

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

José Antonio Tesser Poloni

**Análise do Sedimento Urinário Para Identificação de
Insuficiência Renal Aguda e Diagnóstico Diferencial
de Necrose Tubular Aguda e Síndrome Hepatorrenal
em Pacientes com doença Hepática Severa**

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2019**

José Antonio Tesser Poloni

**Análise do Sedimento Urinário Para Identificação de
Insuficiência Renal Aguda e Diagnóstico Diferencial de
Necrose Tubular Aguda e Síndrome Hepatorrenal em
Pacientes com doença Hepática Severa**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito
para a obtenção do grau de Doutor

Orientador: Dra. Liane Nanci Rotta
Coorientador: Dr. Cláudio Augusto Marrone

**Porto Alegre
2019**

Catálogo na Publicação

Poloni, José

Análise do Sedimento Urinário Para Identificação de Insuficiência Renal Aguda e Diagnóstico Diferencial de Necrose Tubular Aguda e Síndrome Hepatorrenal em Pacientes com doença Hepática Severa / José Poloni. -- 2019.

59 f. : 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2019.

Orientador(a): Liane Rotta ; coorientador(a): Cláudio Marrone.

1. Insuficiência Renal Aguda. 2. Síndrome Hepatorrenal. 3. Necrose Tubular Aguda. 4. Sedimento Urinário. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

“Todas as verdades são fáceis de perceber depois de terem sido descobertas, o problema é descobri-las.”

Galileo Galilei
1564-1642

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Loris Poloni e Maria Helena Tesser Poloni, e minha família, pelo incentivo ao estudo desde os primeiros anos da minha vida e por todo amor e suporte que sempre recebi.

A minha esposa, Maria Claudia Saraiva Marnatti e meu filho Pedro Marnatti Poloni, por todo amor e apoio, enfrentando longos períodos de ausência para que eu pudesse me dedicar aos estudos.

A minha orientadora, Profa. Dra. Liane Nanci Rotta, por guiar meu caminho com dedicação e total atenção desde o período do Mestrado.

Ao Dr. Carlos Franco Voegeli (*in memoriam*) por ter me dado minha primeira oportunidade de emprego e ter acreditado no meu potencial para pesquisa incentivando a realização dos primeiros trabalhos que acabaram culminando nesta tese.

Aos meus colegas do Laboratório de Análises Clínicas Carlos Franco Voegeli da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre pela parceria, amizade e pelo apoio diário.

Ao Prof. Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira por ter me dado a oportunidade de realizar estágio de iniciação científica no então Laboratório de Pesquisa em Biofísica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, instituição onde me graduei em Farmácia-Bioquímica e onde o interesse por fazer pesquisa cresceu e amadureceu em mim.

Ao Dr. Giovanni Battista Fogazzi, por todo ensinamento e lições que tive em Uroanálise. Ter tido a oportunidade de fazer um curso em seu laboratório foi um divisor de águas em minha vida.

Ao Dr. Mark Anthony Perazella, por todo ensinamento e lições bem como por sua participação desde a concepção até a redação final do trabalho principal que compõe esta tese.

As equipes de nefrologia adulta e pediátrica da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, nomeando Dra. Elizete Keitel, Dr. João Carlos Goldani, Dra. Rosana Mussoi Bruno, Dr. Auri Ferreira dos Santos, Dra. Clotilde Druck Garcia e Dra. Viviane de Barros Bittencourt, pelo enorme valor que dão ao exame de urina bem como ao trabalho que realizo no laboratório.

Aos meus colegas e alunos da UNISINOS pela parceria e momentos de alegria em sala de aula e fora dela.

Aos meus colegas da Controllab pela parceria e suporte.

A Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, instituição onde pude me qualificar concluindo o Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde bem como, neste momento defendo minha tese de Doutorado.

A todos os amigos e familiares que sempre estão apoiando e incentivando meu crescimento e evolução profissional.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIACÕES.....	7
RESUMO.....	9
INTRODUÇÃO.....	11
1 Doenças renais e a Uroanálise.....	11
2 Insuficiência renal aguda no contexto das doenças hepáticas severas.....	13
2.1 Síndrome Hepatorrenal (SHR).....	14
3 Insuficiência renal aguda	15
3.1 Insuficiência Renal Aguda Hepatorrenal.....	15
4 Nefropatia por cilindros de bile.....	16
5 Doença hepática severa e diagnóstico diferencial da IRA por SHR ou NTA.....	17
6 Informações diagnósticas hepáticas e renais observadas na análise de urina de rotina.....	18
6.1 Proteínas.....	19
6.2 Bilirrubina e Urobilinogênio.....	20
6.3 Sedimento urinário.....	21
6.3.1 <i>Células epiteliais tubulares renais (CETR)</i>	21
6.3.2 <i>Cilindros urinários</i>	23
6.3.2.1 <i>Cilindros hialinos</i>	25
6.3.2.2 <i>Cilindros celulares epiteliais</i>	26
6.3.2.3 <i>Cilindros granuloso</i>	26
6.3.2.4 <i>Cilindros pigmentados por bilirrubina</i>	27
7 Utilização de escores urinários.....	28
REFERÊNCIAS.....	29
OBJETIVOS.....	33
MANUSCRITO.....	34
CONCLUSÃO.....	58
ANEXOS.....	59

LISTA DE ABREVIACOES

IRA: Insuficiência Renal Aguda
NTA: Necrose Tubular Aguda
SHR: Síndrome Hepatorrenal
EQU: Exame Qualitativo de Urina
AKI: Acute Kidney Injury
ATN: Acute Tubular Necrosis
HRS: Hepatorenal Syndrome
DRC: Doença Renal Crnica
RIFLE: Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease
RNI: Relação Normatizada Internacional
KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcome
NCB: Nefropatia por Cilindros de Bile
GTH: Glicoprotena de Tamm-Horsfall
AST: Aspartato Aminotransferase
ALT: Alanina Aminotransferase
CETR: Clula Epitelial Tubular Renal
RTEC: Renal Tubular Epithelial Cell
GC: Granular Cast
CG: Cilindro Granuloso
ESLD: End Stage Liver Disease
CKD: Chronic Kidney Disease
FeNa: Fractional Excretion of Sodium
GGT: Gamma Glutamyl Transferase
ALP: Alkaline Phosphatase
LDH: Lactate Dehydrogenase
TB: Total Bilirubin
DB: Direct Bilirubin
LPF: Low Power Field
HPF: High Power Field
RBC: Red Blood Cell
WBC: White Blood Cell
RR: Relative Risk

TEM: Transmission Electron Microscopy
PTC: Peritubular Capillaries
AHF: Acute Hepatic Failure
NGAL: Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin
KIM-1: Kidney Injury Molecule 1
IL-18: Interleukin 18
Cys-C: Cystatin C
HC: Hyaline cast
DM: Diabete Mellitus
KT: Kidney Transplantation
HCV: Hepatits C Virus
LT: Liver Transplantation
AC: Alcoholic Cirrhosis
LF: Liver Fibrosis
LC: Liver Cancer
PC: Pancreatic Cancer

Resumo

Objetivos: Disfunção renal aguda e crônica é comum em pacientes com doença hepática terminal. A diferenciação entre insuficiência renal aguda (IRA) devido à síndrome hepatorenal (SHR) ou necrose tubular aguda (NTA) permanece difícil, porém sistemas de escores utilizando achados do sedimento urinário como as células epiteliais tubulares renais (CETRs) e os cilindros granulosos (CGs) podem ajudar a identificar doenças renais intrínsecas. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil do sedimento urinário dos pacientes com doença hepática e hiperbilirrubinemia/hiperbilirrubinúria e o uso de um sistema de escore de sedimento urinário para identificar o escore mais comum em pacientes com IRA e altas concentrações de bilirrubina na urina.

Materiais e Métodos: Foi realizado um estudo retrospectivo no banco de dados de um grande laboratório que assiste um complexo hospitalar no Brasil.

Resultados: Cilindros urinários, em particular os CGs, bem como as CETRs foram observados com maior frequência em pacientes com hiperbilirrubinemia/hiperbilirrubinúria, enquanto os cilindros hialinos foram observados mais frequentemente em pacientes sem hiperbilirrubinemia/hiperbilirrubinúria. Independentemente da condição IRA ou não-IRA, o risco relativo para os escores 2 ou 3 (sedimento consistente com dano tubular, com CGs e/ou CETRs em quantidades diferentes) no grupo 4 é 3,61 vezes maior em comparação aos pacientes do grupo 1.

Conclusões: Em pacientes com níveis mais elevados de bilirrubina urinária, o sedimento urinário apresentou maior número de CGs e CETRs e maiores escores de sedimento urinário (escores 2 ou 3). A presença de um maior número de partículas urinárias (CETRs e CGs) originadas nos rins nos grupos com níveis mais elevados de bilirrubina urinária sugere uma associação entre hiperbilirrubinemia/hiperbilirrubinúria e lesão tubular independente de IRA ou não-IRA.

Palavras-chave:

Insuficiência Renal Aguda, Síndrome Hepatorrenal, Necrose Tubular Aguda, Sedimento Urinário.

Abstract

Aims: Acute and chronic kidney dysfunction is common in patients with end-stage liver disease. Differentiation between acute kidney injury (AKI) due to hepatorenal syndrome (HRS) or acute tubular necrosis (ATN) remains difficult, however urine cast scoring systems using renal tubular epithelial cells (RTECs) and granular casts (GCs) can help to identify intrinsic kidney diseases. The objective of this study was to evaluate the urine sediment profile of patients with liver disease and hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria and the use of a urine sediment scoring system to identify the most common score in AKI patients and high urine bilirubin concentrations.

Materials and Methods: A retrospective study in the data bank of a large laboratory that assists a hospital-complex in Brazil was performed.

Results: Urinary casts, in particular GCs, as well as RTECs were observed more frequently in patients with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria, while hyaline casts were observed in patients without hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria. Regardless of the AKI or non-AKI condition the relative risk for Scores 2 or 3 (sediment consistent with tubular damage, with GC and/or RTEC in different quantities) in group 4 is 3.61 times higher compared to patients in group 1.

Conclusions: In patients with higher urinary bilirubin levels, the urine sediment had greater numbers of GCs and RTECs and higher urine sediment scores (scores 2 or 3). The presence of a larger number of urine particles (RTECs and GCs) originating in the kidneys in the groups with higher levels of urinary bilirubin suggests an association between hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria and tubular injury independent of AKI or non-AKI.

Keywords:

Acute Kidney Injury, Hepatorenal Syndrome, Acute Tubular Necrosis, Urine sediment.

REFERENCIAL TEÓRICO

INTRODUÇÃO

1 Doenças renais e a Uroanálise

Doenças renais estão entre as principais condições clínicas que atingem o ser humano. Doença Renal Crônica (DRC), por exemplo, atinge aproximadamente 10% da população mundial. Na América Latina 12% da população tem DRC [1]. As condições Insuficiência Renal Aguda (IRA) e DRC são intimamente relacionadas, sendo a DRC conhecido fator de risco para IRA e vice-versa [1].

A incidência mundial de IRA é pouco conhecida devido à falha em seu reporte, disparidades regionais e diferenças em definição. A maioria dos estudos epidemiológicos foca em pacientes internados ou em estado crítico e muito poucos focam na população geral [2]. Um estudo escocês [3] reportou a incidência anual de IRA de acordo com o critério RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease), em 2.147 por milhão da população. Em outro estudo realizado no norte da Califórnia, entre os membros de um dos maiores sistemas integrados de saúde dos Estados Unidos e usando um critério diagnóstico diferente, a incidência anual de IRA foi de 4.085 por milhão da população ocorrendo mais comumente em homens e em idosos [4].

Doenças renais, tanto agudas ou crônicas, podem se apresentar com características sistêmicas de agressão renal (hipertensão, edema, uremia), com manifestações limitadas aos rins (dor em flanco ou dor lombar, hematúria grosseira), ou serem assintomáticas apenas com alterações em testes laboratoriais (séricos e uroanálise).

Doenças renais são avaliadas totalmente por meio de exame completo, tanto físico como histórico, testes laboratoriais séricos e análise do sedimento urinário. Apesar de a avaliação do sedimento urinário não medir o nível de função renal, ela é extremamente importante para auxiliar no discernimento sobre a causa da doença renal e pode também prover informações prognósticas sobre IRA pré-renal e Necrose Tubular Aguda (NTA). Adicionalmente à uroanálise, o exame clínico, a estimativa da taxa de filtração glomerular, exames radiológicos e biópsia renal podem ser usados combinados para realização do diagnóstico da patologia renal do paciente [5].

Assim como qualquer teste na clínica médica, a uroanálise é mais útil diagnosticamente quando diferentes componentes do teste são combinados para formar padrões de achados urinários para sua associação com diferentes doenças renais. Muitas vezes, a combinação dos achados urinários irá sugerir apenas uma ou duas desordens renais. Desta forma, avaliar as amostras de urina buscando por padrões clínicos é uma maneira de se trabalhar que propicia uma maior qualidade do processo de análise, otimizando o tempo e resultando em uma informação diagnóstica com melhor correlação com o quadro clínico do paciente. Os padrões clínicos atualmente utilizados em Uroanálise são:

- *Hematúria isolada com eritrócitos normais*: o diagnóstico diferencial desta combinação de achados é limitado à cristalúria, nefrolitíase ou malignidade no sistema genitourinário. Raramente desordens glomerulares como a nefropatia por imunoglobulina A ou a doença de membrana basal fina podem se apresentar desta forma. Os pacientes com estas glomerulopatias geralmente têm, entretanto, eritrócitos dismórficos e cilindros eritrocitários no seu sedimento urinário [5].

- *Hematúria com eritrócitos dismórficos, cilindros hemáticos e proteinúria*: pacientes com este grupo de achados geralmente têm doença glomerular ou vasculite renal. Esta apresentação é chamada de síndrome nefrítica e sugere, fortemente, glomerulonefrite. É importante ressaltar que a ausência destes achados não exclui glomerulonefrite. Uma biópsia renal é indicada neste contexto. [5].

- *Hematúria com eritrócitos dismórficos e piúria*: esta combinação de achados pode ser observada em vários processos renais. Estão incluídas doenças glomerulares, nefrite tubulointersticial, vasculite, obstrução urinária, cristalúria (tipicamente o cristal que está causando a agressão também está presente), embolização por colesterol e infarto renal. Todas estas condições clínicas podem agredir os rins e causar lesões inflamatórias dentro do parênquima renal [5].

- *Leucócitos, cilindros leucocitários, cilindros granulosos e proteinúria moderada*: estes achados urinários são observados em pacientes com doença tubulointersticial. Elas incluem pielonefrite, nefrite tubulointersticial induzida por drogas e doença sistêmicas como a sarcoidose. Raramente, uma glomerulonefrite aguda ou outra doença renal inflamatória irá apresentar este sedimento. Evidências de doença glomerular (hemoglobina positiva, eritrócitos dismórficos) estão também usualmente presentes nestes processos patológicos [5].

- *Sedimento urinário brando e proteinúria intensa*: esta combinação de achados na

uroanálise sugere que o paciente tenha uma lesão glomerular associada com a síndrome nefrótica. Um sedimento urinário brando, definido pela ausência de células ou cilindros, sugere uma lesão glomerular não inflamatória. Lipidúria com cilindros graxos pode também estar presente no sedimento urinário. Algumas das lesões glomerulares que causam a síndrome nefrótica incluem a glomerulonefrite membranosa, glomeruloesclerose focal, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulonefrite mesangial, amiloidose e nefropatia diabética [5].

- *Células epiteliais tubulares renais livres, cilindros contendo células epiteliais tubulares renais e cilindros granuloso*: o paciente com IRA e esta combinação de achados urinários geralmente está apresentando NTA induzida tanto por um evento isquêmico ou administração de alguma nefrotoxina, ou ambos. As células tubulares danificadas se desprendem da parede do túbulo e entram no lúmen tubular formando cilindros em combinação com a matriz da proteína de Tamm-Horsfall. Hiperbilirrubinemia marcante também pode causar este sedimento urinário, usualmente com a creatinina sérica excedendo 10 mg/dL e o teste para bilirrubina na tira reativa apresenta reação fortemente positiva. As células e os cilindros estão também pigmentados pelo pigmento biliar nestes casos [5].

2 Insuficiência renal aguda no contexto das doenças hepáticas severas

A falência renal é uma complicação desafiadora nas doenças hepáticas severas [6-8] e é um dos fatores de risco mais importantes, especialmente quando se está considerando um transplante de fígado. Pacientes com doenças hepáticas severas e falência renal têm um alto risco de morte, frequência aumentada de complicações e sobrevivência reduzida após o transplante, quando comparados com aqueles que não tem falência renal [6,9,10]. Nos anos recentes, progressos substanciais têm sido feitos para o entendimento da patogênese e história natural da falência renal nas doenças hepáticas severas. Além disso, novas intervenções clínicas podem ajudar na prevenção e no manejo desta complicação [6].

A cirrose é uma das principais causas de insuficiência hepática e a insuficiência renal aguda (IRA) é uma complicação comum e devastadora em pacientes portadores destas patologias. O desenvolvimento da IRA está geralmente associado a complicações da cirrose (como a peritonite bacteriana espontânea) e ocorre em até 19% dos pacientes hospitalizados com cirrose. Já a Síndrome Hepatorrenal (SHR) corresponde a 11% dos

casos de IRA em pacientes hospitalizados com cirrose e ascite, e tem sido muito associada à mortalidade prodigiosa [11-13]; mais recentemente o reconhecimento do perigo geral associado com a IRA, na cirrose, tem levado à incorporação da creatinina sérica como uma das três variáveis [bilirrubina e creatinina séricas e tempo de protrombina – Relação Normatizada Internacional (RNI)] compreendendo o modelo de score para doença hepática terminal [14].

2.1 Síndrome Hepatorrenal (SHR)

A SHR é definida pela presença de doença hepática aguda ou crônica, caracterizada por hiperbilirrubinemia, com avançada insuficiência hepática e prejuízo na função renal (insuficiência renal oligúrica) [15,16]. A SHR pode se desenvolver na ausência de qualquer fator precipitante ou seguir-se a eventos que reduzam o volume sanguíneo efetivo como sangramento gastrointestinal, vômitos e diarreias. Na SHR ocorre marcada vasoconstrição intrarenal que resulta em um prejuízo funcional dos rins, sem anormalidades estruturais contributivas para a disfunção renal [15,17]. É caracterizada por achados clínicos e laboratoriais de intensa hipoperfusão renal: oligúria, hiponatremia, hiponatriúria, alta osmolaridade urinária e incremento de ureia e creatinina séricas [15,17].

A SHR tipo 1 tem um curso rápido com a creatinina sérica com níveis >2,5 mg/dL dentro de duas semanas. A SHR tipo 2 se desenvolve durante meses, com um moderado declínio da taxa de filtração glomerular (creatinina sérica entre 1,5 e 2,5 mg/dL). O atual paradigma da disfunção renal na SHR é primariamente atribuído à marcada vasodilatação esplênica/sistêmica, que resulta em uma redução da taxa de filtração glomerular [7,14]. Entretanto, este esquema é incompleto pois não incorpora o impacto e a influência dos cilindros pigmentados por bilirrubina neste contexto clínico. Não se sabe quando os cilindros pigmentados pela bilirrubina se formam durante este processo de dano, porém, a probabilidade aumenta com a exposição prolongada a altos níveis de bilirrubina, que são geralmente >20 mg/dL [15].

No diagnóstico diferencial de SHR deve-se considerar a ocorrência de insuficiência renal aguda (IRA) pré-renal ou necrose tubular aguda (NTA). O diagnóstico diferencial nesses pacientes é clinicamente importante devido aos diferentes prognósticos. NTA e IRA são geralmente reversíveis, enquanto SHR apresenta, normalmente, uma evolução mais sombria [18].

3 Insuficiência Renal Aguda

A IRA é definida como a redução aguda da função renal, em horas ou dias. Refere-se principalmente à diminuição do ritmo de filtração glomerular e/ou do volume urinário, porém, ocorrem também distúrbios no controle do equilíbrio hidroeletrolítico e ácido básico [19].

A utilização de diferentes definições de IRA dificulta a comparação de estudos, a análise da evolução dos pacientes, bem como a comparação de diferentes estratégias terapêuticas e de tratamentos dialíticos. Recentemente, uma rede internacional de especialistas (Kidney Disease Improving Global Outcomes - KDIGO) propôs uma nova definição e classificação de IRA, a fim de uniformizar este conceito para efeitos de estudos clínicos e principalmente, prevenir e facilitar o diagnóstico desta síndrome, na tentativa de diminuir a alta morbidade e mortalidade ainda encontrada atualmente [19]. Este grupo multidisciplinar internacional propõe a seguinte classificação, baseada na dosagem sérica da creatinina e no volume urinário:

- Elevação da creatinina sérica em $\geq 0,3$ mg/dL dentro de 48 horas; ou
- Elevação da creatinina sérica em $\geq 1,5$ vezes o valor basal que for conhecido ou presumido e que tenha ocorrido dentro de 7 dias; ou
- Volume urinário $< 0,5$ ml/Kg/hora por 6 horas [20].

A IRA pré-renal ocorre devido à redução do fluxo plasmático renal e do ritmo de filtração glomerular. As principais causas são: hipotensão arterial e hipovolemia (hemorragias, diarréias, queimaduras). Já a IRA renal (intrínseca ou estrutural) tem como principal causa a necrose tubular aguda (NTA isquêmica e/ou tóxica). Outras causas são: nefrites tubulointersticiais (drogas, infecções), pielonefrites, glomerulonefrites e necrose cortical (hemorragias ginecológicas, peçonhas) [19].

3.1 Insuficiência Renal Aguda Hepatorrenal

A IRA Hepatorrenal é caracterizada por perda de função renal (Clearance de Creatinina < 60 mL/min ou Creatinina sérica $> 1,5$ mg/dL), ausência de outras causas de IRA, ausência de melhora após expansão plasmática, ausência de melhora após suspensão de diuréticos, proteinúria < 500 mg/dia, ausência de obstrução urinária e ausência de IRA parenquimatosa [19].

Todos os critérios acima citados devem estar presentes para a definição do diagnóstico. Os seguintes critérios adicionais podem compor o quadro (podem estar presentes

ou não): diurese < 500 mL/dia; sódio urinário < 10 mEq/L; osmolalidade urinária > plasmática; sódio sérico < 130 mEq/L; hemácias na urina > 50 p/campo microscópico [19].

4 Nefropatia por Cilindros de Bile

A condição clínica “Nefropatia por Cilindros de Bile” (NCB) é considerada rara e muito pouco compreendida até o momento. É caracterizada por insuficiência renal progressiva na presença de níveis elevados de sais biliares e hiperbilirrubinemia. Níveis elevados de bilirrubina total, tipicamente superiores a 20 mg/dL, são reportados nos casos de NCB. Ambas bilirrubinas (direta e indireta) podem estar envolvidas, sugerindo uma disfunção hepatocelular primária. Biópsias renais nestes pacientes tipicamente mostram a formação de cilindros de bile na presença de níveis séricos elevados de bilirrubina e creatinina [21,22].

Esta condição clínica representa um grande espectro de doenças, envolvendo desde mudanças leves e reversíveis em pacientes sem disfunção renal e hiperbilirrubinemia de curta duração, até doença progressiva irreversível naqueles com insuficiência renal associada à hiperbilirrubinemia severa e prolongada. O mecanismo exato como a bile e os sais biliares causam dano renal agudo em nível tubular permanece desconhecido, entretanto, vários mecanismos são considerados [21]. Durante a colestase, os hepatócitos exportam ácidos biliares para prevenir dano intracelular, através da indução das bombas de ácidos biliares basolaterais. Os rins, de maneira similar, promovem mudanças no túbulo proximal para excretar o excesso de bile. Se acredita que esta bilirrubina, em excesso, cause dano oxidativo nas membranas celulares das células dos túbulos e desacoplamento da fosforilação mitocondrial em nível celular [21, 23, 24].

Além disso, a inibição das bombas de Na-H, Na-K, Na-Cl por sais biliares sulfatados, nos túbulos proximais e na alça de Henle, resultam em mudanças de pH que podem aumentar a deposição de cristais de sais biliares, contribuindo para a formação de cilindros de bile, além de causarem toxicidade e dano tubular [21, 25-29]. É hipotetizada a existência de um limite para o transporte da bilirrubina nos túbulos proximais onde, depois que eles se tornam saturados, ocorre a formação dos cilindros e a obstrução tubular [15, 21, 30].

Os achados primários na NCB incluem hipertrofia renal tubular, presença de cilindros pigmentados por bile dentro dos túbulos renais e ausência de patologia glomerular [21, 31-33]. Outros achados incluem dano tubular com evidência de dilatação do lúmen e vacuolização citoplasmática, assim como a presença de cilindros granulosos [21,31]. Os

achados na microscopia eletrônica incluem dilatação das cristas mitocondriais e acúmulo de ácidos biliares nos lisossomos. A presença de cilindros de bile é mais pronunciada nos segmentos distais dos néfrons, mas foi encontrada nos túbulos proximais com o aumento da severidade da hiperbilirrubinemia [21,22]. A deposição dos cilindros de bile foi observada em ambos túbulos (proximais e distais) juntamente com mudanças isquêmicas [21].

5 Doença hepática severa e diagnóstico diferencial da Insuficiência Renal Aguda por Síndrome Hepatorrenal ou Necrose Tubular Aguda

A doença hepática severa é uma condição clínica caracterizada pela presença de níveis elevados de bilirrubina sérica e urinária, bem como elevação nos níveis séricos das enzimas hepáticas tradicionalmente utilizadas como testes diagnósticos (transaminases, fosfatase alcalina e gama glutamiltransferase) para patologias hepáticas, tais como hepatites virais, hepatites medicamentosas e cirrose alcoólica [34].

A disfunção renal na cirrose é secundária à vasoconstrição renal, que ocorre em resposta à vasodilatação arterial sistêmica. Como consequência da vasoconstrição renal, os pacientes cirróticos ficam predispostos ao desenvolvimento de NTA com um segundo “estímulo”, como hemorragia gastrointestinal, diarreia ou sepse. Atualmente o diagnóstico diferencial de NTA e da SHR envolve a mais alta fração de excreção de sódio para NTA e ocasionalmente a presença de células epiteliais tubulares renais no sedimento urinário [34].

Tradicionalmente, se acredita na hipótese de que muitos pacientes com cirrose têm histologia renal normal. Entretanto, atualmente é reconhecido que existem mudanças causadas por isquemia e outras anormalidades histopatológicas nos glomérulos, como nefropatia IgA, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulopatia diabética e glomerulonefrite pós infecciosa [35]. Vários tipos de danos renais são frequentemente combinados. Lesões crônicas (vasculares ou tubulointersticiais) podem influenciar a progressão da patologia, particularmente nos pacientes que serão submetidos a transplante de fígado e recebem anticalcineurinas. Lesões vasculares renais podem aumentar o risco de NTA [35].

Até o momento não existe um exame padrão-ouro para definição e diferenciação da NTA e da SHR. O que se tem literatura [36] é:

NTA:

- História de uso corrente ou recente de drogas nefrotóxicas ou meios de contraste;

- Presença de choque;
- Cilindros granulosos ou debris no sedimento urinário;
- Proteinúria > 500 mg/ dia.

SHR:

- História de desidratação, excesso de diuréticos ou infecções bacterianas;
- Presença de sedimento urinário normal;
- Proteinúria <500 mg/dia;
- Ultrassom renal normal.

Se, após a retirada dos diuréticos e da expansão do volume plasmático com albumina não houver resposta, classifica-se como SHR.

A biópsia renal seria de fato o melhor método para identificar se existe NTA ou não, entretanto, este procedimento raramente é feito nos doentes hepáticos devido à grande frequência de coagulopatias. Sem esta análise não há como provar ou excluir NTA de maneira definitiva.

6 Informações diagnósticas hepáticas e renais observadas na análise de urina de rotina

A análise de urina de rotina, nomeada como Exame Qualitativo de Urina (EQU) (no Rio Grande do Sul) compreende a análise das amostras de urina por meio do uso de tira reativa, associada à avaliação microscópica do sedimento urinário (sedimentoscopia). É um exame com baixo custo e de simples execução que, no entanto, demanda grande tempo de treinamento do analista clínico na aquisição dos conhecimentos básicos para correta identificação dos elementos do sedimento, bem como para correta interpretação e correlação das informações que podem ser encontradas na microscopia e na análise da tira reativa e da sedimentoscopia urinária.

O EQU consiste em um exame composto por duas partes que se complementam:

Parte 1 - Avaliação da tira reativa: fornece informações a respeito dos seguintes parâmetros: pH, densidade, nitrito, esterase leucocitária, corpos cetônicos, glicose, hemoglobina, proteínas, urobilinogênio e bilirrubina.

Parte 2 - Avaliação microscópica do sedimento urinário: realizada após centrifugação da urina, e que pode fornecer as seguintes informações: presença de células epiteliais, eritrócitos, leucócitos, cilindros, cristais, bactérias e fungos, dentre outros elementos.

No contexto do doente hepático que está sendo avaliado laboratorialmente, o EQU tem, basicamente, áreas reativas para três informações que podem ser de grande utilidade: proteínas, bilirrubina e urobilinogênio. O sedimento urinário, neste contexto pode auxiliar tanto com ausência de elementos (excluindo assim a presença de dano intrínseco ao parênquima renal) como com a observação e quantificação de elementos oriundos dos rins (como por exemplo células epiteliais tubulares renais e cilindros) ajudando assim na identificação de dano ao epitélio renal.

6.1 Proteínas

Proteinúria é a excreção elevada de proteínas na urina, sendo um indicador importante de lesão renal. Em termos de intensidade, a proteinúria pode ser assim classificada:

1. Proteinúria elevada: caracterizada pela excreção de mais de 3,5 g de proteína em 24 horas. É típica de síndrome nefrótica, mas pode ocorrer em casos de glomerulonefrite, nefrosclerose, amiloidose, lúpus eritematoso sistêmico, trombose da veia renal, insuficiência cardíaca congestiva ou pericardite.

2. Proteinúria moderada: caracteriza-se por excreção entre 0,5 e 3,5 g de proteínas em 24 horas. É detectada em doenças renais, como glomerulonefrite crônica, nefropatia diabética, mieloma múltiplo, nefropatia tóxica, pré-eclâmpsia e nas alterações inflamatórias malignas, degenerativas e irritativas do trato urinário, incluindo a presença de cálculo urinário.

3. Proteinúria mínima: caracterizada por excreção de menos de 0,5 g de proteína em 24 horas. Está associada a glomerulonefrite crônica, enfermidade policística renal, afecção tubulorrenal, fase de convalescença de glomerulonefrite aguda e vários distúrbios do trato urinário inferior [37].

Em relação à etiologia, as proteinúrias podem ser assim classificadas:

1. Proteinúria postural: ocorre apenas quando o indivíduo permanece em posição ereta por longo período. A excreção diária pode atingir até 1 g.

2. Proteinúria funcional: é a excreção de proteínas associada a estados febris, exposição ao calor ou ao frio intensos, exercícios físicos extenuantes.

3. Proteinúria por extravasamento: anteriormente denominada proteinúria de Bence-Jones, corresponde à excreção de uma proteína específica, de baixo peso molecular, ex-

cretada em urina de pacientes com mieloma múltiplo. Essa proteína é a cadeia leve livre de imunoglobulinas, podendo ser kappa ou lambda. O termo proteinúria de Bence-Jones deve ser abandonado.

4. Proteinúria pós-renal: resulta do extravasamento de proteínas em decorrência de processos inflamatórios, infecciosos ou neoplásicos em vias urinárias.

5. Microalbuminúria: excreção de pequena quantidade de albumina. Os intervalos de referência podem ser expressos em relação ao volume de 24 horas, por minuto, em amostras coletadas em períodos curtos ou em relação à concentração de creatinina. A microalbuminúria é um indicador precoce de disfunção renal, mas está associada ao aumento da mortalidade cardiovascular, especialmente no diabetes mellitus tipo 2.

O princípio metodológico das tiras reagentes para a área das proteínas é o do erro proteico do indicador e limitado à detecção de albumina, sendo praticamente insensível às globulinas e a proteínas pequenas, como as cadeias leves das imunoglobulinas. Para algumas situações específicas, é preciso ter método alternativo de pesquisa e dosagem das proteínas urinárias [37].

6.2 Bilirrubina e Urobilinogênio

A protoporfirina originada a partir da degradação da hemoglobina é convertida em bilirrubina indireta, insolúvel em água, e se liga às proteínas transportadoras, principalmente à albumina. A bilirrubina indireta chega ao fígado, sendo captada e conjugada com ácido glicurônico, transformando-se em bilirrubina direta, solúvel em água. Em condições normais, depois da conjugação, a bilirrubina direta é excretada pelas vias biliares, chegando ao intestino. Por ação bacteriana do trato gastrintestinal, a bilirrubina é metabolizada em três produtos: mesobilirrubina, estercobilinogênio e urobilinogênio. O estercobilinogênio e o urobilinogênio são incolores e sofrem oxidação, resultando em estercobilina e urobilina, respectivamente, que são pigmentos corados. Estima-se que 50% do urobilinogênio formado no intestino seja reabsorvido pela circulação êntero-hepática e reexcretados pelo fígado. Pequenas quantidades são excretadas pelo rim e a maior parte nas fezes. Qualquer alteração nesse mecanismo, seja pela maior quantidade de bilirrubina formada, seja por lesão hepática que impeça a excreção do urobilinogênio reabsorvido, acarreta aumento do urobilinogênio no sangue e posterior excreção pela urina [37].

Há dois grupos de doenças particularmente significantes que podem acarretar alterações nos níveis de excreção urinária de bilirrubina e de urobilinogênio:

1. Doença hepática: a bilirrubina direta que não é excretada por obstrução biliar, por exemplo, reflui para o sangue. Como essa bilirrubina é solúvel no plasma e, portanto, filtrada pelos glomérulos renais, à medida que sua concentração aumenta no sangue, aumenta a sua excreção renal. Ocorrendo obstrução biliar, a quantidade de bilirrubina que chega ao intestino é reduzida, causando diminuição na produção de urobilinogênio, podendo negativar sua pesquisa na urina.

2. Doença hemolítica: nessas doenças, há um aumento acentuado na produção da bilirrubina indireta. Como o fígado está normal, grande quantidade de bilirrubina direta é produzida e lançada no intestino, com conseqüente conversão em urobilinogênio. Há um aumento da reabsorção de urobilinogênio em nível intestinal, elevando o nível sanguíneo e aumentando sua excreção no nível renal. Não ocorre excreção de bilirrubina pela urina, uma vez que a fração aumentada é a indireta, não solúvel e que circula ligada às proteínas, não sendo filtrada [37].

6.3 Sedimento urinário

A microscopia do sedimento urinário é um procedimento muito importante na avaliação de pacientes com doença renal conhecida ou suspeitada, bem como na avaliação de doenças urológicas e do trato urogenital [37]. O sedimento urinário deve ser reportado qualitativamente (tipos de células, cilindros, cristais, organismos) e quantitativamente (número de cilindros por campo de pequeno aumento e/ou células por campo de grande aumento).

No sedimento urinário, podem ser observados três tipos principais de células epiteliais: células epiteliais escamosas, células epiteliais transicionais e células epiteliais tubulares renais.

6.3.1 Células epiteliais tubulares renais (CETR)

Embora células epiteliais possam ser liberadas na urina, provenientes de qualquer parte do sistema geniturinário, somente as células epiteliais tubulares renais têm significado clínico. Geralmente, as células epiteliais tubulares renais são maiores que os leucócitos.

tos, entretanto seu tamanho varia bastante. Também, seu núcleo é redondo e localizado central ou excentricamente no citoplasma. Às vezes, é difícil distinguir essas células a partir das células uroepiteliais do trato urinário baixo (epitélio transicional), que torna diagnosticamente importante a presença de cilindros contendo células epiteliais tubulares renais.

A indicação da presença de células epiteliais tubulares renais e de cilindros são, essencialmente, diagnósticos tanto de necrose tubular aguda isquêmica como nefrotóxica, mas, ocasionalmente, são vistos em doenças glomerulares [38].

Os diferentes segmentos dos túbulos renais são cobertos por diferentes tipos de células epiteliais. Elas diferem em relação a: forma (plana, cuboide ou colunar); contorno (com ou sem uma borda em escova; com poucos ou com muitos microvilos); organelas citoplasmáticas (escassas ou abundantes); e localização do núcleo (basal, central ou apical). Seu tamanho varia de 9 até 25 μm . Com técnicas convencionais de microscopia, uma categorização dessas células é difícil e pode ser apenas aproximada.

As CETR que mais frequentemente são observadas no sedimento urinário provavelmente derivam dos segmentos proximais do néfron. Elas são redondas, ovais e até mesmo retangulares, têm um núcleo grande central ou excêntrico contendo um ou dois nucléolos, citoplasma granular mostrando organelas abundantes e diâmetro médio de, aproximadamente, 14 μm . Outras CETR derivam provavelmente dos túbulos distais, são poligonais com um núcleo central e são menores. CETR derivadas, provavelmente, de dutos coletores têm formato colunar, com um núcleo na posição basal e contendo nucléolos proeminentes [38].

Às vezes, as CETR apresentam alterações degenerativas ou aparecem em agregados que indicam um dano tubular particularmente grave. Células epiteliais tubulares renais também podem estar incorporadas em cilindros, que são então definidos como cilindros contendo CETR ou “cilindros epiteliais”. Eventualmente, pode ser difícil diferenciar as CETR redondas ou ovoides das células uroepiteliais das camadas profundas de tamanho pequeno e ovoides. Sabe-se que células epiteliais uroepiteliais profundas são geralmente maiores que as células epiteliais tubulares renais, costumam ter formato cuboide ou ovoide e apresentam uma maior razão núcleo/ citoplasma, com uma borda citoplasmática fina [38].

Entretanto, a pista mais útil para diferenciar os dois tipos de células é o contexto de achados no sedimento urinário em que elas estiverem contidas. CETR estão, em geral, acompanhadas por elementos indicativos de doenças do parênquima renal, como cilindros, eritrócitos dismórficos ou lipídios. As células transicionais profundas, ao contrário, são comumente associadas a eritrócitos isomórficos, leucócitos e células epiteliais transicionais superficiais. CETR são encontradas em condições que, primariamente, envolvem os túbulos, como a necrose tubular aguda, a nefrite intersticial aguda ou a rejeição aguda de um enxerto renal. Entretanto, elas podem ser vistas na urina de pacientes com doenças glomerulares, como uma consequência de dano tubular causado por inflamação e/ou proteinúria [5, 37, 38].

6.3.2 Cilindros urinários

São elementos cilíndricos de diâmetro e comprimento variáveis, que se formam nos túbulos distais dos rins, mas que podem também se formar nos dutos coletores. A matriz dos cilindros é formada pela glicoproteína de Tamm-Horsfall (GTH), que é sintetizada e secretada pelas células da alça ascendente de Henle (com exceção dos cilindros céreos, cuja matriz ainda têm origem desconhecida) [39]. A GTH é a principal proteína nas urinas normais, mas seu papel biológico ainda não é claro; tem estrutura fibrilar com fibrilas não ramificadas de comprimentos variáveis (9 a 15 nm de diâmetro). Em várias condições fisiológicas e patológicas, as fibrilas da GTH tendem a se agregar e se entrelaçar dentro dos lumens tubulares formando uma estrutura cilíndrica. A formação dessa estrutura é favorecida por pH intratubular ácido, osmolaridade alta (o que explica o fato de eles serem incomuns em urinas alcalinas e/ou diluídas e concentração elevada de sódio) ou pela interação com mioglobina, hemoglobina, cadeias leves de imunoglobulinas (proteína de Bence-Jones) e outras substâncias. Inicialmente, o cilindro formado permanece ancorado nas células tubulares por fibrilas finas, mas, subsequentemente, ele é levado pelo fluxo urinário nos túbulos, alcançando, finalmente, a bexiga como um cilindro [37].

Os cilindros podem ser hialinos, se consistirem somente de GTH, ou complexos, se contiverem outros elementos. De fato, quaisquer partículas que estiverem passando pelos lumens tubulares durante a formação dos cilindros (p. ex., células, lipídios, grânulos, cristais, microrganismos) podem se aderir à sua matriz. Isso explica a grande variabilidade de cilindros que diferem em morfologia, composição e significado diagnóstico. A morfologia final dos cilindros também depende do diâmetro dos túbulos onde eles se formaram. Quan-

do os túbulos estão dilatados, cilindros grandes são vistos na urina, um achado que é indicativo de falência renal. Como os cilindros são formados nos túbulos renais, todas as partículas que estiverem contidas em seu interior são provenientes dos rins. Infelizmente, diversos tipos de cilindros de importância diagnóstica, em geral, não são identificados em grande parte dos laboratórios [5, 37, 38].

Os cilindros refletem o conteúdo dos túbulos renais no momento de sua formação, se constituindo em verdadeiras “biópsias” da luz tubular, daí poderem ser utilizados, principalmente quando em conjunto com outros achados do sedimento urinário e do exame bioquímico da urina, como biomarcadores de local da lesão renal (glomerular, tubular ou intersticial), de natureza da lesão (funcional ou estrutural) e até mesmo de prognóstico. A presença de cilindrúria frequentemente é acompanhada por proteinúria, porém ela pode ser observada em urinas sem proteinúria significativa [5, 37, 38].

Os cilindros são possuem extremidades arredondadas, de comprimento variável, mas com diâmetro relativamente uniforme. Esse formato ideal, no entanto, pode não ser encontrado, uma vez que assumem o formato do lúmen tubular no qual foram formados, podendo se apresentar como estruturas curvas e, às vezes, serpiginosas. As terminações podem também ser pontiagudas ou em forma de cauda. Alguns cilindros podem ser de difícil visualização, especialmente com a microscopia de campo claro, uma vez que o índice refrativo da matriz proteica é semelhante ao do vidro, de modo que o ajuste adequado da luz (ao microscópio) é importante para a avaliação desses cilindros. Eles devem ser procurados e quantificados com objetiva de pequeno aumento, mas precisam ser identificados com objetiva de grande aumento. A observação e a identificação dos cilindros no sedimento podem ser potencializadas pelo uso de microscopia de contraste de fase [5, 37, 38].

Normalmente, a classificação dos cilindros é baseada na sua morfologia e quanto ao tipo de partículas que eles contêm. Assim, podem ser classificados como hialinos, celulares (leucocitários, hemáticos, epiteliais), granuloso, gorduroso, bacteriano e ceroso. Uma amostra pode conter mais de um tipo de cilindro, e um mesmo cilindro pode ter mais de um padrão, sendo hialino em um polo e celular em outro, por exemplo. O diâmetro ou a largura dos cilindros também podem ter importância clínica. Por refletirem os túbulos em que são formados, os cilindros observados em urina de crianças pequenas (lactentes e pré-escolares) geralmente são mais estreitos do que os dos adultos. Cilindros estreitos também podem ser observados em túbulos que têm edema e o lúmen encontra-se estreito-

tado devido a processo inflamatório. Cilindros largos, com diâmetros duas a seis vezes maiores que o normal, geralmente indicam patologias mais sérias. Com frequência, são formados em túbulos dilatados e deformados, ou em túbulos coletores que servem vários néfrons. Então, geralmente indicam doença renal crônica ou obstrução (estase) [5, 37, 38].

6.3.2.1 *Cilindros hialinos*

De menor importância clínica no sedimento urinário, são compostos principalmente por proteína de Tamm-Horsfall, sem inclusões. São incolores, homogêneos, não refrativos e semitransparentes, com índice de refração próximo ao da água, tornando difícil sua visualização com microscopia óptica comum, de luz direta. São mais facilmente avaliados na microscopia de contraste de fase. Apresentam comprimento variável, lados paralelos, extremidades arredondadas e forma cilíndrica típica. Poucos cilindros hialinos (< 2 por campo de 100x) podem ser vistos em urina de indivíduos normais, sem proteinúria significativa. Eles podem estar presentes em condições parafisiológicas, como após exercício extenuante ou em estados febris, em doenças não renais como desidratação, insuficiência cardíaca congestiva ou em pacientes utilizando diuréticos de alça [37].

Numerosos cilindros hialinos (20 a 30 por campo de 100x) podem ser vistos em doenças renais moderadas ou graves em 100% das glomerulonefrites e em 86% das nefrites intersticiais. Eles são mais facilmente encontrados em urinas concentradas e ácidas. Em virtude disso, não são muito vistos em pacientes com insuficiência renal avançada que perderam a capacidade de concentração e de acidificação da urina. Importante frisar que, em casos de indivíduos normais ou com enfermidades não renais, eles costumam ser o único tipo de cilindro encontrado, enquanto nas doenças renais, em geral, estão associados a outros tipos de cilindros ou de número anormal de células no sedimento urinário. Clinicamente, têm pouco significado, entretanto podem estar associados à proteinúria e ser observados em praticamente todas as situações em que ela ocorre. Grandes quantidades de cilindros hialinos aparecem na pielonefrite aguda, na hipertensão arterial maligna, na doença renal crônica, na insuficiência cardíaca congestiva e na nefropatia diabética [5, 37, 38].

6.3.2.2 *Cilindros celulares epiteliais*

Os cilindros podem conter diferentes tipos de células, eritrócitos, leucócitos ou células epiteliais tubulares renais. Assim sendo, os cilindros contendo células são classificados como eritrocitários, leucocitários e epiteliais.

Os cilindros epiteliais, embora relativamente infrequentes, resultam da descamação de células que pavimentam os túbulos renais e sua inclusão na matriz proteica. A quantidade de células pode variar de umas poucas até a completa saturação do campo microscópico, e podem também ser vistas células de diferentes tamanhos e formatos, e arranjadas ao acaso em uma matriz proteica hialina ou granular. Assim, os cilindros celulares epiteliais podem representar descamação de diferentes porções dos túbulos. Com o tempo, podem sofrer alterações em sua estrutura, passando de epiteliais para granuloso (grosso e fino). A presença de cilindros epiteliais renais é indicativa de doença tubular e varia de acordo com a natureza do processo lesivo [37].

Os cilindros epiteliais podem ser encontrados em todas as condições associadas ao dano tubular grave, como NTA, nefrite intersticial aguda de qualquer causa e doenças glomerulares. Estão relacionados com injúria tubular, tóxica ou isquêmica, podendo ser observados após exposição a substâncias nefrotóxicas como etileno glicol e mercúrio, ou em infecções por alguns vírus, como citomegalovírus ou vírus da hepatite, que causam degeneração e necrose tubular. Estes cilindros também podem aparecer na doença renal crônica grave, em que o dano tubular acompanha o dano glomerular, e na rejeição aos transplantes halogênicos [5, 37, 38].

6.3.2.3 *Cilindros granuloso*

Tipicamente, a superfície dos cilindros granuloso (CG) é coberta de grânulos que variam em número e tamanho. Os grânulos podem ser finos ou grosseiros, e claros, escuros ou pigmentados. Os grânulos dos cilindros são lisossomos contendo proteínas ultrafiltradas que, em virtude da expulsão ativa das células tubulares ou dos danos das células tubulares, caem dentro do lúmen tubular, no qual eles se prendem na matriz do cilindro em formação. Entretanto, como os cilindros granuloso também são observados em doenças renais sem proteinúria, como na NTA, é aceito que os grânulos podem ser também derivados de degeneração celular [37].

Os cilindros granulosos podem se formar a partir da degeneração de cilindros celulares ou por agregação direta de proteínas séricas a uma matriz de glicoproteína de Tamm-Horsfall. Inicialmente, os grânulos são de tamanho grande e de aspecto grosseiro, mas, se a urina permanecer em repouso durante um tempo prolongado, eles sofrem de degeneração formando grânulos de aspecto mais delicado. Esses cilindros, em geral, não têm largura uniforme, sendo possível encontrar cilindros com uma extremidade fina e a outra, engrossada. A identificação das células que originaram os grânulos nem sempre é possível, porém poderia ter uma utilidade clínica, uma vez que hemácias dentro dos cilindros geralmente indicam lesão glomerular, células epiteliais mostram dano tubular renal e leucócitos são geralmente associados à infecção ou inflamação intersticial [37].

Cilindros granulosos são observados em doenças glomerulares e tubulares, e na rejeição de transplante renal. Ainda que os cilindros granulosos quase sempre indiquem doença renal, podem ser observados na urina de indivíduos normais após exercício vigoroso ou durante dieta rica em carboidratos. Cilindros granulosos, associados a cilindros de células epiteliais tubulares renais, são um achado peculiar de pacientes com necrose tubular aguda. Entretanto, eles são também frequentes em pacientes com glomerulonefrites [5, 37, 38].

6.3.2.4 Cilindros pigmentados por bilirrubina

Cilindros de qualquer tipo (hialino, granuloso, céreo ou celular) podem ser corados pela típica coloração amarela da bilirrubina. Cilindros pigmentados por bilirrubina são observados na urina de pacientes com icterícia associada à elevação da bilirrubina direta (conjugada) [5, 37, 38].

Estes cilindros se correlacionam significativamente com concentrações séricas elevadas de bilirrubina total e direta, e uma tendência de níveis séricos elevados de creatinina, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) [15].

Os níveis séricos de bilirrubina aumentam no cenário de falência hepática. Níveis aumentados de ácidos biliares ou bilirrubina podem prejudicar a função dos túbulos proximais (tubulopatia proximal) [15,40-42]. Nestas condições, podem ser formados os cilindros pigmentados por bilirrubina, que podem ser comparados aos cilindros de mieloma e de mioglobina, pois ambos têm efeito tóxico nas CETR e uma capacidade obstrutiva [15], podendo causar disfunção renal que consiste em uma complicação comum e importante em pacientes com insuficiência hepática.

7 Utilização de escores urinários

Os achados peculiares que o sedimento urinário dos pacientes com hepatopatias graves apresenta, principalmente em decorrência da toxicidade da bilirrubina para as CETR, associados aos parâmetros usuais de diagnóstico, sugerem a possibilidade de se correlacionar estes diferentes exames [15].

Perazella *et al* (2010) avaliaram a possibilidade de utilização de um escore laboratorial, proposto a partir de achados do sedimento urinário, objetivando e conseguindo prever o agravamento de IRA (tanto por NTA quanto por IRA pré-renal durante o período de hospitalização do paciente). Este escore se baseou na presença e quantificação de cilindros granulosos e CETR sendo que amostras com sedimento brando (ausência de cilindros granulosos e CETR) tinham diagnóstico de IRA pré-renal, enquanto que amostras com sedimento apresentando quantidades aumentadas de cilindros granulosos e CETR tinham diagnóstico de NTA [43].

Visto a importância que o desenvolvimento de IRA nos doentes hepáticos vem sendo um fator fortemente ligado a maiores taxas de morbidade/mortalidade e o diagnóstico diferencial de IRA por SHR de NTA ainda não estar esclarecido, a realização deste estudo, que utiliza recursos diagnósticos de baixo custo e de simples execução, justifica o esforço para se tentar elucidar a respeito do papel das informações do sedimento urinário nestes pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bello AK, Levin A, Tonelli M, Okpechi IG, Feehally J, Harris D, Jindal K, Salako BL, Rateb A, Osman MA, Qarni B, Saad S, Lunney M, Wiebe N, Ye F, Johnson DW (2017). Global Kidney Health Atlas: A report by the International Society of Nephrology on the current state of organization and structures for kidney care across the globe. International Society of Nephrology, Brussels, Belgium.
2. Hilton RM. Acute Kidney Injury: Epidemiology and assessment. In: Harber M. Practical Nephrology. Springer, 2014.
3. Ali T, Khan I, Simpson W, et al. Incidence and outcomes in acute kidney injury: a comprehensive population-based study. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18:1292–8.
4. Hsu CY, McCulloch CE, Fan D, Ordoñez JD, Chertow GM, Go AS. Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney Int.* 2007; 72:208–212.
5. Reilly R, Perazella MA. *Nephrology in 30 days.* 2.ed. Nova York: Lange, 2013.
6. Pere Ginès and Robert W. Schrier. Renal Failure in Cirrhosis *N Engl J Med* 2009; 361:1279-1290
7. Ginès P, Cárdenas A, Schrier RW. Liver disease and the kidney. In: Schrier RW, ed. *Diseases of the kidney and urinary tract.* 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007:2179-205.
8. Moreau R, Lebrec D. Acute renal failure in patients with cirrhosis: perspectives in the age of MELD. *Hepatology* 2003; 37:233-243.
9. Nair S, Verma S, Thuluvath PJ. Pretransplant renal function predicts survival in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 2002; 35:1179-1185.
10. Gonwa TA, Klintmalm GB, Levy M, Jennings LS, Goldstein RM, Husberg BS. Impact of pretransplant renal function on survival after liver transplantation. *Transplantation* 1995; 59:361-365.
11. Amin AA, Alabsawy EI, Jalan R, Davenport A. Epidemiology, Pathophysiology, and Management of Hepatorenal Syndrome. *Semin Nephrol.* 2019; 39(1):17-30.
12. Angeli P, Gin es P, Wong F, et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *J Hepatol.* 2015; 62:968-74.
13. Weil D, Levesque E, McPhail M, et al. Prognosis of cirrhotic patients admitted to intensive care unit: a meta-analysis. *Ann Intensive Care.* 2017;7:33.

14. Belcher JM, GT Guadalupe, Sanyal AJ et al. Association of AKI with mortality and complications in hospitalized patients with cirrhosis. *Hepatology* 2013; 57(2):753-762.
15. van Slambrouck CM, Salem F, Meehan SM, Chang A. Bile cast nephropathy is a common pathologic finding for kidney injury associated with severe liver dysfunction. *Kidney Int.* 2013; 84(1):192-197.
16. Salerno F, Gerbes A, Gines P et al. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut* 2007; 56:1310-1318.
17. Gines A, Escorsell A, Gines P et al. Incidence, predictive factors, and prognosis of the hepatorenal syndrome in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology* 1993; 105:229-236.
18. Laine GA, Hall JT, Lame SH, Granger HJ. Transsinusoidal fluid dynamics in canine liver during venous hypertention. *Circ Res.* 1979; 45:317-323.
19. Diretrizes da AMB. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Insuficiência Renal Aguda – 2007.
20. Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO 2012). Section 2: AKI definition. *Kidney Int Sup.* 2012; 2:19-36.
21. Patel J, Walayat S, Kalva N, Palmer-Hill S, Dhillon S. Bile cast nephropathy: A case report and review of the literature. *World J Gastroenterol.* 2016 Jul 21;22(27):6328-34.
22. Luciano RL, Castano E, Moeckel G, Perazella MA. Bile acid nephropathy in a bodybuilder abusing an anabolic androgenic steroid. *Am J Kidney Dis* 2014; 64:473-476.
23. Wu B, Gong D, Ji D, Xu B, Liu Z. Clearance of myoglobin by high cutoff continuous veno-venous hemodialysis in a patient with rhabdomyolysis: a case report. *Hemodial Int* 2015; 19:135-140.
24. Fickert P, Krones E, Pollheimer MJ, Thueringer A, Moustafa T, Silbert D, Halilbasic E, Yang M, Jaeschke H, Stokman G, Wells RG, Eller K, Rosenkranz AR, Eggertsen G, Wagner CA, Langner C, Denk H, Trauner M. Bile acids trigger cholemic nephropathy in common bile-duct-ligated mice. *Hepatology* 2013; 58: 2056-2069.
25. Sitprija V, Kashemsant U, Sriratanaban A, Arthachinta S, Poshyachinda V. Renal function in obstructive jaundice in man: cholangiocarcinoma model. *Kidney Int* 1990; 38: 948-955.
26. Betjes MG, Bajema I. The pathology of jaundice-related renal insufficiency: cholemic nephrosis revisited. *J Nephrol* 2006; 19: 229-233.
27. Bairaktari E, Liamis G, Tsolas O, Elisaf M. Partially reversible renal tubular damage in patients with obstructive jaundice. *Hepatology* 2001; 33: 1365-1369.
28. Sellinger M, Haag K, Burckhardt G, Gerok W, Knauf H. Sulfated bile acids inhibit

- Na(+)-H+ antiport in human kidney brush-border membrane vesicles. *Am J Physiol* 1990; 258: F986-F991.
29. Mulay SR, Anders HJ. Crystal nephropathies: mechanisms of crystal-induced kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* 2017; 13(4): 226-240.
30. Bredewold OW, de Fijter JW, Rabelink T. A case of mononucleosis infectiosa presenting with cholemic nephrosis. *NDT Plus* 2011; 4: 170-172.
31. FajersCM. Experimental studies in the so-called hepatorenal syndrome on the effect of hepatic necrosis by itself and combined with ten minutes' unilateral renal ischemia on the kidneys of hydrated rabbits-as judged by some renal function tests. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1958; 44: 5-20.
32. Sant SM, Purandare NM. Cholemic nephrosis--an autopsy and experimental study. *J Postgrad Med* 1965; 11: 79-89.
33. Holmes TW. The histologic lesion of cholemic nephrosis. *J Urol* 1953; 70: 677-685.
34. Schrier RW, Shchekochikhin D and Gines P. Renal failure in cirrhosis: prerenal azotemia, hepatorenal syndrome and acute tubular necrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27 (7): 2625-8.
35. Trawalé JM, Pandis V, Rauutup E et al. The spectrum of renal lesion in patients with cirrhosis: a clinicopathological study. *Liver Int.* 2010(30): 725-732.
36. Angeli P, Sanyal A, Moller S, Alessandria C, Gadano A, Kim R, Sarin SK, Bernardi M; International Club of Ascites. Current limits and future challenges in the management of renal dysfunction in patients with cirrhosis: report from the International Club of Ascites. *Liver Int.* 2013;33(1):16-23.
37. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: Realização de exames em urina. Barueri, SP: Manole, 2017.
38. Fogazzi GB. The urinary sediment an integrated view. Third edition. Elsevier, Milano – 2011.
39. Spinelli D, Consonni D, Garigali G, Fogazzi GB. Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular diseases: results of a prospective study. *Clin Chim Acta* 2013; 424:47-52.
40. Topuzlu C, Stahl WM. Effect of bile infusion on the dog kidney. *N Engl J Med* 1966; 274:760–763.
41. Bairaktari E, Liamis G, Tsolas O et al. Partially reversible renal tubular damage in patients with obstructive jaundice. *Hepatology* 2001; 33:1365–1369.
42. Gollan JL, Billing BH, Huang SN. Ultrastructural changes in the isolated rat kidney

induced by conjugated bilirubin and bile acids. *Br J Exp Pathol* 1976; 57:571–581.

43. Perazella MA, Coca SG, Hall IE. Urine microscopy is associated with severity and worsening of AKI in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5:402-408.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar a utilidade diagnóstica do sedimento urinário para identificação de IRA e para o diagnóstico diferencial de NTA e SHR em pacientes com doença hepática severa.

Objetivos específicos

- Descrever o padrão clínico do sedimento urinário observado nos pacientes com doença hepática severa bem como os elementos que aparecem no sedimento urinário;
- Determinar se a presença de expressivo número de células epiteliais tubulares renais (CETR) e cilindros granulosos/epiteliais na microscopia do sedimento urinário permitem identificar a IRA;
- Determinar se a microscopia de urina com muitas CETR e cilindros granulosos/epiteliais consegue identificar insuficiência renal aguda (previamente à creatinina sérica);
- Comparar a capacidade diagnóstica da presença de CETR e cilindros granulosos/epiteliais com a capacidade diagnóstica da hipercreatininemia em casos de IRA.

Artigo científico – Aceito para publicação no periódico Clinical Nephrology em 05.04.2019.

Utility of a urine sediment score in hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria

José A. T. Poloni^{1,2*}, Mark A. Perazella³, Elizete Keitel^{2,4}, Claudio A. Marroni^{2,5}, Samantha B. Leite² and Liane N. Rotta²

1- Urinalysis Section – Carlos Franco Voegeli Clinical Analysis Laboratory – Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre – Brazil; Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo – Brazil; Controllab, Rio de Janeiro – Brazil.

2- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre – Brazil.

3- Section of Nephrology, Yale University School of Medicine, BB 114, 330 Cedar Street, New Haven, CT 06520 and VA Medical Center, West Haven, CT – USA.

4- Nephrology Unit – Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre – Brazil;

5- Hepatology Unit - Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre – Brazil;

*Corresponding author:

José Antonio Tesser Poloni

Carlos Franco Voegeli Clinical Analysis Laboratory

Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Address: Rua Professor Annes Dias, 295 - Centro Histórico, Porto Alegre – RS, Brazil

Zip code: 90020-090

Telephone: +55-51-32148565

E-mail: jatpoloni@yahoo.com.br

Key words: Urine sediment profile, Bilirubin pigmented casts, Renal tubular epithelial cells, Acute kidney injury.

Abstract

Aims: Acute and chronic kidney dysfunction is common in patients with end-stage liver disease. Differentiation between acute kidney injury (AKI) due to hepatorenal syndrome (HRS) or acute tubular necrosis (ATN) remains difficult, however urine cast scoring systems using renal tubular epithelial cells (RTECs) and granular casts (GCs) can help to identify intrinsic kidney diseases. The objective of this study was to evaluate the urine sediment profile of patients with liver disease and hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria and the use of a urine sediment scoring system to identify the most common score in AKI patients and high urine bilirubin concentrations.

Materials and Methods: A retrospective study in the data bank of a large laboratory that assists a hospital-complex in Brazil was performed.

Results: Urinary casts, in particular GCs, as well as RTECs were observed more frequently in patients with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria, while hyaline casts were observed in patients without hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria. Regardless of the AKI or non-AKI condition the relative risk for Scores 2 or 3 (sediment consistent with tubular damage, with GC and/or RTEC in different quantities) in group 4 is 3.61 times higher compared to patients in group 1.

Conclusions: In patients with higher urinary bilirubin levels, the urine sediment had greater numbers of GCs and RTECs and higher urine sediment scores (scores 2 or 3). The presence of a larger number of urine particles (RTECs and GCs) originating in the kidneys in the groups with higher levels of urinary bilirubin suggests an association between hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria and tubular injury independent of AKI or non-AKI.

Introduction

Kidney dysfunction is common in patients with end-stage liver disease (ESLD). It is estimated that nearly 20-25% of patients with ESLD will have some type of kidney dysfunction during the disease course [1,2]. The spectrum of kidney disease can range from reversible acute kidney injury (AKI), such as prerenal azotemia or acute tubular necrosis (ATN), to permanent and chronic kidney damage (CKD). CKD may result from causes unrelated to the liver disease such as diabetes mellitus or related to the hepatic diseases such as hepatitis C virus infection.

The hepatorenal syndrome (HRS) is diagnosed as an acute increase in serum creatinine of 0.3 mg/dL within 48 hours or by 50% from a stable baseline serum creatinine (sCr) within 3 months (presumed to have developed within the past 7 days when no prior readings are available) [3]. Additionally, the absence of current or recent treatment with potentially nephrotoxic drugs, absence of shock and findings suggestive of parenchymal kidney disease (urinary excretion of >500 mg of protein/day, >50 red cells/high-power field, or abnormal kidneys on ultrasonography) are required [4]. HRS occurs in nearly 8% of patients with ascites and 75% of patients with HRS will require dialysis [1,5]. Early studies demonstrated that kidneys from HRS patients had normal renal histology and exhibited immediate allograft function after transplantation [1,6]. Pathophysiologically, patients with HRS experience severe vasoconstriction that involves various vascular beds including the kidneys, with subsequent reduction in renal blood flow, in glomerular filtration rate and reciprocal increase in proximal tubular sodium reabsorption [1,7]. The traditional view has utilized the fractional excretion of sodium (FeNa) cut off of 1% to differentiate between prerenal (including HRS) and intrinsic kidney injury, especially those caused by ATN [1]. However, this test has low sensitivity and specificity for differentiating HRS from ATN.

Differentiation between HRS and ATN remains difficult [4, 8-10]. Granular casts can be observed in the urinary sediment in both conditions, but the presence of renal tubular epithelial cells favors a diagnosis of ATN [4]. Kidney biopsy remains the gold standard method to identify parenchymal kidney disease; however the procedure can be dangerous since these patients have coagulopathies and thrombocytopenia. Urine sediment analysis may help differentiate HRS from ATN, since the literature has several studies focused on the use of scoring systems to differentiate patients with prerenal azotemia from patients with intrinsic kidney diseases [11-15].

Urine microscopy is the oldest and one of the most commonly used tests for

differential diagnosis of AKI. The diagnosis of AKI is current and primarily based on the measurement of serum creatinine, blood urea nitrogen, and urine output. In addition, urine biochemistry and microscopy provide vital information to differentiate AKI into traditional categories of prerenal azotemia and ATN [14,17-20]. Therapies and prognosis for prerenal AKI and ATN differ substantially; therefore, early clinical differentiation and correct identification is important. Although microscopic analysis of urine sediment is often suggested for AKI patients, its precise diagnostic value is not clear. Furthermore, there has been a gradual trend away from using routine urine microscopy in the clinical evaluation of AKI [14].

Urinary microscopy in ATN patients is classically described as containing renal tubular epithelial cells (RTECs), RTECs and granular casts (GC), and muddy brown or mixed cellular casts, whereas sediment in patients with prerenal AKI usually demonstrates occasional hyaline or very sparse fine granular casts [14, 21-25]. Because urine microscopy examination is readily available, rapid, and inexpensive, valuable information that will improve the differential diagnosis of AKI can be quickly obtained.

This study evaluated the urine sediment profile, focusing on structures known as markers of parenchymal renal disease, more precisely, the presence of bilirubin pigmented casts (granular and RTECs) and free RTECs in patients with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria due to severe liver disease and the possible use of this test in the differential diagnosis of AKI.

Materials and Methods

Patients

In this retrospective study, the data bank of Carlos Franco Voegeli Clinical Analysis Laboratory at Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - Brazil was evaluated from January, 1st 2013 to December, 31 2014. It was included results from both hospitalized and ambulatory patients >18-year-old, with bilirubinemia (serum total bilirubin and/or direct bilirubin) and urinalysis (dipstick and urine sediment analysis) requests. The study was approved by the Ethics Committee of Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre and Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, and is registered with the number 1.026.665.

The patient results obtained in the laboratory data bank were divided in 4 groups

based on the bilirubin dipstick color block: Group 1 (negative), Group 2 (1+), Group 3 (2+) and Group 4 (3+). All results in Group 1 were from patients that had serum bilirubin within the normal range (Total bilirubin: 0.3-1.2 mg/dL; Direct bilirubin: 0.1-0.4 mg/dL) and a negative result to urine bilirubin at dipstick urinalysis. All results in Groups 2, 3 and 4 were from patients that had serum bilirubin higher than the normal range and positive results in the urine, in different concentrations.

Serum biochemistry

Data from basic serum liver biomarkers as aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), serum total bilirubin (TB) and direct bilirubin (DB), serum albumin, sodium and creatinine concentrations (basal result and evolution within 4 weeks to learn about the development of AKI or not) were collected. Results of serum biochemistry parameters were obtained in the same day that urinalysis was performed, except for serum creatinine that has a second value within the period up to 4 weeks from the day when urinalysis was performed. These serum analyses were performed in the ADVIA 1650 system (Siemens Healthneers, Germany).

Urinalysis

Urinalysis was evaluated by dipstick at Urisys 2400 automated system for urinalysis (Roche Diagnostics, Switzerland) and urine sediment microscopy. Manual microscopy procedure was conducted as follows: 10 mL of urine were centrifuged at 400g (1,500 rpm) for 5 min in a standard centrifuge; 9.5 mL of the urine supernatant was decanted followed by gentle manual agitation of the remaining 0.5 mL of urine sediment in the test tubes. A single drop (approximately 50 μ L) of urine sediment was applied on a glass slide and covered with a coverslip (22 x 22 mm). There was no variation in types of glass slides or coverslips used during the study. Samples were examined at low power field (LPF) (100x) and then at high power field (HPF) (400x) on the bright-field and phase contrast microscope. The urine was also viewed with polarization when crystals were identified. Urinary sediment was analyzed under HPF for red blood cells (RBCs), white blood cells (WBCs) and RTECs, and under LPF for urinary casts. Urine particles were reported in patient's data sheet as the mean number of elements for 10 HPFs (RBCs, WBCs and RTECs) and for 10 LPF for urinary casts.

For the urine sediment profile, RTECs (Figure 2A) were defined as size variation

(11-15 μm in diameter), shape variation (round to columnar), and a well-evident nucleus with nucleoli. RTECs casts (Figure 2B) were identified as one or more RTECs within a cast matrix, granular casts (Figure 2C) were defined as fine or coarse granules contained within a cast matrix, whereas hyaline casts (Figure 2D) were defined as cast matrix without cells or other elements and colorless. Granular casts and RTECs casts per LPF and RTECs per HPF were recorded as present or absent in order to evaluate the urine sediment profile. Other casts, such as hyaline, red blood cell, and white blood cell casts per LPF, were also recorded.

AKI definition and main diseases/clinical conditions affecting the patients

AKI was defined either as a 0.3 mg/dL or a 50% increase in serum creatinine concentration above the baseline [14,15]. Since AKI is commonly defined as an abrupt decline in kidney function clinically manifesting as a reversible acute increase in serum nitrogen waste products over the course of hours to weeks, results presented in this study are from a period of observation from hours up to the next 4 weeks from baseline creatinine value (baseline creatinine value used was the result of this test on the day when urinalysis was performed) [26].

Diseases/clinical conditions of patients who developed AKI were obtained from the electronic medical records. Since this study was performed using the information available in the data bank of a central laboratory that assists a large hospital complex, there is a wide range of diseases/clinical conditions observed, however, only the most prevalent are presented. In addition, the same patient can present more than one disease/clinical condition.

Other contributing causes of AKI such as hypotension, infection, and nephrotoxin exposure within the period of time evaluated are not addressed in the study since this information was not totally available for all patients in the hospital data bank.

Urine microscopy scoring system

A scoring system defined as the following was used in this study:

Score 1: 0 RTEC/HPF and 0 GC/LPF.

Score 2: 0 RTEC/HPF and 1 to 5 GC/LPF; or 1 to 5 RTEC/HPF and 0 GC/LPF.

Score 3: 1 to 5 RTEC/HPF and 1 to 5 GC/LPF; or 0 RTEC/HPF and 6 to 10 GC/LPF; or 6 to 20 RTEC/HPF and 0 GC/LPF (Perazella et al, 2008) [15].

A score of ≥ 2 is a predictor of intrinsic renal disease.

Statistical analysis

Statistical analysis used Statistical Software Package for Social Sciences (SPSS) version 20 (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp). Frequencies with percentage were generated for categorical variables, relative risk (RR) to develop AKI and to present Scores 2 or 3 were calculated. Chi-square and ANOVA tests were used. A P value ≤ 0.05 was considered significant.

Results

Patients

The total number of results, age, sex and final number of results per group are showed in Table 1. The flow diagram shows the number of results, according to the condition (AKI or no AKI) and its distribution per group (Figure 1)

Serum biochemistry

The liver serum biomarkers were significantly elevated in those with higher urine bilirubin levels, while serum sodium and albumin concentration decreased significantly (Table 2).

Urinalysis

Urine sediment particles (cast subtypes and RTECs) are presented in Table 3. Casts, independent of subtype, were observed more frequently in patients from groups 2, 3 and 4, while hyaline casts were more frequently observed in group 1 patients. Other cast subtypes such as granular casts and RTEC casts were found more frequently in group 4. RTECs were more often observed in groups 3 and 4.

AKI and Scoring system

From the total of 2,675 patient results, 1,096 had serum creatinine information (reference value: 0.3-1.3 mg/dL) within the period of 4 weeks from the baseline; 287 (26.2%) presented with AKI, and 809 presented without AKI.

Regardless of the AKI or non-AKI condition, the relative risk (RR) for Scores 2 or 3 in Group 4 (hyperbilirubinemic/hyperbilirubinuric) is 3.61 times higher, compared to Group

1 (Table 4).

Main diseases/clinical conditions

The main disease/clinical conditions observed in patients from group 1 were diabetes mellitus (16%), followed by chronic kidney disease (12%) and kidney transplantation (12%). Patients from groups 2, 3 and 4 had primarily hepatitis C infection (57%, 35% and 30% respectively) followed by liver transplantation (23%, 16% and 16% respectively) (Table 5).

Discussion

The main results of this study are the following: (1) a urine sediment profile determined by the presence of RTECs (free and within casts) and granular casts was associated with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria; and (2) patients with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria had a higher RR for urine sediment scores ≥ 2 independent of AKI.

Serum liver biomarkers (AST, ALT, ALP, GGT, LDH, DB and TB) showed a direct relationship to bilirubin detection in the urine. The groups with the highest levels of urinary bilirubin had the highest levels of serum bilirubin (total and direct) and also the highest levels of serum liver enzymes (Table 2). More severe bilirubinemia/bilirubinuria was associated with significantly decreased serum sodium and albumin concentrations (Table 2). Decreases in the serum sodium levels are often seen with severe liver diseases, for example, patients with cirrhosis may develop hyponatremia due to either hypovolemia (loss of extracellular fluid due to diuretics) or hypervolemia (expanded extracellular fluid volume due to the kidney inability to excrete solute-free water) [27, 28].

In patients with underlying liver disease, urinary casts of any type (hyaline, granular, waxy or cellular) may be stained by the typical yellow color of bilirubin (Figure 2). Bilirubin pigmented casts are observed in the urine of patients with jaundice and increased direct (conjugated) bilirubin [29-31]. In 1922 Haessler et al. analyzed the urine of humans and dogs with jaundice and concluded that biliary salts could be found in urine sediment. Further studies showed that, as the liver injury resolves and kidney function recovers, the biliary salt tends to disappear [32,33]. Elias et al. [34] observed that renal cells exposed to unconjugated bilirubin "in vitro", exert an effect on mitochondrial structure with a decline in

cellular ATP, and disturbance of plasma membranes that altered the cell volume and electrolyte content.

The mechanism of kidney injury from severe hyperbilirubinemia appears to be more than the hemodynamic disturbances such as systemic and splanchnic vasodilatation. The ischemic insult stimulates an inflammatory response with increased expression of adhesion molecules attracting leukocytes. Intra-luminal debris from tubular cells damaged by ischemia impairs sodium reabsorption, which polymerizes Tamm-Horsfall proteins forming a gel-like substance that occludes the tubular lumen causing increased backpressure and back leak. Endothelial injury affects afferent arteriolar tone, activates the clotting cascade and releases endothelin, which causes further intrarenal vasoconstriction, thus compromising the microcirculation. An injurious reperfusion period can then follow, due to the depletion of ATP, which releases proteases with oxidative substances that further damage the cytoskeleton of the tubules. This pathogenesis perhaps explains the unresponsive nature of this condition when identified late in its clinical course [35, 36].

Cirrhotic physiology undoubtedly contributes to kidney injury, but a high load of filtered bile acids also can contribute to tubular injury, perhaps in cells that have been primed by kidney ischemia. Bile acids are reabsorbed into tubular cells (primarily proximal) and likely can impair cell function and structure. This is evidenced by the presence of exfoliated tubular cells (swollen and vacuolated) seen on urine microscopy and tubular cells with distorted mitochondria on kidney biopsy. Overall, the combination of kidney hypoperfusion, direct bile acid tubulotoxicity, and obstructing bile casts leads to AKI and is described most accurately as “bile acid nephropathy or cholemic nephropathy” [37-39].

RTECs (free and within casts) containing bilirubin crystals (very small and seen as dots or rods) can be observed in the urine sediment of patients with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria [4]. The use of polarized light filters helps in the visualization of these structures (Figure 3), especially when moving the condenser of the microscope to an upper position. To verify the intracellular content of the RTECs with crystals in the urine sediment, Transmission Electron Microscopy (TEM) was performed revealing intracytoplasmic strong electron dense structures (Figure 4) within RTECs. However, it was not possible to determine the real chemical composition that underlie the observed crystals in this study.

In 2013, Van Slambrouck *et al.* in a clinicopathologic study of 44 patients with jaundice and histological analysis (41 autopsies and 3 renal biopsies) demonstrated that 24 patients had bile casts involving the distal nephron and in six with extension into

proximal tubules. Acute tubular injury was also observed in 77% of the cases in the bile cast nephropathy group, characterized by tubular epithelium with attenuated cytoplasm or loss of proximal tubular brush borders [40]. Van Slambrouck *et al.* concluded that bile cast nephropathy is a proven histological entity, with more than half of the patients prone to bile deposition in renal tubules. It is important to mention that the results need to be taken with caution because the source of the renal tissue was mainly from autopsies

Also in 2013, Shimizu *et al.* observed that during the progression of acute hepatic failure (AHF) and hyperbilirubinemia in liver graft rejection AHF-associated AKI gradually developed. Degeneration and apoptotic cells were apparent in tubular epithelial cells with bile pigment accumulation and mitochondrial degeneration. AHF-associated AKI seems to be mediated by renal tubular epithelial cell injury with bile pigment accumulation, impaired microcirculation caused by peritubular capillaries (PTCs) endothelial cell injury with depletion of endothelial nitric oxide synthase and angiogenic factors, and by a decrease in red blood cells velocity and renal inflammation. Multiple mechanisms including tubular and PTC injuries and renal inflammation may be involved in the development of AHF-associated AKI [41].

In this study, the urine sediment revealed a particular profile consisting of granular casts, RTEC casts and free RTECs that were associated with increased levels of urinary bilirubin, particularly in group 4 (Table 3). In addition, hyaline casts, indicative of renal hypoperfusion without kidney injury were observed more frequently in group 1. This suggests that group 4 suffered structural kidney injury from bilirubin/bile acid-related tubular toxicity (ischemia, direct toxicity, bile cast formation), whereas group 1 had preserved tubular function in the setting of hypoperfusion.

Urine sediment microscopy analysis has some advantages because of widespread availability, technique simplicity with conventional equipment and low financial cost. In a cross-sectional study of urine microscopy, in the setting of hospital-acquired acute kidney injury (AKI) Perazella *et al.* [14] suggest that ATN can be reliably differentiated from prerenal AKI based on determining the presence of granular casts and using a urine scoring system based on the number of casts and RTECs.

In this study, using the Perazella score [15] to identify ATN, patients with hyperbilirubinuria with and without AKI had higher RRs for urine sediment scores ≥ 2 , in particular when referring to group 4 vs. group 1 (Table 4).

This study has limitations that need to be discussed: (1) there is no kidney biopsy information to support the diagnosis of ATN as a gold standard method (only 8 patients, all

with AKI, had kidney biopsy reports available in the hospital system, 5 from group 1, 2 from group 2 and 1 from group 4). Due to the low number of patients with kidney biopsy reports available, definitive diagnosis of ATN could not be determined. (2) The study was performed from information obtained in a data bank. Many patients did not have information available for some tests. For example, it was impossible to determine the fractional excretion of sodium (FeNa) due to the lack of information in the system. This information could contribute to understanding the pathological mechanism in the studied patients. (3) Novel biomarkers of kidney injury like Kidney injury molecule-1(KIM-1), Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), Interleukin-18 (IL-18) or Cystatin C (Cys-C) were not measured. In patients with hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria and urine sediment scores ≥ 2 without AKI defined by serum creatinine may have subclinical kidney injury detected by novel urinary biomarkers, which would have strengthened the utility of the urine sediment score in the setting of hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria.

Despite the mentioned limitations, this study demonstrated that the urine sediment score has utility in suggesting structural kidney injury in the setting of hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria with and without AKI diagnosed by serum creatinine. A bland sediment or the presence of hyaline casts and few elements may be useful in excluding the presence of structural kidney injury. RTECs, RTEC casts and granular casts are likely to be present at greater degrees of hyperbilirubinemia/hyperbilirubinuria, irrespective of the presence of AKI or not. It can be an evidence of tubular injury that have not manifested with drop in GFR yet (subclinical AKI).

This study supports that bilirubin (or bile salts) may be toxic to RTECs, since patients with the highest levels of urinary bilirubin had higher urine sediment scores, which likely reflects kidney injury.

Additional studies using the urine sediment scoring systems in combination with other urinary tests and biomarkers may better elucidate the role of urinary microscopy in AKI, especially in patients with severe liver disease. Combining a comprehensive clinical evaluation with the urine sediment analysis and new biomarkers may provide insights into AKI and resurrect the ancient tradition of looking at the urine.

Acknowledgment: Gabriela Galli, Leandro Donin, Cristiane Bündchen and Michel Daudon.

Conflict of interest statement: None declared.

Authors' contributions: José A. T. Poloni (study design, data collection, samples analysis, wrote and reviewed the paper), Mark A. Perazella (study design, wrote and reviewed the paper), Elizete Keitel (study design, wrote and reviewed the paper), Claudio A. Marroni (study design, reviewed the paper), Samantha B. Leite (data collection, reviewed the paper) and Liane N. Rotta (study design, wrote and reviewed the paper).

Funding: None

References

- 1- Alsaad AA, Wadei HM. Fractional excretion of sodium in hepatorenal syndrome: Clinical and pathological correlation. *W J Hepat.* 2016; 8(34): 1497-1501.
- 2- Garcia-Tsao G, Parikh CR, Viola A. Acute kidney injury in cirrhosis. *Hepatology* 2008; 48: 2064-2077.
- 3- Bucsics T, Krones E. Renal dysfunction in cirrhosis: acute kidney injury and the hepatorenal syndrome. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2017; 5(2): 127-137.
- 4- Elsom KA. Renal Function in Obstructive Jaundice. *Arch Intern Med (Chic.)* 1937;60(6):1028-1033.
- 5- Huschak G, Kaisers UX, Laudi S. [Hepatorenal syndrome]. *Anaesthesist* 2013; 62: 571-582.
- 6- Iwatsuki S, Popovtzer MM, Corman JL, Ishikawa M, Putnam CW, Katz FH, Starzl TE. Recovery from "hepatorenal syndrome" after orthotopic liver transplantation. *N Engl J Med* 1973; 289: 1155-1159.
- 7- Cárdenas A, Arroyo V. Mechanisms of water and sodium retention in cirrhosis and the pathogenesis of ascites. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17: 607-622.
- 8- Ginès P, Cárdenas A, Schrier RW. Liver disease and the kidney. In: Schrier RW, ed. *Diseases of the kidney and urinary tract.* 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 2179-205.
- 9- Moreau R, Lebrec D. Acute renal failure in patients with cirrhosis: perspectives in the age of MELD. *Hepatology* 2003; 37: 233-43.
- 10- Salerno F, Gerbes A, Ginès P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut* 2007; 56: 1310-8.
- 11- Claure-Del Granado R, Macedo E and Mehta RL. Urine microscopy in acute kidney injury: time for a change. *Am J Kidney Dis.* 2011; 57(5): 657-660.
- 12- Bagshaw SM, Langenberg C, Bellomo R. Urinary biochemistry and microscopy in septic acute renal failure: a systematic review. *Am J Kidney Dis.* 2006; 48(5): 695-705.
- 13- Chawla LS, Dommu A, Berger A, Shih S, Patel SS. Urinary sediment cast scoring index for acute kidney injury: a pilot study. *Nephron Clin Pract.* 2008; 110(3):c145-150.
- 14- Perazella MA, Coca SG, Kanbay M, Brewster UC, Parikh CR. Diagnostic value of urine microscopy for differential diagnosis of acute kidney injury in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3(6): 1615-1619.
- 15- Perazella MA, Coca SG, Hall IE, Iyanam U, Korashy M, Parikh CR. Urine microscopy

- is associated with severity and worsening of acute kidney injury in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; 5(3): 402-408.
- 16- Bull GM, Joekes AM, Lowe KG: Renal function studies in acute tubular necrosis. *Clin Sci.* 1950; 9: 379 -404.
- 17- Eliahou HE, Bata A: The diagnosis of acute renal failure. *Nephron.* 1965;2: 287-295.
- 18- Perlmutter M, Grossman SL, Rothenberg S, Dobkin G: Urine serum urea nitrogen ratio: Simple test of renal function in acute azotemia and oliguria. *JAMA.* 1959;170: 1533-1537.
- 19- Miller TR, Anderson RJ, Linas SL, Henrich WL, Berns AS, Gabow PA, Schrier RW: Urinary diagnostic indices in acute renal failure: A prospective study. *Ann Intern Med.* 1978; 89: 47-50.
- 20- Bock HA: Pathophysiology of acute renal failure in septic shock: From prerenal to renal failure. *Kidney Int Suppl.* 1998; 64: S15–S18.
- 21- Klahr S, Miller SB: Acute oliguria. *N Engl J Med.* 1998; 338: 671-675.
- 22- Esson ML, Schrier RW: Diagnosis and treatment of acute tubular necrosis. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 744-752.
- 23- Singri N, Ahya SN, Levin ML: Acute renal failure. *JAMA.* 2003; 289: 747-751.
- 24- Needham E: Management of acute renal failure. *Am Fam Physician.* 2005; 72: 1739-1746.
- 25- Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R: Acute renal failure. *Lancet.* 2005; 365: 417-430.
- 26- Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO 2012). Section 2: AKI definition. *Kidney Int Sup.* 2012; 2:19-36.
- 27- John S and Thuluvath PJ. Hyponatremia in cirrhosis: Pathophysiology and management. *World J Gastroenterol* 2015; 21(11): 3197-3205.
- 28- Spinella, R., Sawhney, R. & Jalan, R. Albumin in chronic liver disease: structure, functions and therapeutic implications. *Hepatol Int.* 2016; 10: 124-132.
- 29- Fogazzi GB. *The Urinary Sediment*, 3rd edition, 2010, Elsevier, Milano.
- 30- Kritmetapak K, Sathidatekoonchorn T, Papanrueng W. Bile cast nephropathy in a patient with cholangiocarcinoma - a case report. *Clin Case Rep.* 2018; 6(5): 779-783
- 31- Mohapatra MK, Behera AK, Karua PC, Bariha PK, Rath A, Aggrawal KC, Nahak SR, Gudaganatti SS. Urinary bile casts in bile cast nephropathy secondary to severe falciparum malaria. *Clin Kidney J.* 2016; 9(4): 644-648.
- 32- Romano TG, Vieira Junior JM. Do Biliary Salts Have Role on Acute Kidney Injury

Development? *Journal of Clinical Medicine Research*. 2015; 7(9): 667-671.

33- Haessler H, Rous P, Broun GO. The Renal Elimination of Bilirubin. *J Exp Med*. 1922; 35(4): 533-552.

34- Elías MM, Comin EJ, Grosman ME, Galeazzi SA, Rodríguez Garay EA. Possible mechanism of unconjugated bilirubin toxicity on renal tissue. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1987; 87(4): 1003-1007.

35- Abuelo J: Normotensive ischemic acute renal failure. *N Engl J Med* 2007, 357: 797-805.

36- Betjes MG, Bajema I. The pathology of jaundice-related renal insufficiency: cholemic nephrosis revisited. *J Nephrol*. 2006; 19: 229-233.

37- Luciano RL, Castano E, Moeckel G, Perazella MA. Bile acid nephropathy in a bodybuilder abusing an anabolic androgenic steroid. *Am J Kidney Dis*. 2014; 64(3): 473-476.

38- Rafat C, Burbach M, Brochériou I, Zafrani L, Callard P, Rondeau E, Hertig A. Bilirubin-associated acute tubular necrosis in a kidney transplant recipient. *Am J Kidney Dis*. 2013; 61(5): 782-785.

39- Leclerc M, Lanot A, Béchade C, Naoures CL, Comoz F, Lobbedez T. Néphropathie à cristaux biliaires/Néphropathie cholémique. *Nephrol Ther*. 2016; 12(6): 460-462.

40- van Slambrouck CM, Salem F, Meehan SM, Chang A. Bile cast nephropathy is a common pathologic finding for kidney injury associated with severe liver dysfunction. *Kidney Int*. 2013; 84(1): 192-197.

41- Shimizu A, Ishii E, Masuda Y, Sato A, Piao H, Kunugi S, Takahashi M, Terasaki M, Nagasaka S, Teresaki Y, Ohashi R, Morioka T, Fukuda Y. Renal inflammatory changes in acute hepatic failure-associated acute kidney injury. *Am J Nephrol*. 2013; 37(4): 378-388.

Tables:

Table 1: Baseline characteristic data.

Total number of results	2,675
Mean age	53.6±15.8 years
Sex	Female 49.4%
	Male 50.6%
Final number of results /group	Group 1 (n= 1,500)
	Group 2 (n= 566)
	Group 3 (n= 318)
	Group 4 (n= 291)

Table 2: Serum biochemistry results in patients with severe liver disease.

Group	AST	ALT	GGT	ALP	LDH	TB	DB	Alb	Sodium
1	27.99± 5.21 (1,472)	31.08± 5.51 (1,475)	54.77± 10.22 (1,250)	86.98± 7.03 (1,254)	191.19± 20.76 (553)	0.63± 0.08 (1,500)	0.21± 0.06 (1,500)	4.13± 0.02 (433)	141.54± 0.13 (1,084)
2	132.01± 8.67* (533)	113.94± 9.12* (540)	325.45± 17.81* (430)	206.34± 12.01* (430)	492.65± 44.62* (121)	2.84± 0.13* (570)	1.81± 0.10* (565)	3.11± 0.03* (291)	137.19± 0.19* (515)
3	215.61± 12.27* (312)	185.41± 11.96* (310)	524.56± 23.32* (237)	371.29± 15.50* (255)	615.70± 58.50* (69)	4.99± 0.17* (325)	3.80± 0.14* (318)	2.96± 0.04* (177)	136.54± 0.24* (306)
4	258.50± 11.75* (285)	252.47± 12.44* (285)	670.48± 23.12* (240)	533.18± 15.72* (247)	499.17± 56.77* (74)	12.19± 0.17* (292)	9.90± 0.14* (292)	2.99± 0.04* (158)	136.58± 0.26* (274)
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01

Data show as mean ± standard error and “n”. AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; GGT: Gamma glutamyltransferase; ALP: Alkaline phosphatase; LDH: Lactate dehydrogenase; TB: Total bilirubin; DB: Direct bilirubin; Alb: Albumin. AST, ALT, GGT, ALP and LDH: activities are expressed as U/L; TB and DB are expressed as mg/dL; Alb: g/L and sodium as mEq/L. *Different from the group 1.

Table 3: Urine sediment profile based on the presence of casts and renal tubular epithelial cells.

Group	Casts (any type)	Hyaline casts	Hyaline- granular casts	Granular casts	WBC casts	RTEC casts	Fatty casts	Waxy casts	RBC casts	RTEC
1	172 (11.5)	127 (73.0)	36 (20.8)	53 (30.6)	4 (2.3)	11 (6.4)	5 (2.9)	7 (4.0)	6 (3.5)	32 (2.1)
2	218 (37.6)*	130 (59.9)*	26 (12.2)	134 (62.0)	8 (3.7)	48 (22.3)	2 (0.9)	16 (7.5)	11 (5.1)#	43 (7.4)
3	157 (48.0)*	83 (53.2)*	20 (12.9)	97 (62.6)	11 (7.1)	45 (29.0)	1 (0.6)	13 (8.4)	1 (0.6)	40 (12.3)*
4	159 (54.5)*	75 (47.2)*	21 (13.2)	119 (74.8)*	10 (6.3)	77 (48.4)*	1 (0.6)	14 (8.8)	0 (0.0)	49 (16.9)*
P value	<0.001	<0.001	0.076	<0.001	0.137	<0.001	0.190	0.309	<0.001	<0.001

The results are presented as “*n*” and percentage (parenthesis). WBC: white blood cell; RBC: red blood cell; RTEC: renal tubular epithelial cell. *Different from Group 1. #Different from the other groups.

Table 4: Relative risk to urine sediment scores ≥ 2 .

Group		% (n)	RR	95% confidence interval	P value
AKI	1	16.7 (3)	1.00		
	2	31.8 (27)	1.91	0.65-5.61	0.241
	3	36.8 (28)	2.21	0.75-6.47	0.148
	4	51.9 (56)	3.11	1.09-8.88	0.034
No AKI	1	14.1 (21)	1.00		
	2	30.1 (93)	2.13	1.39-3.29	0.001
	3	39 (76)	2.76	1.79-4.27	0.000
	4	51.9 (81)	3.68	2.41-5.63	0.000
Total	1	14.4 (24)	1.00		
	2	30.5 (120)	2.12	1.42-3.16	0.000
	3	38.4 (104)	2.67	1.79-3.98	0.000
	4	51.9 (137)	3.61	2.45-5.32	0.000

Abbreviations: AKI, acute kidney injury; RR, relative risk.

Table 5: Main diseases/clinical conditions observed in patients who developed AKI.

Group	Main diseases/Clinical conditions	(%) and N
1	DM	(16) 4
	CKD	(12) 3
	KT	(12) 3
	Hypertension	(8) 2
	Other diseases/clinical conditions	(1 to 7) 1
2	HCV	(57) 35
	LT	(23) 14
	AC	(20) 12
	LF	(9) 6
	Cirrhosis of unknown cause	(8) 5
	Alcohol abuse	(8) 5
	Other diseases/clinical conditions	(1 to 7) 1 to 4
3	HCV	(35) 20
	LT	(16) 9
	LF	(11) 6
	AC	(9) 5
	LC	(9) 5
		Other diseases/clinical conditions
4	HCV	(30) 20
	LF or LT	(16) 11
	AC or PC	(15) 10
	Cholangitis	(12) 8
	LC	(10) 7
		Other diseases/clinical conditions

Some patients presented more than one diseases/clinical conditions. DM: Diabetes mellitus; CDK: Chronic Kidney Disease; KT: Kidney transplantation; HCV: Hepatitis C virus infection; LT: Liver transplantation; AC: Alcoholic cirrhosis; LF: Liver fibrosis; LC: Liver cancer; PC: Pancreatic cancer.

Legends to figures:

Figure 1: Flow diagram of results distribution according to AKI/no AKI, per group.

Figure 2: Fresh and unstained urine sediment. A - Renal tubular epithelial cell (RTEC) in bright field microscopy; B - RTEC cast in bright field microscopy; C - Granular cast (GC) in bright field microscopy; D - Hyaline cast (HC) in phase contrast microscopy. Original magnification 400x.

Figure 3: Fresh and unstained urine sediment. (A) Bright field microscopy. (B) Phase contrast microscopy. (C) Polarized light. Renal tubular epithelial cells (RTECs) free and within casts revealing intracytoplasmic crystals (arrows). Original magnification 400x.

Figure 4: Transmission Electron Microscopy revealing intracytoplasmic electron dense structures within a renal tubular epithelial cell. Urine sediment. Original magnification: (A) 2300x and (B) 8900x.

Figure 1:

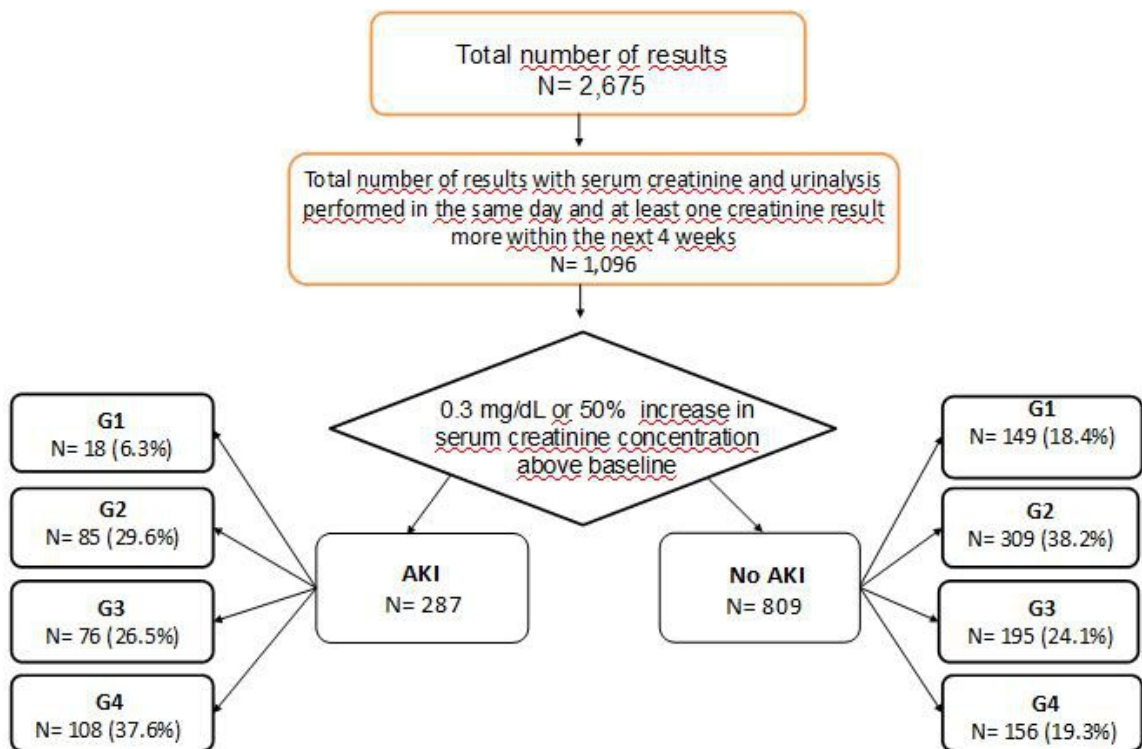


Figure 2:

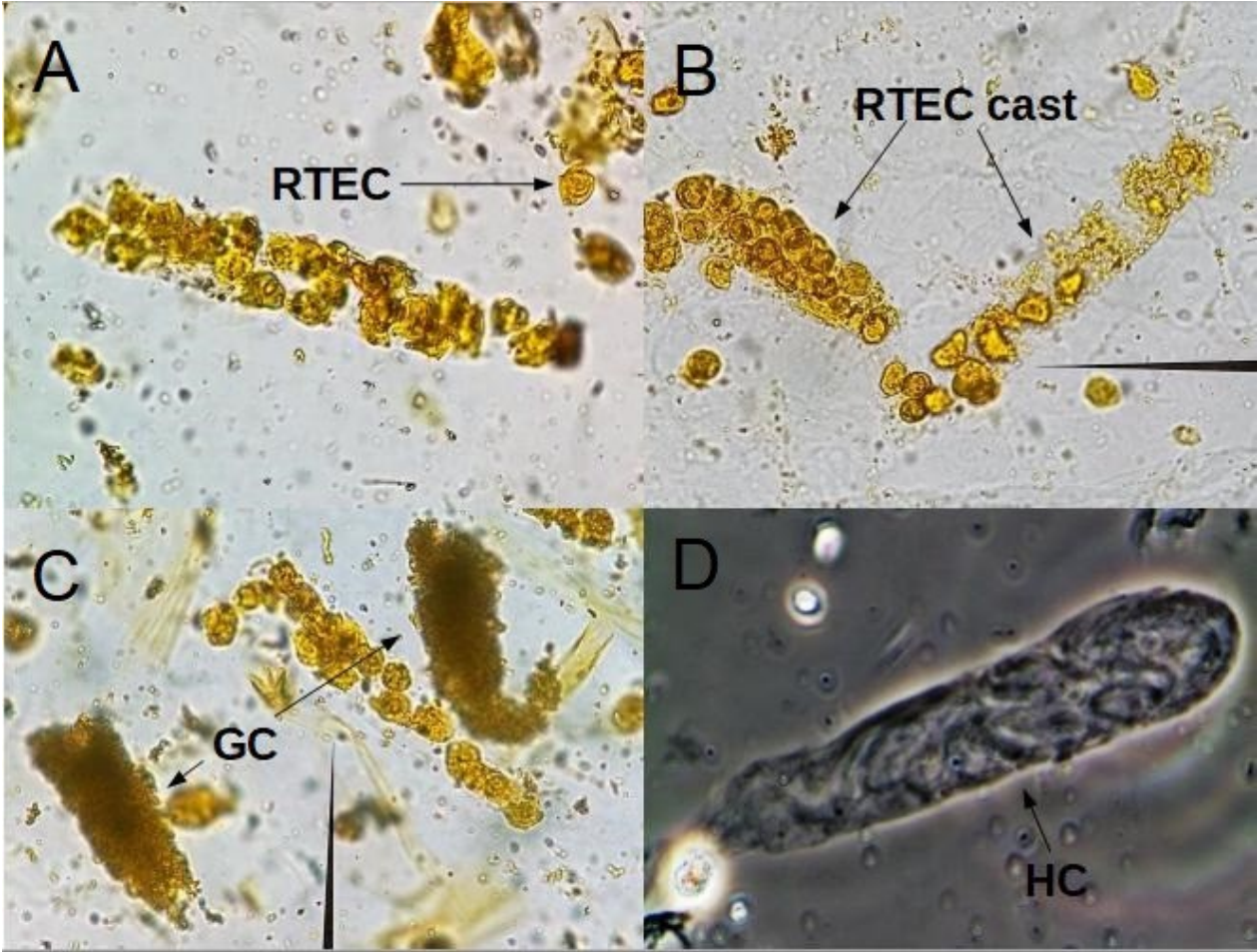


Figure 3:

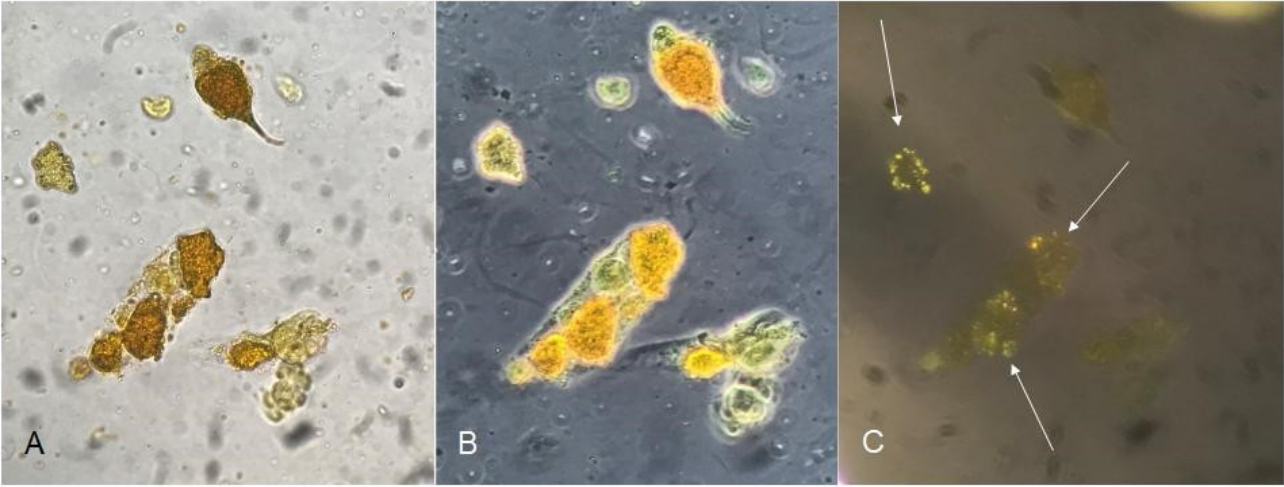
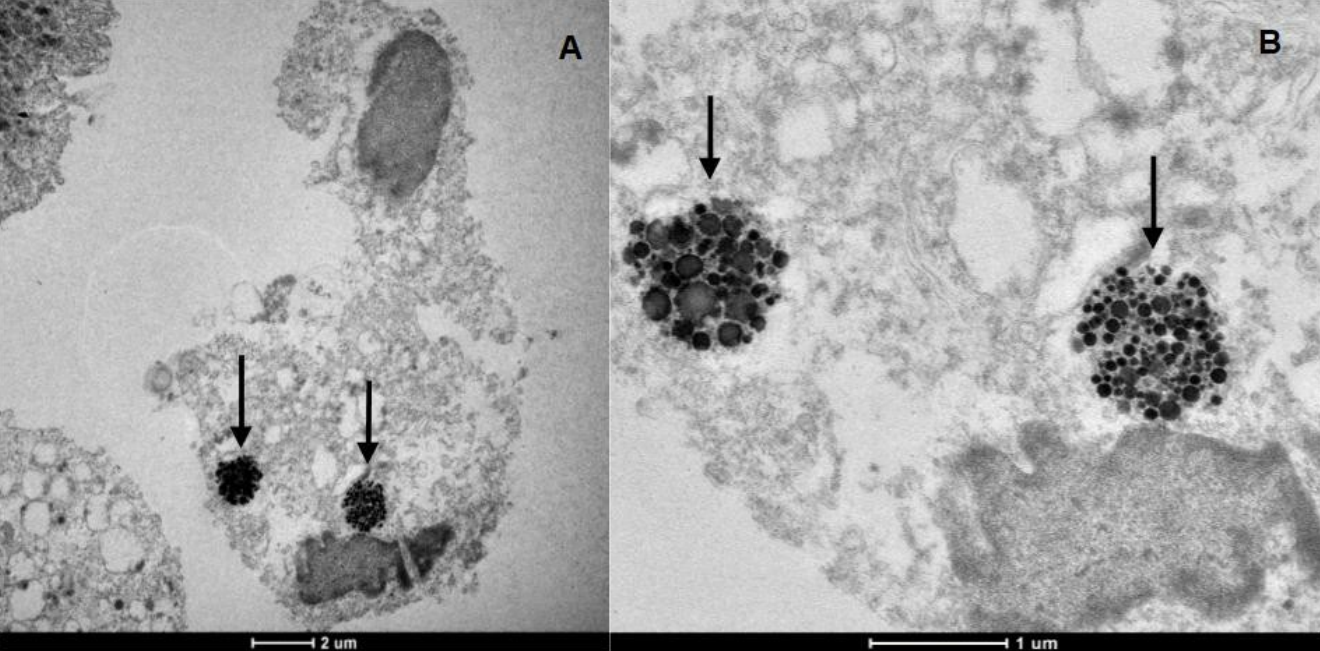


Figure 4:



CONCLUSÃO

Pacientes com hiperbilirrubinúria apresentam um padrão clínico de achados no sedimento urinário marcado pela presença de CETRs, CG e Cilindros contendo CETRs (Scores 2 ou 3). Ao passo que pacientes sem hiperbilirrubinúria apresentam um sedimento brando (Score 1), sem a presença dos elementos marcadores de dano renal que são observados nos pacientes com hiperbilirrubinúria.

Pacientes com hiperbilirrubinúria tem maior razão de chance de apresentar escores 2 ou 3, independentemente de estarem apresentando IRA ou não.

Os achados deste trabalho dão suporte para o efeito tóxico da bilirrubina/dos sais biliares a nível tubular renal, especialmente ressaltando a observação de cristais intracitoplasmáticos (os quais não se conhece de fato a real composição) mas que foi possível confirmar sua presença intracelular através da observação de partículas elétrons densas na microscopia eletrônica de transmissão, no interior das CETRs de pacientes com hiperbilirrubinúria.

Estudos comparando os achados do sedimento urinário, novos biomarcadores e biópsias renais poderão trazer uma resposta definitiva com relação ao significado dos elementos CETRs, CG e Cilindros contendo CETRs no sedimento urinário dos pacientes com hiperbilirrubinúria.

ANEXOS

Parecer de aprovação do Comitê de Ética da UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 1.073.315

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não há riscos para os pacientes.

Benefícios:

Obtenção de uma nova ferramenta para auxiliar no diagnóstico de insuficiência renal aguda nos pacientes com doença hepática severa, bem como, a diferenciação de NTA e SHR nestes pacientes através de um exame simples, rápido e barato realizado em amostra de fácil obtenção.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem considerações.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram adequados conforme sugerido no parecer anterior.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomenda-se acrescentar a Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre como instituição co-participante, visto que parte do projeto será desenvolvida neste local. A inclusão poderá ser feita através de uma Emenda na Plataforma Brasil.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

PORTO ALEGRE, 21 de Maio de 2015

Assinado por:

Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: CEP: 90.050-170
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)303-8804 E-mail: cep@ufcspa.edu.br

Página 02 de 02