



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

ANA CAROLINA LOPES CERQUEIRA

**REVISÃO INTEGRATIVA SOBRE NOVOS BIOMARCADORES URINÁRIOS NA
DOENÇA RENAL DIABÉTICA**

RECIFE

2023

ANA CAROLINA LOPES CERQUEIRA

**REVISÃO INTEGRATIVA SOBRE NOVOS BIOMARCADORES URINÁRIOS NA
DOENÇA RENAL DIABÉTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Brandão

RECIFE

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Cerqueira , Ana Carolina Lopes .

Revisão Integrativa sobre novos biomarcadores urinários na doença renal diabética / Ana Carolina Lopes Cerqueira . - Recife, 2023.
39, tab.

Orientador(a): Ricardo Brandão

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

1. Bioquímica . 2. Diabetes. 3. Doença renal. 4. Biomarcadores . I. Brandão, Ricardo . (Orientação). II. Título.

610 CDD (22.ed.)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA



Aprovada em: 15/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br RICARDO BRANDAO
Data: 18/12/2023 09:21:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Brandão
(Presidente e Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br JANE SHEILA HIGINO
Data: 26/12/2023 15:23:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jane Sheila Higino
(Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br MATHEUS EDUARDO DO NASCIMENTO BARRETO
Data: 21/12/2023 16:06:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Matheus Eduardo do Nascimento Barreto
(Examinador)
Hospital das Clínicas - UFPE

Azael Francisco Silva Neto
(Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a minha mãe, pois reconheço que sem a presença, compreensão e apoio dela, não seria possível chegar até aqui. Além dela, minha irmã que sempre foi minha motivação, meu apoio, incentivo e inspiração. Meu irmão e minhas cunhadas que sempre estiveram ao meu lado, por perto nos momentos que mais precisei e que contribuíram com toda a jornada até o final do curso. Aos Meus Tios que sempre incentivaram essa conquista e deram suporte para tal. Agradeço imensamente, aos meus amigos que estão comigo desde o início do curso, que fizeram com que o caminho se tornasse mais leve, com todo o apoio onde nos divertimos, mas também dividimos os momentos de ansiedade e medo, tornando-os mais fáceis.

Agradeço ao Professor Ricardo Brandão, que não apenas é um magnífico professor, como também orientador, o qual me acompanha e apoia desde o início da vida no meio científico, com toda sua paciência e sabedoria, sem ele não seria possível a conclusão deste trabalho. Agradeço a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica, mas alguns em especial que me acompanharam de perto, como a Professora Jane Sheila, a Professora Silvana Maggi e a Professora Elba Amorim. Por fim, agradeço a todos que fizeram parte da minha vida acadêmica, preceptores de estágio, pacientes, todos os participantes do departamento de ciências farmacêuticas da UFPE.

Todos esses contribuíram para minha vida acadêmica, desenvolvimento profissional e crescimento pessoal durante os anos da graduação.

RESUMO

O presente trabalho aborda a questão relevante da Doença Renal Diabética (DRD), uma complicação grave do diabetes que afeta significativamente os pacientes diabéticos globalmente. Com uma prevalência em crescimento, especialmente em países de baixa e média renda, a DRD tornou-se a principal causa de doença renal crônica em todo o mundo. Diante desse cenário, a pesquisa objetivou analisar estudos recentes sobre novos biomarcadores urinários, evoluindo sua aplicação no diagnóstico precoce, previsão e monitoramento da progressão da DRD. A escolha desse tema foi motivada pela necessidade de aprimorar a detecção nas fases iniciais do DRD, superando as limitações dos biomarcadores tradicionais, como a albuminúria e a taxa de filtração glomerular estimada (TFGe). Além disso, o uso da urina como amostra é justificado pela sua capacidade de análise da função renal, juntamente com a simplicidade de coleta. A metodologia adotada foi uma revisão integrativa da literatura, explorando bases de dados científicos relevantes, como "Portal Periódicos Capes", "SCIELO", "PUBMED" e "Google Acadêmico", no período de 2019 a 2023. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados 13 artigos, utilizados na coleta de resultados e discussão. Os resultados revelaram diversos biomarcadores urinários promissores, como microRNAs (miRNAs), proteínas exossomais e metabólitos, que demonstraram eficácia na identificação precoce do DRD. Dentre os biomarcadores analisados estão: a Zinco-alfa2-glicoproteína (ZAG), miRNA-4534, miRNA-3137, miRNA-4270, miR-21-5p, miR-30b-5p Podocalixina urinária (PDX), proteína de transferência Ubiquitina-52 (UbA52), calmodulina-1 (CALM1), PAK6, EGFR, adiponectina, N6-metiladenosina (m6A), aquaporina-2 (p-AQP2), glicogênio fosforilado sintase quinase-3 (p-GSK3) e o metabólito 20-hidroxicosatetraenóico (20-HETE) Apesar das limitações, os biomarcadores apresentaram potencial para intervenções e terapêuticas mais específicas, contribuindo para o aprimoramento do manejo clínico e atraso na progressão do DRD em pacientes com diabetes. A pesquisa evidenciou a importância de estudos longitudinais e validações em larga escala para confirmar a eficácia clínica desses biomarcadores e apontou para a necessidade de futuras pesquisas direcionadas à sua incorporação na prática clínica.

Palavras chaves: Doenças renais; Complicações de Diabetes; Biomarcadores; Diagnóstico.

ABSTRACT

The present work addresses the relevant issue of Diabetic Kidney Disease (DKD), a serious complication of diabetes that significantly affects diabetic patients globally. With an increasing prevalence, especially in low- and middle-income countries, DRD has become the leading cause of chronic kidney disease worldwide. Given this scenario, the research aimed to analyze recent studies on new urinary biomarkers, evolving their application in early diagnosis, prediction and monitoring of DRD progression. The choice of this topic was motivated by the need to improve detection in the early stages of DRD, overcoming the limitations of traditional biomarkers, such as albuminuria and estimated glomerular filtration rate (eGFR). Furthermore, the use of urine as a sample is justified by its ability to analyze renal function, together with the simplicity of collection. The methodology adopted was an integrative review of the literature, exploring relevant scientific databases, such as "Portal Periódicos Capes", "SCIELO", "PUBMED" and "Google Scholar", in the period from 2019 to 2023. After applying the criteria of inclusion and exclusion, 13 articles were selected and used to collect results and discuss. The results revealed several promising urinary biomarkers, such as microRNAs (miRNAs), exosomal proteins and metabolites, which demonstrated efficacy in early identification of DRD. Among the biomarkers analyzed are: Zinc-alpha2-glycoprotein (ZAG), miRNA-4534, miRNA-3137, miRNA-4270, miR-21-5p, miR-30b-5p Urinary Podocalyxin (PDX), transfer protein Ubiquitin- 52 (UbA52), calmodulin-1 (CALM1), PAK6, EGFR, adiponectin, N6-methyladenosine (m6A), aquaporin-2 (p-AQP2), phosphorylated glycogen synthase kinase-3 (p-GSK3) and the metabolite 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) Despite the limitations, the biomarkers showed potential for more specific interventions and therapies, contributing to the improvement of clinical management and delaying the progression of DRD in patients with diabetes. The research highlighted the importance of longitudinal studies and large-scale validations to confirm the clinical effectiveness of these biomarkers and pointed to the need for future research aimed at their incorporation into clinical practice.

Keywords: Kidney diseases, Diabetes complications, Biomarkers, Diagnosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
1.1 Objetivos.....	8
1.1.1 Objetivo geral.....	8
1.1.2 Objetivos específicos.....	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2.1 Diabetes <i>mellitus</i>.....	9
2.1.1 Diabetes <i>mellitus</i> Tipo 1.....	9
2.1.2 Diabetes <i>mellitus</i> Tipo 2.....	10
2.1.3 Diabetes <i>mellitus</i> Gestacional.....	10
2.1.4 Outras Formas Específicas De Diabetes <i>mellitus</i>	10
2.2 Fatores De Risco E Complicações Associadas Ao Diabetes.....	11
2.2.1 Doença Renal Diabética (DRD).....	12
2.3 Biomarcadores.....	14
2.4 Atual Diagnóstico Da Doença Renal Diabética.....	15
2.5 A Importância De Novos Biomarcadores.....	16
3. METODOLOGIA.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1 Descrição dos potenciais novos biomarcadores para detecção da DRD... 22	
4.1.1 miRNAs Exossômicos Urinários: miR-21-5p e miR-30b-5p.....	22
4.1.2 Zinco-Alfa2-Glicoproteína (ZAG).....	23
4.1.3 miRNA-4534 Exossomal Urinário.....	24
4.1.4 miRNA-3137 e miRNA-4270 Urinários.....	25
4.1.5 Podocalixina Urinária (PDX).....	25
4.1.6 miRNA Da Citocina CCL21.....	26
4.1.8 Adiponectina.....	27
4.1.9 N6-Metiladenosina Urinária.....	27
4.1.10 Proteínas Exossomais PAK6 e EFGR.....	28
4.1.11 Proteína Calmodulina-1.....	29
4.1.12 Proteínas Aquaporina-2 E Glicogênio Fosforilado Sintase Quinase-3.....	30
4.1.13 20- Hidroxieicosatetraenóico (20-HETE).....	30
4.2 Análise Dos Biomarcadores Apresentados.....	31
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33

1 INTRODUÇÃO

A doença renal diabética (DRD) é uma complicação grave do diabetes, que afeta cerca de 40% dos pacientes diabéticos globalmente (Hussain, *et al.*, 2021). Sua prevalência está em crescimento, especialmente em países de baixa e média renda, e tem aumentado entre crianças e adolescentes, associado ao aumento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) de início precoce (Amatruda, *et al.*, 2021). A DRD tornou-se a principal causa de doença renal crônica em todo o mundo, configurando-se pela presença de albuminúria e/ou redução da taxa de filtração glomerular estimada (TFGe), sem sintomas de outras causas primárias de lesão renal (Diabetes Care, 2021, p. S151-S167).

Embora a albuminúria seja um padrão reconhecido, carece da sensibilidade e especificidade necessárias, especialmente nas fases iniciais da DRD. A TFGe, medida com base na creatinina sérica, e a razão albumina/creatinina (RAC) urinária são consideradas as melhores práticas atuais, mas apresentam limitações (Matsushita, K. *et al.*, 2012). O comprometimento renal não-albuminúrico é comum, especialmente em pacientes com DM2, enquanto a precisão das estimativas da TFGe baseadas na creatinina é restrita em casos de índices de massa corporal extremos e em indivíduos com hiperfiltração glomerular nos estágios iniciais da DRD (Maclsaac; Ekinci; Jerums, 2014). Portanto, a necessidade de descobrir novos biomarcadores se destaca, visando uma detecção mais sensível e específica nas fases iniciais da DRD.

No contexto do diagnóstico clínico, a utilização da urina como amostra biológica apresenta notáveis vantagens. A urina contém uma variedade de componentes, incluindo células epiteliais, sanguíneas, bactérias, vírus e exossomos, que são cruciais para a análise clínica. Mais de 484 compostos foram identificados na urina, alguns dos quais não foram previamente relatados no sangue (Bouatra *et al.*, 2013). A abundância de informações que podem ser obtidas através desta amostra biológica está relacionada à função dos rins na concentração de metabólitos sanguíneos. A coleta de urina é totalmente não invasiva, simples e pode ser realizada continuamente, permitindo uma observação e análise dinâmica e oportuna da doença. Comparativamente, a coleta de sangue é invasiva e sujeita a requisitos rigorosos (Zhang; Liang, 2016). Os biomarcadores urinários, muitas vezes, apresentam vantagens na detecção precoce de doenças, uma vez que a urina não

possui mecanismo de homeostase, adaptando-se a mudanças sutis nos estágios iniciais da doença. Isso possibilita a detecção de biomarcadores precoces antes mesmo de sintomas, sinais clínicos e imagens patológicas se manifestarem (Li, 2014; Jian; Youhe, 2018).

A metodologia adotada neste estudo envolveu uma revisão integrativa da literatura com foco nos avanços relacionados aos biomarcadores urinários na DRD. A pesquisa foi realizada em bases de dados científicas relevantes, visando identificar e analisar estudos recentes que abordam novos biomarcadores presentes na urina associados à DRD, de forma a contribuir para a compreensão aprofundada dos novos desenvolvimentos em biomarcadores urinários e sua relevância no contexto da DRD.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

- Analisar estudos recentes sobre novos biomarcadores urinários como indicadores de diagnóstico precoce, de prognóstico ou de monitoramento da progressão da doença renal diabética.

1.1.2 Objetivos específicos

- Descrever os potenciais novos biomarcadores;
- Avaliar os novos biomarcadores em relação à características: sensibilidade, precocidade e especificidade;
- Avaliar a viabilidade da metodologia utilizada para a determinação dos biomarcadores, visando aplicação na prática clínica.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diabetes *mellitus*

A diabetes *mellitus* (DM) é definida pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) como uma condição crônica em que o organismo não é capaz de produzir insulina ou de utilizar de forma eficaz a insulina que produz. Trata-se de uma condição de origem variada, que surge da deficiência de insulina e/ou da incapacidade desta em desempenhar suas funções metabólicas. Apresenta-se com níveis elevados de glicose cronicamente, acompanhados por alterações no processamento de carboidratos, lipídios e proteínas (Ministério da Saúde, 2023; SBD, 2023).

No Brasil, 15,8 milhões de pessoas apresentam diagnóstico de diabetes, na faixa etária entre 20 e 79 anos, sendo o 6º país com maior incidência. No mundo, em 2021, constatou-se que 44,7% (239,7 milhões) dos adultos entre 20 e 79 anos que vivem com diabetes estavam em estado de desconhecimento quanto à sua condição. É imperativo que a detecção precoce seja prioritária para os indivíduos com diabetes, evitando ou retardando complicações, mitigando o risco de mortalidade prematura e otimizando a qualidade de vida (IDF, 2021).

A classificação atual da DM, conforme proposta da Organização Mundial da Saúde (OMS) e da *American Diabetes Association* (ADA), e recomendada pela SBD, é fundamentada na etiologia da patologia e abrange quatro categorias clínicas distintas: Diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1), Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), outras formas específicas de Diabetes *mellitus* e Diabetes *mellitus* gestacional (ADA, 2014; IDF, 2021; SBD, 2015).

2.1.1 Diabetes *mellitus* Tipo 1

Diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) é decorrente de um processo autoimune no qual o sistema imunológico do organismo direciona seu ataque contra as células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas, as quais desempenham o papel fundamental na síntese da insulina. Esse ataque autoimune resulta na produção insuficiente ou nula de insulina. As raízes desse processo de destruição ainda não estão completamente elucidadas, mas uma hipótese plausível é que uma combinação de fatores genéticos (conferidos por uma extensa gama de genes) e um estímulo ambiental, como uma infecção viral, dá início à resposta autoimune

(Atkinson, 2014; Craig, 2014). Com esse quadro, os sintomas clínicos podem se apresentar por: sede excessiva, perda repentina de peso, poliúria, fadiga, fome constante e visão embaçada (IDF, 2021).

2.1.2 Diabetes *mellitus* Tipo 2

O Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é a variante mais comum da doença, representando mais de 90% dos casos de diabetes em escala global. No DM2, a origem da hiperglicemia está principalmente associada à resposta inadequada das células do corpo à insulina, indicando a resistência insulínica. Nesse cenário clínico, o hormônio apresenta uma eficácia reduzida e, eventualmente, resulta em um incremento na oferta de insulina. Com o decorrer do tempo, pode ocorrer a produção insuficiente de insulina como consequência da disfunção de células beta pancreáticas, incapazes de atender à demanda necessária (Brutti, 2019).

2.1.3 Diabetes *mellitus* Gestacional

A diabetes gestacional é uma condição em que os níveis de glicose no sangue aumentam durante a gravidez. De acordo com a classificação da OMS e da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO), a hiperglicemia na gravidez (HIP) pode ser categorizada como diabetes pré-gestacional, diabetes *mellitus* gestacional (DMG) ou diabetes na gravidez (DIP) (WHO, 2013; HOD, 2015).

A DMG ocorre quando as mulheres grávidas apresentam hiperglicemia, mas não tinham diabetes diagnosticada previamente, enquanto o diabetes pré-gestacional inclui aquelas que já tinham diabetes (tipo 1, tipo 2 ou outras formas) antes da gestação. A DMG pode surgir em qualquer fase do pré-natal, geralmente não persistindo após o parto, enquanto o DIP se refere a mulheres grávidas que desenvolvem hiperglicemia pela primeira vez durante a gravidez e atendem aos critérios da OMS para diabetes em estado não grávido, sendo preferível identificar o DIP no primeiro trimestre (Immanuel; Simmons, 2017).

2.1.4 Outras Formas Específicas De Diabetes *mellitus*

A classificação mais recente do Diabetes *mellitus* pela OMS abrange diferentes subtipos, incluindo o diabetes monogênico, originado de mutações em um único gene, representando cerca de 1,5-2% dos casos de diabetes, frequentemente subdiagnosticados. Esse tipo de diabetes monogênico apresenta uma diversidade

clínica notável, desde diabetes neonatal até diabetes de início na juventude (MODY) e síndromes raras associadas ao diabetes, que servem como modelos para compreender as formas de patogênese da doença. (Hattersley, 2018; Vaxillaire, 2012).

Outros subtipos classificados são: diabetes causado por doenças do pâncreas, distúrbios endócrinos que resultam em disfunção excessiva de hormônios antagonistas da insulina, diabetes induzido por drogas e produtos químicos, diabetes relacionado a infecções virais e formas específicas de diabetes imunomediado. Também são consideradas outras síndromes genéticas que podem estar associadas ao diabetes, como a síndrome de Prader-Willi, síndrome de Down e ataxia de Friedreich. O diagnóstico preciso desses subtipos é fundamental para a adaptação da terapia de acordo com as características de cada condição (WHO, 2019).

2.2 Fatores de Risco e Complicações Associadas ao Diabetes

A DM é identificada pela presença crônica de elevados níveis de glicose, desencadeando uma inflamação endotelial que resulta na produção de produtos avançados de glicação. Este processo conduz ao estresse oxidativo, desencadeando inflamação e a formação de microtrombos que comprometem o fluxo sanguíneo no endotélio, culminando em lesões mais específicas associadas às complicações vasculares. Essas complicações podem ser categorizadas em complicações microvasculares e macrovasculares (Harrison *et al*, 2020).

Entre as complicações microvasculares crônicas da DM, destaca-se a DRD como a principal responsável pela insuficiência renal crônica dialítica. A retinopatia diabética surge como uma das principais causas de cegueira adquirida, enquanto a neuropatia diabética e complicações vasculares em membros inferiores destacam-se como principais fatores de amputação não traumática. O aumento da glicose no organismo desencadeia complicações ao atingir células desprovidas de mecanismos de defesa, como o endotélio da retina, o endotélio do glomérulo e o vaso nervorum. Quanto às complicações macrovasculares, além da hiperglicemia, estão associadas a problemas como dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica e tabagismo. Esses fatores podem resultar em eventos como acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio e doença arterial obstrutiva periférica (De Castro *et al.*, 2021)

No estudo realizado por Toyama *et al.* (2023), os resultados apresentados destacam as associações entre fatores de risco e a perda da função renal,

corroborando achados prévios (Toyama *et al.*, 2013; Perkovic *et al.*, 2013; Emdin *et al.*, 2015). Foi apresentado em meio aos resultados que a presença de proteína na urina, controle glicêmico insatisfatório e hipertensão surgem como fatores de risco associados à disfunção renal. A ausência de elementos de risco, como controle eficaz da glicemia e pressão arterial, revelou-se fundamental para manter a estabilidade da função renal. Além disso, a interação complexa entre dislipidemia e disfunção renal, particularmente em casos graves e retinopatia complicada, destaca a delicada natureza dessas relações. A lesão hepática, evidenciada por níveis elevados de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) ou gama-glutamil transferase (GGT), também foi associada à deficiência da função renal, sublinhando sua importância como um potencial fator de risco na progressão da doença renal diabética avançada. Essas descobertas ressaltam a necessidade de uma abordagem precoce e abrangente na gestão dos fatores de risco, especialmente em idades ativas, que atenuam os impactos adversos sobre a função renal.

2.2.1 Doença Renal Diabética (DRD)

As orientações da Iniciativa Diabética (NKF/KDOQI) introduziram o termo "Doença Renal Relacionada à Diabetes" (DRD) em 2007 como substituição da condição nefropatia diabética (LEVIN, 2007). Somado às indicações da KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*), em suas diretrizes (2022) onde só é recomendado o uso do termo "Doença Renal Diabética" quando está comprovada a relação com a diabetes, para evitar a associação da Doença Renal Crônica sempre ao quadro de diabetes. Um estudo, realizado por Tervaert *et al.*, informou em 2010 que alguns indivíduos com diabetes e acometimento renal podem não demonstrar sintomas clínicos ou sinais de albuminúria. No entanto, esses pacientes apresentam comprometimento e/ou manifestações clínicas de disfunção dos túbulos, como acidose renal tubular. Os resultados da análise renal revelaram a predominância de danos nos túbulos, interstício e/ou vasos sanguíneos, acompanhados por alterações glomerulares relativamente infrequentes, como espessamento das membranas basais glomerulares, aumento da matriz mesangial e glomeruloesclerose.

A doença renal diabética é uma complicação do DM intimamente ligada à hiperglicemia, um desequilíbrio metabólico característico do DM. A hiperglicemia desempenha um papel crucial no desenvolvimento de lesões nos glomérulos renais.

Estas lesões podem ser atenuadas com um rigoroso controle glicêmico, indicando a relação direta entre os níveis de glicose e o risco de DRD. No entanto, outros fatores, como hipertensão arterial, dislipidemias e predisposição genética, quando combinados, podem influenciar o desenvolvimento da doença.

Isso porque pacientes com DM bem controlado ainda podem desenvolver doença renal, enquanto outros com controle glicêmico deficiente podem não manifestar danos renais. As principais alterações patológicas ocorrem nos glomérulos, com aumento inicial de seu tamanho devido à proliferação da membrana basal e subsequente expansão mesangial. O aumento no volume renal total é causado pela expansão do tecido tubular. À medida que a doença progride, ocorre uma redução na superfície de filtração glomerular e na taxa de filtração glomerular (TFG), com o grau de fibrose intersticial diretamente associado à pressão sanguínea e à expansão mesangial (Trevisan, 1997; Lopes, 2001) .

A barreira entre o capilar glomerular e a cápsula de Bowman desempenha um papel essencial na patogênese da DRD. Essa barreira, coberta por carga elétrica negativa, contém poros que filtram moléculas com base em seu tamanho e carga. A pressão glomerular aumentada na fase inicial leva a um aumento no *clearance* de albumina e imunoglobulina G, independentemente de sua carga. À medida que a doença avança, a expansão da matriz mesangial e alterações hemodinâmicas resultam em uma perda da seletividade da barreira de filtração. Como resultado, o tamanho efetivo do poro da membrana aumenta, progredindo da microalbuminúria para a macroalbuminúria. À medida que a insuficiência renal avança, a proteinúria torna-se de origem tanto tubular quanto glomerular, pois os túbulos perdem a capacidade de reabsorver proteínas filtradas, culminando na disfunção da doença renal diabética (Nephropathy, 2004).

Essa patologia é classificada em 4 diferentes estágios (Tabela 01):

TABELA 01 - Classificação da Doença Renal Diabética

Hiperfiltração: Verifica-se um acréscimo na taxa de filtração glomerular (TFG), um aumento no índice de depuração de creatinina e normoalbuminúria.

Nefropatia incipiente: Nota-se a eliminação de albumina na urina variando de 20 a 200 µg/min ou de 30 a 300 mg/24 horas. A taxa de filtração glomerular (TFG) geralmente inicia em níveis elevados, mas tende a declinar à medida que os níveis de albumina na urina ultrapassam 70 µg/min.

Nefropatia Clínica: Distinguido por proteinúria, a eliminação urinária de albumina atinge quantidades acima de 200 µg/min ou 300 mg/24 horas. Nesse estágio, é percebido um decréscimo gradual da taxa de filtração glomerular (TFG) e o aumento da pressão arterial.

Nefropatia terminal: Manifesta doença renal crônica (DRC) e poderá ser utilizada terapia não substitutiva.

FONTE: Adaptado de Salgado *et al.*, 2004

Através dessa classificação, destaca-se a transição dos estágios iniciais de função renal normal com hiperfiltração para uma condição irreversível, representada pela doença renal terminal. Os intermediários, caracterizados pela nefropatia inicial, evidenciaram um aumento na excreção urinária de proteínas, culminando em proteinúria persistente. Esse processo reflete a progressão da disfunção renal ao longo do tempo.

2.3 Atual Diagnóstico da Doença Renal Diabética

Segundo a Associação Americana de Diabetes (ADA, 2021), a DRD apresenta um diagnóstico clínico fundamentado na existência de proteinúria e/ou redução da estimativa da TFG, na falta de manifestações de outras origens primárias de dano renal. A presença de alterações nos sedimentos urinários (contendo hemácias, leucócitos ou cilindros celulares), aumento rápido de proteinúria ou síndrome nefrótica e diminuição rápida da estimativa da TFG são observadas na doença renal, o que leva a serem analisadas para o diagnóstico (K/DOQI, 2002). Para indivíduos com essas características, o encaminhamento a um especialista em doenças renais para avaliação adicional, incluindo a solicitação de uma biópsia renal, deve ser considerada (He F. *et al*, 2013).

A diretriz DGS 008/2011 foi divulgada em 31/01/2011 e estabelece as diretrizes para a detecção precoce da DRD, por meio da avaliação dos níveis de albumina/proteína e creatinina, uma vez que as alterações estruturais no néfron podem ocorrer precocemente nessa condição (Boavida MJ, *et al.*, 2011). A sociedade brasileira de diabetes ressalta a relevância do rastreamento inicial com foco na albuminúria. Qualquer resultado anormal deve ser confirmado por meio de duas ou três amostras coletadas em um intervalo de 3 a 6 meses, devido à variabilidade diária dos níveis de excreção urinária de albumina. A abordagem para avaliação da função renal, deve utilizar a TFG estimada. Na prática clínica, a estimativa da TFG

deve ser feita por equações que levem em consideração a creatinina sérica e que sejam ajustadas de acordo com idade e gênero (G, Airton *et al.*, 2018).

Essas equações são recomendadas pelo Ministérios da Saúde de forma a evitar equívocos comuns na coleta do exame de depuração da creatinina pela urina de 24 horas, é sugerido que pacientes em risco de desenvolver DRC realizem avaliações regulares da creatinina sérica e estimem sua TFG (Brasil, 2014). No final da década de 1990, foi proposta a equação pelo conjunto MDRD - Modificação da Dieta na Doença Renal. Essa solução estima a TFG utilizando dados de creatinina sérica, idade e gênero (variável utilizada para atenuar a disparidade de massa muscular). Ela apresenta maior aplicabilidade e precisão em pacientes mais velhos, uma vez que sua eficácia diminui com o aumento do TFG (Brito; Oliveira; Silva, 2016).

A sucessora da fórmula MDRD foi desenvolvida em 2009, a partir da pesquisa *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI). O CKD-EPI é considerado o método equacional mais eficaz para estimar a função renal pela comunidade de nefrologia. No entanto, pode superestimar a TFG em pacientes com peso muito abaixo do normal e subestimar em pacientes diabéticos e obesos mórbidos. Esta equação utiliza as mesmas variáveis que o MDRD, mas demonstra acurácia e precisão superiores (Brito; Oliveira; Silva, 2016).

Existem três abordagens principais para determinar a presença de albumina na urina. A primeira envolve uma análise da relação entre as concentrações de albumina e creatinina em uma única amostra de urina, preferencialmente na primeira urina da manhã para minimizar as variações diurnas. Valores superiores a 20 a 30 mg/dl podem indicar microalbuminúria, mas devem ser confirmados para evitar interpretações equivocadas. A segunda abordagem consiste na medição da albuminúria em uma quantidade específica de urina coletada durante um período determinado, expressa em microgramas por minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$). A terceira abordagem considera a determinação da quantidade de albumina excretada em 24 horas, sendo considerada padrão-ouro para avaliar a albuminúria (ADA, 2003)

O método de determinação em amostra específica, especialmente na primeira urina da manhã, minimiza variações diurnas e facilita a identificação de microalbuminúria. A relação albumina/creatinina em uma amostra única é preferível, calculando a relação entre as concentrações e evitando o impacto do volume urinário. O método utilizado para essa determinação predominantemente empregado

é a imunoturbidimetria (TI), que fundamenta a formação de um complexo antígeno-anticorpo por meio da utilização de um anticorpo específico direcionado à albumina humana (College of american pathologists, 2006)

2.4 Biomarcadores

Um biomarcador pode ser definido como “Uma característica que é objetivamente medido e avaliado como um indicador de processos biológicos normais, patogênicos processos ou respostas farmacológicas a um intervenção terapêutica” (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). No entanto, outros fatores, como hipertensão arterial, dislipidemias e predisposição genética, quando combinados, podem influenciar o desenvolvimento da doença. Eles apresentam utilidade no âmbito da prevenção inicial, promovendo a prevenção da própria enfermidade, além de propiciar a prevenção secundária ao identificar precocemente a patologia por meio de rastreamento, detecção de condições subclínicas, e orientações para a supervisão da evolução da enfermidade. Os indicadores biológicos também desempenham função crucial na prevenção terciária, orientando uma abordagem terapêutica para mitigar a morbidade decorrente da doença já existente (Parikh & Ramachandran; 2007).

Esses marcadores se dividem em duas categorias principais: "biomarcadores relacionados à doença" e "biomarcadores relacionados à terapia". Os relacionados à doença oferecem informações sobre o risco individual de desenvolvimento ou progressão de uma doença existente, incluindo biomarcadores antecedentes e de rastreio, diagnósticos, estadiamento e prognósticos. A segunda categoria engloba a resposta do biomarcador a uma intervenção terapêutica e inclui biomarcadores preditivos, monitoramento e ajustes personalizados na dosagem após a administração da terapia. Embora a confusão entre os termos “biomarcador prognóstico” e “biomarcador preditivo” seja comum, ambos desempenham papéis cruciais na orientação de intervenções terapêuticas, fornecendo estimativas sobre o curso da doença, resultados e resposta ao tratamento (Wacheck, V.; 2010) .

2.5 A Importância De Novos Biomarcadores

Embora o diagnóstico da DRD seja realizado por meio da identificação de alterações na TFGe e na excreção urinária de albumina. Esses parâmetros são totalmente reconhecidos como indicadores importantes, porém sua eficácia é

limitada em pacientes que não apresentam albuminúria contínua ou mantêm uma TFGe preservada (Looker, Hc; Mauer, M.; Nelson, Rg; 2018).

A influência de fatores externos, como atividade física diária, tipo de dieta, infecções e hipertensão, sobre os níveis de microalbuminúria ressalta a necessidade de considerar essas variáveis ao interpretar os resultados desses marcadores (Stevens, 2015; Fried; Lewis, 2015; Glassock, 2010) . Além disso, a flutuação da albuminúria devido a fatores como glicose sérica, pressão arterial, tabagismo, gravidez e infecção do trato urinário enfatiza a complexidade na interpretação desses dados.

A constatação de que os biomarcadores atuais, como a relação albumina/creatinina urinária (UAC) ou a TFGe, oferecem apenas um diagnóstico parcial, destacando a necessidade de desenvolver estratégias mais assertivas para a detecção da DRD. A albuminúria, embora amplamente empregada, demonstra limitações em termos de sensibilidade e especificidade, tornando-se menos eficaz na previsão precisa do desenvolvimento e progressão da DRD (Maclsaac; Ekinci; Jerums, 2014). A incidência crescente de pacientes com diabetes e relação estimada de filtração glomerular reduzida sugere a necessidade de marcadores mais precoces, especialmente diante do aumento de pacientes com diabetes e função renal comprometida, muitos dos quais não apresentam albuminúria (Uwaezuoke, 2017; Lee; Choi, 2015). Além disso, a creatinina sérica, embora seja um indicador estabelecido da função renal, enfrenta desafios em relação à sensibilidade, sendo detectável apenas quando a TFGe já diminuiu significativamente (Araki *et al.*,2007).

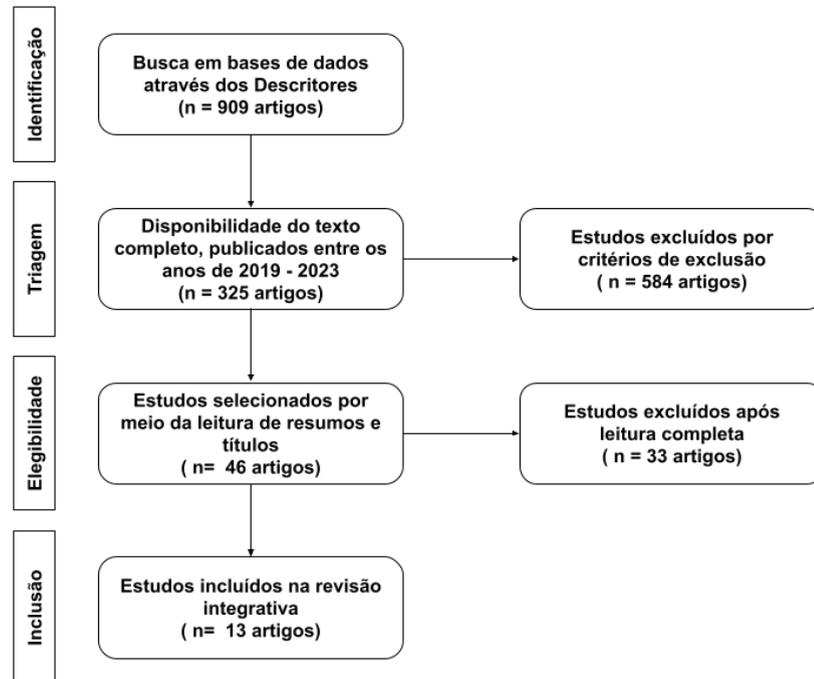
3. METODOLOGIA

A pesquisa de análise de literatura integrativa, conforme delineado por Sousa et al., (2017), representa um método cujo propósito reside na síntese do conhecimento e nos resultados alcançados pelo estudo, embasado em evidências científicas. A metodologia concebida para esta investigação adotou a estratégia de busca eletrônica de documentos nas bases de dados "Portal Periódicos Capes", "SCIELO", "PUBMED" e "Google Acadêmico" durante o intervalo temporal de 2019 a 2023. Os termos utilizados no processo de revisão, mediante consulta aos Descritores de Assuntos em Ciências da Saúde (DECS), foram: Diabetes *mellitus*, Diabetes, *Biochemical markers*, *Biomarkers*, *Diagnostic markers*, *monitoring*, *Assessment*, Nefropatia diabética.

Dentre os critérios escolhidos para seleção dos artigos foram: Artigos originais ou de revisão, publicados entre os anos de 2019 a 2023, nos idiomas português e inglês, com texto completo disponível para leitura. Como critérios de exclusão foram adotados os seguintes: exclusão de artigos duplicados, trabalhos e artigos com fuga do tema, estudos realizados apenas em animais. Para a extração dos dados foram considerados: Ano de publicação, Tipo de amostra biológica para análise.

Adicionalmente, foram conduzidas pesquisas em fontes como a Associação Americana de Diabetes, obras acadêmicas e diretrizes clínicas destinadas ao manejo de pacientes com afecções renais, emitidas pelo Ministério da Saúde. A inclusão dos artigos foi determinada em conformidade com os critérios estabelecidos durante o processo de busca. Subsequentemente, uma leitura preliminar dos resumos dos artigos escolhidos foi realizada para incorporar à pesquisa apenas aqueles que atendem aos critérios de elegibilidade.

A Figura 1, apresentada abaixo, demonstra o fluxograma descritor dos resultados obtidos a partir da estratégia de busca de acordo com os critérios de exclusão e inclusão.

FIGURA 1: Fluxograma da Metodologia

Fonte: Autora, 2023

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os textos originados após a pesquisa avançada consistiram em 909 registros, dos quais 13 artigos foram selecionados, conforme ilustrado no quadro 1.

QUADRO 01: Artigos selecionados após aplicação dos critérios de seleção

Título	Objetivo	Autor
Differential Expression of Urinary Exosomal MicroRNAs miR-21-5p and miR-30b-5p in Individuals with Diabetic Kidney Disease	Avaliação da expressão urinária de miRNA exossômico em pessoas com diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 e DRD	Zang <i>et al.</i> , 2019
Zinc alpha 2 glycoprotein as an early biomarker of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus	Investigação da zinco-alfa2-glicoproteína (ZAG) como marcador precoce de DRD em pacientes com DM2	Elsheikh <i>et al.</i> , 2019.
Urinary Exosomal MiRNA-4534 as a Novel Diagnostic Biomarker for Diabetic Kidney Disease	Identificar miRNAs caracteristicamente alterados de exossomos urinários em pacientes com DRD	Zhao <i>et al.</i> , 2020
Urinary miR-3137 and miR-4270 as potential biomarkers for diabetic kidney disease	Análise do perfil de expressão de microarranjos de urina a procura de miRNAs expressos diferencialmente para potenciais biomarcadores de DRD	Li, X. <i>et al.</i> , 2020
Role of urinary podocalyxin in early diagnosis of diabetic nephropathy	Estimar os níveis de podocalixina urinária e determinar a sensibilidade e especificidade do este biomarcador para detecção precoce de DRD	Kostovska <i>et al.</i> , 2020
Urinary small extracellular vesicles derived CCL21 mRNA as biomarker linked with pathogenesis	Identificação de novo biomarcador precoce efetivo da doença renal diabética	Feng <i>et al.</i> , 2021

for diabetic nephropathy		
Clinical significance of UbA52 level in the urine of patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease	Análise do valor diagnóstico de UbA52 como biomarcador na previsão de DRD precoce em pacientes com DM2	Xu <i>et al.</i> , 2021
Urinary adiponectin excretion is an early predictive marker of the decline of the renal function in patients with diabetes mellitus	Avaliação da eficácia de U-ADPN na previsão do declínio da função renal em pacientes com diabetes antes da doença renal terminal	Ishizu <i>et al.</i> , 2021
Decreased Urine N6-methyladenosine level is closely associated with the presence of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus	Avaliação do significado clínico das mudanças de m6A em pacientes com diabetes tipo 2 e com a DRD	Wan <i>et al.</i> , 2022
Urinary exosome proteins PAK6 and EGFR as noninvasive diagnostic biomarkers of diabetic nephropathy	Investigação da possibilidade das proteínas serem aplicadas como biomarcadores de diagnóstico para DRD	Li, T. <i>et al.</i> , 2023a
Changes in urinary exosomal protein CALM1 may serve as an early noninvasive biomarker for diagnosing diabetic kidney disease	Explorar as alterações nas proteínas exossômicas urinárias, que podem fornecer novos biomarcadores para DRD	Li, T. <i>et al.</i> , 2023b
Phosphoproteome profiling of uEVs Reveals p-AqP2 and p-GSK3B as potential Markers for diabetic Nephropathy	Identificação de fosfoproteínas em vesículas extracelulares urinárias como potenciais biomarcadores da DRD	Li, Q. <i>et al.</i> , 2023
Urinary 20-HETE: A prospective Non-Invasive prognostic and diagnostic marker for diabetic kidney disease	Avaliar o potencial do 20-HETE na previsão e progressão da DRD	Houeiss <i>et al.</i> , 2023

FONTE: Autoria Própria, 2023

4.1 Descrição Dos Potenciais Novos Biomarcadores Para Detecção Da DRD

4.1.1 miRNAs Exossômicos Urinários: miR-21-5p e miR-30b-5p

Os microRNAs (miRNAs) são moléculas específicas de ácido ribonucleico (RNA), não codificantes, com aproximadamente 22 nucleotídeos de extensão, desempenhando um papel crucial na modulação da expressão gênica através da manipulação direcionada de moléculas de ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) ou da supressão de sua tradução. Diversos miRNAs foram previamente relacionados ao desenvolvimento e diferenciação de células renais, surgindo como potenciais marcadores de danos celulares nos rins. A urina, originada na filtração renal, destaca-se como uma fonte ideal para o perfil não invasivo de miRNA, uma vez que seus constituintes refletem a função renal. Assim, os miRNAs presentes na urina emergem como biomarcadores simples e não invasivos da função renal, passíveis de serem medidos em uma biópsia líquida facilmente acessível (Zang *et al.*, 2019). A detecção de miRNAs distintamente modificados presentes em nanovesículas urinárias de indivíduos com DRD, está associada à extensão da microalbuminúria (Zhao *et al.*, 2020).

O estudo realizado por Zang *et al.* (2019) examinou o impacto dos miRNAs exossômicos urinários, especialmente miR-21-5p e miR-30b-5p, na DRD. Em uma análise entre os níveis de expressão de 87 miRNAs apresentados em pacientes com DRD e com DM tipo 2, observou-se um aumento significativo de miR-21-5p em indivíduos com disfunção renal, correlacionando-se positivamente com creatinina sérica e inversamente com a TFGe. Somando-se a esse resultado, estudos anteriores sugerem que o miR-21-5p desempenha um papel na fibrose renal, visto que o miR-21 tem um efeito positivo na expressão de proteínas associadas à fibrose, como ECM (matriz extracelular) e α -SMA, em células tubulares e células mesangiais. Isso significa que o miR-21 contribui para a formação do tecido fibroso, tornando-se um possível alvo terapêutico. Tratando do miR-30b-5p, os estudos sugerem uma associação com a DRD, visto que os membros da família miR-30 foram vinculados à lesão podocitária e à doença glomerular, destacando o potencial do miR-30b-5p como indicador de disfunção renal.

As correlações acrescentam profundidade às descobertas, evidenciando uma associação positiva entre miR-21-5p e creatinina sérica, evidenciando sua relação com a função renal prejudicada. Por outro lado, o miR-30b-5p mostrou uma

associação negativa com creatinina sérica, indicando uma possível relação inversa com a disfunção renal. A associação positiva de miR-30b-5p com a TFGe e sua associação inversa com os níveis de creatinina sérica fortalece sua possível ligação com a função renal. Tendo em vista que, uma associação positiva com a TFGe sugere que níveis mais elevados de miR-30b-5p estão correlacionados com uma função renal mais eficiente, sabendo que a TFGe uma medida crucial da capacidade de filtrar e eliminar resíduos do sangue.

Outro fator importante, é a análise realizada por meio do *Genetic Association Database* (GAD), onde foi apresentado que os alvos e/ou processos regulados pelo miR-30b-5p estão fortemente ligados às vias metabólicas relevantes para o DRD.

Em suma, miR-21-5p e miR-30b-5p surgem como potenciais biomarcadores para disfunção renal, especialmente na DRD, sendo fundamentais para a detecção precoce e monitoramento da resposta ao tratamento. No entanto, a complexidade na interpretação dos resultados destaca a necessidade de considerar cuidadosamente potenciais fatores que possam gerar confusão e a heterogeneidade nos estudos para uma interpretação adequada desses marcadores.

4.1.2 Zinco-Alfa2-Glicoproteína (ZAG)

A Zinco-alfa2-glicoproteína (ZAG) é uma proteína de destaque devido à sua habilidade em desempenhar diversas funções cruciais no corpo humano, incluindo seu papel na fertilização e na mobilização de lipídios. Sua estrutura organizacional e características de envelhecimento assemelham-se às moléculas do MHC classe I apresentadas em células que apresentam antígenos. Assim, é plausível que a ZAG desempenhe um papel relevante na resposta imune. Essa proteína está presente em diferentes epitélios, sendo secretada por diferentes fluídos corporais e se apresenta principalmente nos túbulos renais humanos.

Tendo em vista essas características, Elsheikh *et al.* (2019), em seu estudo levantaram a hipótese sobre a expressão urinária e sérica dessa proteína como um possível biomarcador para DRD. Os resultados encontrados demonstraram um aumento de ZAG na concentração urinária, principalmente em pacientes diabéticos, esse aumento na concentração pode indicar suscetibilidade dos túbulos renais próximos a lesões associadas ao diabetes. Somando à isso, foram estabelecidas relações positivas entre as concentrações urinárias e séricas de ZAG com o tempo de DM e com a relação albumina/creatinina (RAC), o que demonstra relação direta

com a excreção de albumina, sendo um indicador importante de comprometimento renal. Esses resultados, juntamente com indicativos de estudos anteriores, que apresentaram aparecimento precoce de ZAG em comparação com albuminúria, o indicam como um biomarcador promissor para detecção precoce da DRD.

4.1.3 miRNA-4534 Exossomal Urinário

A pesquisa realizada por Zhao *et al.* (2020), baseou-se em estudos anteriores que apresentaram resultados significativos, quanto às alterações relacionadas à miRNA exossômicos urinários em pacientes com DRD. Durante o estudo foi detectado um total de 2.085 miRNA em pacientes com DRD, onde 326 se mostraram com regulação positiva entre o grupo de pacientes com DRD e o grupo com DM, onde 14 desses miRNAs se destacaram e foram levados para confirmação por qRT-PCR. Estudos anteriores que indicaram a regulação positiva do miRNA-4534 sérico em pacientes com diabetes tipo 2 fortalecem a ligação entre esse miRNA e condições diabéticas, como o DRD. A associação direta com o diabetes tipo 2 sugere que o miRNA-4534 pode desempenhar um papel crucial nas complicações renais associadas a essa condição.

A análise demonstrou uma correlação positiva entre o miRNA-4534 exossômico urinário e a presença de microalbuminúria, uma medida frequente de disfunção renal, especialmente observada em pacientes diabéticos. Uma manifestação intensa, particularmente evidente no grupo DRD, indica que o miRNA-4534 pode desempenhar um papel na progressão do DRD, apresentando uma perspectiva promissora para sua utilização como indicador da gravidade da doença renal. O desempenho estatístico do miRNA-4534 também foi destacado, com um aumento significativo em sua expressão relativa no grupo DRD em comparação com o grupo DM. A análise ROC confirmou a eficácia do miRNA-4534 como um discriminador entre os grupos, destacando sua capacidade de distinguir pacientes com DRD dos que têm apenas diabetes. A análise bioinformática ampliou a compreensão do papel potencial do miRNA-4534, confirmando a ativação prevista da via de estresse oxidativo mediada por FOXO1/TXNIP na progressão da DRD, que oferece *insights* valiosos sobre os mecanismos biológicos subjacentes ao papel do miRNA-4534 na doença renal.

4.1.4 miRNA-3137 e miRNA-4270 Urinários

A pesquisa realizada por Li, X. *et al.* (2020), teve como objetivo verificar microarranjos de miRNA expressos de maneira diferencial em amostra urinária. Inicialmente, a análise incluiu 26 miRNAs expressos de maneira diferencial, sendo que 6 deles foram significativamente alterados. Dentre esses, miRNA-3137, miRNA-4270 e miRNA-7846-3p foram os três principais selecionados para análise. O miRNA-3137 apresentou regulação negativa no grupo DRD, enquanto o miRNA-4270 teve níveis elevados neste grupo. Já o miRNA-7846-3p não mostrou diferença significativa entre os grupos.

Em seguida, foi explorado os possíveis impactos desses miRNAs em processos biológicos e vias específicas, lançando os genes-alvo em um banco de dados. Cinco vias biológicas foram identificadas como alteradas em grupos de pacientes com DRD e DM, incluindo a via de sinalização do hormônio tireoidiano, melanogênese, síndrome de Cushing e câncer de próstata. No entanto, o destaque principal foi para a alteração na via de sinalização Rap1. A via de sinalização Rap1, uma pequena GTPase, é conhecida por regular diversos processos biológicos, como adesão celular, função da integrina, tráfego de vesículas, transporte nuclear, rearranjo do citoesqueleto e progressão do ciclo celular. Estudos anteriores indicam que a regulação do Rap1 pode estar relacionada a processos como inflamação, estresse oxidativo e metabolismo desregulado, sendo associada à fibrose tubulointersticial renal.

Portanto, os resultados sugerem uma conexão direta entre a expressão diferencial dos miRNAs analisados e a alteração de vias biológicas, com destaque para a via de sinalização Rap1. A implicação dessa via na progressão da doença renal diabética é evidenciada, reforçando a necessidade de pesquisas adicionais para esclarecer os mecanismos detalhados envolvidos nesse processo e abrir caminhos para possíveis abordagens terapêuticas.

4.1.5 Podocalixina Urinária (PDX)

A PDX urinária foi apresentada como um possível biomarcador precoce para DRD no estudo realizado por Kostovska, I. *et al.* (2020). Esta é uma proteína específica dos podócitos, que se torna um alvo de pesquisa tendo em vista que a lesão podocitária apresenta um papel importante na fisiopatologia da DRD. Trata-se de uma sialoglicoproteína, um dos principais componentes do glicocálice podocitário.

Nos estágios iniciais da DRD, observa-se uma redução progressiva no número de podócitos, eliminação dos mesmos através da urina e danos no processo de filtração, que levam a um quadro de proteinúria. Os resultados indicaram diferença significativa nos níveis de u-PDX (podocalixina urinária) entre subgrupos de pacientes com DM2 divididos de acordo com a relação urina/creatinina (UM/CR) em comparação com indivíduos saudáveis. Esses achados sugerem que os danos aos podócitos, que são células renais sensíveis à albumina, ocorrem desde os estágios iniciais da DRD em pacientes com DM2.

4.1.6 miRNA Da Citocina CCL21

A pesquisa realizada por Feng *et al.* (2021), teve como objetivo identificar possíveis biomarcadores da DRD através da detecção de citocinas e quimiocinas presentes em pequenas uEVs. A análise por *Western Blot* revelou que a expressão de proteínas presentes nas uEVs, foi significativamente aumentada em pacientes com DRD, dentre essas foi confirmada a presença da AQP2, assim como no estudo apresentado por Li, Q. *et al.* (2023), que será apresentado mais à frente. Em seguida o estudo detectou 14 diferentes citocinas e quimiocinas inflamatórias, em meio a esta análise foi perceptível a alta expressão do mRNA de CCL21 em pacientes com DRD quando comparados ao grupo controle (saudáveis) e os pacientes com diabetes mellitus. Esse achado foi analisado juntamente com dados de alterações histológicas renais, onde foi encontrado o aumento de sua expressão, de forma progressiva, juntamente com a deterioração da inflamação tubulointersticial.

4.1.7 Proteína De Fusão Do Aminoácido Ubiquitina-52 (UbA52)

Um estudo realizado por Xu *et al.* (2021), utilizou a metodologia de análise do proteoma da urina em pacientes diabéticos, com o objetivo de identificação de novos biomarcadores de diagnóstico da DRD. Por meio da espectrofotometria de massa SELDI-TOF, foi possível perceber a ausência da forma processada de ubiquitina com m/z (razão massa/carga) 14766 chamada proteína de fusão de ubiquitina-52 aminoácidos (UbA52), em pacientes com DM, porém presente em paciente com DRD.

Além disso, os resultados mostraram uma relação direta entre os níveis de uba52 e a creatinina sérica. Sabe-se que a expressão dessa proteína é regulada por

diversos eventos, como o estresse oxidativo, no qual, os elevados níveis de glicose em pacientes diabéticos podem induzir a produção de compostos superóxidos e espécies reativas de oxigênio. Esse estresse oxidativo interfere na ação da enzima ubiquitina ativase (E1) e a enzima de ligação à ubiquitina, que, juntamente com o estímulo do peróxido de hidrogênio, podem levar ao aumento da expressão dos níveis de UbA52. Outro fator que corrobora com os resultados apresentados, é a expressão seletiva da UbA52 em túbulos renais, o que sugere que o sistema dessa proteína opera nesta região.

4.1.8 Adiponectina

Ishizu *et al.* (2021) em seu estudo analisaram a associação entre a evolução da lesão renal e duas variantes da adiponectina na urina, quantificadas por meio de um imunoenensaio altamente sensível. A adiponectina é um hormônio protéico, envolvido na preservação do equilíbrio glomerular renal, e foi documentada a sua presença em glomérulos de rins não afetados pelo diabetes. Contrariamente, foi apresentado uma expressiva redução da adiponectina nos glomérulos e um aumento na eliminação urinária da mesma em indivíduos com diabetes. Em pacientes diabéticos, foi comprovada uma redução marcante na coloração imuno-histoquímica da adiponectina em pacientes diabéticos, e o trímero de adiponectina, ausente na urina de indivíduos saudáveis, foi excretado na urina mesmo na ausência de albuminúria. Isso sugere que uma condição diabética pode aumentar a excreção urinária de moléculas de adiponectina de maior peso molecular. No contexto do estudo apresentado, tanto a adiponectina urinária total (u-total-ADPN) quanto a forma de alto peso molecular (u-HMW-ADPN) mostraram correlações positivas com uL-FABP, um índice de lesão tubular renal, juntamente com RAC-u (razão albumina/creatinina urinária). Essa associação sugere que a excreção urinária de adiponectina pode ser um marcador sensível de DRD, refletindo tanto lesão tubular quanto lesão glomerular.

4.1.9 N6-Metiladenosina Urinária

O biomarcador M6A refere-se à alteração química mais comum do mRNA eucariótico e do DNA procariótico, conhecida pela metilação na posição N6 da adenina (m6A). Essa alteração está amplamente envolvida em processos de

replicação, transcrição e tradução de genes nas células, e níveis anormais de m6A estão associados a várias doenças.

No contexto da DRD, o estudo realizado por Wan *et al.* (2022) apresenta resultados onde mostra que os níveis de m6A no RNA são significativamente reduzidos em pacientes com DM tipo 2. Ao analisar os níveis urinários de m6A em diferentes grupos, como normoglicêmicos (NGT), DM2 e DRD, os pesquisadores observaram que a concentração de m6A na urina era significativamente menor no grupo com DRD em comparação com os grupos NGT e DM2. Além disso, a redução dos níveis de m6A na urina foi observada nos grupos com microalbuminúria e macroalbuminúria em comparação com o grupo normoalbuminúria. Os resultados também mostraram relações significativas entre os níveis de m6A na urina e diversos parâmetros clínicos, como porcentagem de hipertensão, uso de medicamentos anti-hipertensivos, proteína C-reativa, uréia no sangue (BUN) e excreção de proteína na urina de 24 horas. Junto a esses resultados, foi mostrada a redução de m6A na urina mediante a deterioração da doença renal.

4.1.10 Proteínas Exossomais PAK6 e EGFR

Segundo o estudo realizado por Li, T. *et al.* (2023a), foram reveladas descobertas significativas relacionadas às proteínas exossomais PAK6 e EGFR como potenciais biomarcadores para DRD. Uma análise dos exossomos urinários, centrada nos valores quantitativos das proteínas associadas à regulação do citoesqueleto de actina, revelou alterações na expressão dessas proteínas reguladoras, que foram posteriormente correlacionadas com biomarcadores séricos da função renal.

A proteína PAK6, pertencente à família de quinases serina/treonina estimuladas por p21 de classe II, desempenha uma função multifuncional em diversas atividades celulares, incluindo transcrição genética, formação do citoesqueleto, motilidade celular, resistência a medicamentos e apoptose. Além de ser reconhecida por regular diversos tipos de câncer, essa proteína emerge como um possível marcador para condições patológicas, como a DRD. A especulação sobre o papel do PAK6 na regulação do citoesqueleto, motilidade celular e apoptose sugere sua possível contribuição para a progressão da doença renal. Em contrapartida, o receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) é identificado como um componente crucial na patogênese do DRD, ocorrendo como um receptor

de tirosina quinase expresso nos glomérulos e túbulos próximos. O EGFR é ativado por ligantes como o fator de crescimento epidérmico (EGF) em condições diabéticas, contribuindo para a disfunção multicelular e acelerando a lesão renal. A prevenção da ativação do EGFR destaca-se como uma estratégia potencial para retardar a progressão do DRD, e a detecção da expressão elevada do EGFR em exossomos urinários sugere seu potencial como biomarcador não invasivo para avaliar a atividade do EGFR no DRD, correlacionando-se com indicadores tradicionais de função renal. Esses resultados enfatizam o EGFR como uma peça-chave na patogênese da doença renal diabética, oferecendo oportunidades para intervenções terapêuticas e monitoramento clínico.

4.1.11 Proteína Calmodulina-1

O mesmo autor Li, T. *et al.* (2023b) conduziu uma nova investigação, desta vez focada na análise de proteínas relacionadas à via de sinalização do cálcio na proteômica do exossomo urinário. A justificativa para essa abordagem reside no papel abrangente do cálcio fora da matriz esquelética, onde esse íon se manifesta como uma molécula sinalizadora amplamente distribuída e multifuncional que regula diversos processos celulares. Outros estudos enfatizam a estreita associação do íon cálcio com a patogênese do diabetes, influenciando a terapia com insulina, a síntese de trifosfato de adenosina (ATP) e o equilíbrio oxidativo. O desajuste do cálcio pode resultar na diminuição da massa das células β pancreáticas e em diversas complicações diabéticas, tais como retinopatia, doença renal diabética, neuropatia e diversas doenças cardiovasculares. As modificações na sinalização cálcica relacionadas ao potencial receptor transitório do canal catiônico C, subtipo 6 (TRPC6), têm o potencial de influenciar a via de sinalização insulínica e a absorção de glicose nos podócitos, contribuindo para o desenvolvimento de resistência à insulina e lesão renal.

No estudo citado acima, foram examinadas 16 proteínas associadas à via de sinalização do cálcio, e quais foram identificadas nos dados de exossomos urinários. Das proteínas analisadas, observou-se que apenas a Calmodulina-1 (CALM1) teve sua expressão regulada positivamente nos grupos de pacientes com DM e no grupo de pacientes com DRD. Além disso, os pacientes com DRD tiveram o nível mais alto de CALM1 entre os participantes.

4.1.12 Proteínas Aquaporina-2 E Glicogênio Fosforilado Sintase Quinase-3

Outros possíveis biomarcadores foram analisados por Li, Q. *et al.* (2023) onde foi discutido o uso de biomarcadores presentes em vesículas extracelulares urinárias (uEVs), tendo em vista que estas são secretadas ativamente pelo epitélio que reveste os néfrons. Neste estudo foi empregado o protocolo de imunodeteção para detecção de proteínas fosforiladas, incluindo as proteínas: aquaporina-2 fosforilada (p-AQP2) e glicogênio fosforilado sintase quinase-3 (p-GSK3). Essas foram selecionadas de um grupo de 47 fosfoproteínas que exibiram alterações em pacientes com DRD, tendo em vista que a p-AQP2 desempenha um papel crítico na regulação do equilíbrio hídrico nos rins. Sua modulação está associada à resposta à vasopressina e à reabsorção de água nos túbulos renais. A variação nos níveis do p-AQP2 pode indicar alterações na capacidade de filtração regular ou no volume de água e, portanto, pode trazer mudanças no início e na progressão da DRD, especialmente considerando a disfunção hídrica comum nessa condição. Em contrapartida, a p-GSK3 desempenha papéis cruciais nas vias de sinalização celular, incluindo aquelas envolvidas no metabolismo da glicose e na resistência à insulina. A GSK-3 também mantém uma conexão estreita com as vias de sinalização celular associadas à doença renal, desempenhando um papel crucial na reposição e regeneração de lesões, além de mediar os danos aos podócitos.

4.1.13 20-Hidroxieicosatetraenóico (20-HETE)

Houeiss *et al.* (2023) em sua pesquisa apresentaram o potencial do metabólito do ácido araquidônico (AA) 20- hidroxieicosatetraenóico (20-HETE) na previsão da incidência e progressão da DRD. Este eicosanóide é derivado do ácido araquidônico (AA) pela ação dos citocromos P450 (CYPs) 4A e 4F, os quais são regulados por hormônios e fatores epigenéticos. Embora os CYPs sejam expressos principalmente no fígado, eles também estão presentes em diversos órgãos, incluindo rins, onde desempenham funções cruciais na homeostase, regulação do tônus vascular e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS).

No contexto renal, o 20-HETE, como um metabólito biologicamente ativo dos CYPs, pode ter diferentes efeitos dependendo do local de produção (microvasos interlobulares, corticais ou pré-glomerulares) e do local de ação (vascular, glomerular ou tubular). Pode exibir ação pró-hipertensiva, anti-hipertensiva ou pró-oxidante. A sua regulação é crucial para manter a homeostase e regular as funções renais. A

desregulação do 20-HETE está associada à fisiopatologia de várias doenças, incluindo hipertensão, doença renal crônica (DRC) e DRD. Na DRD, especificamente, acredita-se que o desequilíbrio na regulação do 20-HETE desempenha um papel importante no desenvolvimento e progressão da doença.

Nos resultados encontrados no estudo, quando consideradas as complicações microvasculares, pacientes com retinopatia e DRD apresentam proporções urinárias 20-HETE/Cr mais elevadas. Houve uma correlação negativa significativa entre a relação urinária 20-HETE/Cr e os níveis séricos de albumina, taxa de filtração glomerular (TFG), hematócrito e creatinina urinária. Esses achados sugerem que a relação urinária 20-HETE/Cr aumenta significativamente com a gravidade da doença renal, sendo altamente sensível para detectar disfunção renal, mesmo em eventos clínicos iniciais. Além disso, foi observado que um aumento de 10 unidades na relação urinária 20-HETE/Cr estava associado a um risco 10 vezes maior de desenvolver DRD.

Os resultados indicam uma associação entre os níveis urinários de 20-HETE, albuminúria e lesão renal. Esses níveis elevados de 20-HETE são propostos como possíveis marcadores diagnósticos e prognósticos para DRD. A relação negativa com diversos parâmetros clínicos, como albumina sérica, TFG, hematócrito e creatinina urinária, fortalece a sugestão de que o 20-HETE urinário pode ser um indicador significativo da progressão do DRD.

4.2 Análise Dos Biomarcadores Apresentados

Apesar do resultados promissores do uso de miRNAs como biomarcadores da DRD, os estudos analisados apresentam dificuldade de aplicabilidade na prática clínica tendo em vista que as metodologias utilizadas nesses estudos envolvem detecção com uso de microscopia eletrônica de varredura (Feng *et al.*; 2021; Zhao *et al.*, 2020), microarranjo de DNA (Zhao *et al.*, 2020; Li, X. *et al.*, 2020), além do uso de diferentes Kits laboratoriais com funções de isolamento de exossomos (Zhao *et al.*, 2020; Li, X. *et al.*, 2020), hibridização de mRNA (Li, X. *et al.*, 2020), isolamento de RNA e de transcrição de RNA em DNA complementar (Zang *et al.*, 2019). Essas metodologias acabam tornando o processo mais dispendioso, demorado e complexo devido à diversidade de etapas, quando comparado com as metodologias básicas para análise de TFG e albuminúria.

Apesar da metodologia mais complexa para utilização dos miRNAs como biomarcadores, o miRNA da citocina CCL21 apresentado por Feng *et al.* (2021) apresentou em seus resultados como vantagem uma eficácia superior na discriminação entre pacientes com DRD e pacientes com diabetes *mellitus*, quando comparada à TFGe e à proteinúria, demonstrando maior precocidade. Essa distinção foi evidenciada por meio da análise da área sob a curva ROC (UAC). Adicionalmente, foi obtida uma elevada precisão diagnóstica ao diferenciar entre DRD incipiente e evidente. Além desse, outros 2 biomarcadores apresentaram maior precocidade quando comparado à albuminúria, sendo a ZAG, estudada por Elsheikh *et al.* (2019), onde foram detectadas concentrações de ZAG em amostras negativas para albumina de pacientes com DM. Somado-se a isso, essa proteína é detectada principalmente na região do túbulo contorcido proximal, o que permite percepção do dano tubular de forma precoce. Outro biomarcador que apresentou essa característica foi a PDX (Kostovska *et al.*, 2020), onde indivíduos com normoalbuminuria apresentaram uma diferença significativa na concentração urinária de PDX, indicando que danos aos podócitos ocorrem em estágios iniciais da DRD.

Além da PDX apresentar a vantagem em relação à precocidade, esse biomarcador apresentou alta especificidade (93,3%) e sensibilidade (73,3%), demonstrando maior precisão diagnóstica. A proteína UbA52 (Xu *et al.*, 2021) também apresentou uma boa sensibilidade (63,3%) e especificidade (85,0%), juntamente com o metabólito 20-HETE, estudado por Houeiss *et al.* (2023), que apresentou sensibilidade de 92,9% e uma especificidade de 99,5% na previsão de doença renal em pacientes com diabetes.

Assim como os miRNAs, alguns biomarcadores apresentaram metodologias, que se tornam inviáveis na prática clínica dos laboratórios, como o uso de espectrofotometria de massa (Li, T *et al.*, 2023; Li, Q. *et al.*, 2023; Houeiss *et al.*, 2023), Análise fosfoproteômica quantitativa de ultra-alta sensibilidade (Li, Q. *et al.*, 2023), imunoensaio enzimático de transferência de complexo imune ultrasensível (ICT-EIA) (Ishizu *et al.*, 2021). Enquanto outros biomarcadores, como a m6A (Wan *et al.*, 2022), empregaram exclusivamente o kit de quantificação Methylflash Urine m6A, as avaliações de UbA52 (Xu *et al.*, 2021), da ZAG (Elsheikh *et al.*, 2019.) e da PDX (Kostovska *et al.*, 2020), foram conduzidas exclusivamente por meio de kits de ensaio imunoenzimático (ELISA) para a detecção desses biomarcadores.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo desta revisão integrativa foi possível analisar diferentes biomarcadores urinários, com potencial de utilização no monitoramento e diagnóstico da doença renal diabética. A partir dos resultados foi possível destacar a relevância de diversas proteínas e moléculas que emergem como indicadores promissores para diagnóstico, prognóstico e monitoramento da progressão da doença. Dentre os biomarcadores apresentados, pode-se destacar a ZAG e a Podocalixina urinária, que apresentam uma metodologia simples e precocidade no diagnóstico. Porém os resultados quanto à estes biomarcadores são escassos e necessitam de novas pesquisas, para que sua aplicabilidade na prática clínica seja viável.

Os resultados apresentados demonstraram uma base para investigações futuras e avanços clínicos, destacando a importância de estudos longitudinais e validações em larga escala para confirmar a eficácia clínica dos biomarcadores treinados. A compreensão mais aprofundada da expressão diferencial dessas moléculas em diversos avanços da doença renal diabética (DRD) pode potencialmente abrir caminhos para intervenções personalizadas e terapêuticas mais específicas, o que contribuiria significativamente para aprimorar o manejo clínico e retardar a progressão da DRD. Apesar das limitações práticas associadas a algumas características, a comparação desses biomarcadores com métodos tradicionais ressalta sua capacidade de diagnósticos fornecendo análises mais precisas e precoces da DRD. Os achados sugerem a necessidade de futuras pesquisas direcionadas à simplificação e validação dessas técnicas. O presente trabalho apresenta limitações pela escassez de estudos sobre os diferentes biomarcadores.

REFERÊNCIAS

- Amatruda, M.; Gembillo, G.; Giuffrida, A. E.; Santoro, D.; Conti, G. The Aggressive Diabetic Kidney Disease in Youth-Onset Type 2 Diabetes: Pathogenetic Mechanisms and Potential Therapies. **Medicina**, v. 57, n. 9, p. 868, 2021.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v.37, sup.1, p.S81-S90, jan. 2014
- American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. **Diabetes Care** v. 26, sup.1, p.S33-S50. 2003
- Araki, S. *et al.* Reduction in microalbuminuria as an integrated indicator for renal and cardiovascular risk reduction in patients with type 2 diabetes. **Diabetes**, v.56, p.1727–30. 2007
- Atkinson, Ma; Eisenbarth, Gs; Michels, Aw Type 1 diabetes. **Lancet**, v. 9911, pág. 69-82, 2014.
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clin Pharmacol Ther.** v. 69 p.89-95. 2001
- Boavida MJ, Baptista C, Oliveira Sá H, Santos JR, Raimundo L, Bastos M, et al. Prevenção e Avaliação da Nefropatia Diabética. Norma da DGS. 2011;1-7.
- Bouatra, S *et al.* The Human Urine Metabolome. **PLOS ONE**, v. 8, n. 9, p. e73076, 2013
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Diretrizes clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica – DRC no Sistema Único de Saúde. Brasília, 2014
- Brito, T. N. S.; Oliveira, A. R. A.; Da Silva, A. K. C. Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas. **RBAC**, v. 41, n. 1, p. 7-12, Rio de Janeiro, 2016.
- Brutti, B. *et al.* Diabetes Mellitus: definição, diagnóstico, tratamento e mortalidade no Brasil, Rio Grande do Sul e Santa Maria, no período de 2010 a 2014. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, pág. 3174-3182, 2019.
- College Of American Pathologists. Surveys 2006 U-B Urine Chemistry. Northfield, IL, 2006.
- Craig, Me *et al.* Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. **Pediatr Diabetes**, v. 19, Suplemento 27, p. 7-19, 2014.

De Castro, Rebeca Machado Ferreira *et al.* Diabetes mellitus e suas complicações-uma revisão sistemática e informativa. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 3349-3391, 2021

Elsheikh, Mohamed *et al.* Zinc alpha 2 glycoprotein as an early biomarker of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. **Braz. J. Nephrol.** (J. Bras. Nefrol.), v. 41, n. 4, p. 509-517, 2019.

EMDIN, C. A. *et al.* Blood pressure lowering in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **JAMA** 313, p.603–615. 2015.

Federação Internacional de Diabetes. **Atlas de Diabetes**, 10ª edição. Bruxelas: IDF, 2021.

Feng ,Ye. *et al.* Urinary small extracellular vesicles derived CCL21 mRNA as biomarker linked with pathogenesis for diabetic nephropathy. **Journal of Translational Medicine**. v.19, p.355. 2021

G, Airton *et al.* Diretrizes - Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. pág. 11-77. 2018.

Harrison, Tinsley *et al.* **Medicina Interna**. [S. l.: s. n.], 2020.

Hattersley, AT *et al.* Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. **Pediatr Diabetes**, v. 19, Suplemento 27, p. 47-63, 2018.

He, F *et al.* Diabetic retinopathy in predicting diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes and renal disease: a meta-analysis. **Diabetologia** v.56, p.457–466. 2013.

HOD, M. *et al.* The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. **Int J Gynaecol Obstet**, 2015.

Houeiss, Pamela; Njeim, Rachel; Tamim, Hani, et al. Urinary 20-HETE: A prospective Non-Invasive prognostic and diagnostic marker for diabetic kidney disease. **Journal of Advanced Research**, v. 44, p. 109–117, 2023.

Hussain S, Jamali MC, Habib A, Hussain MS, Akhtar M, Najmi AK. Diabetic kidney disease: An overview of prevalence, risk factors, and biomarkers. **Clin Epidemiol Global Health**. v. 9, p. 2–6. 2021

IMMANUEL, J.; SIMMONS, D. Screening and treatment for early-onset gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. **Curr Diab Rep**, 2017.

Ishizu, M.; Mori, H.; Ohishi, M., *et al.* Urinary adiponectin excretion is an early predictive marker of the decline of the renal function in patients with diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 35, p. 107848, 2021.

Jian, J.; Youhe, G. Urine Biomarkers in the Early Stages of Diseases: Current Status and Perspective. [J]. **Discov. Med.**, v. 25, n. 136, 2018.

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. **Am J Kidney Dis** ; 39:(Suppl 2):S1-S246. 2002

Kostovska, I. *et al.* Role of urinary podocalyxin in early diagnosis of diabetic nephropathy. ROM. **J. Intern. Med.**, v. 58, n. 4, p. 233–241, 2020.

LEE, S.Y.; CHOI, M.E. Urinary biomarkers for early diabetic nephropathy: beyond albuminuria. **Pediatr. Nephrol.**, v. 30, n. 7, p. 1063–1075, 2015.

LEVIN, A. *et al.* KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease. **Am J Kidney Dis**, 2007.

Li, M. Urine Is an Ideal Source of Disease Markers [D]. Beijing, China: Peking Union **Medical College**, 2014.

Li, Q. *et al.* Phosphoproteome Profiling of uEVs Reveals p-AQP2 and p-GSK3 as Potential Markers for Diabetic Nephropathy. **Molecules**, v. 28, p. 5605, 2023.

Li, Tao; Liu, Tian ci; Liu, Na; Li, Meng jie; Zhang, Man. Urinary exosome proteins PAK6 and EGFR as noninvasive diagnostic biomarkers of diabetic nephropathy. **BMC Nephrology**, v. 24, p. 291, 2023a.

Li, Tao; Liu, Tian ci; Liu, Na; Zhang, Man. Changes in urinary exosomal protein CALM1 may serve as an early noninvasive biomarker for diagnosing diabetic kidney disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 547, p. 117466, 202b.

Li, Xiaoyu. *et al.* Urinary miR-3137 and miR-4270 as potential biomarkers for diabetic kidney disease. **J Clin Lab Anal.** v.34. 2020

Looker HC, Mauer M, Nelson RG. Role of kidney biopsies for biomarker discovery in diabetic kidney disease. **Adv Chronic Kidney Dis.** v.2, p. 192–201. 2018

Lopes De Faria, J.B. Atualização em fisiologia e fisiopatologia: Patogênese da nefropatia diabética. **J Bras Nefrol**, v. 23, n. 2, p. 121-129, 2001.

Maclsaac, R. J.; Ekinici, E. I.; Jerums, G. Progressive diabetic nephropathy. How useful is microalbuminuria?: contra. **Kidney Int.**, v. 86, n. 1, p. 50–7, 2014.

Matsushita, K. *et al.* Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. **Journal of the American Medical Association**, v. 307, n. 18, p. 1941, 2012.

Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. **Diabetes Care**, v. 44, Suppl 1, p. S151-S167, jan. 2021.

Ministério da Saúde. Plano de reorganização da atenção à hipertensão arterial e ao diabetes mellitus: hipertensão arterial e diabetes mellitus / Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Brasília, 2001.

Ministério da Saúde. Saúde de A a Z: Diabetes. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-aaz/d/diabetes> . Acesso em: 28 de novembro de 2023

Nephropathy, P. O. D. Fisiopatologia da nefropatia diabética. **Rev. Méd. Minas Gerais**, v. 14, p. 180-185, 2004.

Parikh, Nisha I. & Ramachandran, Vasan S. Assessing the clinical utility of biomarkers in medicine. **Biomarkers Med.** 1 (3), p. 419–436, 2007.

Perkovic, V. *et al.* Intensive glucose control improves kidney outcomes in patients with type 2 diabetes. **Kidney Int.** 83, 517–523. 2013.

Salgado, Patrícia *et al.* Fisiopatologia da nefropatia diabética. Revista Médica de Minas Gerais, v. 14, p. 180-185, 2004.

Sociedade Brasileira De Diabetes. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes 2014-2015. São Paulo: **AC Farmacêutica**, 2015. 390p

Sociedade Brasileira de Diabetes. Página Inicial. Disponível em: <https://diabetes.org.br/> . Acesso em: 28 de novembro de 2023

Tervaert, T.W.C. *et al.* Pathologic classification of diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol**, v. 21, p. 556-563, 2010.

Toyama, Tadashi, *et al.* "A Comprehensive Risk Factor Analysis Using Association Rules in People with Diabetic Kidney Disease." **Scientific Reports**, vol. 13, no. 1, p. 11690, 2023.

Toyama, Tadashi, *et al.* The impacts of albuminuria and low eGFR on the risk of cardiovascular death, all-cause mortality, and renal events in diabetic patients: Meta-analysis. **PLoS One**, 8, 2013.

Trevisan, R.; Barnes, D.J.; Viberti, G. Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. In: PICKUP, J. John; WILLIAMS, J. Text Book of Diabetes. 2nd ed. **Oxford: Blackwell Science**, 1997.

Uwaezuoke, S.N. The role of novel biomarkers in predicting diabetic nephropathy: a review. **Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis.**, v. 10, p. 221–231, 2017.

Vaxillaire, M.; Bonnefond, A.; Froguel, P. The lessons of early-onset monogenic diabetes for the understanding of diabetes pathogenesis. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 26, n. 2, p. 171-87, 2012.

Wachek, V. Biomarkers. In: Müller, M. (eds) Clinical Pharmacology: Current Topics and Case Studies. Springer, Vienna. 2010.

Wan, S-j *et al.* Decreased Urine N6-methyladenosine level is closely associated with the presence of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. **Front. Endocrinol.**, v. 13, p. 986419, 2022.

World Health Organization. Classification of diabetes mellitus [Internet]. World Health Organization; 2019

World Health Organization. Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy. Geneva: World Health Organization; 2013

Xu, Xiaochang *et al.*. Clinical significance of Uba52 level in the urine of patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease. **Revista de la Sociedad Española de Nefrología**, v. 41, n. 5, p. 548–555, 2021.

Zhang, D.; Liang, Y. Blood[M]. Wuhan, China: Hubei Science and Technology Press. p. 11-12. 2016

Zang, Jinnan *et al.* Differential Expression of Urinary Exosomal MicroRNAs miR-21-5p and miR-30b-5p in Individuals with Diabetic Kidney Disease. **Scientific Reports. Scientific Reports**, v. 9, p. 10900, 2019

Zhao, Yanyan, *et al.* Urinary Exosomal MiRNA-4534 as a Novel Diagnostic Biomarker for Diabetic Kidney Disease. **Front. Endocrinol.** v.11, p.590. 2020