

Revisão/Atualização em Insuficiência Renal Aguda: Papel dos neutrófilos e moléculas de adesão na fisiopatologia da insuficiência renal aguda isquêmica

Paulo Sérgio L. Quintaes, Irene L. Noronha

Disciplina de Nefrologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Endereço para correspondência: Paulo Sérgio Leme Quintaes
Disciplina de Nefrologia - HC-FMUSP
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 7º andar, Sala 711-F
CEP 05403-900 - São Paulo, SP
Tel.: (011) 853-5079 - Fax: (011) 883-7683

Introdução

A Insuficiência Renal Aguda (IRA) é um problema relativamente comum, afetando até 5% dos pacientes hospitalizados¹ e aproximadamente 1% dos pacientes que se apresentam nas unidades de emergências dos hospitais.² Em virtude deste fato e por apresentar alto índice de morbi-mortalidade, constitui uma complicação de grande importância e que vem merecendo vários estudos na tentativa de melhor elucidar seus mecanismos fisiopatológicos, objetivando medidas preventivas e terapêuticas.

As causas de IRA são bastante variadas, frequentemente multifatoriais, sendo que a isquemia renal muitas vezes é o fator preponderante. Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na IRA isquêmica ainda não estão completamente elucidados, porém reconhece-se atualmente que a restauração do fluxo sanguíneo (reperfusão) após um evento isquêmico exacerba a lesão previamente instalada.³

A isquemia-reperfusão promove um aumento do afluxo de neutrófilos (PMN) para os tecidos isquêmicos. Os PMN, por sua vez, aderem-se às células endoteliais causando obstrução das vasa recta e congestão medular, piorando a isquemia tecidual mesmo após a restauração do fluxo sanguíneo. Por outro lado, os PMN aderidos e ativados liberam radicais livres de oxigênio e enzimas proteolíticas piorando a lesão tecidual.

Este processo de infiltração e adesão de PMN depende da ativação e/ou expressão de receptores, conhecidos como moléculas de adesão, presentes tanto na membrana dos PMN como também na superfície das células endoteliais. Acredita-se que no processo de isquemia-reperfusão ocorra liberação de moléculas pró-inflamatórias (citocinas, quimocinas e peptídeos quimioatrativos), dentre estas destacam-se a participação do Fator de Necrose Tumoral α (TNF - α) e Interleucina 1 (IL-1). Estas substâncias induzem a expressão das moléculas de adesão, promovendo uma íntima interação entre os PMN e as células endoteliais.

Moléculas de Adesão

O processo de adesão pode ser dividido em pelo menos três etapas distintas. Num primeiro momento, a célula circulante aproxima-se da parede vascular e rola sobre o endotélio. Numa segunda fase, o leucócito em contato com o vaso sofre a ação de substâncias solúveis liberadas no local (quimocinas) e passa a expressar moléculas ativadas que vão determinar uma ligação firme à superfície endotelial. Somente, então, o leucócito é capaz de migrar através do vaso em direção ao tecido (Figura 1).⁴

As moléculas de adesão constituem um grupo de moléculas especializadas na regulação das interações celulares. O isolamento destas proteínas e seus respectivos genes, juntamente com a análise de sua estrutura molecular, permitiram o seu agrupamento em três grandes famílias de proteínas: família das selectinas, das integrinas e das imunoglobulinas.

Diferentes moléculas estão envolvidas em cada uma das etapas de adesão e migração. Assim, de maneira geral, as moléculas de adesão pertencentes à família das selectinas promovem uma fraca ligação

P. S. L. Quintaes / I. L. Noronha - Revisão/Atualização em Insuficiência Renal Aguda

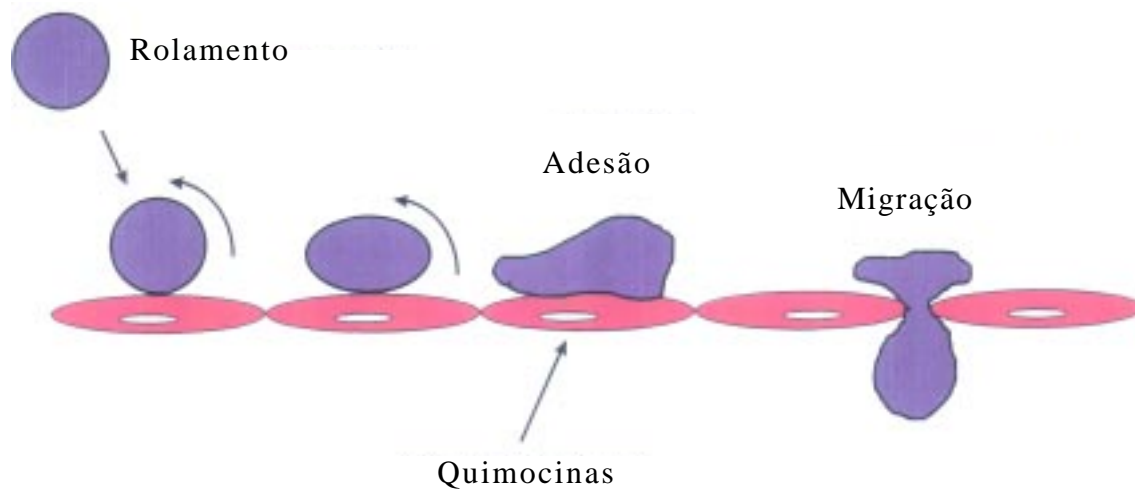


Figura 1 - O esquema representa as três etapas da adesão vascular: rolamento, adesão firme e migração.

inicial do leucócito ao endotélio. A seguir, moléculas endoteliais, pertencentes à família das imunoglobulinas (ICAM-1, ICAM-2 e VCAM-1), passam a ter um papel determinante, ligando-se às integrinas ativadas LFA-1, Mac-1 e VLA-4 na superfície do linfócito.

Selectinas são os mais primários receptores de adesão. Estão envolvidos na adesão inicial do leucócito no endotélio; esta adesão, por sua vez, é relativamente fraca sendo sua principal importância atuar como fator desencadeante. A sua expressão pode ocorrer de segundos a 2-4 horas. Os três membros que compõem esta família de proteínas foram designados pelos prefixos E (endotélio), P (plaquetas) e L (leucócitos), segundo o tipo de células onde foram inicialmente descritos. A E-selectina (CD62E) e a P-selectina (CD62P) são expressas na superfície de células endoteliais após a ação de estímulos específicos. Diferente dos demais membros desta família, a L-selectina (CD62L) é a única expressa normalmente na superfície de leucócitos.

As integrinas, expressas na superfície dos leucócitos, são compostas por duas cadeias peptídicas, alfa e beta. Estas proteínas são agrupadas de acordo com o tipo de cadeia β que as compõem. Entre os diversos membros da família integrina, três estão especialmente envolvidos na adesão do leucócito ao vaso: LFA-1 (lymphocyte function-associated-1) (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18) e VLA-4 (very late activation antigen) (CD49d/CD29). As demais integrinas são responsáveis por interações com a matriz extracelular.

A família das imunoglobulinas se caracteriza por apresentar um número variável de domínios extracelulares semelhantes às imunoglobulinas. As moléculas pertencentes a esta família têm um papel importante na adesão do leucócito ao vaso. As moléculas de adesão intercelular (intercellular adhesion molecule), ICAM-1 (CD54) e ICAM-2 (CD102) apresentam grandes semelhanças estruturais e funcionais. Estas moléculas são expressas normalmente na superfície endotelial. Já a molécula de adesão vascular-1 (vascular cell adhesion molecule), ou VCAM-1 (CD106) só é expressa na superfície da célula endotelial ativada.

PMN x Isquemia-Reperfusão

Independente da participação das moléculas de adesão, discute-se também o real papel dos PMN no processo de injúria renal, já que histologicamente não se observa, caracteristicamente, infiltração de PMN no tecido renal nos quadros de IRA isquêmica, embora seja detectada elevação da atividade da mieloperoxidase (MPO) (enzima presente no citoplasma dos PMN) demonstrando um intenso recrutamento de PMN no tecido renal nestes casos. Uma possível explicação para esta dissociação entre achado histológico e atividade da MPO pode ser justificada por recente publicação de Saeki e cols.,⁵ que demonstraram que em condições de ativação os PMN apresentam uma intensa degrana-

lação e liberação dos estoques intracelulares de MPO, a qual se liga às membranas celulares do tecido renal. Nestas condições de degranulação, os PMN não são facilmente identificados por técnicas histológicas, sendo a atividade da MPO um dos métodos mais sensíveis.

Quando se avalia a participação dos PMN na injúria renal, através de estudos com depleção linfocitária, encontramos resultados bastante conflitantes. Kelly e cols. sugerem que dependendo da intensidade da depleção linfocitária pode-se ou não proteger o tecido renal da injúria isquêmica,⁶ ou seja, apenas uma pequena quantidade de PMN pode ser suficiente para exacerbar uma lesão previamente isquêmica.

Segundo Linas e cols.,⁷ o rim normal seria resistente ao ataque de PMN pré-ativados. Quando o tecido renal é submetido a injúria isquêmica leve, porém sem que os PMN estejam pré-ativados, o tecido também seria resistente, sugerindo que a associação entre isquemia renal e PMN pré-ativados deva ser necessária para provocar lesão renal. Neste estudo, apenas isquemia renal por um período de 10 minutos não provocou diminuição da filtração glomerular, porém este mesmo período de isquemia associado a perfusão com PMN pré-ativados promoveu uma diminuição significativa da filtração glomerular, fato que não foi observado quando se perfundiu este mesmo modelo com PMN inativos. Neste mesmo estudo, a utilização de inibidores de proteases, ou sequestradores de radicais livres de oxigênio, protegeu o tecido da agressão, demonstrando a participação de enzimas proteolíticas e radicais livres de oxigênio na injúria mediada pelos PMN.

Este estudo pode justificar uma situação clínica frequentemente observada na qual uma isquemia renal leve isolada muitas vezes não é suficiente para causar uma lesão renal isquêmica, porém a associação com nefrotoxinas ou situações que sabidamente promovem ativação dos PMN (sepse por germes gram negativos, SARA ou falência de múltiplos órgãos), podem acabar resultando em lesão renal.

Nos casos de isquemia isolada discute-se qual seria o mecanismo responsável pela ativação dos PMN. Vários mecanismos são considerados, entre eles a liberação de fatores solúveis do tecido isquêmico (fosfolípidos quimiotáticos, produtos do metabolismo da ciclo-oxigenase ou lipoxigenase), ou a participação de peptídeos liberados pela própria célula endotelial, endotelina -1 (ET-1) Neste contexto, Espinosa e cols.⁸ demonstraram que a utilização de anticorpo anti-ET-1

em modelo experimental de isquemia-reperfusão promoveu proteção funcional, diminuição da congestão vascular e diminuição da atividade da MPO. Este mecanismo pode ser justificado pela inibição da expressão do antígeno CD18 na superfície do PMN, que é estimulado pela ET-1.

Estratégias Anti-Adesão no Processo de Isquemia-Reperfusão

Em virtude do envolvimento dos PMN e moléculas de adesão no processo de injúria renal decorrente de isquemia-reperfusão, vários estudos estão sendo desenvolvidos na tentativa de bloquear as moléculas de adesão e com isto proteger o tecido renal frente à agressão isquêmica.

Um dos primeiros estudos neste sentido foi realizado submetendo vasos mesentéricos de gato a injúria de isquemia-reperfusão na presença ou não de um anticorpo (Ac) anti- β 2 integrina (CD11/CD18), resultando em diminuição da permeabilidade vascular.⁹

Várias estratégias estão sendo descritas no sentido de bloquear a expressão e/ou ativação das moléculas de adesão. A maioria dos autores vem utilizando anticorpos monoclonais, dentre eles os mais utilizados são: Ac anti-LFA-1 e Ac anti-ICAM-1. Segundo trabalho de Kelly e cols.,¹⁰ a utilização de um Ac. Anti-ICAM-1 promoveu proteção funcional frente a uma injúria isquemia-reperfusão, mesmo quando administrada duas horas após a perfusão. A utilização do Ac Anti-LFA-1 somente promoveu proteção quando associada a uma dose sub-protetora de Ac Anti-ICAM-1, demonstrando que a adesão dos PMN com receptores ICAM-1 nas células endoteliais provavelmente também é mediado por uma outra β 2-integrina que não o LFA-1, muito provavelmente o Mac-1. Resultados semelhantes também foram obtidos por Linas e cols.,¹¹ comprovando a importância das moléculas de adesão principalmente do ICAM-1, na fisiopatologia da IRA isquêmica.

Uma outra alternativa para se impedir a ativação e/ou expressão de moléculas de adesão, vem sendo a utilização de oligonucleotídeos antisense, bloqueando a transcrição do RNA mensageiro e, conseqüentemente, diminuindo a expressão destas. Neste sentido Haller e cols.¹² desenvolveram um estudo com oligonucleotídeo antisense para ICAM-1 e conseguiram demonstrar seu papel protetor. O uso de oligonucleotídeos antisense pode evitar qualquer potencial

P. S. L. Quintaes / I. L. Noronha - Revisão/Atualização em Insuficiência Renal Aguda

problema imunológico que possa ocorrer com o uso de Ac monoclonais, principalmente em terapêuticas que se façam necessárias de forma repetitiva.

Por fim, a inativação do gene para moléculas de adesão (“knock-out”) também pode ser utilizado para se avaliar a participação destas na injúria da isquemia-reperfusão. Kelly e cols. estudaram ratos *knock-out* para ICAM-1 e demonstraram seu papel protetor sobre a injúria da isquemia-reperfusão.¹³

Estudos clínicos utilizando Ac Anti-ICAM-1 estão sendo realizados em pacientes submetidos a transplante renal, com resultados bastante encorajadores.

Referências

- Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JB, Harrington JT. Hospital-acquired renal insufficiency: A prospective study. *Am J Med.* 1983; 74: 243-248
- Kaufman J, Dhakal M, Patel B, Hamburger R. Community-acquired acute renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1991; 17: 191-198
- Thiagarajan RR, Winn RK, Harlan JM. The role of leukocyte and endothelial adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury. *Thromb Haemost.* 1997; 78: 310-314
- Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell.* 1991; 67: 1033-6
- Saeki T, Kuroda T, Morita T, Suzuki K, Arakawa M, Kawasaki K. Significance of myeloperoxidase in rapidly progressive glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis.* 1995; 26: 13-21
- Kelly KJ, Williams Jr, WW, Colvin RB, Meehan SM, Springer TA, Gutiérrez-Ramos JC, Bonventre JV. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury. *J Clin Invest.* 1996; 97: 1056-1063
- Linas SL, Whittenburg D, Parsons PE, Repine JE. Mild renal ischemia activates primed neutrophils to cause acute renal failure. *Kidney Int.* 1992; 42: 610-616
- Espinosa G, Farré AL, Cernadas MR, Manzarbeitia F, Tan D, Digiuni E, Mosquera JR, Montón M, Millás I, Hernando L, Casado S, Caramelo C. Role of endothelin in the pathophysiology of renal ischemia-reperfusion in normal rabbits. *Kidney Int.* 1996; 50: 776-782
- Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of Neutrophils in ischemia-reperfusion induced microvascular injury. *Am J Physiol.* 1987; 253: 699-703
- Kelly KJ, Williams Jr, WW, Colvin RB, Bonventre JV. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984; 91: 812-816
- Linas SL, Whittenburg D, Parsons PE, Repine JE. Ischemia increases neutrophil retention and worsens acute renal failure: role of oxygen metabolites and ICAM 1. *Kidney Int.* 1995; 48: 1584-1591
- Haller H, Dragun D, Miethke A, Park JK, Weis A, Lippoldt A, Grob V, Luft FC. Antisense oligonucleotides for ICAM-1 attenuate reperfusion injury and renal failure in the rat. *Kidney Int.* 1996; 50: 473-480
- Rabb H, O'Meara YM, Maderna P, Coleman P, Brady HR. Leukocytes, cell adhesion molecules and ischemic acute renal failure. *Kidney Int.* 1997; 51: 1463-1468