



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ANDRÉ FILIPE PEREIRA DE ALMEIDA NAZARÉ

Resistência à Corticoterapia no Síndrome Nefrótico Pediátrico

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FARMACOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

CATARINA A. DOS REIS VALE GOMES

CARMEN CARMO C. FERREIRA

MARÇO/2017

Índice

Resumo/Palavras-Chave	3
Abstract/Keywords	4
Abreviaturas	5
I- Introdução	6
II- Materiais e Métodos	7
III- Resultados	8
1. Mecanismo de resistência	8
1.1. Receptores de Glucocorticóides.....	8
1.1.1. TNF- α	10
1.1.2. Receptores de glucocorticóides nos podócitos	10
1.2. <i>Heat Shock Protein 90 (HSP90)</i>	11
1.3. Genética	12
1.3.1. Gene WT1.....	12
1.3.2. Genes NPHS1 e NPHS2	12
1.3.3. Gene do <i>macrophage inhibitory factor (MIF)</i>	13
2. Abordagem Terapêutica	14
2.1. Estado da Arte.....	14
2.2. Novas terapêuticas	16
2.2.1. Pioglitazona	16
2.2.2. TNF- α	18

3. Predictores de resposta à corticoterapia	18
IV- Discussão e conclusão.....	20
V- Referências.....	26

Resumo

O síndrome nefrótico pediátrico é uma doença glomerular que tem associada graves sintomas e comorbilidades. A origem de algumas destas comorbilidades está na terapêutica utilizada e no facto de algumas destas crianças apresentarem resistência à mesma. Com esta revisão da literatura pretendeu-se perceber que mecanismos estão associados à resistência a corticóides, bem como apurar que mecanismos estão sob investigação no sentido de ultrapassar esta resistência. Para obtenção de literatura pertinente foi feita uma pesquisa, em bases de dados médicas, de estudos realizados entre 2006 e 2017. Existem vários mecanismos para a resistência existente. Alterações nos níveis dos GR têm sido a principal linha de investigação, sendo que estes se encontram diminuídos no SRNS, embora este resultado nem sempre tenha sido unanime. Recentemente, estas alterações têm-se verificado nas células renais, para além de estarem presentes nas células imunitárias. Outras vias investigadas foram o TNF- α , o HSP90 e o MIF, todos apresentando alterações na presença de SRNS. As vias genéticas apuradas não apresentaram relação com a resistência. Novas terapêuticas foram investigadas para contornar esta resistência. A Pioglitazona, um antidiabético, permitiu obter níveis iguais de redução de proteinúria com níveis inferiores de corticóides. Anticorpos anti-TNF- α permitiram regularizar os níveis de GR dos doentes. Também foram procuradas formas de prever a resposta à corticoterapia, com base em alguns indicadores, para tentar diminuir comorbilidades. Concluindo, a raridade da doença leva a dificuldades na investigação mas, ainda assim, é importante continuar a investigar novos mecanismos e melhorar o entendimento existente desta patologia para aumentar a qualidade de vida dos doentes.

Palavras-chave: Glucocorticóides; Síndrome Nefrótico; Pediatria; Receptores de Glucocorticóides; Tumor Necrosis Factor-alpha; Podócito; Tiazolidinediona; HSP90 Heat-Shock Proteins

Abstract

Paediatric nephrotic syndrome is a glomerular disease associated with severe symptoms and comorbidities. The origin of some of these comorbidities is in the therapeutic and in the fact that some of these children present resistance to the treatment. With this revision of literature we tried to understand what mechanisms are associated with glucocorticoid resistance, as well as what mechanisms are under investigation as ways to surpass this resistance. To obtain relevant literature we did a search, in medical databases, of articles from the years between 2006 and 2017. There are various mechanisms for the existence of resistance. Changes in the level of GR have been the principal line of investigation, being found reduced in SRNS, even if this result has not always been unanimous. Recently, these alterations were found in renal cells instead of only immunity system cells. Other pathways investigated were TNF- α , HSP90 and MIF, all of them presenting changes in SRNS. Genetic pathways found did not present relation with resistance. New therapeutics have been investigated to bypass this resistance. Pioglitazone, a type II diabetes drugs, has allowed an equal reduction of the levels of proteinuria with inferior levels of glucocorticoids. TNF- α antibodies righted the levels of GR in patients. Ways to predict the response to glucocorticoids based on some indicators were also searched as a method to reduce comorbidities. To conclude, the rarity of the disease led to difficulties in the investigation but, nonetheless, it is important to continue to research new mechanisms to better understand this pathology so that we can improve the quality of life of the patients.

Keywords: Glucocorticoids; Nephrotic Syndrome; Pediatrics; Glucocorticoid Receptors; Tumor Necrosis Factor-alpha; Podocytes; Thiazolidinediones; HSP90 Heat-Shock Proteins

Abreviaturas

FR- Recaídas Frequentes

GR- Receptor de Glucocorticóides

HSP90- *Heat Shock Protein 90*

IFR- Recaídas Infrequentes

KDIGO- *Kidney Diseases Improving Global Outcome*

MIF- *Macrophage Inhibitor Factor*

SRNS- *Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome*

SSNS- *Steroid-Sensitive Nephrotic Syndrome*

TNF- *Tumour Necrosis Factor*

TZD- tiazolidinedionas

I- Introdução

O Síndrome Nefrótico é uma doença do glomérulo caracterizada pelo aparecimento de proteinúria intensa, hipoalbuminúria, edema e dislipidemia.¹ Esta proteinúria intensa é caracterizada por valores superiores a 3,5g na urina das 24 horas.² Este síndrome pode ter uma causa idiopática, denominando-se de síndrome nefrótico primário, ser secundário a doença extra-renal ou ser hereditário.

No caso específico da Pediatria, a maioria dos casos são de causa idiopática, sendo a principal lesão encontrada a doença de lesões mínimas na qual apenas são encontradas alterações podocitárias na microscopia electrónica. Estas alterações vão condicionar um aumento da permeabilidade da parede dos glomérulos. Para além desta lesão, também é possível observar em algumas crianças esclerose focal e segmentar dos glomérulos, entidade patogénica com maior probabilidade de corticoresistência (50%).³ Envolvido na patogénese da doença está o sistema imunitário, razão pela qual a principal terapêutica é a corticoterapia.²

Epidemiologicamente, esta doença varia de acordo com a raça, idade e geografia. A sua incidência anual é de cerca de 1 a 3 novos casos/ano por 100 000 crianças, tendo uma prevalência de 16 casos por 100 000 crianças. Este valor é mais elevado nas comunidades asiáticas e existe maior incidência em crianças do sexo masculino.¹

Como referido a principal terapêutica da patologia é a corticoterapia, nomeadamente a administração de prednisolona ou prednisona, de forma a prevenir a progressão da lesão renal. De acordo com as guidelines de KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) o tratamento deve durar de 8 semanas a 5 meses com doses de prednisolona de 60mg/m² por dia durante 4 semanas e doses de 40mg/m² em dias alternados durante o restante tempo com desmame progressivo.³

Contudo, apenas cerca de 80-90% dos doentes entram em remissão completa e mesmo este grupo apresenta recidivas da doença. Estes doentes são designados como tendo *steroid sensitive nephrotic syndrome (SSNS)*. Metade destas crianças com recidivas são designadas por *frequently relapsing* ou corticodependentes o que significa que têm recidivas pouco depois de parar com a terapia.³ As crianças que nunca chegam a entrar em remissão são designadas como *steroid resistant nephrotic syndrome (SRNS)*. Isto implica a existência de um grande número de crianças que continuam sintomáticas ou que têm de lidar com os efeitos secundários das doses elevadas de corticóides e dos fármacos de segunda-linha imunossupressores que são utilizados para tentar ultrapassar a resistência.

Assim, estas crianças vão apresentar sinais de complicações como hipovolémia, doença renal aguda, infecções, trombozes, atrasos no crescimento, doença renal crónica ou sinais do efeito de altas doses ou longo tratamento com corticóides tais como atrasos no crescimento, osteoporose, ganho de peso, hipertensão, alterações comportamentais, hirsutismo ou um síndrome cushingoide.¹

O objectivo principal deste trabalho é fazer uma revisão da literatura relativa aos mecanismos subjacentes à resistência a corticosteróides no síndrome nefrótico e aos mecanismos que estão sob investigação no sentido de ultrapassar esta resistência, para assim contribuir para a melhoria da qualidade de vida destes doentes.

II- Materiais e Métodos

Na elaboração desta revisão, para avaliar a correlação entre síndrome nefrótico e resistência à corticoterapia, foi utilizada a base de dados médicos e científicos PUBMED. Foi feita uma pesquisa, em Fevereiro de 2017, englobando os últimos dez anos, tendo como palavras-chave: síndrome nefrótico (*nephrotic syndrome*); corticosteróides (*glucocorticoids*). Apenas foram utilizados, para a elaboração deste trabalho, artigos de língua inglesa.

A selecção dos artigos científicos foi feita de acordo com a sua relevância para os objectivos desta revisão. Assim, de 763 artigos identificados pela base de dados, 17 foram utilizados.

Para além da pesquisa de artigos foram consultados alguns livros e *guidelines* para esclarecer mecanismos, definições e dados epidemiológicos das patologias.

III- Resultados

1. Mecanismo de resistência

1.1. Receptores de Glucocorticóides

Os glucocorticóides são usados no síndrome nefrótico pois têm um efeito imunossupressor, reduzindo assim um dos possíveis mecanismos para o desenvolvimento da doença. Nas células, os corticóides vão entrar para o citoplasma e exercer a sua acção ligando-se aos receptores de glucocorticóides (GR) nele presentes. A ligação aos GR leva à sua translocação para o interior do núcleo e à activação da transcrição génica que vai ter um efeito imunossupressor ou de inibição de genes pró inflamatórios.⁴ A sensibilidade celular aos corticóides é influenciada pela estrutura dos GR, a sua afinidade pelos ligandos, a velocidade de translocação para o núcleo e a sua capacidade de activar a resposta.⁵

Um dos primeiros mecanismos investigados para a existência de resistência nas doenças imunomediadas foram as diferenças no número, distribuição e expressão de GR específicos.⁴ A relação entre as alterações na expressão de GR e o efeito dos corticóides tem sido investigada em diversas doenças mas os resultados têm-se apresentado ambíguos. Hammad et al., em 2013, usaram a citometria de fluxo para identificar a diferença de expressão de GR em linfócitos (CD3+) e monócitos (CD14+) no sangue periférico de crianças com SSNS e SRNS. Num estudo que envolveu 71 crianças, concluíram que crianças que apresentavam resistência à corticoterapia tinham níveis de expressão de GR, quer em

monócitos quer em linfócitos, inferiores aos presentes nas crianças SSNS. Já estas últimas apresentaram níveis de GR semelhantes aos presentes em crianças que pertenciam ao grupo de controlo. Estes resultados foram obtidos previamente ao início da terapia com glucocorticóides pelo que o efeito da diminuição de GR não pode ser atribuído a esta.⁴

Anteriormente, em 2012, Sherein et al. fizeram um estudo semelhante envolvendo 60 crianças, dividindo-as desta vez entre *early responders* (crianças que entraram em remissão completa até ao fim de 4 semanas de tratamento) e *late responders* (crianças cuja remissão completa apenas se deu depois de 4 semanas de tratamento) e investigando se os níveis de GR expressados em linfócitos seriam diferentes entre os grupos. Investigaram também se o intervalo de tempo entre o início da terapia com corticóides e a remissão completa estaria correlacionado com os níveis de receptores. Os resultados do estudo permitiram concluir que os níveis de GR eram inferiores nas crianças *late responders* comparativamente a crianças *early responders* e que existia relação entre os níveis de receptores e o tempo até à remissão, sendo este maior quanto menor fosse o número de linfócitos contendo receptores. No entanto, não foi possível estabelecer uma relação entre os níveis de GR e o rácio Albumina/Creatinina urinárias. Este estudo permitiu concluir que o nível de GR pode ser usado como um preditor precoce da resposta que estas crianças vão ter à corticoterapia e, como tal, a evolução futura da doença nestas crianças.⁶

Previamente, Chen et al. investigaram se os níveis de GR podiam ser auto-induzidos nas células mononucleares do sangue periférico e se uma incapacidade de fazer esta regulação estava relacionada com a resistência à corticoterapia. Com este estudo concluiu-se que de facto existe um aumento de GR com a corticoterapia *in vitro*. No entanto, não foram identificadas diferenças significativas na expressão total de receptores de glucocorticóides quer a nível proteico quer a nível de mRNA entre SSNS e SRNS concluindo-se, portanto, que

a diferença de resposta entre os diferentes doentes não pode advir do número de receptores nem da sua capacidade para ser regulados.⁷

1.1.1. TNF- α

Liang et al. seguiram esta linha de investigação e decidiram pesquisar os níveis de dois subtipos de GR, α e β , bem como a concentração e efeito do TNF- α (*Tumour Necrosis Factor*) no mRNA e expressão proteica dos GR. O TNF- α é uma citocina inflamatória vital na regulação da eficácia dos glucocorticóides. Com este estudo, observou-se que os níveis séricos de TNF- α eram iguais entre doentes sensíveis à corticoterapia e o grupo de controlo. Já os doentes com recaídas tinham níveis significativamente mais elevados desta citocina comparativamente aos outros grupos. Relativamente aos níveis de GR, verificou-se que estes eram semelhantes entre o grupo de controlo e os doentes estáveis, enquanto que em doentes com recaídas existiam níveis significativamente mais baixos de GR α e níveis significativamente mais altos de GR β .⁸ Pode-se assim concluir que as diferentes isoformas de GR e o TNF- α estão envolvidos na recorrência do síndrome nefrótico e como tal podem ser futuros alvos de terapêuticas dirigidas.

1.1.2. Receptores de glucocorticóides nos podócitos

Como se pode observar, apesar do seu uso frequente, nem as células alvos nem os mecanismos de acção dos corticóides é completamente entendido. Mais recentemente, tem sido investigada a presença de receptores de glucocorticóides em células glomerulares nomeadamente nos podócitos. A acção *in vitro* de corticóides nestas células tem um efeito protector, impedindo a sua apoptose e mantendo integra a barreira de filtração glomerular. Gamal et al. decidiram aplicar o modelo utilizado em estudos anteriores e investigar se o nível de receptores de glucocorticóides nos podócitos, e não nas células mononucleares do sangue periférico, está relacionado com a resistência aos corticóides. Para tal, escolheram 51 crianças

com síndrome nefrótico idiopático que tinham feito biopsia renal de modo a poder associar os níveis de receptores de corticóides ao tipo histológico da doença para além da sua resposta clínica. Deste estudo retiraram três conclusões: i) SRNS tinham uma expressão de GR glomerulares muito baixa ou até mesmo inexistente quando comparados com SSNS ou com o grupo de controlo; ii) a expressão de GR é mais elevada em *early responders* quando comparada com *late responders* e SRNS; iii) relativamente ao tipo histológico a doença de lesões mínimas tinha expressão muito mais elevada quando comparada com a glomerulosclerose focal e segmentar. Estes resultados reforçam a ideia da importância das diferenças da expressão dos receptores nas diferentes evoluções clínicas desta doença.⁵

1.2. Heat Shock Protein 90 (HSP90)

Outra molécula que foi investigada para avaliar a sua relação com a resistência à corticoterapia foi *Heat Shock Protein 90 (HSP90)*. Esta molécula é a proteína chaperone dos GR, mantendo-os num estado parcialmente enovelado e fazendo com que estes tenham uma alta afinidade à ligação com os corticóides. Também é importante na translocação e posterior transcrição dos receptores de corticóides no núcleo. Ouyang et al. utilizaram um grupo de 51 doentes com síndrome nefrótico idiopático e determinaram que a expressão de mRNA de HSP90 é menor nos indivíduos saudáveis e mais elevada nos indivíduos com SRNS. A distribuição das moléculas dentro da célula também foi diferente. No grupo de controlo e de doentes com SSNS o HSP90 encontrava-se maioritariamente no citoplasma enquanto que nos doentes com SRNS a distribuição era maior no núcleo das células. De salientar que neste estudo não foi encontrada diferença significativa entre os níveis de GR dos diferentes grupos.⁹

1.3. Genética

Outra perspectiva que tem sido abordada nesta patologia são as alterações genéticas. Para além de poderem estar presentes nas variantes secundárias de síndrome nefrótica também se tem investigado a sua presença no síndrome nefrótico idiopático.¹⁰

1.3.1. Gene WT1

Um estudo envolveu o gene WT1, que está localizado no braço curto do cromossoma 11, desempenhando um papel essencial no desenvolvimento dos sistemas renal e genital e estando associado a SRNS síndrómico, ou seja com outras manifestações para além das renais. Tentou-se verificar se a pesquisa de mutações neste gene deveria ser feita por rotina em doentes com síndrome nefrótica idiopática resistente à corticoterapia, visto terem sido previamente identificadas mutações em algumas crianças com esta doença. Para tal entraram neste estudo 35 crianças com SRNS sem história familiar ou prévia de doença renal e sem outros sintomas ou anormalidades genéticas que fizessem suspeitar de uma variante síndrómica. Das 35 crianças apenas uma apresentava uma mutação do gene WT1 enquanto nas restantes apenas se verificaram polimorfismos deste gene, algo que também estava presente em elementos do grupo de controlo. Adicionalmente não se previu que a mutação que foi encontrada causasse alterações nos mecanismos de *splicing* não podendo, por isso, originar patologia. Assim a recomendação deste estudo foi que não se fizesse a pesquisa por rotina desta mutação.¹⁰

1.3.2. Genes NPHS1 e NPHS2

Outros genes que têm sido identificados como causa de síndrome nefrótica familiar e que estão mutados em alguns casos de síndrome nefrótica idiopática são o NPHS1 e NPHS2. O NPHS1 codifica a nefrina, uma imunoglobulina que é expressada nas fendas de filtração entre podócitos e que promove a adesão entre estes, e está relacionado com uma variante

autossômica recessiva de síndrome nefrótica congénito. O NPHS2 codifica a podocina, uma proteína membranar expressada exclusivamente nos podócitos, e que está associada ao SRNS autossômico recessivo.¹¹ Kitamura et al. investigou 15 famílias asiáticas que tinham SRNS, concluindo que nenhuma delas tinha associação com estes genes. Isto contrariou os estudos com famílias europeias que continham essas mesmas mutações, sugerindo assim a presença de heterogeneidade não-alélica e étnica.¹¹

Em 2007, Schwaderer et al. investigaram a presença de mutações no NPHS2, causa de SRNS autossômico recessivo e de SRNS idiopático em 10-30% dos casos, em crianças com SSNS que desenvolveram resistência tardia aos corticóides (ausência de remissão após 4 semanas apesar de resposta prévia aos corticóides). Nenhuma das 8 crianças que foram estudadas apresentou mutações causativas para esta patologia, existindo apenas alguns polimorfismos destes genes. Verificaram, assim, que esta doença não estaria associada a este gene e que no seu comportamento assemelhava-se mais a SSNS do que a SRNS.¹²

Mais tarde, em 2009, investigadores do Irão procuraram avaliar a frequência e o espectro de mutações na podocina em crianças com SRNS. Dentro do grupo de 20 crianças que foi escolhido 5 tinham síndrome nefrótica congénito e 15 síndrome nefrótica idiopático. Apesar de novamente existir a referência a estudos anteriores que associavam esta mutação a SRNS nenhuma das vinte crianças apresentava qualquer mutação neste gene. Como razão para estas diferenças nos resultados os investigadores referem o número pequeno de crianças estudadas e o facto de apenas 2 exões do NPHS2 terem sido pesquisados comparativamente com estudos maiores.¹³

1.3.3. Gene do *macrophage inhibitory factor* (MIF)

Ramayani et al. decidiram seguir outro caminho de intervenção investigando a forma como polimorfismos no gene do *macrophage inhibitory factor* (MIF) afectam os seus níveis.

Esta proteína tem um papel na origem do dano renal de duas formas: estimula a produção de muitos mediadores inflamatórios e actua como um antagonista dos glucocorticóides. Neste estudo procurou-se averiguar se a presença de um polimorfismo único de um nucleótido deste gene (alelo C) poderia estar relacionado com níveis séricos de MIF mais altos. Para tal seleccionaram 120 crianças divididas de forma igual em três grupos (SSNS, SRNS e controlo). Verificaram que os níveis de MIF eram mais elevados nos doentes com SRNS do que nos outros, bem como era mais elevada a presença do alelo C neste grupo. Ainda assim não foi possível associar a presença do alelo C com níveis séricos mais elevados de MIF. Apesar de não ter sido comprovada a hipótese em estudo os investigadores realçam a importância de procurar uma terapêutica direccionada ao MIF, dado o seu papel pró-inflamatório e como contra-regulador da actividade dos glucocorticóides.¹⁴

2. Abordagem Terapêutica

2.1. Estado da Arte

Para além da abordagem terapêutica do síndrome nefrótico sensível a corticóides existem terapêuticas e intervenções que se podem realizar para tratar doentes que tenham uma forma da doença com respostas mais difíceis à corticoterapia, com mais recaídas ou mesmo síndrome nefrótico resistente à corticoterapia.

Em 2009, nos Estados Unidos da América, foi feito um estudo para avaliar os modelos utilizados pelos clínicos para intervir nesta doença. Este estudo foi feito para confirmar a adequação da conduta clínica perante o síndrome nefrótico idiopático. Através deste trabalho foram encontradas diversas inconsistências na abordagem desta patologia desde a duração do tratamento inicial com corticosteróides, a diferenças na escolha de terapêutica imunossupressora de segunda-linha e na indicação para biópsia. Os investigadores referem como surpreendente o facto de ainda não existir consenso sobre a duração da terapêutica

inicial apesar da riqueza da literatura sobre este tópico, que menciona como mais favorável uma duração mínima de tratamento de 12 semanas, sendo que tal está associado a um menor número de recaídas frequentes e a uma duração de remissão sustentada mais elevada. Atribuem estas diferenças a um ceticismo por parte dos nefrologistas, pois os estudos são baseados em grupos de doentes diferentes da população americana, com número pequeno de elementos e com pouco tempo de seguimento. Relativamente à terapêutica de segunda-linha em doentes com recaídas frequentes ou corticodependência associam as diferenças à pobreza de estudos que permitam guiar a intervenção nesta área. Sobre a biopsia renal e a sua implicação no tratamento também foi inexistente uniformidade. Dados todos estes factos, são recomendadas duas abordagens para melhorar a intervenção nesta patologia: i) estudos prospectivos, multi-centro de forma a avaliar a morbilidade e comorbilidade destas crianças; ii) desenvolvimento de estratégias de tratamento e de monitorização a longo prazo que sejam uniformes e baseadas em estudos clínicos randomizados.¹⁵

A KDIGO publicou em 2012 um conjunto de *guidelines* para a abordagem da doença glomerular, na qual se inclui o síndrome nefrótico. Para além da terapêutica para a SSNS, também são incluídas neste guia linhas de tratamento específico para *frequente relapsers* e doentes corticodependentes bem como para doentes com síndrome nefrótico resistente à corticoterapia. Na abordagem de doentes com recaídas frequentes e corticodependentes devem-se associar agentes que permitam diminuir a dose necessária de corticóides para atingir a remissão, de modo a evitar os efeitos adversos relacionados com os corticóides. Os exemplos utilizados nesta *guideline* são agentes alquilantes como a ciclofosfamida e o clorambucil, levamisole, inibidores da calcineurina como a ciclosporina e o tacrolimus ou, por fim, o micofenolato de mofetil.³

Relativamente às biopsias renais estas estão recomendadas em doentes que desenvolvam resistência tardia aos corticóides depois de ter existido resposta, suspeita de

patologia subjacente ao síndrome nefrótico e diminuição da função renal em crianças tratadas com inibidores da calcineurina.³

Nas crianças com SRNS, o diagnóstico deve ser confirmado pela ausência de resposta após 8 semanas de tratamento com corticóides. Deve ser feita, de seguida, uma biópsia renal diagnóstica, uma avaliação da função renal através da taxa de filtração glomerular e avaliação do grau de gravidade da doença através da quantificação da excreção urinária de proteína. Como terapêutica recomendam a utilização de inibidores da calcineurina como tratamento de primeira linha nestes doentes por um mínimo de 6 meses, em conjunto com um inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA) ou um antagonista do receptor da angiotensina (ARA). Como segunda linha, caso esta terapêutica não funcione recomendam a utilização de micofenolato de mofetil. Neste doentes, a utilização de ciclofosfamida não é recomendada.³

2.2. Novas terapêuticas

2.2.1. Pioglitazona

Para além das terapêuticas referidas que já são recomendadas, outros mecanismos têm sido investigados para tentar reduzir ao mínimo a incidência de resistência. Agrawal et al. reconheceram que a terapêutica com glucocorticóides é ineficaz numa parte dos doentes e que traz consigo efeitos secundários para os doentes. A agravar esta situação está o facto dos agentes alternativos utilizados hoje em dia serem pouco eficazes e também trazerem consigo graves efeitos secundários. Dados estes factos decidiram utilizar as tiazolidinedionas (TZD), fármacos aprovados para o tratamento de diabetes melitus tipo II, como terapêutica adjuvante aos corticóides. Esta classe de fármacos tem vindo a ser associada a um atraso na progressão da nefropatia diabética, e a uma redução da proteinúria sendo que o mecanismo pelo qual consegue estas protecções ainda não é compreendido. Estudos laboratoriais recentes revelaram também que os TZD têm efeitos protectores em modelos animais de nefropatia,

bem como em danos podocitários directos. Adicionalmente, tanto os TZD como os corticóides têm uma via molecular semelhante e um efeito podocitário directo, pelo que têm sido verificados fenómenos de sinergismo entre os dois.¹⁶ Com base nesta informação, decidiram investigar se seria possível tirar proveito desta interacção de modo a potenciar os efeitos de redução da proteinúria que advém dos corticóides. Para tal, testaram a capacidade da pioglitazona proteger e aumentar a eficácia dos glucocorticóides em ratos com síndrome nefrótico induzido, analisaram que mecanismos de sinalização estariam envolvidos nesta interacção e testaram o potencial da pioglitazona aumentar a eficácia dos corticóides no tratamento de uma criança com síndrome nefrótico refractário.¹⁶

Tanto o tratamento isolado com corticóides em altas doses como o tratamento isolado com pioglitazona resultaram numa redução dos valores de proteinúria, 79% e 61% respectivamente. Foram demonstrados efeitos protectores nos podócitos com restauração do citoesqueleto de actina e viabilidade celular. Quando se associou a pioglitazona aos corticóides houve um aumento significativo da redução da proteinúria. Pioglitazona em conjunto com baixas doses de corticóides permitiu uma redução de 63% na proteinúria, estatisticamente comparável à redução com altas doses de corticóides, apesar de uma redução de 67% na dose de corticóides. Quando se associou a pioglitazona a altas doses de corticóides a redução da proteinúria foi de 97%, atingindo praticamente níveis normais de controlo.¹⁶

Também foi possível visualizar neste estudo que o tratamento restaurou os níveis de sinaptopodina, bem como aumentou os níveis de expressão glomerular de mRNA de NPHS1 (que codifica a nefrina), ao mesmo tempo que reduzia os níveis de PTGS2 (que codifica a COX-2, enzima pró inflamatória).¹⁶

Finalmente, ao adicionar a pioglitazona ao esquema de tratamento de uma criança com síndrome nefrótico refractário verificaram-se reduções marcadas quer na proteinúria quer na

imunossupressão geral sugerindo que este medicamento pode ser reorientado para o tratamento do síndrome nefrótico.¹⁶

2.2.2. TNF- α

No estudo que Liang et al. fizeram, e que já foi referido neste trabalho, para além de pesquisarem os níveis de GR e de TNF- α também pesquisaram que efeitos teriam a administração de TNF- α , de metilprednisolona e de anticorpos monoclonais TNF- α nestes níveis. Após a administração de TNF- α , os níveis de GR e de proteínas GR β ficaram mais elevados em todos os grupos, comparativamente aos seus valores quando nada foi administrado. Quando administrado TNF- α e anticorpos, estes valores voltaram para níveis normais. Já os níveis de proteínas GR α tiveram um comportamento totalmente inverso no grupo com síndrome renal recorrente, diminuindo e voltando ao normal com a administração de anticorpos. Quando se associou metilprednisolona o efeito foi semelhante.⁸

Ao fazer o tratamento apenas com anticorpos os níveis de GR e de proteínas GR β permaneceram sem diferenças significativas em quase todos os grupos. No grupo com síndrome renal recorrente os níveis de GR α aumentaram e os níveis de GR β diminuíram.

3. **Predictores de resposta à corticoterapia**

Foram realizados alguns estudos com o objectivo de encontrar formas de prever a resposta que os doentes vão ter à corticoterapia e assim diminuir os efeitos secundários do excesso de doses. Em 2016, foi desenvolvido um estudo com o objectivo de observar se a sensibilidade a corticóides *in vitro* de células mononucleares do sangue estava associada a resposta clínica à corticoterapia em crianças com síndrome nefrótica. A primeira constatação relatada foi uma grande variabilidade interpessoal na sensibilidade *in vitro* à metilprednisolona. Concluíram também que doentes com corticodependência ou com recaídas frequentes apresentavam uma resposta *in vitro* mais elevada após 4 semanas de tratamento.

Por fim, os doentes com resistência à corticoterapia apresentaram uma sensibilidade *in vitro* diminuída desde o início.¹⁷

Outro estudo que procurou verificar se existia uma relação entre a sensibilidade aos corticóides e os efeitos terapêuticos e adversos da prednisolona em crianças com síndrome nefrótica foi desenvolvido em 2013 por Teeninga et al. Neste identificaram diferentes haplótipos de GR: o haplótipo GR-9 β que apresenta sensibilidade reduzida aos corticóides e o haplótipo *BclI* que apresenta sensibilidade aumentada. Crianças com um ou dois alelos destes haplótipos foram designadas como portadoras desse haplótipo enquanto que as crianças que não tinham nenhum alelo eram designadas por não portadoras. Crianças portadoras do haplótipo GR-9 β apresentavam pior prognóstico terapêutico do que as não portadoras tendo tido um número mais elevado de primeiras recaídas, um tempo menor até à primeira recaída, maior taxa de recaídas frequentes e também uma maior taxa de doentes corticodependentes. Os portadores do haplótipo *BclI* não apresentam diferenças significativas relativamente aos não portadores. Os efeitos secundários também não apresentaram diferenças entre os portadores de diferentes haplótipos e não portadores.¹⁸

Neste estudo foi também feito um teste de supressão com dexametasona. Não foram identificadas diferenças nos níveis de cortisol pós supressão relacionadas com o sexo, a idade de aparecimento da doença ou o regime inicial de tratamento. O efeito da terapêutica também não pareceu estar relacionado com os níveis de cortisol pós supressão, não existindo correlação com o número de dias até à remissão, o tempo até à primeira recaída, ou o número de recaídas por ano de acompanhamento da doença. Finalmente, os efeitos secundários também não apresentavam relação com os níveis de cortisol pós supressão.¹⁸

Por último, Ali et al. investigaram os factores preditivos para recaídas em crianças com SSNS incluindo num estudo retrospectivo 80 crianças e dividindo-as em dois grupos:

com recaídas frequentes (FR) e com recaídas infrequentes (IFR). Os factores pesquisados como possíveis preditores foram: i) género; ii) idade; iii) local de residência; iv) presença inicial de hematúria; v) função renal; vi) tempo até resposta à corticoterapia; vii) duração da corticoterapia. No que toca ao género o sexo feminino tinha maior prevalência nos FR embora tal diferença não fosse significativa estatisticamente. Relativamente ao local de residência havia mais crianças moradoras em zonas urbanas no grupo FR sendo que novamente tal diferença não era estatisticamente relevante. Doentes que se apresentavam com hematúria tinham prevalência estatisticamente maior no grupo FR. Sobre o tempo de resposta à corticoterapia a maioria dos doentes que respondeu em menos de duas semanas pertencia ao grupo IFR enquanto doentes que demoraram de duas a quatro semanas pertenciam maioritariamente ao grupo FR. Estas diferenças foram estatisticamente relevantes. Também a duração do tratamento foi diferente em ambos os grupos com tratamentos mais prolongados em doentes IFR. Os restantes factores não demonstraram diferenças estatisticamente relevantes.¹⁹

IV- Discussão e conclusão

O síndrome nefrótico é uma doença com consequências graves para a criança, principalmente nas formas em que é difícil controlar a patologia. Nos casos de síndrome nefrótico resistente à corticoterapia entre um terço a metade das crianças acabam por desenvolver doença renal terminal.^{3,20} Para além disso, a terapêutica existente cursa com efeitos adversos consideráveis, que têm consequências na qualidade de vida destas crianças. Para além dos efeitos secundários da corticoterapia, também os fármacos imunossupressores têm efeitos adversos causados pela sua citotoxicidade. Ainda assim, a diminuição da proteinúria pode ter um efeito benéfico a curto e longo prazo suficientemente forte para

ultrapassar os efeitos secundários causados pelos fármacos. Tal decisão deve ser feita pelo clínico caso a caso.

O principal obstáculo que se tem posto na investigação desta doença é a sua relativa raridade. O número de doentes é muito pequeno para fazer grandes estudos randomizados e ainda menor é o número dos diferentes fenótipos presentes. Visto que a prevalência é de apenas 16 casos por 100.000 crianças e de cerca de 90% ter resposta à corticoterapia percebe-se que estudar casos com resistência seja muito difícil. A maioria dos estudos que foram feitos com grupos de crianças de apenas um hospital.^{4,6,8} Ainda que muitos destes estudos tenham sido feitos com um carácter prospectivo, utilizando amostras de crianças no momento do seu diagnóstico¹³, não existem quase nenhuns estudos que acompanhem a evolução da doença ou estudos clínicos randomizados. Alguns estudos fizeram também testes *in vitro* ou em modelos animais pelo que existe a possibilidade de esses dados não se reflectirem na prática clínica.

Os investigadores têm tentado encontrar razões para a existência da resistência à corticoterapia nesta patologia. A principal linha de investigação que tem sido seguida é a influência que os receptores dos corticóides, existentes nas células mononucleares sanguíneas e mais recentemente descobertos em células renais, têm nos fenómenos de resistência. Foram investigadas alterações no seu número, distribuição, bem como diferenças na sua conformação e expressão.

Apesar de não ter sido um resultado universal a primeira alteração relatada foi que os níveis de GR em crianças com SRNS e em crianças com atraso na remissão eram significativamente menores.^{4,6} Houve no entanto estudos que apresentaram resultados contrários, em que os níveis em todos os grupos de síndrome nefrótica eram iguais.^{7,9} Estes estudos avaliaram apenas os níveis de GR em células mononucleares do sangue periférico.

Ainda que os resultados não sejam totalmente coerentes, terapêutica que pudesse ser dirigida especificamente aos GR no sentido de os modelar e aumentar os seus níveis nestas patologias poderia ter um efeito benéfico quer na redução da sintomatologia, quer na redução de efeitos adversos pois possivelmente poderiam permitir uma redução nas dosagens de corticóides ou no uso de outros fármacos mais citotóxicos. Assim recomenda-se que sejam feitos mais estudos no sentido de perceber que mecanismos regulam estes receptores e de que formas podemos actuar sobre eles.

Mais recentemente, e aproveitando novos dados que revelaram que os receptores de corticóides também estariam presentes nas células renais, foram pesquisados os níveis de GR em podócitos de crianças com esta patologia. À semelhança dos dados encontrados nas células sanguíneas também as células renais apresentavam menor número de GR em doentes com SRNS do que em doentes com SSNS e os doentes com resposta mais tardia à corticoterapia tinham também níveis mais baixos do que os doentes com resposta mais precoce.⁵

O paradigma de intervenção desta doença tem sido dirigido no sentido de modular os factores patogénicos relacionados com o sistema imunitária. Como se pode verificar, talvez os efeitos da corticoterapia sejam locais para além de sistémicos. Aconselha-se assim o desenvolvimento de estratégias que sejam direccionadas especificamente para os podócitos de forma a que seja reduzida a componente sistémica da terapêutica e deste modo reduzidos os efeitos secundários.

Outro mecanismo que foi investigado como origem para a resistência foi o TNF- α , citocina pró-inflamatória. Também foi avaliada a sua influência nos níveis dos diferentes tipos de GR. Verificou-se que doentes com resistência apresentavam níveis de TNF- α mais elevados que nos restantes grupos. Também se viu que doentes com mais recaídas tinham

níveis de um dos subtipos de GR mais elevados que os outros doentes e de outro subtipo inferiores, facto que foi demonstrado como sendo causado pelo TNF- α . Quando testada a administração concomitante de anticorpos anti TNF- α os níveis dos diferentes subtipos de GR voltaram ao normal.⁸

Estes resultados sugerem que o TNF- α pode estar envolvido na recorrência do síndrome nefrótico e assim devem ser investigados tratamentos especificamente direccionados contra o TNF- α de modo a perturbar a resposta inflamatória e a sua amplificação e com isso aumentar a reactividade aos corticóides em alguns doentes.

Concluindo os mecanismos de resistência foi feito um estudo no qual se averiguou o papel da HSP-90, uma proteína chaperone dos receptores dos corticóides, nos fenómenos de resistência. Foi verificado que os níveis de HSP-90 eram mais elevados em doentes com SRNS e que nestes doentes esta proteína se encontrava maioritariamente no núcleo em vez de estar no citoplasma como nos restantes grupos. Atribuíram tal facto a uma menor ligação desta proteína aos receptores de glucocorticóides e assim a uma diminuição da sua eficácia. Como tal, a intervenção neste campo pode ser uma abordagem a considerar nos casos de resistência e merece ser investigada.⁹

Relativamente a causas de resistência de origem genética nenhum dos estudos que tentou observar a presença de mutações em WT1, NHPS1 e NHPS2 nesta patologia conseguiu correlacionar as mesmas com a existência de resistência à corticoterapia.¹⁰⁻¹³ Estudos efectuados no sentido de avaliar o papel do MIF, uma proteína estimuladora de factores inflamatórios e antagonista dos glucocorticóides, na resistência à corticoterapia incluíram a hipótese de que uma mutação num alelo específico poderia estar relacionada com níveis mais elevados de MIF. Embora esta hipótese não tenha sido verificada, os níveis de MIF eram mais

elevados em doentes com resistência à corticoterapia pelo que se deve investir em formas de reduzir os seus níveis.¹⁴

Foram relatadas algumas diferenças na abordagem terapêutica que os clínicos tinham perante esta patologia quer em termos de duração de tratamento e utilização de métodos diagnósticos como em terapêuticas de segunda-linha e terapêuticas adjuvantes.¹⁵ Desde 2012 a KDIGO disponibiliza guidelines para o tratamento e a abordagem a doentes com esta patologia. Desta forma tenta-se uniformizar o tratamento e reduzir os erros causados por má conduta. As normas publicadas têm por base os estudos existentes até altura.³

Desde então novas abordagens têm sido investigadas. Para além da investigação feita com TNF- α , recentemente investigadores avaliaram se a pioglitazona, um fármaco usado na diabetes mellitus tipo II, seria benéfica como terapêutica adjuvante dos corticóides. Concluíram que esta, para além de ter um efeito de redução da proteinúria isoladamente, consegue ter um efeito sinérgico quando administrada com corticóides, conseguindo uma redução muito mais elevada da proteinúria com doses muito menores de corticóides. Atribuem esta mudança a um efeito protector renal e a uma redução nos mecanismos de inflamação.¹⁶

Os investigadores decidiram também usar a pioglitazona como terapêutica adjuvante numa criança com síndrome nefrótica com recaídas frequentes tendo obtido novamente uma melhoria significativa da proteinúria. Designaram esta translação dos resultados como “provocativa ainda que anedótica”.¹⁶

A investigação de novas terapias e novos fármacos para o tratamento do síndrome nefrótico é uma das intervenções mais importantes que podemos ter na doença pois estas acabam por ter um efeito directo no curso da doença e nos efeitos secundários que a mesma pode desenvolver.

Por fim é de salientar a importância que os mecanismos e as estratégias para prever a resposta aos corticóides podem ter utilidade na redução das comorbidades destes doentes ao permitir adaptar a terapêutica utilizada caso-a-caso o mais precocemente possível. Entre os possíveis factores estudados para prever a resposta incluem-se a resposta *in vitro* à corticoterapia¹⁷, a presença de certos haplótipos de GR¹⁸, a apresentação de hematuria como sintoma inicial, a duração do tratamento com corticóides e o tempo necessário até obter resposta com os mesmos.¹⁹

V- Referências

1. Niaudet P, Boyer O. *Idiopathic Nephrotic Syndrome in Children: Clinical Aspects*. 20th ed. (Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N, Emma F, Goldstein SL, eds.). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016.
2. Kliegman RM, Bonita, Stanton, Geme J St., Schor NF. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 20th ed. Elsevier; 2016.
3. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO Clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Kidnet International Supplements*. 2012;2(2):1–274.
4. Hammad A, Yahia S, Gouida MS, Bakr A, El-Farahaty RM. Low expression of glucocorticoid receptors in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*. 2013;28(5):759–763.
5. Gamal Y, Badawy A, Swelam S, Tawfeek MSK, Gad EF. Glomerular Glucocorticoid Receptors Expression and Clinicopathological Types of Childhood Nephrotic Syndrome. *Fetal and Pediatric Pathology*. 2016;0(0):1–11.
6. Shalaby SA, El-Idrissy HM, Safar RA, Hussein ST. Glucocorticoid Receptors and the Pattern of Steroid Response in Idiopathic Nephrotic Syndrome. *Arab Journal of Nephrology and Transplantation*. 2012;5(1):13–17.
7. Chen P, Jiang T, Ouyang J, Cui Y. Glucocorticoid receptor auto-upregulation and its relation with glucocorticoid sensitivity in idiopathic nephrotic syndrome. *International Urology and Nephrology*. 2011;43(1):167–174.
8. Liang Y, Chen Y, Chen Y, Gong Y. Role of the glucocorticoid receptor in the recurrence of primary nephrotic syndrome. *Experimental and therapeutic medicine*.

- 2015;10(4):1556–1562.
9. Ouyang J, Jiang T, Tan M, Cui Y, Li X. Abnormal Expression and Distribution of Heat Shock Protein 90 : Potential Etiologic Immunoendocrine Mechanism of Glucocorticoid Resistance in Idiopathic Nephrotic Syndrome. *Clinical and vaccine immunology*. 2006;13(4):496–500.
 10. Yang Y, Zhao F, Tu X, Yu Z. Mutations in WT1 in boys with sporadic isolated steroid-resistant nephrotic syndrome. *Genetics and molecular research*. 2015;15(1).
 11. Kitamura A, Tsukaguchi H, Iijima K, Araki J, Hattori M, Ikeda M, Honda M, Nozu K, Nakazato H, Yoshikawa N. Genetics and clinical features of 15 Asian families with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2006;21:3133–3138.
 12. Schwaderer P, Knüppel T, Konrad M, Mehls O, Schärer K, Schaefer F. Clinical course and NPHS2 analysis in patients with late steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*. 2008;23:251–256.
 13. Otukesh H, Ghazanfari B, Fereshtehnejad SM, Bakhshayesh M, Hashemi M, Hoseini R, Chalian M, Salami A, Mehdipor L, Rahiminia A. NPHS2 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2009;3(2):99–102.
 14. Ramayani OR, Sekarwana N, Trihono PP, Sadewa AH, Lelo A. A genetic study of steroid-resistant nephrotic syndrome: relationship between polymorphism -173 G to C in the MIF gene and serum level MIF in children. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 2016;7(1):102–107.
 15. MacHardy N, Miles P V., Massengill SF, Smoyer WE, Mahan JD, Greenbaum L,

- Massie S, Yao L, Nagaraj S, Lin JJ, Wigfall D, Trachtman H, Hu Y, Gipson DS. Management patterns of childhood-onset nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*. 2009;24(11):2193–2201.
16. Agrawal S, Chanley M a., Westbrook D, Nie X, Kitao T, Guess a. J, Benndorf R, Hidalgo G, Smoyer WE. Pioglitazone Enhances the Beneficial Effects of Glucocorticoids in Experimental Nephrotic Syndrome. *Scientific reports*. 2016;6(May):24392.
17. Cuzzoni E, De Iudicibus S, Stocco G, Favretto D, Pelin M, Messina G, Ghio L, Monti E, Pasini A, Montini G, Decorti G. In vitro sensitivity to methyl-prednisolone is associated with clinical response in pediatric idiopathic nephrotic syndrome. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2016;100(3):1–7.
18. Teeninga N, Kist-van Holthe JE, van den Akker ELT, Kersten MC, Boersma E, Krabbe HG, Knoers NV a M, van der Heijden AJ, Koper JW, Nauta J. Genetic and in vivo determinants of glucocorticoid sensitivity in relation to clinical outcome of childhood nephrotic syndrome. *Kidney international*. 2014;85(6):1444–53.
19. Ali SH, Ali AM, Najim AH. The Predictive Factors for Relapses in Children with Steroid-Sensitive Nephrotic Syndrome. *Saudi Journal of Kidney Disease and Transplantation*. 2016;27(1):67–72.
20. Peña A, Bravo J, Melgosa M, Fernandez C, Meseguer C, Espinosa L, Alonso A, Picazo ML. Steroid-resistant nephrotic syndrome: long-term evolution after sequential therapy. *Pediatric Nephrology*. 2007;22:1875–1880.