



Fundació
La Marató de TV3

21º SIMPOSIUM
Enfermedades del corazón



DIAGNÓSTICO PRECOZ DE INSUFICIENCIA RENAL EN INSUFICIENCIA CARDÍACA DESCOMPENSADA (EDRIAHF)

Teresa Padró Capmany

Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

1. Resumen

Introducción

La insuficiencia cardíaca aguda descompensada (ICAD, ADHF en inglés) es una de las principales causas de hospitalización en países industrializados y es uno de los principales gastos para la sanidad. Distintos factores, incluyendo tanto los cardiovasculares como los no cardiovasculares, así como también factores propios de cada paciente o iatrogénicos,¹ pueden facilitar el rápido desarrollo o deterioro de signos y síntomas que llevan a la insuficiencia cardíaca. Los pacientes con ICAD normalmente también presentan insuficiencia renal cuando ingresan en el hospital, o la desarrollan de forma aguda (insuficiencia renal aguda, IRA) durante la hospitalización ya sea debido al empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, al tratamiento o a ambos. La coocurrencia de IRA en pacientes con ICAD, también conocida como *síndrome cardiorrenal*, dificulta la gestión del paciente y no solo se asocia con ingresos más largos e ingresos a la unidad de curas intensivas, sino también a un incremento de los reingresos, a un peor pronóstico y a un aumento de los gastos asociados. Por lo tanto, la evaluación de la función renal en pacientes con ICAD antes de que desarrollen IRA es un paso importante para poder proporcionar un mejor pronóstico a los pacientes.

En la práctica diaria, la insuficiencia renal se define como la reducción de filtración glomerular, que se calcula con los niveles de creatinina en sangre (el principal marcador) o con distintas ecuaciones que también contienen los niveles de creatinina, como por ejemplo MDRD-4. Esta ecuación considera, además de la creatinina, otros factores, como la edad, el sexo y la raza, ya que estos afectan a los niveles de creatinina. También es importante destacar que el aumento de creatinina implica que el riñón ya se encuentra en fallo renal, es decir, ya es demasiado tarde.

Por este motivo es importante encontrar una herramienta de diagnóstico que permita detectar con antelación y con más precisión el daño renal. Además, un nuevo biomarcador² sería un beneficio médico, ya que permitiría estratificar mejor el riesgo y la elección del tratamiento de los pacientes ingresados por ICAD. Hoy en día se conocen algunas moléculas que han sido propuestas previamente como posibles biomarcadores (como por ejemplo la cistatina C, la lipocalina asociada a la gelatina neutrófila [NGAL] y la *kidney injury molecule 1* [KIM-1]). La habilidad de estas

¹ Dicho de una alteración del estado del paciente producida por el médico.

² O marcador biológico; en general, es una sustancia química usada como indicador de un estado biológico.

proteínas para detectar el deterioro de la función renal aún no ha sido demostrada consistentemente, como tampoco el valor que tienen para mejorar el pronóstico. Es por eso que la identificación de nuevos biomarcadores, ya sea individualmente o en combinación, que mejoren la detección y la estratificación en pacientes con ICAD es aún un reto en el ámbito de la medicina.

Objetivos

Para dar respuesta a esta necesidad, diseñamos EDRIAHF. EDRIAHF es un proyecto que tiene como objetivo identificar y validar, mediante técnicas proteómicas,³ nuevos biomarcadores para la detección precoz de la IRA antes del aumento de la creatinina y de la urea. Es más, estas moléculas podrían proporcionar nueva información fisiopatológica sobre el síndrome cardiorrenal, lo que daría la oportunidad de desarrollar nuevas posibilidades de tratamiento para pacientes con ICAD.

Diseño del estudio y metodología

Este proyecto está basado en un estudio longitudinal de pacientes (68% varones, 69±12 años) hospitalizados por ICAD en el departamento de cardiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, en Barcelona. Los pacientes con ICAD (n = 66) se distribuyeron en tres grupos según la presencia o ausencia de disfunción renal en el momento del ingreso (ADHF-RD+ y ADHF-RD-, respectivamente) y según si desarrollaron insuficiencia renal (ADHF-DKI), normalmente unos 5 días más tarde. La insuficiencia renal se definió usando la fórmula MDRD-4, y los valores por debajo de 60 mL / min / 1,73 m² se consideraron patológicos. Un grupo de individuos sanos (HS, n = 15, 49±9 años) sirvieron para establecer el rango de niveles normales de las proteínas identificadas.

De cada paciente se obtuvieron muestras de sangre y orina en el momento del ingreso y en distintos momentos durante la hospitalización (a las 24, 48 y 72 horas y a los 5 días), así como también cuando se dio de alta al paciente. También se obtuvieron datos demográficos, la historia clínica y el tratamiento previo de todos los pacientes incluidos.

³ Basado en el estudio de las proteínas.

En nuestro proyecto, los estudios de la fase de *discovery* se basaron en la identificación del perfil proteómico diferencial en orina a partir del análisis de geles de poliacrilamida obtenidos por electroforesis de dos dimensiones y espectrometría de masas (MS/MS) y por cromatografía de líquidos y MS/MS. Además, la fase de validación de las proteínas seleccionadas se realizó usando técnicas cuantitativas de inmunoensayo (ELISA).

2. Resultados

En el momento del ingreso, los pacientes con ICAD presentaban niveles plasmáticos muy altos de NT-proBNP, que es el biomarcador principal de la insuficiencia cardíaca aguda. Además, el 45% de los pacientes con ICAD presentaban la fracción de eyección del ventrículo izquierdo reducida ($43,6 \pm 16\%$). Respecto a otras comorbilidades, el 75% de los pacientes están en tratamiento por hipertensión, el 44% tienen diabetes *mellitus* tipo 2 y el 70% presentan dislipemia.

En cuanto a la función renal, el 47% de los pacientes con ICAD ya presentaban valores patológicos de MDRD-4 en el momento del ingreso, lo que indica que ya presentaban una función renal deficiente (grupo ADHF-RD+, MDRD-4: $41,1 \pm 11$). Por lo contrario, los pacientes con función renal normal en el momento del ingreso (ADHF-RD-) presentaban valores dentro de los rangos normales (MDRD-4: $82,4 \pm 19$). **De este último grupo, un 42% de los pacientes desarrollaron insuficiencia renal aguda (ADHF-DKI), mientras que el 58% restante mantuvieron la función renal normal durante la hospitalización.**

Dentro de las proteínas detectadas en orina, la albúmina, que se filtra en el riñón, y la alfa-1-microglobulina (AMBPG), que se deriva de las células glomerulares y tubulares, fueron las más abundantes, independientemente de la función renal de los pacientes con ICAD.

El análisis del perfil proteómico diferencial en orina de pacientes con ICAD en el momento del ingreso mostró 33 proteínas diferenciales. Detectamos cambios consistentemente en los niveles de estas proteínas al compararlas con los de los individuos sanos. Estas proteínas, que tienen un peso molecular de entre 15 y 200 kDa, pertenecen a distintos grupos funcionales, como son el metabolismo celular,

la señalización celular, la coagulación y el metabolismo de vitaminas. De estas, 18 fueron asociadas a la insuficiencia cardíaca, independientemente de la función renal (proteínas con valores alterados en pacientes con ICAD en comparación con sujetos sanos), mientras que 10 proteínas diferenciales fueron asociadas a la insuficiencia renal (proteínas que presentaron niveles diferentes al comparar los grupos de pacientes ADHF-RD+ y ADHF-RD-).

Dos de las proteínas diferenciales en orina son directamente producidas en las células del riñón (glomérulo), mientras que las otras proteínas son expresadas en otros órganos y filtradas en el riñón para terminar en la orina. Dentro de este último grupo, 7 proteínas son componentes de la cascada de coagulación, y la pérdida de una proteína inhibidora de la coagulación es 2,5 veces mayor en los pacientes con ICAD. Esta diferencia podría sugerir que los pacientes con ICAD tienen la cascada de coagulación alterada.

Además, también detectamos un incremento en la pérdida de 3 proteínas involucradas en el metabolismo de las vitaminas. Una de estas proteínas (codificada como proteína X), presentó valores muy elevados en orina debido a una mala reabsorción en los túbulos proximales; esta proteína ya se había asociado previamente a otras enfermedades renales. En nuestro estudio, vimos que la proteína X presentaba valores más de 3 veces superiores en los pacientes con ICAD en el momento del ingreso que los individuos sanos. Dentro de los pacientes con ICAD, los pacientes ADHF-RD+ fueron los que presentaron los valores más altos. Cuando analizamos esta proteína por *Western blot* vimos una única banda en los 50 kDa.

Posteriormente, los análisis cuantitativos por inmunoensayo mostraron patrones similares a los valores obtenidos por electroforesis cuando se comparan con los individuos sanos, lo que validó los resultados obtenidos en la fase de *discovery*. En nuestro estudio también hemos investigado los cambios hallados en la orina de la proteína X a los tres días de hospitalización. En ese momento, los valores de proteína X disminuyeron al rango de valores normales en los pacientes ADHF-RD-, que son los que mantuvieron la función renal normal. Pero el grupo de pacientes que desarrolló IRA (ADHF-DKI) mantuvo valores altos, 2 veces superiores al rango normal. De modo similar, los niveles de proteína X también se mantuvieron elevados a los tres días en

los pacientes que ya presentaban insuficiencia renal en el momento del ingreso (ADHF-RD+).

Es importante destacar que este patrón también se mantuvo al cabo de 5-8 días de hospitalización, cuando se produce normalmente el deterioro de la función renal en los pacientes ADHF-DKI. Esto sugiere que la proteína X podría ser valiosa como biomarcador precoz de insuficiencia renal en pacientes con ICAD durante su hospitalización.

Aparte de la proteína X, y para poder comparar los resultados, también hemos estudiado los valores en orina de las otras proteínas previamente propuestas en la literatura como biomarcadores de la IRA, como son la cistatina C y la NGAL. Nuestros resultados indican que los pacientes con ICAD en global y los individuos sanos presentan una pérdida similar de ambas proteínas en orina. Sin embargo, a los tres días los pacientes ADHF-RD- y ADHF-DKI presentan valores similares de cistatina C, y no vimos ningún cambio significativo dentro del mismo grupo de pacientes. Tampoco hemos visto cambios en los niveles de cistatina C ni de NGAL a los cinco días de hospitalización. En cuanto a estas proteínas, nuestros resultados indican que estas proteínas tienen un valor poco consistente como biomarcadores de disfunción renal. Según los resultados que hemos obtenido, ni los niveles en orina de cistatina C ni de NGAL en el día 3 servirían para identificar a aquellos pacientes con ICAD con riesgo de desarrollar insuficiencia renal durante los días siguientes.

Los valores de la cistatina C y la proteína X se correlacionaron significativamente en los pacientes ADHF-RD+ en el momento del ingreso ($r = 0,453$), casi del mismo modo que en los pacientes ADHF-DKI ($r = 0,523$). Por el contrario, no vimos ninguna correlación estadísticamente significativa entre las dos variables en los pacientes ADH-RD- ($p = 0,5986$). La combinación de los valores de proteína X y cistatina C podrían discriminar a los pacientes ADHF-DKI según el test estadístico C ($p < 0,05$).

Además, también hemos seguido la evolución que han hecho todos nuestros pacientes a lo largo de un año tras su hospitalización inicial para ver si existe una asociación potencial entre las proteínas identificadas y la incidencia de eventos clínicos adversos. Hemos visto que un 42% de los pacientes han sufrido eventos clínicos adversos cardíacos o renales durante este año de seguimiento. Dentro de este grupo, un 56% de los pacientes ya tenían insuficiencia renal en el momento del ingreso hospitalario

(ADHF-RD+). Nuestros resultados sugieren que los pacientes ADHF-RD+ que presentaban los valores más elevados de proteína X cuando ingresaron tienden a requerir más reingresos durante el año de seguimiento. Por ahora, no hemos visto ninguna asociación consistente entre los valores de proteína X y la incidencia de eventos clínicos adversos en los pacientes que presentaban una función renal normal al ingresar. Sin embargo, no podemos olvidar que estos resultados se ven afectados por el tamaño del estudio.

Aunque los resultados están basados en un grupo relativamente pequeño de pacientes, estos sugieren que la proteína X podría servir como potencial biomarcador precoz de insuficiencia renal en pacientes con ICAD, y apoya el valor combinado de proteína X y cistatina C para obtener una mejor discriminación de pacientes.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Como se ha mencionado anteriormente, el síndrome cardiorenal es un proceso patológico muy común que complica el tratamiento y empeora el pronóstico de pacientes con insuficiencia cardíaca aguda descompensada. La creatinina es el principal biomarcador de insuficiencia renal usado hoy en día. No obstante, los cambios son solo evidentes en cuanto el daño renal ya está presente.

Por esta razón diseñamos EDRIAHF, un proyecto multidisciplinar que tiene como objetivo identificar y demostrar el valor de las proteínas que podrían servir como biomarcadores de insuficiencia renal en pacientes ingresados por ICAD antes del aumento de la creatinina y la urea. Los resultados obtenidos evidencian que valores elevados de la proteína X al cabo de 72 horas se asocian a un deterioro de la función renal a lo largo de los siguientes días en pacientes con ICAD. Este descubrimiento, aunque requiere ser demostrado con una cohorte mayor, podría proporcionar una nueva herramienta para el diagnóstico precoz de disfunción renal en pacientes hospitalizados por insuficiencia cardíaca aguda descompensada. Esto facilitaría al personal médico la toma de decisiones sobre estratificación de pacientes hospitalizados por ICAD. Además, la identificación de un nuevo biomarcador precoz de insuficiencia renal beneficiaría directamente a los pacientes. El deterioro de la función renal implica hospitalizaciones más largas, peor pronóstico y reingresos más frecuentes debido a las

complicaciones de corazón o riñón. Así pues, un nuevo biomarcador ayudaría a detectar el deterioro de función renal antes de que se produzca, de modo que los pacientes con ICAD tendrían un mejor pronóstico, hospitalizaciones más cortas y menor frecuencia de reingreso.

4. Bibliografía científica generada

Por ahora, los resultados de este estudio han sido presentados en fóruns y congresos de los ámbitos tanto nacional como internacional, como el congreso de la European Society of Cardiology (ESC), la Sociedad Española de Cardiología y el congreso de Eurothrombosis (organizado por el *working group* de trombosis de la ESC), entre otros (véase la lista). Actualmente se están preparando dos manuscritos y se prevé elaborar un tercero basado en resultados que se están analizando actualmente.

Lista de congresos:

Diaz-Riera E, López L, García-Arguinzonis M, Badimon L, García-Moll X, Padró T.
Differential urine proteomic signature in early phase of renal insufficiency in patients with acute heart failure.

European Society of Cardiology Congress (París, agosto de 2018).

Tipo de presentación: *rapid fire presentation*.

Diaz-Riera E, García-Arguinzonis M, López L, García-Moll X, Badimon L, Padró T.
Antithrombin III is found in high levels in urine of patients with acute heart failure and kidney dysfunction.

Eurothrombosis (Barcelona, octubre de 2018).

Tipo de presentación: póster.

Diaz-Riera E, García-Arguinzonis M, López L, García-Moll X, Badimon L, Padró T.
Disfunción renal precoz en pacientes con insuficiencia cardíaca aguda: análisis proteómico en orina.

Congreso de la Sociedad Española de Cardiología (Sevilla, octubre de 2018).

Tipo de presentación: póster.

Diaz-Riera E, García-Arguinzonis M, López L, García-Moll X, Badimon L, Padró T.
Differential urine proteomics signature for early diagnostic of renal insufficiency in patients with acute heart failure.

Clinical Proteomics (Barcelona, noviembre de 2018).

Tipo de presentación: póster.

Diaz-Riera E, García-Arguinzonis M, López L, García-Moll X, Badimon L, Padró T.
Antithrombin III turnover is exacerbated in patients with heart failure and renal dysfunction.

EMLTD Congress on Thrombosis (Atenas, junio de 2019).

Tipo de presentación: póster.

Diaz-Riera E, García-Arguinzonis M, López L, García-Moll X, Badimon L, Padró T.
Biomarcadores tempranos de disfunción renal en pacientes con insuficiencia cardíaca descompensada: estudio proteómico.

Congreso de la Sociedad Española de Cardiología (Barcelona, octubre del 2019).

Tipo de presentación: póster.