$\alpha$ -GST sérica T5 ( $\mu$ g/L)	$\alpha$ -GST/Cr urinárias ( $\mu$ g/mg)
<b>Cr sérica T5 (mg/dL)</b>	r	0,690	0,624	0,633	0,358
	p-value	0,058	0,054	0,067	0,208
	N	8	10	9	14
<b>TFG T5 (mL/min/1,73m<sup>2</sup>)</b>	r	-0,571	-0,657*	-0,695*	-0,337
	p-value	0,139	0,039	0,038	0,239
	N	8	10	9	14
<b><math>\Delta</math>(T5-T0) Cr sérica (mg/dL)</b>	r	0,738*	0,176	0,285	0,606*
	p-value	0,037	0,626	0,458	0,048
	N	8	10	9	11
<b><math>\alpha</math>-GST/Cr urinárias (<math>\mu</math>g/mg)</b>	r	0,950**	0,227	0,661*	
	p-value	0,000	0,502	0,038	
	N	8	10	9	

**Tabela 2:** Correlações de Spearman, realizadas através da correlação dos biomarcadores  $\alpha$ -GST e Hp, séricos e urinários, com os níveis de creatinina sérica (Cr) T5, taxa de filtração glomerular (TFG) T5,  $\Delta$ (T0-T5) da creatinina sérica e entre si. T0, basal; T5, após 5 anos de follow-up;  $\Delta$  (T5-T0), diferença entre valores após 5 anos de follow-up e os valores basais. \*A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades). \*\* A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).