

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

**APORTUL BIOMARKERILOR URINARI ÎN DIAGNOSTICUL ȘI
TRATAMENTUL PRECOCE AL GLOMERULONEFRITELOR
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. PENESCU MIRCEA**

**Student-doctorand:
Stăncescu Madalina-Gabriela**

2024

Cuprins

Introducere	1
Partea generală	3
1. Biomarkerii urinari - generalități.....	3
2. Imunitatea în glomerulonefrite	8
2.1 Răspunsul imun inflamator	9
2.1.1 Neutrofilele	10
2.1.2 Monocitele/Macrofagele	11
2.1.3 Macrofagele M2 CD 163 +	14
2.1.4 Limfocitele T	15
2.1.5 Celulele endoteliale	16
2.1.6 Celulele mezangiale	16
2.1.7 Celulele epiteliale parietale	17
2.1.8 Celulele mezangiale	18
2.2 Răspunsul imun non-inflamator.....	18
3. Biomarkerii urinari în glomerulonefrite	22
3.1 Chemokine	22
3.1.1 Monocyte chemotactic protein -1 (MCP-1)	23
3.1.2 Expresia MCP-1 în glomerulonefrite	27
3.2 CD 163 solubil urinar.....	31
3.3 Neutrophil Gelatinase -associated Lipocalin (NGAL)	37
Partea specială.....	42
4. Ipoteza de lucru și obiective generale.....	42
4.1 Ipoteza de lucru.....	42
4.2 Obiective generale	43
5. Metodologia generală a cercetării	45
6. Studiul 1: Rolul MCP-1 urinar în diagnosticul și tratamentul precoce al glomerulonefritelor	48

7. Studiul 2: Rolul CD 163 solubil urinar în diagnosticul și tratamentul precoce al glomerulonefritelor	58
8. Studiul 3: Rolul NGAL urinar în diagnosticul și tratamentul precoce al glomerulonefritelor	67
9. Concluzii și contribuții speciale	77
9.1 Concluzii.....	77
9.2 Contribuții speciale	85
10. Bibliografie	87

Lista cu lucrarile științifice publicate

1. **Mădălina Stăncescu**, Mircea Penescu NGAL- Urinary Biomarker with pathological significance in nephrology practice Internal Medicine April 2019 16(2):7-18 16 (2):7-18 DOI:10.2478/inmed-2019-0056

https://www.researchgate.net/publication/334562384_NGAL_-_Urinary_Biomarker_With_Pathologic_Significance_in_Nephrology_Practice

- Capitolul 3, subcapitolul 3.3

2. **Madalina Stăncescu**, Mircea Penescu Monocyte Chemoattractant Protein 1's Role in Glomerular Pathology. Am J Biomed Sci & Res. 2023 18(3) AJBSR.MS.ID.002473, DOI: 10.34297/AJBSR.2023.18.002473 Received: March 2, 2023; Published: April 06, 2023

<https://biomedgrid.com/pdf/AJBSR.MS.ID.002473.pdf>

- Capitolul 2, subcapitolul

- Capitolul 3, subcapitolul 3.1.2

3. **Madalina Stăncescu**, Ioana Manea, Liliana Viașu and Mircea Penescu. The Role of Monocyte Chemoattractant Protein 1 in the Diagnosis of Glomerular Pathology – A Retrospective Study. Am J Biomed Sci & Res. 2024 23(5) AJBSR.MS.ID.003127, DOI: 10.34297/ AJBSR.2024.23.003127 Received: August 14, 2024; Published: August 21, 2024

<https://biomedgrid.com/pdf/AJBSR.MS.ID.003126.pdf>

- Capitolul 3, subcapitolul 3.1.2

- Capitolul 6

Introducere

Glomerulopatiile sunt afecțiuni anatomico-clinice care afectează în principal corpusculii renali, cu afectarea tubilor, vaselor și interstițiului în plan secundar. Incidența glomerulonefritelor primitive este estimată la 57 de cazuri la 100.000 de locuitori în SUA, cu o mortalitate de 2,7 ori mai mare decât în populația generală.[1] Deși relativ rare, glomerulonefritele sunt a treia cauză de boală cronică de rinichi (BCR) în SUA.[2] Termenul de glomerulopatii include diverse afecțiuni cu evoluție diferită și tratamente specifice. În prezent, biopsia renală este standardul de aur pentru diagnosticul glomerulonefritelor. Principalii factori de prognostic includ indicii de cronicitate la biopsie, valoarea creatininei la debut și răspunsul la tratament. Identificarea de noi metode de diagnostic și factori de prognostic, inclusiv biomarkerii urinari, este o direcție importantă de cercetare, având potențialul de a facilita diagnosticul precoce și stabilirea prognosticului în glomerulopatii.

Partea generală

1. Biomarkeri urinari- generalități

În 1998, Grupul de Lucru al Institutelor Naționale de Sănătate (NIH) a definit biomarkerii ca fiind caracteristici obiectiv măsurabile și evaluate ca indicii ai unor procese fiziologice, patologice sau răspunsuri la intervenții terapeutice. Aceștia sunt utilizați pentru screening, diagnostic, monitorizare și evaluarea răspunsului la tratament.[1] Descoperirea unui biomarker nou implică etape precum descoperirea, calificarea, verificarea, optimizarea tehnicilor de laborator, validarea clinică și comercializarea.[3] Utilizarea biomarkerilor urinari are o istorie îndelungată, cu primele atestări ce datează dinainte de era noastră. În prezent, albuminuria este unul dintre cei mai frecvent folosiți biomarkeri urinari, indicând disfuncții endoteliale în boli cardiovasculare, nefropatie diabetică și glomerulonefrite.

Inspirându-se de la succesul troponinei în diagnosticul precoce al sindromului coronarian acut, cercetătorii își propun identificarea unui biomarker urinar specific pentru injuria renală acută

(IRA), având în vedere ratele ridicate de morbiditate și mortalitate asociate acestei afecțiuni. Diagnosticul se bazează în continuare pe creșterea creatininei serice, iar tratamentul, adesea tardiv, se axează pe susținerea funcțiilor vitale, ceea ce contribuie la ratele ridicate de morbiditate și mortalitate asociate IRA. Creatinina serică, utilizată pentru calcularea ratei de filtrare glomerulară, nu este un biomarker ideal, deoarece nivelul său poate fi influențat de factori precum vârsta, sexul, masa musculară, dieta, medicamentele și statusul de hidratare. În IAR, creșterea creatininei serice apare de obicei tardiv, după distrugerea a mai mult de 50% dintre nefroni, și nu diferențiază între tipurile de afectare renală. Astfel, identificarea timpurie a IAR înainte de dezvoltarea azotemiei este esențială pentru reducerea morbidității și mortalității.

1. Să fie relevanți pentru modificările histopatologice ale afecțiunii pentru care sunt cercetați
2. Sensibilitate crescută
3. Specificitate crescută
4. Non-invazivi
5. Să poată fi generalizați – indiferent de rasă, sex, regiune geografică
6. Determinare ușoară în urină sau sânge
7. Rapid de măsurat
8. Cost scazut
9. Cresc rapid ca răspuns la injuria renală
10. Să identifice localizarea primară a injuriei (tub proximal, tub distal, interstițiu sau vas)
11. Să discrimineze între afectarea acută sau cronică (AKI, BCR sau BCR acutizată)
12. Sa identifice cauza (sepsis, toxica, ischemica, boala cardiovasculară, nefropatie diabetică, lupus, factori combinați)
13. Să diferentieze subtipurile de injurie renală (prerenal, intrinsec renală sau obstructivă post-renală)
14. Rol în stratificarea riscului
15. Rol în estimarea prognosticului (estimarea necesarului de dializă, durata spitalizării, mortalitate)
16. Monitorizarea răspunsului la tratament
17. Este stabil în timp indiferent de condițiile de temperatură și Ph

Tabel 1.1 Caracteristicile biomarkerilor urinari ideali în IAR și BCR

2. Imunitatea în glomerulonefrite

Glomerulonefritele (GN) sunt boli renale mediate imun, caracterizate de un dezechilibru între factorii pro-inflamatori și cei protectori. De obicei, etiologia GN este necunoscută, cu excepția celor induse de infecții, medicamente sau neoplazii. În 2013, GN a fost a noua cauză de deces în SUA, conform Center for Disease Control and Prevention.[6] Afectarea glomerulară este complexă, rezultând din interacțiunea factorilor genetici și de mediu, iar răspunsul imun inadecvat provoacă manifestări patologice. [7,8] Indiferent de cauza de bază, injuria glomerulară activează o cale profibrotică comună, care duce la atrofie tubulară, fibroză interstițială și pierderea masei nefronale. Răspunsul imun implică mecanisme imune umorale și celulare, cu formarea de complexe imune ce conțin imunoglobuline și componente ale complementului, care se depun la nivel glomerular sau se formează local în prezența antigenului responsabil. Antigenele pot fi constituenți ai glomerulului, proveni din circulația sistemică sau pot fi antigene exogene sechestrate la nivel renal.

2.1. Răspunsul imun inflamator

Expresia clinică a răspunsului imun inflamator în glomerulonefrite se manifestă prin hematurie dismorfă, proteinurie și scăderea ratei de filtrare glomerulară. Principalele glomerulonefrite inflamatorii includ nefropatia cu IgA, nefrita lupică, GN asociate infecțiilor, vasculitele ANCA pozitive și GN membranoproliferative. Depunerea complexelor imune la nivel subendotelial, mezangial sau pe membrana bazală glomerulară declanșează răspunsul imun inflamator. Excepții sunt vasculitele ANCA pozitive și glomerulopatia cu C3, unde răspunsul imun apare fără depunerea anticorpilor. Aceste procese duc la recrutarea celulelor proinflamatorii și la injuria renală.[9]

Principalele celule implicate în răspunsul imun inflamator în glomerulonefrite sunt: neutrofilele, monocitele/macrofagele, limfocitele T, trombocitele, și celulele rezidente renale (celulele endoteliale, celulele mezangiale, celulele parietale epiteliale).

Neutrofilele joacă un rol esențial în patogenia glomerulonefritelor, fiind prezente precoce în biopsiile renale ale pacienților cu GN poststreptococică, GNMP, nefropatie cu IgA, nefrită lupică și unele forme de GNRP. La nivel glomerular, neutrofilele interacționează cu celulele endoteliale și devin active, eliberând specii reactive de oxigen și activând complementul, ceea ce amplifică inflamația și distruge peretele capilar. În formele severe de GN, cum sunt vasculitele ANCA pozitive, neutrofilele generează "capcane" extracelulare care provoacă necroze vasculare. [8]

Recrutarea monocitelor la nivel renal se produce prin interacțiunea cu imunoglobulinele depuse sau cu chemokine precum MCP-1, MIP-1-alfa, RANTES și MMP-9. Interacțiunea dintre MCP-1 și macrofage a fost intens studiată, fiind considerată de o deosebită importanță pentru diagnosticul precoce și ghidarea tratamentului în glomerulonefrite.

Macrofagele sunt implicate atât în răspunsul imun umoral, cât și în cel celular, fiind principalele celule inflamatorii stimulate de limfocitele T în absența anticorpilor. Ele produc specii reactive de oxigen, enzime proteolitice și factori de creștere tisulari care stimulează formarea semilunelor și procesele de fibrogenză, contribuind la glomeruloscleroză.[8] Implicarea macrofagelor în formarea semilunelor, asociate cu severitatea bolii și un prognostic prost, este crucială. Într-un model experimental de boală Goodpasture, macrofagele reprezentau o proporție semnificativă din celulele constitutive ale semilunelor, provenind din interstițiul periglomerular prin ruptura capsulei Bowman. [10,11] Macrofagele contribuie și ele la întreținerea inflamației și proliferarea semilunelor prin eliberarea de factori de creștere, IL-1, TNF și TGF-beta. TGF-beta joacă un rol crucial în activitatea și cronicizarea bolii, favorizând tranziția semilunelor celulare în semilune fibrocelulare și fibroase.

Macrofagele CD 163 +, o subclasa a macrofagelor, principalele celule producătoare de CD 163 sunt implicate, de asemenea, în procesele inflamatorii responsabile de apariția glomerulonefritelor, prezența lor fiind descrisă în principal la nivelul leziunilor de necroză fibrinoidă și semilune. [12,13]

2.2. Răspunsul imuno noninflamator

Mecanismele imune non-inflamatorii se manifestă prin sindrom nefrotic pur, fără hematurie sau cilindri hematici. Principalele cauze includ nefropatia membranoasă, nefropatia cu leziuni

minime și glomeruloscleroza focală și segmentară, denumite podocitopatii. În aceste afecțiuni, leziunea primară afectează podocitele, crescând permeabilitatea glomerulară. Mecanismele imune implicate determină disfuncție podocitară fără a provoca inflamație, fiind frecvent asociate cu factori derivați din limfocitele T, agenți vasoactivi, complexul de atac al membranei și citokine precum IL-13 și CLC-1.[8]

În nefropatia cu leziuni minime (NLGM), moleculele CD80 și ANGPTL-4 joacă un rol crucial. CD80, activată de antigene bacteriene sau virale, perturbă structura podocitelor, ducând la proteinurie. ANGPTL-4, o glicoproteină produsă în exces de podocite, crește permeabilitatea glomerulară și induce proteinuria.[8,14] În glomeruloscleroza focală și segmentară (GSFS), factori precum CLC-1 și suPAR sunt implicați în patogeniza bolii, deși rolul suPAR rămâne controversat. [8,14] În nefropatia membranoasă (NM), răspunsul imun este declanșat de autoanticorpi care se leagă de antigene podocitare, activând complementul și provocând leziuni podocitare. Principalii auto-anticorpi identificați sunt cei îndreptați împotriva receptorului de fosfolipază A2 și cei îndreptați împotriva trombospodinei. Activarea complexului de atac al membranei (C5b-9) la nivelul podocitelor contribuie la apariția proteinuriei prin stimularea producției de proteaze și citokine, reorganizarea citoscheletului și apoptoza podocitelor. Măsurarea nivelului urinar de C5b-9 sau excreția de podocite ar putea fi utilă în diagnosticarea și monitorizarea tratamentului în NM.[15,16,17]

3. Biomarkeri urinari în glomerulonefrite

3.1. Monocyte chemotactic protein 1

Cea mai celebra chemokina este poate MCP-1. Ea este formată din 76 de aminoacizi, are o greutate moleculară de ~ 13 kDa și deriva dintr-un precursor de 99 aminoacizi prin clivaj proteolitic. MCP-1 este produsă la nivelul mai multor celule: endoteliale, fibroblaste, musculare netede, mezangiale, monocite/macrofage. Acestea din urmă reprezintă sursa majoră de MCP-1.[18] Principalii stimuli ai producției de MCP-1 sunt: citokine proinflamatorii (IL-1, IL-4, TNF- α , IFN- γ), factori de creștere (*macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF), *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), PDGF, VEGF), lipopolizaharide, specii

reactive de oxigen, molecule oxidate de LDL si complexe imune. In inhibarea expresiei MCP-1 au un rol important TGF- β , acidul retinoic, glucocorticoizii si estrogenul.

Expresia urinară a MCP-1 a fost intens studiată la pacienții cu vasculită renală, o categorie de afecțiuni cu prognostic renal și vital rezervat. Studiile experimentale de la sfârșitul secolului 20 au arătat că nivelurile urinare de MCP-1 se corelează cu infiltratul macrofagic la nivelul glomerulilor. [19] În vasculitele ANCA pozitive, factorii principali de prognostic vital includ afectarea organelor țintă și nivelurile crescute de ANCA seric, în timp ce pentru prognosticul renal, necesitatea dializei la diagnostic, răspunsul la terapia de inducție și frecvența recidivelor sunt factori cruciali. Modificarile histopatologice cu valoare prognostica sunt: fibroza interstitiala si glomeruloscleroza, dar rezultatele studiilor sunt in continuare controversate.

Studiile recente se concentrează pe valoarea diagnostică și prognostică a MCP-1 urinar. Cercetările au arătat că nivelurile crescute de MCP-1 urinar la pacienții cu vasculită renală activă se corelează cu titrul ANCA și scorul BVAS, dar nu și cu proteinuria. MCP-1 urinar a fost identificat ca un marker de prognostic nefavorabil, posibil reflectând inflamația subclinică de lungă durată sau afectarea tubulo-interstițială. [20]

Nefropatia cu IgA este cea mai frecventă glomerulopatie, cu o evoluție variabilă, de la forme ușoare la insuficiență renală cronică, afectând 25-40% dintre pacienți. Factorii principali de prognostic includ proteinuria, tensiunea arterială și creatinina serică. Scorul MEST-Oxford, bazat pe modificări histopatologice, oferă informații prognostice suplimentare. Depunerea mesangială de C4d este un factor de risc pentru progresia bolii renale. Excreția urinară de MCP-1 la pacienții cu nefropatie IgA se corelează cu fibroza interstițială și scleroza glomerulară, fiind un marker potențial al inflamației tubulo-interstițiale și al severității bolii.[21]

MCP-1 este produs în principal de celulele tubulare epiteliale și interstițiale in cazul pacienților cu nefropatie cu IgA, iar proteinuria joacă un rol crucial în progresia bolii renale. MCP-1 este crescut în nefropatia cu IgA și diabetică, fiind legat de proteinurie și infiltratul inflamator tubulo-interstițial.[22] Totuși, studiile necesită mai multe corelări cu biopsii renale și includerea unui număr mai mare de pacienți.

Rezultate similar s-au obținut și în studiile realizate la pacienții cu nefropatie membranoasă. Intr-un studiu publicat in 2004, efectuat pe 30 de pacienti cu nefropatie membranoasă cu puncție biopsie renală, *Yoshimoto și col.* au arătat că infiltratul inflamator interstițial cu macrofage CD68 pozitive pe PBR la momentul diagnosticului se asociază cu evoluția spre boală renală în stadiu

final. Macrofagele CD68-pozitiv interstițiale exprimă MCP-1. Similar cu studiile efectuate pe pacienți cu nefropatie cu IgA și proteinurie, expresia interstițială a MCP-1 se asociază cu progresia leziunilor tubulo-interstițiale și cu evoluția nefavorabilă. În plus, studiul susține ca celulele ce exprimă receptorul CCR-2, principalul receptor pentru MCP-1 se regăsesc în interstițiul renal concomitent cu expresia MCP-1, receptorul CCR-2 este un factor de risc independent pentru progresia spre boală renală în stadiu final.[23]

3.2. CD 163 solubil urinar

CD163 reprezintă o proteină transmembranară tip I cu greutatea moleculară de 130 kDa situată la nivelul macrofagelor M2c responsabile de procesele reparatorii ale inflamației. Face parte din superfamilia receptorilor *scavenger* tip B cu conținut crescut de cisteină, fiind responsabil de interacțiunea cu complexe de hemoglobină-haptoglobină. [24] CD 163 se găsește doar la nivelul monocitelor-macrofagelor, în special la nivelul macrofagelor M2c. Expresia CD163 este stimulată de glucocorticoizi, IL-6, IL-10, hem/hemoglobină și stresul oxidativ, iar IL-4, lipopolizaharide, TNF-alfa și interferon γ , CXC-chemokine ligand 4 și *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* inhibă expresia receptorului CD163.[24,25]

Activitatea CD 163 solubil urinar a fost studiată în principal la pacienții cu vasculită ANCA pozitive și nefrită lupică, corelându-se cu leziunile de necroză fibrinoidă, și prezența semilunelor celulare, distingând cu acuratețe între pacienții cu activitate renală și cei aflați în remisiune. Astfel, CD 163 solubil urinar reprezintă un candidat serios pentru diagnosticul precoce al pacienților cu vasculită ANCA cu afectare renală.

Puține studii au urmărit rolul CD 163 solubil urinar la pacienții cu nefropatie cu IgA. Rezultatele au arătat corelații direct proporționale cu nivelul proteinuriei pe 24 ore și creatinina serică, și invers proporționale cu valoarea eRFG, hemoglobina și albumina serică. De asemenea, a fost analizată concentrația CD 163 solubil urinar în funcție de scorul MEST, pacienții cu hiper celularitate mesangială sau endocapilară, glomeruloscleroză sau leziuni tubulointerstițiale, dar și cei cu semilune în > 25% din glomeruli înregistrând concentrații crescute urinare de CD 163 solubil. Din păcate, creșterea CD 163 solubil urinar nu poate discerne între aceste modificări, fiind crescut și în leziuni acute și în cele cronice, dar studiul susține asocierea mai ales cu severitatea leziunilor tubulo-interstițiale.[26]

3.3. Neutrofil gelatinase-associated lipocalin urinară

NGAL reprezintă o proteină cu greutate moleculară de 25 kDa, ce face parte din familia lipocalinelor. Mai este cunoscută sub numele de lipocalina 2 sau siderocalină.

NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin) apare în urină prin două căi. Mai întâi, NGAL din sânge este filtrată la nivel glomerular și apoi reabsorbită prin endocitoză în tubulii proximali, făcând ca NGAL-ul urinar să fie mai puțin influențat de sinteza extrarenală. NGAL plasmatică este produsă în alte organe (plămâni, ficat), neutrofile și macrofage circulante în condiții de stimulare specifică, ceea ce îi reduce capacitatea predictivă pentru afecțiuni renale comparativ cu NGAL-ul urinar. În prezența unei leziuni tubulare, gena NGAL din celulele epiteliale tubulare este stimulată, ducând la o creștere a concentrației urinare de NGAL.[27]

La nivel renal, NGAL joacă un rol protector prin legarea fierului și transferul acestuia către celulele epiteliale tubulare proximale. De asemenea, NGAL este implicată în sistemul imunitar înăscut, inhibând creșterea bacteriană prin legarea complexului siderofore-fier, care este o sursă principală de fier la nivel renal. NGAL este, de asemenea, implicată în etapele inițiale de maturare a neutrofilelor.[28]

Deși NGAL pare să fie un biomarker esențial pentru diagnosticul precoce al IAR, există studii care susțin importanța sa și în diagnosticul și monitorizarea glomerulonefritelor. Nivelele medii ale NGAL urinar la pacienții cu GN înregistrează valori de 5 ori mai mari decât indivizii sănătoși și de 30 de ori mai scăzute decât la pacienții cu IAR. Prezența leziunilor tubulare asociate modificărilor glomerulare determină secreție de NGAL. Proteinuria are efecte toxice asupra celulelor tubulare epiteliale, stimulând secreția locală de NGAL.[29]

În vasculitele ANCA, NGAL este sintetizat atât la nivelul neutrofilelor și monocitelor, dar și la nivelul celulelor tubulare. În nefropatia membranoasă (NM), concentrația de NGAL urinar este mai mare la pacienții nefrotici comparativ cu cei cu proteinurie subnefrotică.[30] Rezultate similare sunt observate și în alte nefropatii glomerulare.

NGAL urinar este un marker util pentru detectarea timpurie a afectării tubulare și în nefropatia cu IgA. Deși nu există markeri de prognostic bine stabiliți pentru această boală, NGAL urinar poate umple acest gol. Studiile arată că NGAL urinar se corelează cu leziunile tubulo-

interstițiale precoce (stadiile II și III), dar nu reflectă afectările avansate. De exemplu, un studiu din 2007 a arătat că NGAL urinar este un indicator timpuriu, dar nu se corelează cu stadiile avansate ale afectării. [31]

Partea specială

4. Ipoteza de lucru și obiective generale

Glomerulopatiile sunt afecțiuni care afectează în principal corpusculii renali, având impact secundar asupra tubilor, vaselor și interstițiului. În SUA, glomerulonefritele primitive au o incidență de 57 cazuri la 100.000 de locuitori și sunt a treia cauză de boală cronică de rinichi (BCR).[2] Diagnosticul principal se face prin biopsie renală, dar există riscuri asociate. Cercetările recente indică biomarkerii urinari, precum MCP-1, CD 163 solubil și NGAL, ca fiind utili în diagnosticarea și monitorizarea glomerulonefritelor, având o valoare predictivă semnificativă. Studiul urmărește să evalueze rolul acestor biomarkeri, să coreleze valorile lor cu modificările histopatologice, parametrii clinici și linia terapeutică aleasă și să dezvolte un protocol de diagnostic și tratament personalizat bazat pe acești biomarkeri.

5. Metodologia generală a cercetării

Pacienți

Am condus un studiu retrospectiv observațional unicentric pe un grup de 70 de voluntari împărțiți în 3 loturi: lotul A – 42 de pacienți cu patologie glomerulară (nefropatie cu IgA, glomerulonefrită pauciimună, glomerulonefrită membranoproliferativă, nefropatie glomerulară cu leziuni minime, nefropatie membranoasă, glomeruloscleroză focală și segmentară); lotul B- 8 pacienți cu afectare renală de tip nefropatie hipertensivă/boala membranelor bazale subțiri și lotul C – lotul control ce conține 20 de voluntari sănătoși . Pacienții au fost internați în perioada 2018-

2024 în Spitalul Clinic de Nefrologie “Dr Carol Davila”, București, România. Înrolarea pacienților s-a realizat după semnarea formularului de consimțământ informat, iar toate procedurile de studiu s-au desfășurat respectând principiile declarației de la Helsinki. Studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Spitalului Clinic de Nefrologie Dr Carol Davila.

Datele clinice și paraclinice colectate la momentul includerii în studiu au fost obținute din documentele referitoare la istoricul medical al pacienților (bilete de ieșire anterioare, analize medicale, consulturi în ambulatoriul de specialitate etc), foile de observație din perioada internării.

Toti pacientii au efectuat puncție biopsie renală ca metoda de diagnostic. S-au recoltat probe de urină sterilă în dimineața efectuării biopsiei renale, din jetul mijlociu în recipiente sterile. Probele au fost centrifugate și depozitate la -20 grade până au fost prelucrate.

Criterii de includere:

- Pacienți cu diagnostic de glomerulonefrită la rezultatul puncției-biopsie renală.
- Date clinice și de laborator complete
- Varsta > 18 ani

Criterii de excludere:

- Pacienți cu date clinice sau de laborator incomplete
- Pacienți cu următoarele diagnostice histopatologice: nefropatie diabetică, amiloidoză renală, nefropatie cu cilindri, nefrită lupică.
- Pacienți cu uroculturi pozitive (prezența bacteriilor în urină modifică concentrațiile MCP-1 urinar)

Puncția biopsie renală

Puncția biopsie renală s-a realizat cu anestezie locală și ghidaj ecografic, după obținerea consimțământului informat al pacientului, fiind necesară pentru diagnosticul patologiei pacientului. Probele obținute au fost examinate la microscopie optică, microscopie electronică și în imunofluorescență pentru detectarea următorilor reactanți: albumină, IgA, IgG, IgM, C1q, C3c, lanțuri kappa și lambda ușoare.

Următoarele date histopatologice au fost colectate după interpretarea biopsiilor: data efectuării biopsiei, rezultatul histopatologic, numărul glomerulilor afectați, procentul de glomeruli

cu scleroză, procentul atrofiei tubulare și fibrozei interstițiale, prezența semilunelor, prezența proliferării endocapilare.

Prelucrarea probelor de urină

S-au recoltat probe de urină sterilă în dimineața efectuării biopsiei renale, din jetul mijlociu în recipiente sterile. Probele au fost centrifugate și depozitate de -20 grade până au fost prelucrate. Am lucrat biomarkerii urinari (MCP-1, CD 163 solubil urinar, NGAL urinar) din aceleași probe urinare folosind teste Elisa (Quantikinine R&D Systems Minneapolis, USA).

Analiza statistică:

- Statisticile descriptive vor fi utilizate pentru a rezuma datele.
- Două medii au fost comparate folosind testul t pentru date independente.
- Corelațiile între nivelurile urinare de MCP-1 și parametrii clinici/istorici vor fi analizate utilizând coeficienții de corelație Pearson sau Spearman, în funcție de distribuția datelor.
- Se va efectua o analiză de regresie liniară multiplă pentru a identifica capacitatea MCP-1, CD 163 solubil și NGAL urinari în prezicerea rezultatului histopatologic.
- Semnificația statistică va fi stabilită la $p < 0,05$

6. Studiul 1: Rolul MCP-1 în diagnosticul și tratamentul precoce al glomerulonefritelor

Prelucrarea probelor pentru determinarea concentrației urinare a MCP-1

Probele de urină au fost prelucrate cu teste ELISA conform indicațiilor producătorului (Quantikinine R&D Systems Minneapolis, USA).

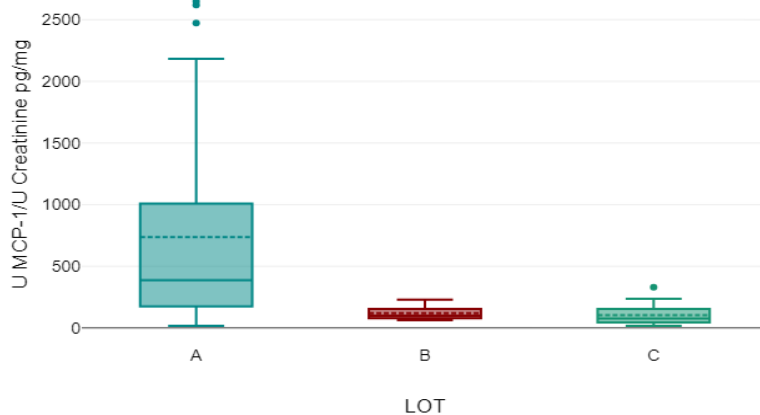


Fig. 6.1 Concentrația medie de MCP-1 urinar normalizat la creatinina urinară între cele 3 loturi de pacienți

Analiza statistică a arătat o diferență semnificativă statistic în ceea ce privește concentrația de MCP-1 urinar în cele 3 loturi de pacienți. Pacienții din lotul A au înregistrat o concentrație medie de 736.28 ± 775.4 pg/mg creatinină, semnificativ mai mare comparativ cu pacienții din lotul B (119.2 ± 58.13 pg/mg creatinină) și cu pacienții din lotul C (104.24 ± 85.18 pg/g creatinină), $p < 0.001$.

	n	MCP-1(pg/mg creatinină)	Deviație standard
NGLM	9	827.31	943.77
nefropatie cu IgA	15	617.54	742.65
nefropatie membranoasă	10	792.4	931.68
GN pauciimună	4	1118.43	368.66
GN membranoproliferativă	3	493.94	415.66

GSFS		1	335.34	NaN
nefropatie membrane bazale subțiri	cu	6	120.59	60.83
nefropatie hipertensivă		2	115.04	71.45
control		20	104.24	85.18
Total		70	485.17	674.96

Tabel 6.1 Distribuția pacienților după rezultatul biopsiei renale și valoarea medie a MCP-1 urinar

Valoarea medie a concentrației urinare a MCP-1 a fost mai mare la pacienții care au prezentat semilune pe biopsie comparativ cu cei fără semilune (878.59 ± 413.49 , față de 513.24 ± 695.93) dar diferența nu a fost semnificativă statistic, $p=0.121$. Concentrația urinară a MCP-1 pare a fi asociată cu severitatea infiltratului inflamator interstițial, acest lucru fiind semnificativ statistic. Pacienții fără infiltrat inflamator au niveluri mult mai mici de MCP-1 urinar. Alte modificări histopatologice (proliferare endocapilară și mezangială) nu prezintă asocieri semnificative statistic cu nivelurile de MCP-1 urinar.

Tratamentul inițial al pacienților din lotul A a fost următorul (tratamentul a fost administrat anterior rezultatului PBR):

			Număr pacienți	U MCP-1/U creatinină pg/mg	Valoare p
Corticoterapie	da		32	874.09 ± 803.73 pg/mg	P=0.038
	nu		10	295.3 ± 479.96 pg/mg	
Ciclofosfamidă	da		14	803.33 ± 881.09 pg/mg	P=0.7
	nu		18	888.03 ± 613.72 pg/mg	

Tabel 6.2 Valoare medie a MCP-1 urinar la pacienții din lotul A în funcție de tratamentul urmat

7. Studiul 2: Rolul CD163 solubil urinar în diagnosticul și tratamentul precoce al pacienților cu glomerulonefrite

Prelucrarea probelor pentru CD163 solubil urinar

Pentru determinarea concentrației CD 613 solubil urinar am folosit teste ELISA (Quantikinine R&D Systems Minneapolis, USA). Kitul nu a fost validat pentru probele urinare, dar kituri similare de la același producător au mai fost folosite în alte studii clinice, dar cu diluții diferite ale probelor. Am diluat probele de urină 1:2, apoi am continuat conform indicațiilor producătorului.

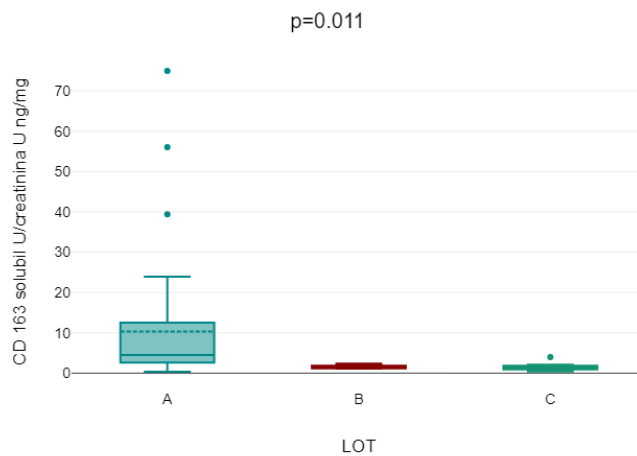


Fig. 7.1 Concentrația medie a CD 163 solubil urinar normalizat la creatinină la pacienții din cele 3 loturi de pacienți

Analiza statistică a arătat o diferență semnificativă statistic în ceea ce privește concentrația de CD 163 solubil urinar în cele 3 loturi de pacienți. Pacienții din lotul A au înregistrat o concentrație medie de CD 163 solubil urinar/creatinină urinară de 10.36 ± 14.89 ng/mg creatinină, semnificativ mai mare comparativ cu pacienții din lotul B (1.61 ± 0.45 ng/mg creatinina) și cu pacienții din lotul C (1.47 ± 0.79 ng/mg creatinină), $p=0.01$.

	Frecventa	CD 163 solubil urinar/creatinină ng/mg	Deviație standard
CD 163 solubil urinar/creatinină urinară ng/mg	20	1.47	0.79
nefropatie cu IgA	15	4.2	4.14
nefropatie membranoasă	10	16.56	18.11
NGLM	9	8.83	6.32
nefropatie cu membrane bazale subțiri	6	1.75	0.44
GN pauciimună	4	10.84	9.36
GN membranoproliferativă	3	26.45	42.02
nefropatie hipertensivă	2	1.19	0.07
GSFS	1	4.26	NaN

Tabel 7.1 Distribuția pacienților după rezultatul biopsiei renale și valoarea medie a CD 163 solubil urinar normalizat la creatinină

În sub-lotul de pacienți cu sindrom nefritic/sindrom nefritic-nefrotic (31 pacienți – 8 pacienți din lotul B, restul din lotul A) – concentrația urinară a CD 163 solubil urinar este mai mare la pacienții care prezintă semilune la rezultatul biopsiei renale (21.28 ± 27.34 ng/mg creatinină) comparativ cu pacienții fără semilune (2.9 ± 3.09 ng/mg creatinină), diferența fiind semnificativă statistic, $p=0.002$. Nivele urinare crescute de CD 163 solubil urinar s-au înregistrat la pacienții cu leziuni active de tip semilune și proliferare endocapilară (rezultate semnificative statistic). Leziunile de proliferare mezangială nu modifică nivelul urinar de CD 163 solubil, deci sursa

macrofagelor este mai degrabă din semilune sau proliferarea endocapilară. Severitatea infiltratului inflamator interstițial nu se corelează cu nivelul de CD 163 solubil urinar, dar absența lui se asociază cu cele mai mici concentrații urinare, diferența nefiind semnificativă statistic.

		Numar pacienti	CD163 solubil urinar/U creatinine ng/mg	Valoare p
Corticoterapie	da	32	12.56 ± 16.47pg/mg	P=0.087
	nu	10	3.32 ± 2.14 pg/mg	
Ciclofosfamida	da	14	14.56 ± 20.22 pg/mg	P=0.17
	nu	18	7.29 ± 6.44 pg/mg	

Tabel 7.3 Concentrația CD 163 solubil urinar normalizată la creatinina urinară în funcție de tratamentul de inducție

8. Studiul 3: Rolul NGAL urinar in diagnosticul si tratamentul precoce al pacientilor cu glomerulonefrite

Prelucrarea probelor pentru NGAL

Probele de urină au fost prelucrate cu teste ELISA conform indicațiilor producătorului (Quantikinine R&D Systems Minneapolis, USA).

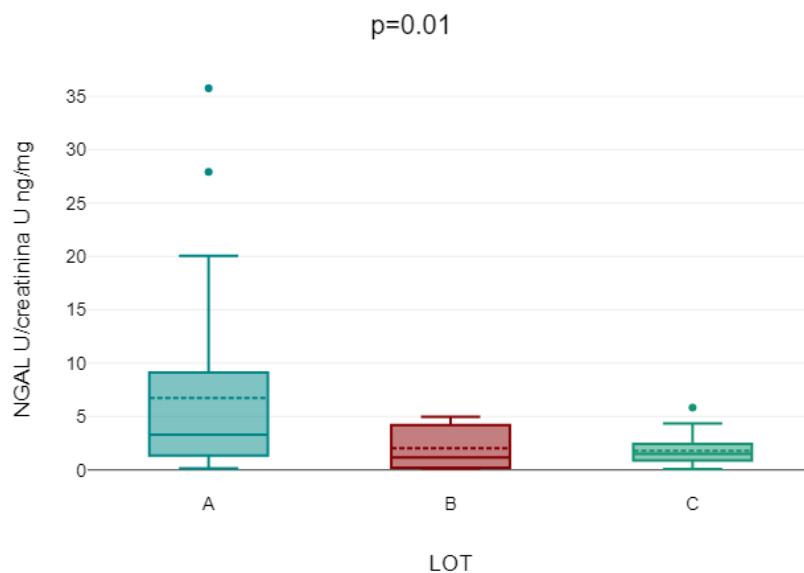


Fig 8.1 Valoarea medie a NGAL urinar normalizat la creatinină la pacienții din cele 3 loturi

Analiza statistică a arătat valori mai mari ale NGAL urinar la pacienții din lotul A comparativ cu pacienții din lotul B sau cei din lotul C (6.73 ± 8.02 ng/mg creatinină fata de 2.05 ± 2.1 ng/mg creatinină, respectiv 1.8 ± 1.5 ng/mg creatinină), $p=0.01$.

	Frecvența	NGAL urinar/creatinină urinară ng/mg	Deviație standard
control	20	1.8	1.5
nefropatie cu IgA	15	4.12	3.61
nefropatie membranoasă	10	8.58	11.3
NGLM	9	7.96	9.5
Nefropatie cu membrane bazale subțiri	6	2.46	2.28
GN pauciimună	4	7.47	8.74

Tabel 8.1 Distribuția pacienților după rezultatul biopsiei renale și valoarea medie a NGAL urinar

GN membranoproliferativă	3	6.45	8.65
nefropatie hipertensivă	2	0.81	0.95
GSFS	1	14.1	NaN

Valorile cele mai ridicate ale NGAL urinar le înregistrează nefropatiile care evoluează cu sindrom nefrotic (nefropatie membranoasă, NGLM, GSFS). Dintre patologiile care evoluează cu sindrom nefritic GN pauciimună și GN membranoproliferative au prezentat cele mai mari valori.

In sub-lotul de pacienți cu sindrom nefritic/sindrom nefritic-nefrotic (31 pacienți – 8 pacienți din lotul B, restul din lotul A) – concentrația urinară a NGAL urinar este mai mare la pacienții care prezintă semilune la rezultatul biopsiei renale (8.56 ± 8.55 ng/mg creatinină) comparativ cu pacienții fără semilune (3.1 ± 2.78 ng/mg creatinină), diferența semnificativă statistic, $p < 0.01$ precum și la cei cu proliferare endocapilară (8.43 ± 8.23 ng/mg creatinină față de 3.13 ± 3.03 ng/mg creatinină), $p = 0.013$. Prezența infiltratului inflamator interstițial important se corelează cu cele mai mari valori ale NGAL urinar.

Deși pacienții care au primit corticoterapie la diagnostic (până la primirea rezultatului PBR) au valori mai mari decât cei netratați, diferența nu este una semnificativă statistic.

		Numar pacienți	NGAL urinar/creatinină urinară ng/mg	Valoare p
Corticoterapie	da	32	7.73 ± 8.88 ng/mg	P=0.149
	nu	10	3.52 ± 2.58 ng/mg	
	da	14	7.12 ± 10.28 ng/mg	

Tabel 8.3 Valorile medii ale NGAL urinar normalizat la creatinină urinară în funcție de tratamentul initial la pacienții din lotul A

9. Concluzii și contribuții speciale

9.1 Concluzii

Cercetările conduse până acum au încercat să găsească corelații diagnostice și prognostice între diferiți biomarkeri urinari și diferite tipuri de glomerulonefrite.

Studiul a cuprins o gama largă de patologii renale: patologii asociate cu sindrom nefritic (GN pauciiimună, GN membranoproliferative, nefropatia cu IgA), patologii asociate cu sindrom nefrotic (NGLM, nefropatie membranoasă, GSFS) – lotul A de pacienți, patologii renale cronice care evoluează lent și nu necesită tratament imunosupresor (boala membranelor bazale subțiri, nefropatie hipertensivă) – lotul B.

Studiul de față a avut ca principale obiective corelarea concentrațiilor urinare pentru MCP-1, CD 163 solubil urinar și NGAL și diferitele tipuri de glomerulonefrite, dar și cu severitatea leziunilor active/cronice decelate la punctia biopsie-renală. Am încercat să găsim corelații cu următoarele tipuri de leziuni active: prezența semilunelor, prezența proliferării endoteliale, a proliferării mezangiale și a infiltratului inflamator interstițial, dar și cu scorul de cronicitate calculat pe baza severității glomerulosclerozei și a atrofiei tubulare/fibrozei interstițiale. Dintre parametrii clinici, am urmărit corelațiile cu valoarea creatininei, valoarea proteinuriei și prezența/absența sindromului nefrotic la debut. În literatura de specialitate nu există valori cut-off pentru MCP-1 și CD 163 solubil urinar, unele studii încercând să stabilească independent valori cut-off potrivite pentru fiecare biomarker.

Pacienții din lotul de studiu A au înregistrat valori crescute pentru toți cei trei biomarkeri urinari comparativ cu pacienții din lotul B sau grupul control, obținând valori semnificative statistic. Deși ne așteptam la valori crescute la pacienții din lotul control, rezultatele studiului au arătat valori similare în ceea ce privește concentrația urinară a celor 3 biomarkeri între lotul B de pacienți și lotul control, astfel: MCP-1 (119.2 ± 58.13 pg/mg creatinină față de 104.24 ± 85.18 pg/g creatinină), CD 163 solubil urinar (1.61 ± 0.45 ng/mg creatinină față de 1.47 ± 0.79 pg/mg creatinină) și NGAL (2.05 ± 2.1 ng/mg creatinină, față de 1.8 ± 1.5 ng/mg creatinină). Acest aspect ar putea indica utilitatea biomarkerilor în diferențierea pacienților la care se impune efectuarea biopsiei renale, în special la categoriile de pacienți aflați la risc (pacienți cu rinichi unic chirurgical, pacienți cu risc crescut de sângerare, etc).

Studiul nostru confirmă cercetările anterioare care au arătat niveluri ridicate de MCP-1 urinar la pacienții cu vasculită renală activă. Deși cele mai mari niveluri au fost observate la pacienții cu glomerulonefrită pauci-imună, diferențele nu au fost statistic semnificative. La pacienții cu semilune renale, MCP-1 urinar a fost mai ridicat, dar fără semnificație statistică, similar rezultatelor lui Takashi Wada.[32] Spre deosebire de studiile anterioare, pacienții cu sindrom nefrotic din studiul nostru au avut niveluri crescute de MCP-1 urinar, sugerând că sursa ar putea fi celulele tubulare epiteliale afectate de proteinuria crescută. Totuși, sunt necesare studii suplimentare pentru a confirma aceste constatări.

Concentrațiile urinare de MCP-1 s-au asociat cu severitatea infiltratului inflamator interstitial descris pe biopsie la pacienții incluși în studiul nostru. În concordanță cu cercetările anterioare, MCP-1 este produs de macrofagele infiltrative în leziunile renale și de celulele rezidente renale (celule tubulare epiteliale, celule parietale), dar nu poate diferenția între diversele tipuri de leziuni renale. Proteinuria, un factor important în progresia bolilor renale, poate induce producția de MCP-1 la nivelul celulelor tubulare epiteliale, explicând valorile crescute ale MCP-1 urinar la pacienții cu sindrom nefrotic incluși în studiu, care nu prezentau nici leziuni active, nici scoruri de cronicitate crescute. Studiile susțin că MCP-1 ar putea fi un marker timpuriu al leziunilor tubulare, asociat cu sindromul nefrotic, și că proteinuria în sine stimulează sinteza MCP-1, contribuind la progresia inflamației și leziunilor renale.

Studiul a arătat că pacienții cu glomerulonefrite care au avut niveluri ridicate de MCP-1 urinar au primit corticoterapie încă de la debut, înainte de confirmarea histopatologică, sugerând că MCP-1 urinar este asociat cu formele mai agresive de boală. Concentrațiile crescute de MCP-1 pot ajuta la identificarea pacienților care necesită biopsie renală și un tratament intensiv. Totuși, studiul nu a urmărit pacienții pe termen lung pentru a evalua valoarea prognostică a MCP-1 în răspunsul la tratament și progresia bolii renale.

Dacă sursa MCP-1 este la nivelul mai multor tipuri de celule (macrofage, tubulare epiteliale, mezangiale), CD 163 solubil este secretat doar la nivelul macrofagelor M2c. Studiile au arătat prezența macrofagelor M2c la nivelul leziunilor de necroză fibrinoidă mai ales, dar și la nivelul semilunelor celulare, sugerând implicarea acestora în patogeneza leziunilor glomerulare în cadrul vasculitelor ANCA pozitive.[33]

Rezultatele studiului au arătat concentrații urinare crescute de CD 163 în cazul pacienților cu semilune (21.28 ± 27.34 pg/mg creatinine față de 2.9 ± 3.09 , $p < 0.001$), dar și la cei cu leziuni

de proliferare endocapilară (18.63 ± 28.84 ng/mg creatinina față de 3.53 ± 3.76 ng/mg creatinine, $p=0.012$), infiltratul inflamator și proliferarea mezangială neinfluențând concentrația acestui biomarker, ceea ce susține concluziile studiului publicat de Lei Zhao și col. Spre deosebire de MCP-1 care este produs și la nivel interstitial, producerea CD-163 depinde de prezența macrofagelor M2c. [33]

Studiul a arătat că cele mai ridicate valori ale CD-163 solubil urinar au fost observate la pacienții cu nefropatie membranoproliferativă, nefropatie membranoasă și glomerulonefrită pauci-imună. Cu toate acestea, valorile au fost similare între diferitele tipuri de glomerulonefrite, sugerând că CD-163 solubil urinar poate să nu fie un biomarker distinctiv pentru aceste afecțiuni. CD 163 solubil urinar crescut la pacienții cu nefropatie membranoasă sugerează rolul macrofagelor M2c în patogenia acestei patologii. De asemenea, metodologia de măsurare și dimensiunea redusă a lotului de pacienți ar putea limita concluziile. Studiile viitoare pe grupuri mai mari și omogene, precum și investigarea altor biomarkeri, sunt necesare pentru a clarifica rolul CD-163 solubil urinar.

Concentrațiile urinare ale CD 163 solubil nu se corelează cu valoarea creatininei, a proteinuriei de la debut sau cu scorul de cronicitate calculat pe baza biopsiei, dar se corelează pozitiv cu prezența leziunilor active (proliferare endocapilară, semilune) – am obținut corelații semnificative statistice.

Pacienții cu niveluri ridicate de CD-163 solubil urinar au primit un tratament mai agresiv, inclusiv corticoterapie și ciclofosfamidă, chiar înainte de obținerea rezultatelor histopatologice., deși diferențele nu au fost semnificative statistice. Valorile crescute ale CD-163 și MCP-1 urinar au fost asociate cu necesitatea unui tratament imunosupresor mai intens. Acești biomarkeri ar putea fi utili în identificarea formelor mai severe de boală glomerulară și în ghidarea deciziilor terapeutice timpurii, dar sunt necesare studii suplimentare pentru a valida relevanța lor clinică și statistică.

Cei doi biomarkeri reprezintă 2 fațete ale aceluiași proces inflamator- MCP-1 este secretat de leucocite și celulele tubulare renale ca răspuns la factori inflamatori, și are rol chemotactic pentru macrofage care vor exprima CD163.

Sursa renală a NGAL o reprezintă producția la nivelul celulelor tubulare epiteliale, care stimulate în anumite condiții (ex. proteinurie semnificativă) sau prin scăderea reabsorbției la nivelul tubului contort proximal, dar și la nivelul neutrofilelor la pacienții cu vasculita ANCA.[34]

Rezultatele studiului au arătat valori mai crescute ale NGAL urinar la lotul de pacienți A comparativ cu pacienții din lotul B sau lotul control (6.73 ± 8.02 pg/mg creatinină față de 2.05 ± 2.1 pg/mg creatinină respectiv 1.8 ± 1.5 pg/mg creatinină), $p=0.01$. Concentrația NGAL urinar nu s-a corelat nici cu valoarea creatininei la debut, nici cu valoarea proteinuriei.

Similar rezultatelor obținute la ceilalți doi biomarkeri urinari, am obținut concentrații crescute ale NGAL la pacienții cu nefropatie membranoasă (8.58 ± 11.3 pg/mg creatinină), NGLM (7.96 ± 9.5 pg/mg creatinină), GN pauciimună (7.47 ± 8.74) și GN membranoproliferativă (6.45 ± 8.65 pg/mg creatinină), rezultatele fiind similare între cele 4 patologii. În cazul patologiilor care evoluează cu sindrom nefrotic, sinteza de NGAL este stimulată la nivelul celulelor tubulare epiteliale de proteinuria crescută. Pacienții cu sindrom nefrotic și cei cu sindrom nefritic-nefrotic au înregistrat valori mai mari ale concentrației urinare a NGAL comparativ cu cei cu sindrom nefritic.

La analiza statistică în funcție de prezența leziunilor active, concentrația urinară a NGAL s-a corelat cu prezența semilunelor, prezența proliferării endocapilare și severitatea infiltratului inflamator interstițial, rezultatele fiind semnificative statistic și nu s-a asociat cu scorul de cronicitate.

Nivelul NGAL urinar nu s-a corelat cu tipul de tratament primit la debut, deși pacienții care au primit corticoterapie și/sau ciclofosfamidă au înregistrat valori mai mari (7.73 ± 8.88 ng/mg, respective 7.12 ± 10.28 ng/mg față de 3.52 ± 2.58 ng/mg, respectiv 6.4 ± 6.87 ng/mg).

Rezultatele corelației Pearson arată că există o corelație pozitivă, între nivele urinare de MCP-1, NGAL și CD 163 solubil, analizate câte două.

Analiza prin regresie logistică a arătat că asocierea dintre creatinină serică, albumină serică, valoarea proteinuriei, concentrațiile urinare ale celor 3 biomarkeri poate prezice rezultatul histopatologic (NGLM sau nefropatie cu IgA), dar, analizate separat niciuna dintre variabile nu mai îndeplinesc putere statistică.

Sunt necesare studii pe cohorte mai mari de pacienți care să confirme valoarea diagnostică și prognostică a celor trei biomarkeri urinari la pacienții cu glomerulonefrite și pentru stabilirea valorilor normale.

8.1 Contribuții personale

Studiul a demonstrat asocierea nivelurilor urinare ale biomarkerilor MCP-1, NGAL și CD 163 solubil cu afectarea renală de tip glomerular. Acești biomarkeri pot ajuta la trierea pacienților cu sindrom nefritic care ar beneficia de o biopsie renală. MCP-1 s-a corelat cu severitatea infiltratului inflamator interstițial, CD 163 solubil cu prezența semilunelor și proliferarea endocapilară, iar NGAL cu toate cele trei leziuni active. Totuși, acești biomarkeri nu au reușit să diferențieze între diferitele tipuri de glomerulonefrite. De asemenea, am întâmpinat dificultăți în găsirea unor kituri ELISA validate pentru măsurarea CD 163 solubil în urină. În plus, datele au arătat valori crescute ale CD 163 solubil urinar la pacienții cu sindrom nefrotic, sugerând implicarea macrofagelor M2c în patogenia acestor patologii. Având în vedere costurile ridicate ale reactivilor, acești biomarkeri nu pot fi lucrați de rutină la momentul actual.

Sunt necesare studii suplimentare pe cohorte mai mari pentru a stabili valorile normale și rolul acestor biomarkeri în diagnosticul și tratamentul glomerulonefritelor.

Bibliografie

1. James B. Wetmore The incidence, prevalence, and outcomes of glomerulonephritis derived from a large retrospective analysis *Kidney Int* 2016 Oct;90(4):853-60. doi: 10.1016/j.kint.2016.04.026. Epub 2016 Jul 15
2. United States Renal Data System. *2014 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2014
3. Sakhuja A et al Novel Biomarkers of Renal Function Introduction and Overview Updated: Jun 03, 2019 <https://emedicine.medscape.com/article/1925619-overview>
4. Sachin S. Soni et al Early Diagnosis of Acute Kidney Injury: The Promise of Novel Biomarkers *Blood Purif* 2009;28:165–174 DOI: 10.1159/000227785 Published online: July 8, 2009 Taub Pam et al Role of Biomarkers in the Diagnosis and Prognosis of Acute Kidney Injury in Patients With Cardiorenal Syndrome *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2012;10(5):657-667.;
5. Selvaskandan, Haresh et al. “Monitoring Immune Responses in IgA Nephropathy: Biomarkers to Guide Management.” *Frontiers in immunology* vol. 11 572754. 6 Oct. 2020, doi:10.3389/fimmu.2020.572754]
6. Heron M Deaths: Leading Causes for 2013. *Natl Vital Stat Rep.* 2016 Feb 16; 65(2):1-95
7. Supanat Worawichawong et al Urine Epidermal Growth Factor, Monocyte Chemoattractant Protein-1 or Their Ratio as Biomarkers for Interstitial Fibrosis and Tubular Atrophy in Primary Glomerulonephritis *Kidney Blood Press Res.* 2016;41(6):997-1007. doi: 10.1159/000452595. Epub 2016 Dec 19;
8. Ramòn G.B. Bonegio, Mechanisms of immune injury of the glomerulus www.uptodate.com
9. Jayne DRW et al Randomized Trial of C5a Receptor Inhibitor Avacopan in ANCA-Associated Vasculitis. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(9):2756. Epub 2017 Apr

10. Lan HY et al Local macrophage proliferation in the pathogenesis of glomerular crescent formation in rat anti-glomerular basement membrane (GBM) glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol.* 1997;110(2):233
11. Boucher A et al Relationship between the integrity of Bowman's capsule and the composition of cellular crescents in human crescentic glomerulonephritis. *Lab Invest.* 1987;56(5):526
12. Jun Li et al Significance of CD163-Positive Macrophages in Proliferative Glomerulonephritis. *Am J Med Sci.* 2015 Nov;350(5):387-92. doi: 10.1097/MAJ.0000000000000569
13. Lei Zhao et al M2 Macrophage Infiltrates in the Early Stages of ANCA-Associated Pauci-Immune Necrotizing GN *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015 Jan 7; 10(1): 54–62. Published online 2014 Dec 16. doi: 10.2215/CJN.03230314
14. G Mircescu – Glomerulopatiile, Editura Medicala Bucuresti 2016
15. Kerjaschki D et al Transcellular transport and membrane insertion of the C5b-9 membrane attack complex of complement by glomerular epithelial cells in experimental membranous nephropathy. *J Immunol.* 1989;143(2):546.;
16. Schulze M et al Elevated urinary excretion of the C5b-9 complex in membranous nephropathy. *Kidney Int.* 1991;40(3):533.
17. Masaomi Nangaku et al Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(5):1195.
18. Groves, D. T., & Jiang, Y. (1995). Chemokines, a Family of Chemotactic Cytokines. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 6(2), 109–118. <https://doi.org/10.1177/10454411950060020101>
19. Frederick W.K.Tam et al Differential expression of macrophage inflammatory protein-2 and monocyte chemoattractant protein-1 in experimental glomerulonephritis *Kidney International* Volume 49, Issue 3, March 1996, Pages 715-721
20. Ohlsson S, Bakoush O, Tencer J, Torffvit O, Segelmark M. Monocyte chemoattractant protein 1 is a prognostic marker in ANCA-associated small vessel vasculitis. *Mediators Inflamm.* 2009;2009:584916. doi: 10.1155/2009/584916. Epub 2009 Jul 5. PMID: 19587833; PMCID: PMC2706009

21. Segarra-Medrano A, et al. Value of urinary levels of interleukin-6, epidermal growth factor, monocyte chemoattractant protein type1 and transforming growth factor β 1 in predicting the extent of fibrosis lesions in kidney biopsies of patients with IgA nephropathy. *IgA. Nefrologia*. 2017;37(5):531-538. doi:10.1016/j.nefro.2016.11.017)
22. Tsukasa Morii, Hiroki Fujita, Takuma Narita, Jun Koshimura, Takashi Shimotomai, Hiromi Fujishima, Naomi Yoshioka, Hirokazu Imai, Masafumi Kakei & Seiki Ito (2003) Increased Urinary Excretion of Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Proteinuric Renal Diseases, *Renal Failure*, 25:3, 439-444, DOI: 10.1081/JDI-120021156
23. Yoshimoto K, Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Yokoyama H. CD68 and MCP-1/CCR2 expression of initial biopsies reflect the outcomes of membranous nephropathy. *Nephron Clin Pract*. 2004;98(1):c25-34. doi: 10.1159/000079924. PMID: 15361701.)
24. Etzerodt A, Moestrup SK CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19 Oct 2012, 18(17):2352-2363 DOI: 10.1089/ars.2012.4834 PMID: 22900885 PMCID: PMC3638564)
25. Yue Zhi et all Clinical significance of sCD163 and its possible role in asthma (Review) <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6393>)
26. Shaomin Gong et all *Urinary Soluble CD163 levels predict IgA nephropathy remission status Front Immunol. 2021; 12: 769802. Published online 2021 Dec 23. doi: 10.3389/fimmu.2021.769802 PMCID: PMC8733336 PMID: 35003086*
27. Collins SP, Hart KW, Lindsell CJ, et al. Elevated urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after acute heart failure treatment is associated with worsening renal function and adverse events. *Eur J Heart Fail*. 2012;14(9):1020-1029. doi:10.1093/eurjhf/hfs087)
28. Mori K, Lee HT, Rapoport D, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 2005;115:610-21).
29. Amornpan Lertrit ndependent associations of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and serum uric acid with interstitial fibrosis and tubular atrophy in primary glomerulonephritis *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2016 Apr 20;9:111-8. doi: 10.2147/IJNRD.S103512. eCollection 2016.)

30. Changjuan An et al Urine markers of renal tubular injury in idiopathic membranous nephropathy: A cross sectional study *Clin Chim Acta*. 2019 May;492:7-11. doi: 10.1016/j.cca.2019.01.015. Epub 2019 Jan 23.
31. Ding H, He Y, Li K, Yang J, Li X, Lu R, Gao W Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. *Clin Immunol*. 2007 May; 123(2):227-34.
32. Takashi Wada et al MIP-1a and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions in human crescentic glomerulonephritis *Kidney International*, Vol. 56 (1999), pp. 995–1003
33. Lei Zhao et al M2 Macrophage Infiltrates in the Early Stages of ANCA-Associated Pauci-Immune Necrotizing GN *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Jan 7; 10(1): 54–62. Published online 2014 Dec 16. doi: 10.2215/CJN.03230314
34. Adrian Schreiber et al Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin Protects from ANCA-Induced GN by Inhibiting T_H17 Immunity *JASN* July 2020, 31 (7) 1569-1584; DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2019090879>).