



Fundació
La Marató de TV3

21è SIMPOSIUM
Malalties del cor



DIAGNÒSTIC PRECOÇ D'INSUFICIÈNCIA RENAL DURANT INSUFICIÈNCIA CARDÍACA AGUDA (EDRIAHF)

Teresa Padró Capmany

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

1. Resum

Introducció

La insuficiència cardíaca aguda descompensada (ICAD, ADHF en anglès) és una de les primeres causes d'hospitalització als països industrialitzats i, com a tal, és una de les principals despeses de la sanitat. Diversos factors, tant cardiovasculars com no cardiovasculars, així com també factors específics de cada pacient o iatrogènics,¹ poden facilitar l'aparició o el deteriorament dels símptomes i signes de la insuficiència cardíaca que porten a la ICAD. Els pacients amb ICAD solen presentar també insuficiència renal en el moment de l'admissió al recinte hospitalari, o bé solen desenvolupar-la en forma aguda (insuficiència renal aguda, IRA) durant la seva hospitalització a causa d'un empitjorament de la ICAD, el tractament o ambdós. La coocurrència d'IRA en pacients amb ICAD, altrament coneguda com a *síndrome cardiorenal*, complica la gestió dels pacients i no només s'associa a períodes més llargs d'hospitalització i a estades a la unitat de cures intensives, sinó també a un increment de les rehospitalitzacions i a un pitjor pronòstic (i una mortalitat més alta), així com també a més despeses sanitàries. Per tant, l'avaluació de la funció renal en pacients amb ICAD abans no desenvolupin IRA és un pas important per poder proporcionar un millor pronòstic als pacients.

En la pràctica rutinària de cardiologia, la insuficiència renal es defineix com una reducció de la filtració glomerular i es calcula utilitzant els nivells de creatinina en sang (el principal marcador d'insuficiència renal) o bé amb diferents equacions, com ara l'MDRD-4, basades en l'edat, el sexe i la raça, que són factors que influeixen en els nivells de creatinina en sang. És important recalcar que els nivells elevats de creatinina impliquen que el ronyó ja està fallant, de manera que ja és tard.

Per aquesta raó, cal trobar biomarcadors² que siguin eines precoces (abans no incrementi la creatinina) i precises, i que representin un benefici mèdic, per estratificar correctament els pacients amb ICAD i facilitar l'elecció d'un tractament.

¹ Relatiu o pertanyent als problemes resultants de l'actuació del metge.

² O marcador biològic; en general, és una substància química usada com a indicador d'un estat biològic.

Avui en dia es coneixen diverses molècules que han estat proposades prèviament (com ara la cistatina C, la lipocalina associada a la gelatina neutròfila [NGAL] i la *kidney injury molecule 1* [KIM-1]) com a possibles biomarcadors. La seva utilitat per detectar el deteriorament de la funció renal en pacients hospitalitzats per ICAD més precoçment no s'ha demostrat de manera consistent. De la mateixa manera, tampoc s'ha establert el seu valor de precisió a l'hora de definir el pronòstic d'aquests pacients.

Per tant, la identificació de nous biomarcadors que tant individualment o en combinació millorin la detecció de disfunció renal, l'estratificació i pronòstic de pacients amb ICAD, continua sent un repte.

Objectius

Per donar resposta a aquestes necessitats mèdiques, vam dissenyar EDRIAHF. EDRIAHF és un projecte que tenia com a objectiu identificar i validar, utilitzant tècniques proteòmiques,³ nous biomarcadors per detectar precoçment el deteriorament de la funció renal en pacients hospitalitzats per ICAD, abans no augmentin els nivells de creatinina i urea. A més a més, aquestes molècules podrien proporcionar informació fisiopatològica de la síndrome cardiorenal aguda, cosa que permetria desenvolupar nous possibles tractaments per a pacients amb ICAD.

Disseny de l'estudi i metodologia

Aquest projecte es basa en un estudi longitudinal de pacients (68% homes, 69±12 anys) hospitalitzats per ICAD al departament de cardiologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona. Els pacients amb ICAD (n = 66) van ser distribuïts en tres grups diferents segons la presència o absència de disfunció renal en el moment de l'ingrés (ADHF-RD+ i ADHF-RD-, respectivament), i segons si van desenvolupar IRA durant l'hospitalització (ADHF-DKI) després d'uns cinc dies. L'IRA es va definir utilitzant la fórmula MDRD-4, i es van considerar com a valors patològics tots aquells per sota de 60 mL / min / 1,73 m². Es va utilitzar un grup d'individus sans (HS, n = 15, 49±9 anys) per establir els nivells normals de les proteïnes identificades.

De cada pacient es van obtenir mostres d'orina i de sang en el moment de l'ingrés hospitalari i al llarg de l'hospitalització (al cap de 24, 48 i 72 hores, i el dia 5) i quan se

³ Basat en l'estudi de les proteïnes.

li va donar l'alta. També es van obtenir dades demogràfiques, la història clínica i el tractament previ de tots els pacients.

En el nostre projecte, els estudis de la fase de *discovery* es van basar en la identificació del perfil de proteïnes diferencials en orina de pacients amb ICAD a partir de l'anàlisi dels gels de poliacrilamida obtinguts per electroforesi de dues dimensions i espectrometria de masses (MS/MS) i per cromatografia de líquids i MS/MS. A més a més, els estudis de validació de proteïnes específiques es van dur a terme utilitzant tècniques quantitatives d'immunoassaig.

2. Resultats

En el moment de l'ingrés hospitalari, els pacients amb ICAD presentaven valors molt elevats del biomarcador d'insuficiència cardíaca, l'NT-proBNP. A més, un 45% de pacients amb ICAD presentaven la fracció d'ejecció del ventricle esquerre reduïda ($43,6 \pm 16\%$). Quant a comorbiditats, un 75% dels pacients estan en tractament per hipertensió, un 44% tenen diabetis *mellitus* de tipus 2 i un 70% tenen dislipèmia. Quant a la funció renal, un 47% dels pacients amb ICAD ja presentaven nivells patològics d'MDRD-4 en el moment de l'ingrés hospitalari, cosa que indica una funció renal deficient (grup ADHF-RD+, MDRD-4: $41,1 \pm 11$). En canvi, el valor mitjà d'MDRD-4 es trobava en nivells sans ($82,4 \pm 19$) en el grup ADHF-RD-. D'aquest últim grup, **un 42% dels pacients van desenvolupar insuficiència renal aguda durant l'hospitalització (ADHF-DKI), mentre que el 58% restant va mantenir una funció renal normal durant l'estada a l'hospital (ADHF-RD-)**. La durada de l'hospitalització va ser d'uns 9-10 dies de mediana per a tots els pacients, amb estades més llargues per a aquells pacients que van desenvolupar IRA en comparació amb els que van mantenir una funció renal normal.

Entre les proteïnes detectades en orina, l'albumina, que arriba a l'orina per filtració en el ronyó, i l'alfa-1-microglobulina (AMBP), que és derivada de les cèl·lules glomerulars i tubular, van ser les més abundants, independentment de la funció renal en els pacients amb ICAD.

L'anàlisi del patró diferencial en orina dels pacients amb ICAD va presentar 33 proteïnes diferencials. Aquestes proteïnes diferencials van presentar canvis consistentment comparades amb els individus sans. Tenen un pes molecular d'entre 15 i 200 kDa, i pertanyen a diferents grups funcionals, com ara metabolisme cel·lular, senyalització cel·lular, coagulació i metabolisme de vitamines. D'aquestes proteïnes, 18 estan associades a la insuficiència cardíaca, independentment de la funció renal (és a dir, són proteïnes amb valors alterats en orina en els pacients amb ICAD comparats amb individus sans), mentre que 10 de les proteïnes diferencials detectades estan específicament associades a la insuficiència renal (són proteïnes que presenten diferents nivells quan es comparen els pacients ADHF-RD+ i ADHF-RD-).

Hem vist que només dues proteïnes diferencials en orina de pacients amb ICAD estan directament produïdes a les cèl·lules del ronyó (glomèruls), mentre que les altres proteïnes són expressades en altres òrgans i són posteriorment filtrades al ronyó per acabar a l'orina. Dins d'aquest últim grup, 7 proteïnes són components de la cascada de coagulació, i la pèrdua d'una proteïna inhibidora de la coagulació és fins a 2,5 vegades superior en els pacients amb ICAD en comparació amb els nivells obtinguts en individus sans. Aquesta diferència podria suggerir que hi ha una alteració en la cascada de coagulació d'aquests pacients.

A més, vam detectar nivells superiors de pèrdua de 3 proteïnes involucrades en el metabolisme de vitamines en l'orina dels pacients amb ICAD. Aquests nivells anòmalament elevats d'una d'aquestes proteïnes (codificada com a proteïna X) es deuen probablement a una mala reabsorció en els túbuls proximals. A més, aquesta proteïna s'ha associat anteriorment a la insuficiència renal en estudis preclínics i les nefropaties relacionades amb malalties metabòliques en humans. En el nostre estudi, la proteïna X era més de 3 vegades superior en pacients amb ICAD que en individus sans, sent els pacients ADHF-RD+ els qui van presentar els nivells més elevats. L'anàlisi per transferència de proteïnes (*Western blot*) que vam dur a terme per a la proteïna X va mostrar una única banda als 50 kDa.

L'anàlisi quantitativa de la proteïna X es va realitzar per immunoassaig i va mostrar un patró semblant al de l'electroforesi quan es comparava amb els individus sans, de manera que es van validar els resultats trobats durant la fase de *discovery*.

En el nostre estudi també vam investigar els canvis en orina de la proteïna X al cap de 3 dies d'hospitalització. En aquest punt, els nivells de proteïna X van caure al nivell de rang normal en els pacients ADHF-RD-, que són els qui van mantenir una funció renal normal durant l'hospitalització. Per contra, els valors en orina de la proteïna X es van mantenir elevats anòmalament, amb valors dues vegades superiors al rang normal, en aquells pacients que, tot i presentar una funció renal normal en el moment de l'ingrés, van desenvolupar IRA després del dia 5 d'hospitalització (ADHF-DKI). De manera similar, els nivells de proteïna X també es van mantenir elevats en el dia 3 en els pacients que ja presentaven insuficiència renal en el moment de l'ingrés (el grup ADHF-RD+).

És important recalcar que aquest patró del dia 3 es va mantenir al llarg dels dies 5-8 d'hospitalització, quan la funció renal s'havia deteriorat en el grup ADHF-DKI. Això suggereix que la proteïna X podria ser valuosa com a biomarcador precoç d'IRA en pacients amb ICAD.

A part de la proteïna X, també hem estudiat els valors en orina de les proteïnes prèviament mencionades com a possibles biomarcadors d'IRA, com són la cistatina C i l'NGAL. Els nostres resultats indiquen que els pacients amb ICAD en global i els individus sans presenten valors semblants en orina. No obstant això, els pacients ADHF-RD+ presenten valors més alts que els pacients ADHF-RD- de les dues proteïnes en orina. Al cap de 3 dies, però, els pacients ADHF-RD- i ADHF-DKI presenten valors semblants de cistatina C, i no vam veure cap canvi significatiu dins els mateixos grups de pacients. Tampoc hem vist canvis en els nivells de cistatina C ni d'NGAL al cap de 5 dies d'hospitalització. Respecte d'aquestes proteïnes, els nostres resultats donen suport als obtinguts prèviament en altres estudis i el seu valor poc consistent com a biomarcadors de disfunció renal. Segons els nostres resultats, ni els nivells en orina de cistatina C ni d'NGAL en el dia 3 servien per identificar aquells pacients hospitalitzats per ICAD que estan en risc de desenvolupar IRA al llarg dels dies posteriors.

Els valors de cistatina C i de proteïna X es correlacionen significativament en els pacients ADHF-RD+ en el moment de l'ingrés hospitalari ($r = 0,453$), de la mateixa manera que gairebé ho fan en el grup ADHF-DKI ($r = 0,523$). D'altra banda, no hi ha una correlació estadísticament significativa entre les dues variables en els pacients

ADHF-RD- ($p = 0,5986$). La combinació dels valors de la proteïna X i cistatina C pot ser que discriminin segons el test estadístic C ($p < 0,05$) en els pacients ADHF-DKI. A part, també hem seguit l'evolució que han fet tots els nostres pacients al llarg d'un any després de la seva hospitalització inicial per veure si hi ha una associació potencial entre les proteïnes identificades i la incidència d'esdeveniments clínics. Hem vist que un 42% dels pacients han patit esdeveniments clínics adversos cardíacs o renals durant aquest any de seguiment. Dins d'aquest grup, un 56% són pacients que ja tenien disfunció renal en el moment de l'ingrés hospitalari (el grup ADHF-RD+). Les nostres troballes suggereixen que els pacients ADHF-RD+ que presentaven valors més elevats de proteïna X en el moment de l'ingrés tendeixen a requerir més reingressos durant l'any de seguiment. Ara per ara, no hem vist cap associació consistent entre els valors de proteïna X i la incidència d'esdeveniments clínics adversos en els pacients que presentaven una funció normal en el moment de l'ingrés. Malauradament, no podem oblidar que aquests resultats es veuen afectats per la mida de l'estudi.

Els resultats d'aquest estudi, tot i que es basen en un grup petit de pacients, suggereixen que la proteïna X podria servir com a biomarcador precoç per a la discriminació de pacients amb ICAD, i dona suport al valor combinat de proteïna X i cistatina C per obtenir una millor discriminació dels pacients.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Tal com s'ha mencionat prèviament, la síndrome cardiorenal és un procés patològic molt comú que complica el tractament i empitjora el pronòstic dels pacients amb insuficiència cardíaca aguda descompensada. Avui en dia, la creatinina és el biomarcador de funció renal que utilitzem rutinàriament, però malauradament el seu augment indica que el pacient ja presenta dany renal.

Per aquesta raó vam dissenyar el projecte EDRIAHF, un projecte multidisciplinari que tenia com a objectiu trobar nous biomarcadors d'insuficiència renal aguda en pacients amb insuficiència cardíaca aguda descompensada abans no augmentin els nivells de creatinina i urea. Els resultats del nostre projecte evidencien que nivells elevats de proteïna X 72 hores després de l'hospitalització s'associen a l'aparició de dany renal durant els dies posteriors. Aquesta troballa, tot i que requereix ser provada en un grup

més nombrós de pacients amb ICAD, podria proporcionar una nova eina per diagnosticar precoçment la insuficiència renal greu en aquests pacients. Això facilitaria la presa de decisions per part del personal mèdic i permetria una millor estratificació del pronòstic dels pacients amb ICAD.

La identificació d'un nou biomarcador no només afecta el personal mèdic, sinó que també beneficia directament els pacients. L'empitjorament de la funció renal implica estades més llargues, pitjor pronòstic i ingressos més freqüents a l'hospital a causa de les complicacions de les insuficiències de cor o ronyó. Atès que revertir la insuficiència renal és molt complicat, un nou biomarcador significaria que aquesta pot ser detectada abans no sigui massa complicat revertir-la. D'aquesta manera, els pacients amb ICAD tindrien un millor pronòstic, ingressos més curts i menys ingressos posteriors.

4. Bibliografia científica generada

Ara per ara, els resultats obtinguts s'han presentat en congressos i fòrums científics dels àmbits nacional i internacional, com el congrés de la European Society of Cardiology (ESC), la Sociedad Española de Cardiología o Eurothrombosis (organitzat pel *working group* de trombosi de l'ESC), entre d'altres (vegeu la llista següent). Estem preparant dos manuscrits i tenim previst escriure'n un altre amb els resultats que encara s'estan analitzant.

Llista de congressos

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, agost del 2018).

Tipus de presentació: *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 del 2018).

Tipus de presentació: pòster.

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 del 2018).

Tipus de presentació: pòster

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, novembre del 2018).

Tipus de presentació: pòster.

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 (Atenes, juny del 2019).

Tipus de presentació: pòster.

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).

Tipus de presentació: pòster.