

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Naiara dos Santos Guarda

**ÁCIDO ÚRICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O DANO TUBULAR E
INFLAMAÇÃO RENAL EM PACIENTES COM DIABETES *MELLITUS*
TIPO 2**

Santa Maria, RS
2017

Naiara dos Santos Guarda

**ÁCIDO ÚRICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O DANO TUBULAR E INFLAMAÇÃO
RENAL EM PACIENTES COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 2**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Orientador: Prof.Dr.Rafael Noal Moresco

Santa Maria, RS

2017

Naiara dos Santos Guarda

**ÁCIDO ÚRICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O DANO TUBULAR E INFLAMAÇÃO
RENAL EM PACIENTES COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Aprovado em 15 de dezembro de 2017:

Rafael Noal Moresco, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Rodrigo de Almeida Vaucher, Dr. (UFPel)

Natália Brucker, Dra. (UFSM)

Santa Maria, RS
2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que foram minha base essencial de amor e educação. Vocês não mediram esforços para que eu chegasse até aqui. À minha amada irmã Victória, fiel companheira na caminhada acadêmica e na vida. Essa conquista pertence à vocês!

AGRADECIMENTOS

As conquistas que obtemos em nossas vidas se tornam mais belas e com maior significado quando compartilhadas. É impossível percorrer um caminho de êxito sozinho. Por isso, quero agradecer àqueles que fizeram esse sonho se tornar possível.

À Deus primeiramente, meu amado Pai que tem sido meu forte refúgio, amigo e conselheiro, o qual me presenteou com a vida e tem sido fiel em cuidar de mim.

Aos meus pais Cristina e Edgar, que dedicam tanto amor e cuidado a mim, incansáveis em lutar para que eu alcance meus objetivos. Obrigada pelas palavras, abraços e por serem o maior exemplo de integridade e amor que eu possuo.

À minha irmã Victória, àquela que eu vi crescer e tornar-se minha melhor amiga, companheira e que partilhou dessa trajetória comigo. A caminhada foi muito mais leve e bela contigo ao meu lado.

Ao meu orientador, professor Rafael, pelas oportunidades concedidas desde o início da minha graduação. Agradeço pelos ensinamentos acadêmicos, incentivos e conselhos, que contribuíram de forma ímpar para o que sou hoje. Obrigada pelo tempo e atenção despendidos, e por tornar possível a realização deste trabalho.

Aos meus queridos colegas do LabiClin e àqueles que passaram por esse laboratório. Vocês tornaram a minha caminhada alegre e com maior sentido. Obrigada pelo convívio diário, pelos ensinamentos e anseios partilhados e, principalmente, pela amizade construída. Levarei vocês em meu coração.

Aos componentes da banca, pela disponibilidade em avaliar e contribuir para este trabalho.

A CAPES pela bolsa de estudos concedida.

À Universidade Federal de Santa Maria, que me acolheu e concedeu a oportunidade de cursar a minha graduação e pós-graduação, fornecendo conhecimento, infra-estrutura e excelentes professores, contribuindo para o conhecimento adquirido até aqui. Da mesma forma, agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realizar este trabalho.

A todos que fazem parte da minha vida, a minha gratidão!

“Sabe, pois, que assim será a sabedoria para tua alma. Se tu a encontrares, haverá para ti um bom futuro e tua esperança não será frustrada.”

Bíblia Sagrada (Provérbios 24:14)

RESUMO

ÁCIDO ÚRICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O DANO TUBULAR E INFLAMAÇÃO RENAL EM PACIENTES COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

AUTORA: Naiara dos Santos Guarda
ORIENTADOR: Prof. Dr. Rafael Noal Moresco

A hiperuricemia tem emergido como fator de risco para o desenvolvimento de diabetes mellitus (DM) e, conseqüentemente associada ao surgimento da doença renal do diabetes (DRD). Sabe-se que o desenvolvimento da DRD é um processo complexo que promove alterações em diferentes porções dos rins e, embora a hiperglicemia seja um mecanismo chave nesse processo, ela não é o único. A inflamação tem sido evidenciada como uma importante contribuinte para a fisiopatologia da DRD. Sabe-se que o ácido úrico é uma molécula que favorece a inflamação, tanto a nível sistêmico quanto renal, contribuindo para o dano renal. Além disso, o ácido úrico possui potencial para promover processos de arteriopatía aferente, hipertrofia glomerular, bem como o dano direto às células tubulares renais. O dano aos túbulos renais parece ser um contribuinte primário para o desenvolvimento da DRD e pode ser identificado precocemente pela presença de marcadores de dano tubular. Apesar das ações descritas, ainda não se conhece completamente o mecanismo pelo qual o ácido úrico atua no contexto da DRD. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a existência da associação entre os elevados níveis séricos de ácido úrico e o dano tubular renal, bem como sua relação com a inflamação renal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM tipo 2). Foram recrutados 125 pacientes com DM tipo 2 provenientes do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), que tiveram os níveis séricos de ácido úrico e de outros parâmetros bioquímicos mensurados. Além disso, foram quantificados os níveis urinários da molécula de dano renal-1 (KIM-1), utilizada como biomarcador de dano tubular, e os níveis urinários de citocinas inflamatórias como a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), utilizadas para a verificação do processo inflamatório renal. Os pacientes foram estratificados em dois grupos de acordo com os seguintes níveis de ácido úrico: <6,0 mg/dL e ≥6,0 mg/dL, e foram comparados quanto aos níveis urinários de KIM-1, IL-1, IL-6 e TNF-alfa. Os pacientes com níveis séricos mais elevados de ácido úrico foram aqueles que demonstraram maiores níveis urinários de KIM-1 e de inflamação renal, avaliada pela quantificação das citocinas urinárias. Também foi verificado que a inflamação renal foi positivamente correlacionada com o processo de dano tubular, visto que foram observadas correlações positivas entre os níveis de KIM-1 e as citocinas pró-inflamatórias avaliadas neste estudo (IL-1, IL-6 e TNF-alfa). Desta forma, sugerimos que a elevação dos níveis séricos de ácido úrico possa estar associada a um maior grau de dano tubular e inflamação renal em pacientes com DM tipo 2. Além disso, acreditamos que a inflamação participe consideravelmente do desenvolvimento do dano renal tubular e que o ácido úrico possa estar promovendo esse contexto inflamatório.

Palavras-chave: Hiperuricemia. Diabetes tipo 2. Doença renal do diabetes. Dano tubular. KIM-1. Inflamação. Citocinas.

ABSTRACT

URIC ACID AND ITS ASSOCIATION WITH TUBULAR DAMAGE AND RENAL INFLAMMATION IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

AUTHOR: Naiara dos Santos Guarda
ADVISOR: Prof. Dr. Rafael Noal Moresco

Hyperuricemia has emerged as a risk factor for the development of diabetes *mellitus* (DM) and consequently associated with the onset of diabetes kidney disease (DKD). It is known that the development of DKD is a complex process that promotes changes in different portions of the kidneys, and although hyperglycemia is a key mechanism in this process, it is not the only one. The inflammation has been evidenced as an important contributor to the pathophysiology of DKD. It is known that uric acid is a molecule that favors inflammation, both at the systemic and renal levels, contributing to kidney damage. In addition, uric acid has the potential to promote processes of afferent arteriopathy, glomerular hypertrophy as well as direct damage to renal tubular cells. Damage to the renal tubules seems to be a primary contributor to the development of DKD and can be identified early by the presence of tubular damage markers. Despite the actions described, the mechanism by which uric acid acts in the context of DKD is not yet fully understood. Thus, the objective of this study was to evaluate the association between elevated uric acid levels and renal tubular damage, as well as its relation with renal inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus (type 2 DM). A total of 125 patients with type 2 DM from the University Hospital of Santa Maria (HUSM), who had serum uric acid levels and other biochemical parameters measured, were recruited. In addition, urinary levels of the renal damage molecule-1 (KIM-1), used as a biomarker of tubular damage, and urinary levels of inflammatory cytokines such as interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), used to check the renal inflammatory process. Patients were stratified into two groups according to the following levels of uric acid: <6.0 mg / dL and ≥ 6.0 mg / dL, and were compared for urinary levels of KIM-1, IL-1, IL-6 and TNF-alpha. Patients with higher serum uric acid levels were those who demonstrated higher urinary levels of KIM-1 and renal inflammation, as measured by quantification of urinary cytokines. It was also found that renal inflammation was positively correlated with the tubular damage process, as positive correlations were observed between the levels of KIM-1 and the proinflammatory cytokines evaluated in this study (IL-1, IL-6 and TNF-alpha). Thus, we suggest that elevation of serum uric acid levels may be associated with a greater degree of tubular damage and renal inflammation in patients with type 2 DM. In addition, we believe that inflammation plays a significant role in the development of tubular renal damage and that uric acid may be promoting this inflammatory context.

Keywords: Hyperuricemia. Type 2 diabetes. Kidney disease of diabetes. Tubular damage. KIM-1. Inflammation. Cytokines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

INTRODUÇÃO

Figura 1 – Produção endógena e metabolismo do ácido úrico.....	16
Figura 2 – Mecanismos de patogenicidade do ácido úrico	18
Figura 3 – Potenciais mecanismos da doença renal induzida pelo ácido úrico.....	20

MANUSCRITO CIENTÍFICO

Figure 1– Box and Whisker plot showing the relation between serum uric acid levels and urinary KIM-1 levels ($P^*=0.0309$). The box contained 50% of all values (from 25th to 75th percentile) and was divided by the horizontal bar of the median value (50th percentile).....	53
Figure 2 – Box and Whisker plot showing the relation between serum uric acid levels and urinary cytokines levels (A) IL-1, (B) IL-6 and (C) TNF-alpha in type 2 DM. The box contained 50% of all values (from 25th to 75th percentile) and was divided by the horizontal bar of the median value (50th percentile).....	54
Figure 3 – Correlation between urinary KIM-1 and urinary cytokines (A) IL-1 ($r_s=0.619$, $P<0.0001$), (B) IL-6 ($r_s= 0.542$, $P<0.0001$) and (C) TNF-alpha ($r_s=0.557$, $P<0.0001$) in patients with type 2 DM.....	55

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO CIENTÍFICO

Table 1 – Baseline clinical characteristics of study participants.....	50
Table 2 - Multiple regression analysis of KIM-1 in urine as a dependent variable adjusting for gender, BMI, hypertension, ACE inhibitors and antihypertensive	51

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA: *American Diabetes Association* (Associação Americana de Diabetes)
AGEs: *advanced glycation end products* (produtos finais de glicação avançada)
CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência
DM tipo 1: diabetes *mellitus* tipo 1
DM tipo 2: diabetes *mellitus* tipo 2
DM: diabetes *mellitus*
DRD: doença renal do diabetes
FAL: fosfatase alcalina
GGT: gama-glutamyltransferase
HbA_{1c}: hemoglobina glicada
ICAM-1: molécula de adesão intercelular 1
IL-1: interleucina-1
IL-6: interleucina-6
IL-18: interleucina-18
IMC: índice de massa corpórea
KIM-1: molécula de dano renal-1
NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NAG: N-acetil- β -D-glucosaminidase
NAP: proteinúria não-albumina
NF- κ B: fator nuclear kappa B
NGAL: lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos
SBD: Sociedade Brasileira de Diabetes
TFG: taxa de filtração glomerular
TNF-alfa: fator de necrose tumoral alfa
XOR: xantina oxidoreductase

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	12
2 INTRODUÇÃO	13
2.1 ÁCIDO ÚRICO	14
1.2 PATOGENICIDADE DO ÁCIDO ÚRICO	17
2.2.1 Ácido úrico e diabetes <i>mellitus</i>	18
2.2.2 Ácido úrico e dano renal	19
2.2.3 Ácido úrico e inflamação renal	22
2.3 DIABETES <i>MELLITUS</i>	23
2.4 DOENÇA RENAL DO DIABETES	25
3 OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	30
4 MANUSCRITO CIENTÍFICO	31
5 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

1 APRESENTAÇÃO

As seções Materiais e Métodos, Resultados e Discussão encontram-se no **MANUSCRITO CIENTÍFICO** e representam a íntegra deste estudo. O item **CONCLUSÕES**, encontrado no final desta dissertação, apresenta interpretações e comentários gerais sobre o manuscrito contido neste trabalho. As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações contidas nos itens **INTRODUÇÃO E CONCLUSÕES** desta dissertação, visto que as referências utilizadas para a elaboração do manuscrito estão mencionadas no mesmo.

2 INTRODUÇÃO

A hiperuricemia é uma condição clínica que tem sido associada a algumas desordens no organismo e emergido como fator de risco para o surgimento de diferentes patologias. Tem sido descritas associações ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, hipertensão, diabetes *mellitus* (DM) e doença renal (SOLTANI et al., 2013).

A associação entre hiperuricemia e DM tem sido consideravelmente investigada, principalmente no contexto do diabetes *mellitus* tipo 2 (DM tipo 2). Essa forma de DM constitui 90-95% dos casos da doença e é responsável pelo aumento da prevalência desta patologia (IDF, 2015). Sabe-se que o DM é uma doença complexa e crônica, sendo associada ao desenvolvimento de diversas complicações. A doença renal do diabetes (DRD) é uma das principais complicações crônicas do DM e considerada a maior causa de doença renal em estágio final (IDF, 2015). Desta forma, o papel dos níveis séricos de ácido úrico também tem sido amplamente investigado no contexto da DRD, de modo que a hiperuricemia tem emergido como fator de risco para essa patologia (YAN et al., 2015).

A DRD é caracterizada por lesões que ocorrem em áreas pré-glomerulares, glomerulares e tubulares. Tem sido demonstrado que as células dos túbulos renais são importantes alvos para o surgimento e progressão da doença renal (BAGSHAW et al., 2007). Neste contexto, biomarcadores de dano tubular tem ganhado destaque na identificação da DRD, pois permitem detectar precocemente o dano renal. A molécula de dano renal-1 (KIM-1) é um marcador de dano tubular, considerado sensível e específico, que já demonstrou estar aumentado em pacientes com DM tipo 2 (HAN et al., 2002; DE CARVALHO et al., 2016).

A forma exata pela qual o ácido úrico atua para promover o dano renal ainda não é completamente conhecida. No entanto, alguns mecanismos potenciais promovidos pelo ácido úrico tem sido descritos, como o desenvolvimento de arteriopatias aferentes, inflamação, ativação do sistema renina-angiotensina, hipertrofia glomerular e aumento da pressão glomerular (KANG; CHEN, 2011). De modo geral, o ácido úrico demonstra exercer ações prejudiciais aos rins tanto a nível glomerular quanto a nível tubular (CHANG et al., 2013; RYU et al., 2013). Já foi verificado que o ácido úrico apresenta potencial para atuar diretamente nas células

tubulares renais e, pacientes com hiperuricemia, já demonstraram possuir elevados níveis urinários do marcador KIM-1 (CIRILLO et al., 2009; TOMCZACK et al., 2013).

A lesão que ocorre em células tubulares renais tem sido caracterizada por processos de infiltração de células inflamatórias, com conseqüente atrofia e fibrose tubular (HAN et al., 2002). Desse modo, além dos fatores de risco bem estabelecidos para o desenvolvimento da DRD como a hiperglicemia, a inflamação também parece apresentar um papel chave no processo de dano renal. Moléculas inflamatórias como as citocinas, principalmente interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), já foram associadas ao processo de dano renal que ocorre no DM (ALEXANDRAKI et al., 2006; NAVARRO; MORA, 2008). Nesse processo, o ácido úrico pode ser um importante contribuinte, visto que é conhecido como um fator pró-inflamatório, capaz de induzir a expressão de citocinas inflamatórias como a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) em células epiteliais tubulares, bem como ativar a proteína NLRP3, um conhecido inflamassoma (KIM et al., 2012; WANG et al., 2012). Assim, tem sido sugerido que o ácido úrico pode atuar diretamente nas células epiteliais tubulares e gerar inflamação no contexto da DRD (BJORNSTAD et al., 2015). Do mesmo modo, tem sido observado que em modelos de DM tipo 2, o desenvolvimento de dano tubular pode ser atenuado pela administração de alopurinol (KOSUGI et al., 2009).

Apesar de já existirem evidências da associação entre hiperuricemia e o surgimento da DRD, bem como do papel da inflamação na doença renal, a associação entre ácido úrico, dano tubular e inflamação renal em pacientes com DM tipo 2 ainda não está completamente esclarecida. Assim, devido ao crescente aumento de casos de DM e ao fato de que a DRD é a principal causa de doença renal em estágio final, é de suma importância investigar o envolvimento dos níveis séricos de ácido úrico no contexto desta patologia. Dessa forma, esse trabalho visa verificar a existência da associação entre os elevados níveis séricos de ácido úrico, o dano tubular e a inflamação renal em pacientes com DM tipo 2.

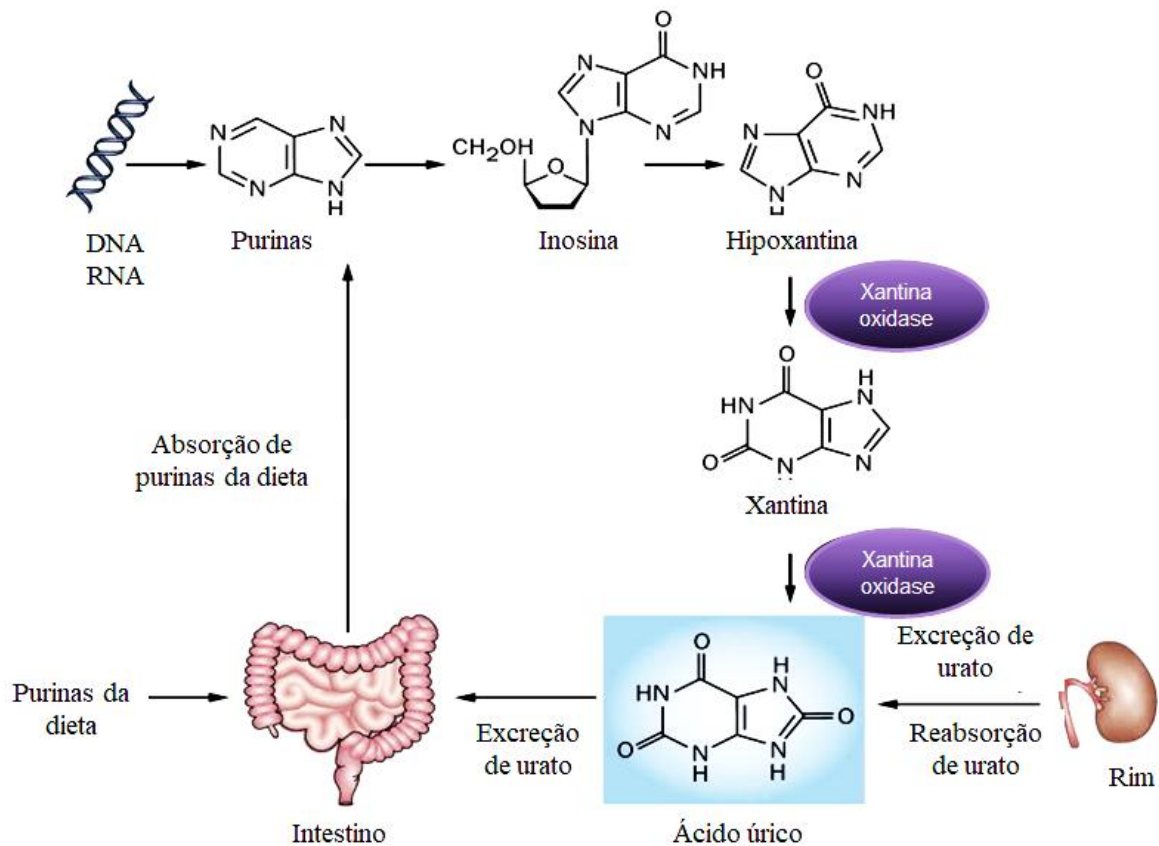
2.1 ÁCIDO ÚRICO

O ácido úrico é quimicamente denominado 2,6,8- triidroxipurina ($C_5H_4N_4O_3$) e apresenta um peso molecular de 168 g/mol. Considerado um ácido orgânico fraco, apresenta baixa solubilidade em água e, em condições fisiológicas, existe

principalmente sob a forma de urato monossódico (BARR, 1990; ODA et al., 2002). Cerca de dois terços do ácido úrico são produzidos endogenamente no fígado, músculos e intestino e, um terço, deriva da dieta (frutose, álcool e alimentos ricos em purinas) (KANG; CHEN, 2011). No organismo, a síntese de ácido úrico é resultante do catabolismo das purinas, as principais constituintes dos estoques energéticos das células, do DNA e do RNA. A reação de síntese desse metabólito envolve a fosforilação da adenosina em adenina e a rápida desaminação em inosina, a qual é convertida em hipoxantina. Em seguida, através da ação da enzima xantina oxidoreductase (XOR), a hipoxantina é convertida em xantina, sendo essa última um substrato para que a XOR atue novamente, em uma reação de oxidação irreversível que gera o ácido úrico (LI et al., 1995; STRAZZULLO et al., 2007). Em humanos, a via de catabolismo das purinas é curta devido à ausência da enzima uricase, que converte ácido úrico em alantoína. Portanto, seres humanos apresentam níveis relativamente mais elevados de ácido úrico no sangue (WU et al., 1992; ODA et al., 2002; JOHNSON et al., 2005).

Os processos de produção e metabolismo do ácido úrico são bastante complexos e envolvem diversos fatores que regulam sua síntese e eliminação (figura 1). Dessa forma, esses processos proporcionam que os níveis deste metabólito se encontrem em um intervalo de referência de 1,5 a 6,0 (mg/dL) em mulheres e de 2,5 a 7,0 (mg/dL) em homens (BURTIS; BURNS, 2015). A excreção do ácido úrico ocorre principalmente através da via renal e, portanto, os rins desempenham um importante papel na regulação dos seus níveis (KANG; CHEN, 2011; BOBULESCU; MOE, 2012; CHAUDHARY et al., 2013). Nos rins, o ácido úrico é filtrado nos glomérulos e posteriormente, nos túbulos proximais, sofre processos de reabsorção e secreção, que são regulados por diferentes transportadores de ácido úrico. Desse modo, apenas uma fração de 8 a 10% (250-750mg/dia) é excretada e aproximadamente 90% do ácido úrico filtrado é reabsorvido (ENOMOTO et al., 2002; HEDIGER et al., 2005; KANG; CHEN, 2011).

Figura 1 – Produção endógena e metabolismo do ácido úrico



Fonte: Adaptado de Rock (2013)

O acompanhamento das concentrações do ácido úrico no organismo é de extrema importância, visto que em humanos os níveis desse metabólito são naturalmente mais elevados. Fisiologicamente, as concentrações plasmáticas de ácido úrico aumentam com a idade, sendo menores em mulheres em idade fértil e, em mulheres na pós-menopausa, aumentam para valores semelhantes aos encontrados em homens (RICHETTE; BARDIN, 2010; RODDY; DOHERTY, 2010). O aumento dos níveis de ácido úrico no organismo resultam da elevação da síntese e/ou diminuição da excreção desse metabólito, promovendo uma condição conhecida como hiperuricemia. Essa condição clínica caracteriza-se por concentrações de ácido úrico maiores que 6,0 mg/dL em mulheres e acima de 7,0 mg/dL em homens.

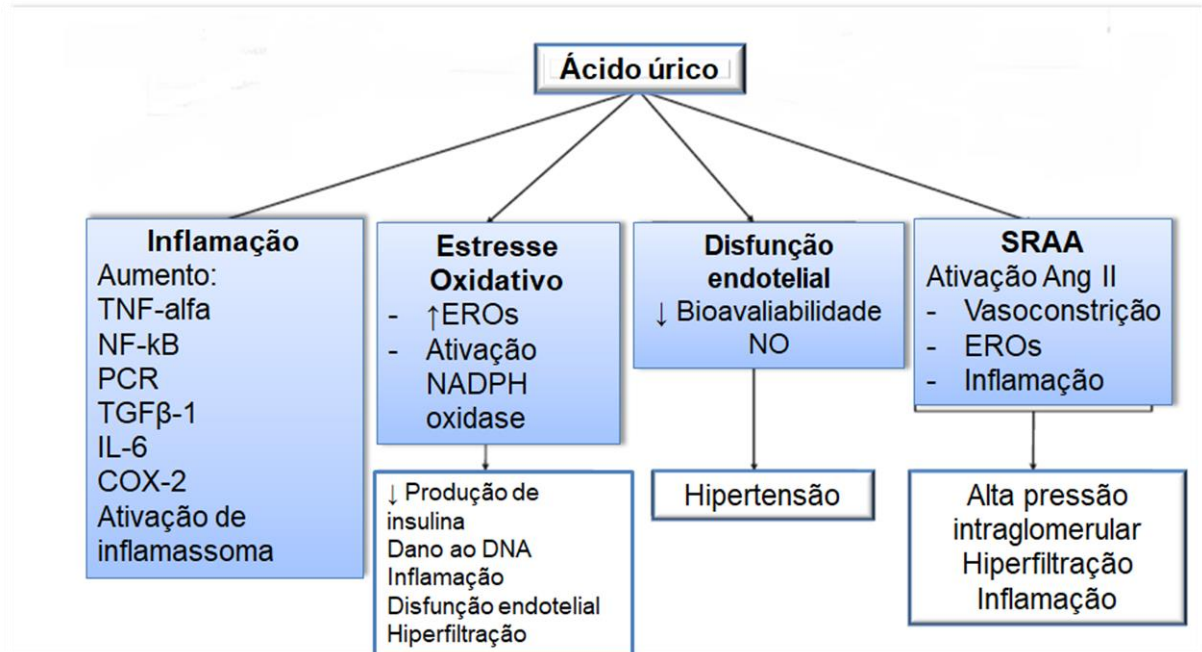
A mensuração dos níveis séricos de ácido úrico é comumente realizada na rotina laboratorial, sendo um exame útil para identificar possíveis aumentos nas

concentrações desse metabólito. Existem diferentes modos de para a determinação dos níveis de ácido úrico, como métodos fotométricos baseados na redução do ácido fosfo-tungstico pelo ácido úrico (FOLIN; MACALLU, 1912; BLAUCH; KOCH, 1939), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e métodos baseados na utilização da uricase através da oxidação enzimática específica do ácido úrico (MOSS, 1980; INGEBRETSEN et al., 1982; SANDERS et al., 1982). Os métodos da uricase são viáveis e muito utilizados devido à alta qualidade e baixo custo das preparações da enzima bacteriana (BURTIS; BURNS, 2015). A reação que ocorre neste método de mensuração é cinética, onde há uma diminuição na absorvância, que é medida em um comprimento de onda de 293 nm. A maioria dos ensaios atuais para determinação do ácido úrico envolve a utilização de um sistema de peroxidase acoplado com aceptores de oxigênio, a fim de produzir um cromógeno no espectro visível (BURTIS; BURNS, 2015). Existem ainda testes que utilizam uricase na forma de reagente seco, o que auxilia na redução de interferentes. Além dessas metodologias, os métodos que utilizam CLAE com troca iônica ou fase reversa tem sido utilizados para separar e quantificar o ácido úrico (BURTIS; BURNS, 2015).

1.2 PATOGENICIDADE DO ÁCIDO ÚRICO

Nos seres humanos, grande parte da capacidade antioxidante existente no plasma sanguíneo é devida ao ácido úrico (AMES, et al., 1981; BECKER, 1993). Esse metabólito é capaz de captar espécies reativas de oxigênio, eliminar peroxinitrito e atuar como antioxidante (AMES et al., 1981; SAUTIN; JOHNSON, 2008). No citosol de células endoteliais vasculares e do fígado por exemplo, normalmente são encontrados elevados níveis de ácido úrico com atividade antioxidante (PEDEN et al., 1990;1993; SHI et al., 2003). Além disso, o ácido úrico parece ser importante no processo de defesa contra doenças neurológicas e autoimunes (EL RIDI; TALLIMA, 2017). Apesar de seu importante papel na defesa e proteção, o ácido úrico pode atuar de forma prejudicial ao organismo, conforme demonstrado na figura 2.

Figura 2 - Mecanismos de patogenicidade do ácido úrico



Adaptada de: Lytvyn e colaboradores (2015)

No contexto clínico, a hiperuricemia é associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, gota, DM, inflamação e doença renal (BURACK et al., 1985; SAITO et al., 2003; GAGLIARDI et al., 2009). Além disso, é reconhecida como um modesto fator de risco para mortalidade (KIM et al., 2009). Recentemente, devido ao aumento dos casos de DM e conseqüentemente, das complicações crônicas decorrentes desta patologia, a associação entre ácido úrico, DM e DRD tem se tornado objeto de estudo.

2.2.1 Ácido úrico e diabetes mellitus

Os fatores de risco para o desenvolvimento do DM são bem conhecidos e envolvem idade, raça, história familiar de DM, índice de massa corpórea (IMC) entre outros. Apesar dessas condições bem estabelecidas, os níveis séricos de ácido úrico tem sido sugerido como um novo fator associado ao risco de desenvolvimento de DM tipo 2 (KODAMA et al., 2009).

A ação diabetogênica do ácido úrico foi reportada pela primeira vez em 1950 (GRIFFITHS, 1950). O exato mecanismo pelo qual a hiperuricemia está associada à maior incidência de DM tipo 2 não foi totalmente elucidado. Acredita-se que o ácido

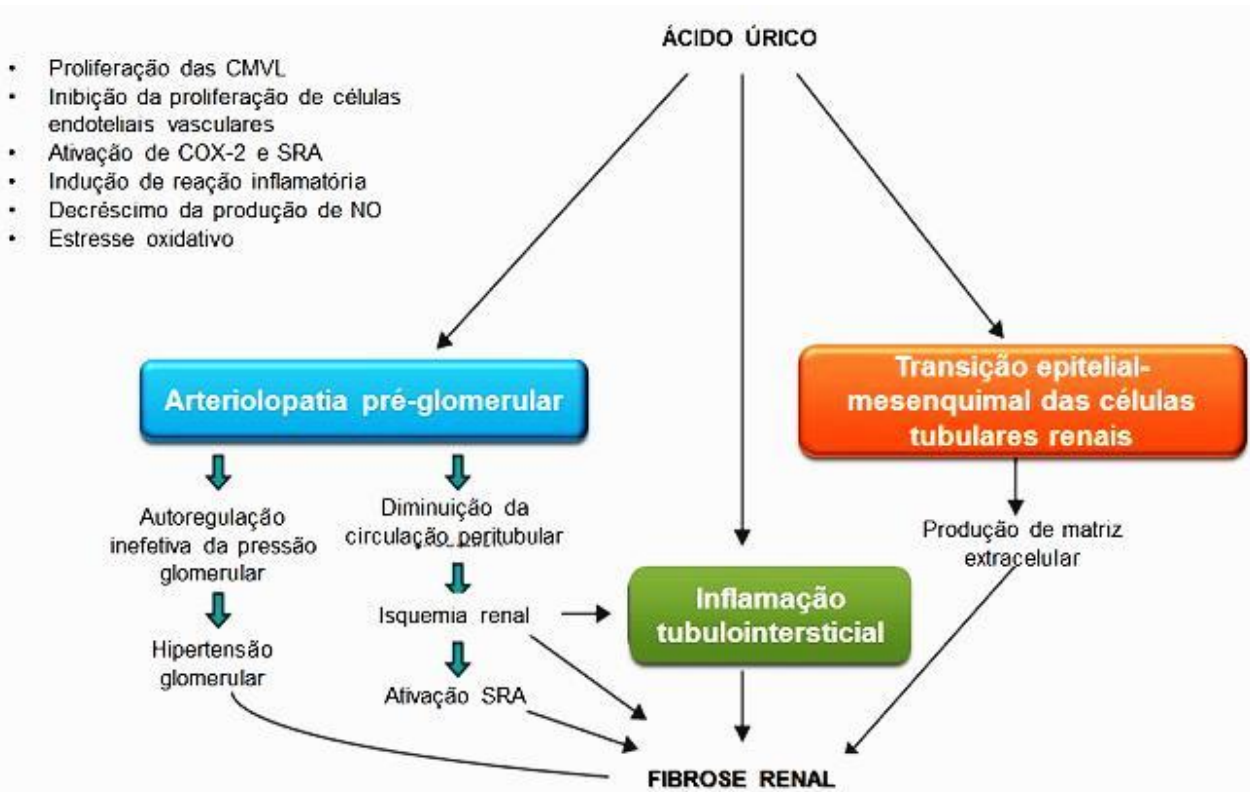
úrico possa estar associado à processos de disfunção endotelial e inibição da síntese de óxido nítrico, fatores que contribuem para resistência insulínica (NAKAGAWA et al., 2005). Atualmente, sabe-se que os elevados níveis de ácido úrico exercem efeitos sobre a resistência insulínica (YOO et al., 2005). Além disso, a inflamação e o estresse oxidativo associados à hiperuricemia, predispõem os indivíduos a um maior risco de desenvolver DM (CHIEN et al., 2008).

Apesar de existirem controvérsias quanto a participação do ácido úrico no desenvolvimento do DM, tem sido evidenciado que indivíduos com concentrações mais altas de ácido úrico apresentam maior risco de desenvolver DM tipo 2, independentemente de outros fatores de risco como hipertensão e tabagismo (NAKANISHI et al., 2003; CHIEN et al., 2008; BHOLE et al., 2010).

2.2.2 Ácido úrico e dano renal

A patogenicidade do ácido úrico não se limita apenas ao cenário do DM. Estudos tem demonstrado que os elevados níveis desse metabólito podem contribuir para o dano renal. No entanto, por muito tempo, a hiperuricemia foi vista como consequência do decréscimo da função renal e não como um fator de risco para o desenvolvimento ou progressão da doença renal (DAVIS, 1897). Tem sido sugerido que o ácido úrico por si, em elevadas concentrações, pode predizer o desenvolvimento da doença renal em indivíduos saudáveis (DOMRONGKITCHAIPORN et al., 2005; HOVIND et al., 2009; BELLOMO et al., 2010). Conforme demonstrado na figura 3, os mecanismos que associam essa molécula ao desenvolvimento do dano renal são diversos e independentes da formação de cristais (MAZZALI et al., 2001).

Figura 3 – Potenciais mecanismos da doença renal induzida por ácido úrico



Adaptada de: Mende, C. (2015)

De modo geral, processos de vasoconstrição renal mediada por disfunção endotelial, inflamação e ativação do sistema renina-angiotensina tem sido identificados como mecanismos promovidos pelo ácido úrico no contexto do dano renal (MAZZALI et al., 2001; KANG et al., 2002; SÁNCHEZ-LOZADA et al., 2005; HOVIND et al., 2011; PREITNER et al., 2015). Além disso, em elevadas concentrações, o ácido úrico apresenta propriedades pró-inflamatórias e antiangiogênicas, aumenta a produção de radicais livres e a liberação de mediadores inflamatórios (HAHN et al., 2017). Sabe-se que nos rins, tanto a porção glomerular quanto a tubular tem demonstrado sofrer danos resultantes da ação do ácido úrico. A nível glomerular, o ácido úrico induz hipertensão, arteriopatía aferente, hipertrofia glomerular e aumento da pressão glomerular, promovendo lesões consideráveis (MAZZALI et al., 2002; NAKAGAWA et al., 2003; SÁNCHEZ-LOZADA et al., 2005; RYU et al., 2013). Já na porção renal tubular, acredita-se que o ácido úrico atue de forma direta, visto que os túbulos são os principais

responsáveis pela sua reabsorção e que as células tubulares também são capazes de formar esse metabólito em seu interior (SHEKARRIZ; STOLLER, 2002; CIRILLO et al., 2009).

As células tubulares renais são importantes alvos para o surgimento e progressão da doença renal. Estas células podem sofrer processos de transição fenotípica, os quais resultam da ação de diferentes estímulos, como altos níveis de glicose, hipóxia, mediadores inflamatórios e citocinas pró-fibróticas, e que levam à fibrose renal (LIU, 2004; HIGGINS et al., 2007; LIU, 2010; ZEISBERG; DUFFIELD, 2010; GALICHON, P.; HERTIG, A., 2011). O ácido úrico também é conhecido como um importante fator para a indução de transição fenotípica das células tubulares renais. Desta forma, a doença renal pode resultar de mudanças fenotípicas em células epiteliais tubulares e conseqüentemente nos túbulos renais, promovidas pela hiperuricemia (RYU et al., 2013). A transição fenotípica é um importante processo na lesão renal, de modo que caracteriza o primeiro fenômeno da fibrose renal e tem sido alvo de estratégias terapêuticas, visto que suas características são reversíveis (GALICHON, P.; HERTIG, A., 2011; GRGIC et al., 2012). A utilização de fármacos como a probenecida e o alopurinol promovem a inibição da transição fenotípica induzida pelo ácido úrico, sugerindo que esse metabólito por si é responsável por este processo nas células tubulares renais (RYU et al., 2013).

Além dos mecanismos de alteração das células tubulares, a hiperuricemia também pode promover a apoptose destas células através de mecanismos dependentes de NADPH oxidase, bem como da ativação de vias intrínsecas de apoptose. Dessa forma, o ácido úrico induz disfunção tubular e promove o aumento da permissividade das células tubulares proximais à apoptose (VERZOLA et al., 2014). Interessantemente, o papel patogênico do ácido úrico em células tubulares resulta do transporte intracelular dessa molécula através dos transportadores existentes nessa porção renal (VERZOLA et al., 2014).

Os mecanismos promovidos pelas elevadas concentrações de ácido úrico nos rins resultam em algumas alterações que podem ser observadas clinicamente. Pacientes com níveis de ácido úrico elevados, mesmo que dentro da normalidade (6,4 mg/dL para homens e 5,1 mg/dL para mulheres), apresentam maior risco para o declínio da função renal (TANAKA et al., 2015). Em indivíduos com DM tipo 1, já foi observado que um rápido declínio na taxa de filtração glomerular (TFG) ocorre em indivíduos com concentrações mais elevadas desse metabólito (FICOCIELLO et al.,

2010). Assim, o aumento dos níveis séricos de ácido úrico tem sido relatado como prejudicial aos rins, associando a hiperuricemia à incidência de doença renal crônica na população em geral e também em pacientes com DM (ISEKI et al., 2004; OBERMAY et al., 2008; STURM et al., 2008).

2.2.3 Ácido úrico e inflamação renal

A elevação dos níveis séricos de ácido úrico tornou-se um fator de risco para piores desfechos na saúde, de modo que sua associação a algumas patologias tem sido descrita como resultado do papel pró-inflamatório desse metabólito (FREEDMAN et al., 1995; CULLETON et al., 1999). Tem sido demonstrado que após a ocorrência de danos ou morte celular, o ácido úrico é gerado e passa a atuar como um “sinal de perigo” que induz a maturação e ação de células imunológicas, estimulando a inflamação (MARTINON et al., 2006). Já foi observado que o ácido úrico é capaz de estimular a liberação de mediadores inflamatórios como a IL-1 β e IL-6, TNF-alfa e a proteína quimioatrativa de monócitos-1 (JOHNSON et al., 2005).

O papel do ácido úrico no contexto inflamatório tem sido estendido ao ambiente renal. É de conhecimento que a hiperuricemia promove a ativação de vias inflamatórias que levam a um estado inflamatório crônico, aumentando o risco de dano renal através da inflamação, independentemente da formação de cristais de ácido úrico (GUIJARRO; EGIDO, 2001; MAZZALI et al., 2001; KANG et al., 2002). Sabe-se que a inflamação tem uma importante participação no início e na progressão da doença renal. É possível verificar a infiltração de células T e macrófagos nos espaços intersticiais dos rins, com consequente liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias por essas células (SEGERER et al., 2000; GUIJARRO; EGIDO, 2001). Neste contexto, tem sido observado que o ácido úrico pode ativar em células epiteliais tubulares proximais, a via de sinalização do fator nuclear kappa B (NF- κ B), a qual é fundamental para o desenvolvimento do processo inflamatório (GUIJARRO; EGIDO, 2001). Da mesma forma, a liberação de mediadores pró-inflamatórios como as citocinas, também pode ser associada às ações do ácido úrico a nível renal (ZHOU et al., 2012).

Citocinas são polipeptídeos de baixo peso molecular cuja função clássica é a regulação do processo inflamatório. Elas possuem múltiplos alvos celulares e atividades bastante complexas, de modo que uma citocina pode ativar uma série de

reações (VILCEK, 2003). As células renais são capazes de sintetizar citocinas pró-inflamatórias, as quais possuem capacidade de exercer diferentes ações no ambiente renal (NAKAMURA et al., 1993; SUGIMOTO et al., 1999). As citocinas atuam de forma a promover alterações na hemodinâmica e estrutura renal, mudanças na matriz extracelular e na membrana basal, necrose celular e apoptose, bem como modificações na permeabilidade do endotélio glomerular (PFEILSCHIFTER et al., 1990; COLEMAN; RUEF, 1992; McCARTHY et al., 1998; NAVARRO; MORA, 2008). Além disso, essas moléculas tem demonstrado possuir um papel relevante na patogênese da DRD, exercendo múltiplas ações nos rins. Dentre as citocinas inflamatórias conhecidas, destacam-se a IL-1, IL-6 e o TNF-alfa, que apresentam importantes ações no contexto da DRD (ALEXANDRAKI et al., 2006). Interessantemente, elevadas concentrações de ácido úrico são capazes de promover o aumento da expressão de TNF-alfa em células renais tubulares (ZHOU et al., 2012). Apesar disso, pouco se sabe sobre a relação entre o ácido úrico e as demais citocinas no ambiente renal.

2.3 DIABETES MELLITUS

O DM é definido como um grupo de doenças metabólicas que apresenta como característica a hiperglicemia crônica, a qual resulta de defeitos na secreção e/ou ação da insulina (CRAIG et al., 2009). Em consequência à deficiente ação da insulina, ocorrem anormalidades no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (IDF, 2015; ADA 2016). Sabe-se que hoje, 415 milhões de adultos apresentam DM e estima-se que em 2040, 642 milhões desenvolverão essa patologia (IDF, 2015).

O DM decorre de uma série de processos patogênicos, os quais incluem desde a destruição autoimune das células β -pancreáticas, resultando na deficiência de insulina, bem como anormalidades que levam a resistência à ação da mesma (ADA, 2014). A insulina é um hormônio peptídico composto por 51 aminoácidos, sendo sintetizada, armazenada e secretada pelas células β -pancreáticas, as quais são encontradas nas ilhotas de Langerhans no tecido pancreático exógeno (KAHN, 1994). O papel desempenhado pelas células β -pancreáticas é de grande importância, visto que realizam a homeostase da glicose e funcionam, portanto, como sensores em resposta a determinados estímulos glicêmicos (EVANS et al.,

2003; KAHN, 1994; ADA, 2014). Em resposta a esses estímulos, as células secretam insulina, que é o hormônio chave na regulação do metabolismo da glicose (ADA, 2016). O comprometimento na secreção de insulina, bem como os defeitos em sua ação, frequentemente coexistem no mesmo paciente. Sendo assim, nem sempre é fácil identificar qual anormalidade é a causa da hiperglicemia (ADA, 2014).

A hiperglicemia que caracteriza o quadro de DM, promove uma série de sintomas que incluem polidipsia, poliúria, perda de peso, às vezes polifagia e visão turva. Neste contexto, podem ser vistos quadros de suscetibilidade a certas infecções e comprometimento do crescimento. Em casos de hiperglicemia aguda, característica do DM não controlado, as consequências podem ser fatais, ocorrendo cetoacidose ou síndrome hiperosmolar não cetótica (ADA, 2016).

O DM apresenta duas formas principais: o DM tipo 1 e o DM tipo 2. O DM tipo 1 é caracterizado pela destruição autoimune das células β -pancreáticas e consequente deficiência na secreção de insulina. O tipo 2 é causado pela predominante resistência à insulina, com deficiência relativa da mesma, até uma resistência a insulina com deficiência na secreção desse hormônio (ADA, 2014; BURTIS et al., 2008). A resistência à insulina e a falha progressiva nas células β são descritos como mecanismos chave para o desenvolvimento do DM tipo 2 (FONSECA, 2006). Inicialmente, as células β -pancreáticas hipersecretam insulina, de modo a compensar a resistência insulínica desenvolvida nos tecidos periféricos. Consequentemente, ocorre o esgotamento das células β , resultando na secreção insuficiente da insulina (FONSECA, 2006).

A contribuição do DM para o aumento da mortalidade nos últimos tempos tem sido considerável. Portanto, a realização do diagnóstico precoce dessa patologia é de grande importância para o início de um tratamento adequado, de forma a reduzir as complicações decorrentes da hiperglicemia. Atualmente, três critérios são aceitos e recomendados pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) para o diagnóstico laboratorial do DM:

- Sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal acrescidos de glicemia casual > 200 mg/dL. Define-se glicemia casual como aquela realizada a qualquer hora do dia.

- Glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL. Em caso de pequenas elevações da glicemia, o diagnóstico deve ser confirmado pela repetição do teste em outro dia.

- Glicemia de 2 horas pós-sobrecarga de 75g de glicose >200 mg/dL. O teste de tolerância à glicose deve ser realizado com os cuidados preconizados pela OMS, com coleta para diferenciar a glicemia de jejum e 120 minutos após a ingestão de glicose.

Em julho de 2009 a *American Diabetes Association* (ADA) propôs como critério diagnóstico para o DM, a utilização da HbA_{1c}. A justificativa para essa proposta baseia-se no fato de que a medida da HbA_{1c} avalia o grau de exposição à glicemia no decorrer do tempo e, seus valores, mantêm-se estáveis mesmo após a coleta. Nestes critérios, o DM é diagnosticado quando valores de HbA_{1c} são maiores que 6,5%, o que deve ser confirmado em outra coleta, sendo dispensável em caso de sintomas ou glicemia > 200 mg/dL. Cabe destacar que a Sociedade Brasileira de Diabetes e de Endocrinologia não possuía um posicionamento quanto ao uso diagnóstico deste marcador (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014-2015). No entanto, este ano, a SBD juntamente com outras organizações, publicou um posicionamento oficial sobre a HbA_{1c}, visto que esse marcador passou a ser utilizado como diagnóstico para o diabetes adicionalmente ao teste de glicemia de jejum e do teste oral de tolerância à glicose. Esse posicionamento oficial tem o fim de promover atualizações sobre o papel da HbA_{1c} na avaliação do controle glicêmico e no diagnóstico do DM (SBD, 2017).

Diagnosticar corretamente o DM, bem como identificar possíveis fatores associados ao desenvolvimento dessa condição é de extrema importância. Sabe-se que o DM é considerado um problema de saúde pública e as complicações crônicas decorrentes dessa doença são, frequentemente, de caráter incapacitante, podendo diminuir a qualidade de vida e demandar tratamento oneroso ao sistema de saúde (ROSA et al., 2007).

2.4 DOENÇA RENAL DO DIABETES

As complicações crônicas do DM são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes que desenvolvem essa patologia. A DRD é descrita como uma complicação microvascular que acomete de 20 a 40% dos pacientes diabéticos, sendo considerada a maior causa de doença renal crônica (ADA, 2016). Caracteriza-se por alterações nos rins, sejam elas funcionais,

estruturais ou clínicas, que envolvem lesões glomerulares, tubulares, intersticiais e vasculares (BURTIS et al., 2008).

Clinicamente, a DRD pode ser identificada pela presença de proteinúria superior a 0,5 g/24h (GROSS et al., 2005; MORA-FERNANDEZ et al., 2014). O diagnóstico dessa patologia baseia-se na mensuração da excreção urinária de albumina, considerada o padrão-ouro para a detecção precoce da DRD, refletindo principalmente o dano glomerular (BAKRIS, 2008; MORA-FERNANDEZ et al., 2014). A classificação da DRD pode ocorrer de diferentes formas, desde a utilização da taxa de filtração glomerular, bem como os valores de excreção urinária de albumina. A presença de pequenas quantidades deste marcador na urina, identificam o estágio inicial da DRD, denominado microalbuminúria ou nefropatia incipiente. Da mesma forma, estágios mais avançados da doença são classificados como macroalbuminúria, proteinúria ou nefropatia instalada (GROSS et al., 2005).

Devido à diversidade da população celular presente no rim e pelos diversos papéis fisiológicos desse órgão, o desenvolvimento e a progressão da DRD são processos complexos e que ainda não foram totalmente compreendidos (BRENNER, 2008). Diferentes mecanismos fisiopatológicos tem contribuído para as alterações estruturais e funcionais que acometem os rins no cenário da DRD (ZIYADEH, 2004). São descritas modificações nas vias hemodinâmicas e metabólicas (via do poliol, via da hexosamina, via da PKC e formação de AGEs), bem como a participação de vias inflamatórias nesse processo (TOTH-MANIKOWSKI; ATTA, 2015). Embora a hiperglicemia seja essencial para a cascata de efeitos que levam ao desenvolvimento e progressão da DRD, muitos outros fatores estão envolvidos. A inflamação tem demonstrado ser um importante componente da fisiopatologia do dano renal no DM. Sua contribuição ocorre através do estresse oxidativo, da ativação de fatores de transcrição (NAVARRO; MORA, 2005; MORA; NAVARRO, 2006) e da liberação de citocinas inflamatórias, as quais possuem ações potencialmente envolvidas no desenvolvimento da DRD (HASEGAWA et al., 1991;1995). Algumas citocinas tem recebido destaque no âmbito da DRD, como IL-1, IL-6, IL-18 e TNF-alfa, de modo que suas concentrações se demonstram elevadas em modelos de DRD e associadas à progressão dessa patologia (NAVARRO-GONZALEZ; MORA-FERNANDEZ, 2008).

Os mecanismos fisiopatológicos que ocorrem na DRD promovem alterações estruturais nos rins que envolvem não somente a porção glomerular, mas também a

tubular. Inicialmente, ocorrem processos de vasodilatação renal e hiperfiltração glomerular reversíveis. A hiperfiltração foi inicialmente descrita como um dos principais processos contribuintes para os danos ao glomérulo (O'BRYAN; HOSTETTER, 1997). O dano glomerular é caracterizado por alterações na permeabilidade e estrutura glomerular que podem ocorrer como resultado de lesões a qualquer um dos principais componentes da barreira de filtração glomerular, incluindo membrana basal glomerular, podócitos e endotélio capilar glomerular (LEWIS; XU, 2008). Como resultado dessas alterações, um excesso de proteínas séricas que normalmente não são filtradas livremente através do glomérulo começam a aparecer na urina, incluindo macromoléculas como albumina (LEWIS; XU et al., 2008).

Além do glomérulo, os túbulos renais são intensamente envolvidos na fisiopatologia da DRD, visto que constituem 90% da massa cortical do rim (DORUP et al., 1992). O dano tubular é um componente crítico do curso inicial do dano renal, podendo ser um contribuinte primário para o desenvolvimento precoce da DRD (NAUTA et al., 2011; VAIDYA et al., 2011; BONVENTRE, 2012). Existem marcadores que refletem o dano tubular e que tem recebido destaque no contexto da DRD, visto que já se apresentam elevados em pacientes diabéticos considerados normoalbuminúricos e com TFG estimada normal (NAUTA et al., 2011). Esses marcadores são enzimas e proteínas com peso molecular inferior a 70 kDa presentes no ultrafiltrado e que são completamente reabsorvidas pelas células epiteliais. No entanto, suas concentrações urinárias elevam-se quando existe uma reabsorção deficiente ou um aumento da secreção dessas proteínas pelas células tubulares (FLYNN, 1990; HONG et al., 1998; BARRAT; TOPAHAM, 2007). Algumas das proteínas e enzimas tubulares associadas à lesão tubular proximal são: α 1 e β 2-microglobulina, proteína ligadora do retinol, fosfatase alcalina (FAL), proteinúria não-albumina (NAP), 4,N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG), Gama-glutamyltransferase (GGT), Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL) e KIM-1 (MORESCO et al., 2013). Dentre esses marcadores, pode-se destacar o KIM-1, um biomarcador específico e sensível para identificar o dano tubular proximal e preditivo para doenças renais (VAIDYA et al., 2008; 2008; 2010; BANGSTAD et al., 2009)

O KIM-1 é uma proteína de membrana do tipo I expressa na membrana apical de células tubulares proximais dos rins (ICHIMURA et al., 1998). Possui peso molecular de 104 kDa, compreendendo um fragmento de 14 kDa ligado à membrana

e uma porção solúvel com peso molecular de 90 kDa, a qual é encontrada na urina de forma estável (ICHIMURA et al., 1998). É de conhecimento que os níveis de KIM-1 são muito baixos ou até mesmo não detectados na urina de indivíduos com rins saudáveis (van TIMMEREN, et al., 2007). No entanto, em pacientes com DM tipo 2, os níveis urinários deste marcador tem sido independentemente associados com a albuminúria no estágio inicial da DRD (KIM, et al., 2012). Dessa forma, destaca-se que a avaliação dos níveis urinários de KIM-1 pode facilitar a detecção de lesão tubular renal no DM tipo 2, mesmo na ausência de albuminúria (YIN; WANG, 2016). Além de mostrar-se elevado na DRD, o KIM-1 demonstra ser associado à fibrose renal e à inflamação, de modo que agregados de macrófagos e áreas pré-fibróticas são observadas juntamente com a expressão tubular de KIM-1 (van TIMMEREN, et al., 2007). Desse modo, a inflamação demonstra ter uma importante participação no dano renal de forma geral e pode também ser associada ao desenvolvimento do dano tubular.

De modo geral, a hiperglicemia é um fator de grande relevância na patogênese da DRD, desencadeando processos que alteram a estrutura e função renal. No entanto, ela parece não ser o único fator contribuinte para a DRD. Em modelos experimentais, elevadas concentrações de ácido úrico também são capazes de promover alterações a nível pré-glomerular, glomerular e tubular, de forma que esse metabólito tem demonstrado ser um ativador de vias hemodinâmicas nos rins (MAZZALI et al., 2002; PERLSTEIN et al., 2004; RYU et al., 2013). Em estudos clínicos, a prevalência da DRD é significativamente elevada nos pacientes com DM tipo 2 que são hiperuricêmicos (YAN et al., 2015; HAYASHINO et al., 2016). Além disso, os elevados níveis de ácido úrico demonstram ser um independente fator de risco para o surgimento e progressão da albuminúria tanto em pacientes com diabetes quanto naqueles que não possuem a doença (CHANG, et al., 2013; HAYASHINO, et al., 2016). Da mesma forma, sua associação ao dano tubular já foi evidenciada. No estudo de Tomczak (2013), adolescentes hiperuricêmicos apresentaram níveis urinários mais elevados de KIM-1 quando comparados a indivíduos saudáveis (TOMCZAK et al., 2013). Finalmente, devido ao seu papel pró-inflamatório, o ácido úrico ganha importância ainda maior no contexto da DRD. A inflamação tem demonstrado ser uma importante parte do processo fisiopatológico da DRD e é possível que exista uma ligação entre o ácido úrico e a inflamação renal (MORA, 2006). Apesar das associações já evidenciadas entre ácido úrico e DRD,

bem como seu papel pró-inflamatório, ainda não se tem conhecimento de como esse metabólito pode contribuir para o dano tubular e para inflamação renal que ocorre em pacientes com DM tipo 2. Além disso, a participação do processo inflamatório na lesão renal tubular ainda não é completamente esclarecida.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a existência da associação entre os níveis séricos elevados de ácido úrico, dano tubular e inflamação renal em pacientes com DM tipo 2, a fim de propiciar a melhor compreensão do envolvimento do ácido úrico na fisiopatologia do dano renal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar se pacientes com DM tipo 2 com elevados níveis séricos de ácido úrico demonstram maiores níveis do marcador de dano tubular KIM-1;
- Verificar se os pacientes com DM tipo 2, que apresentam concentrações séricas elevadas de ácido úrico, possuem maiores níveis urinários das seguintes citocinas inflamatórias: IL-1, IL-6 e TNF-alfa;
- Investigar se existe uma associação entre o processo inflamatório renal e o processo de dano tubular que ocorre em pacientes com DM tipo 2.

4 MANUSCRITO CIENTÍFICO

As seções “Materiais e Métodos”, “Resultados” e “Discussão” encontram-se no próprio manuscrito, o qual será submetido para publicação no periódico *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*.

Increased serum uric acid levels is associated with tubular damage and kidney inflammation in patients with type 2 diabetes

Short title: Uric acid associated with tubular damage and kidney inflammation

Naiara S. Guarda^a, Yãnaí S. Bollick^a, José Antonio M. de Carvalho^{a,b}, Melissa O. Premaor^c, Fabio V. Comim^c, Rafael N. Moresco^{a,*}

^aLaboratory of Clinical Biochemistry, Department of Clinical and Toxicological Analysis, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

^bUniversity Hospital, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

^cDepartment of Clinical Medicine, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

*Corresponding Author: Rafael Noal Moresco

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Avenida Roraima 1000, Prédio 26, Sala 1401, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil.

Phone.: +55 55 32208941; Fax: +55 55 32208018; E-mail: rnmoresco@ufsm.br

Word count: 2318

Number of tables: 2

Number of figures: 3

Abstract

Background: Uric acid is a pro-inflammatory molecule which can promote kidney damage through different mechanisms. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the association between elevated uric acid levels and renal tubular damage, as well as its relation with renal inflammation in patients with type 2 diabetes *mellitus* (type 2 DM) according to different serum uric acid concentrations.

Methods: This study included 125 patients with type 2 DM stratified into two groups according to serum uric acid levels: < 6.0 (mg/dL) and \geq 6.0 (mg/dL). Urinary levels of KIM-1, IL-1, IL-6 and TNF-alpha, as well as other biochemical parameters, were determined in these patients.

Results: Urinary KIM-1 levels and urinary cytokines IL-1, IL-6 and TNF-alpha were significantly higher in patients with serum uric acid concentrations \geq 6.0 mg/dL than in patients with serum uric acid levels < 6.0 mg/dL. In addition, significant positive correlations were found between urinary levels of KIM-1, IL-1, IL-6 and TNF-alpha. Multiple logistic regression analysis showed that the association between serum uric acid concentration and urinary levels of KIM-1 was independent of other factors.

Conclusions: Higher serum uric acid concentrations present an important role in inflammation and kidney damage in patients with type 2 DM. Notably, diabetic patients with elevated serum uric acid levels demonstrated higher levels of the urinary KIM-1 tubular damage marker, as well as increased concentrations of the urinary inflammatory cytokines.

Keywords: uric acid; type 2 diabetes *mellitus* (type 2 DM); tubular damage; urinary KIM-1 (KIM-1); inflammation; urinary TNF-alpha (TNF-alpha).

List of Abbreviations

DKD, diabetic kidney disease

type 2 DM, type 2 diabetes *mellitus*

KIM-1, renal injury molecule

IL-1, interleukin-1

IL-6, interleukin- 6

TNF-alpha, tumor necrosis factor alpha

NF-κB, factor nuclear kappa B

HbA_{1c}, glycosylated hemoglobin

ACR, urinary albumin/creatinine ratio

eGFR, Estimated glomerular filtration rate

CKD-EPI, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

BMI, Body mass index

HAS, systemic arterial hypertension

ACE inhibitors, angiotensin-converting-enzyme inhibitor

1. Introduction

Hyperuricemia has emerged as a risk factor for the development of different diseases such as cardiovascular, diabetes and kidney diseases [1-4]. Currently, the association between diabetes and hyperuricemia has been extensively investigated, as such the role of uric acid in the physiopathology of diabetic kidney disease (DKD). However, the exact mechanism by which uric acid acts at the renal level is not fully understood. It is not known whether uric acid has a direct nephrotoxic effect or if it promotes conditions leading to kidney damage. Some experimental studies have evidenced that uric acid induces hyalinosis and thickening of preglomerular arterioles, and it promotes endothelial dysfunction, glomerular hypertrophy, and activation of the renin-angiotensin system [5]. All these factors may lead to the development of kidney disease. In humans, data have indicated that increased serum uric acid is an independent risk factor for the onset and progression of microalbuminuria both in patients with diabetes or in those without diabetes [5,6].

Uric acid has the potential to cause damage not only at the glomerular level but also at the tubular level [7]. It is known that renal uric acid reabsorption occurs mainly in the proximal tubules [8]. Likewise, its generation occurs in tubular cells suggesting that uric acid can act directly on this portion of the kidney [9]. Tubular cells are important targets for the onset and progression of kidney damage. Hence, biomarkers of tubular damage can contribute substantially to improve the early detection of renal injury [10]. The renal injury molecule (KIM-1), a new marker of tubular injury, is a type I cell membrane glycoprotein expressed at low levels in healthy kidneys [11]. In fact, it has been shown that normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus (type 2 DM) presented increased urinary levels of KIM-1 [12].

Besides traditional risk factors, the inflammation plays a key role in the pathophysiology of kidney damage [13,14]. The tubulointerstitial lesion is characterized by infiltrates of inflammatory cells with tubular atrophy and consequent interstitial fibrosis [10]. In the renal environment, inflammatory molecules such as cytokines play an important role in the development of DKD [15]. In this context, some cytokines have been highlighted as interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) [16]. Interestingly, uric acid is a pro-inflammatory factor since it can induce the expression of IL-6 and TNF-alpha through the factor nuclear kappa B (NF- κ B) signaling pathway [17,18]. In the kidneys, these cytokines promote changes in renal and hemodynamic structure, cellular necrosis, as well as changes in the permeability of the glomerular endothelium [15,19,20].

Although there is evidence of the involvement of hyperuricemia and inflammation in the pathophysiology of diabetes, it is still not fully known whether increased serum uric acid levels are associated with tubular damage and renal inflammation. Therefore, in the current study, we investigated the association between elevated uric acid levels and renal tubular damage, as well as its relation with renal inflammation in patients with type 2 diabetes *mellitus* (type 2 DM) according to different serum uric acid concentrations.

2. Materials and methods

2.1. Study population

This study involved 196 patients previously diagnosed with type 2 DM from the University Hospital of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, between June 2013 and October 2014. Patients who presented with urinary tract diseases, previous renal

disease other than not DKD, malignancies, infections and liver diseases, acute or chronic inflammatory diseases, pregnancy, kidney transplantation, use of nephrotoxic drugs and patients who did not have serum uric acid levels were excluded. Finally, 125 patients were eligible for the study (85 females, 40 males). Written informed consent was obtained from all patients, and the study was conducted according to the protocol approved by the Institutional Ethics Committee for human studies (12303113.0.0000.5346).

In order to evaluate the role of uric acid in the context of tubular damage and kidney inflammation, patients were stratified into two groups according to serum uric acid levels: <6.0 mg/dL ($n = 90$) and ≥ 6.0 mg/dL ($n = 35$). For all subjects, their medical histories and study clinical characteristics (age, gender, height, weight, hypertension, duration of diabetes and treatments) were obtained by the hospital's medical registry. In addition, patients eligible for the study answered a clinical and epidemiological assessment questionnaire.

2.2. Sample collection and biochemical analysis

Blood samples from all patients were collected after a fasting period of at least 8h by venous puncture technique into the Vacutainer[®] (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes no anticoagulants, with EDTA, or sodium fluoride plus EDTA was used. The blood samples obtained were centrifuged at $2500 \times g$ for 15 minutes for further analysis. Levels of uric acid, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides were determined in serum by standard methods. Plasma with fluoride plus EDTA was used for measurement of fasting glucose. The quantification of these variables was performed on a Dimension RXL MAX[®] (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, USA). Insulin levels were determined in serum by

standard methods using a Cobas 6000[®] automated analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). EDTA blood samples were used for the quantification of glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}) levels by a chromatographic method in the D10[®] automated analyzer (BioRad, California, USA).

Morning urine samples were also obtained from each patient to determine the following parameters: albumin, creatinine, KIM-1, IL-1, IL-6, interleukin 10 (IL-10) and TNF-alpha. The urine samples were centrifuged at 1000 x g for 5 minutes and the supernatant was used for analyzes. Creatinine and urinary albumin were measured using a Dimension RXL MAX[®] (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, USA). The results of urinary albumin were expressed as milligrams of albumin per gram of creatinine (ACR) in order to combine albumin levels according to urine concentration [21]. Urinary KIM-1 and inflammatory cytokines quantification was assessed by ELISA kits (R & D Systems Inc, Minneapolis, Minnesota). All tests were performed according to the instructions recommended by the manufacturer. The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated using the creatinine equation of the collaboration in chronic epidemiology of renal disease (CKD-EPI) [22]. Body mass index (BMI) was calculated as a weight index in kilograms divided by the square of the height in meters.

2.3. Statistical analysis

All variables were tested for normality using D'Agostino & Pearson test and the appropriated parametric or non-parametric approach was used. Data are presented as mean \pm standard deviation (SD) and median and interquartile range (IQR) for non-parametric variables. Statistical differences between groups were analyzed using Student's *t* test or Mann-Whitney test. Categorical data were summarized as percentages and compared using Chi-square test. Spearman's correlation was used

to evaluate the correlations between KIM-1 and inflammatory cytokines IL-1, IL-6 and TNF-alpha. Moreover, multiple regression analysis was employed in order to investigate whether some variables interfere with levels of urinary KIM-1. Two-tailed P values <0.05 were considered significant and confidence intervals (95% CI) were provided where appropriate. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism® version 6.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA) and Statistica 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK,USA).

3. Results

The baseline characteristics of the study patients are shown in Table 1. To investigate the relation between serum uric acid levels and tubular damage, patients were stratified into two groups according to the serum levels of uric acid: <6.0 mg/dL and ≥6.0 mg/dL. The study groups had similar distributions for age, duration of diabetes and proportion of smokers. In contrast, statistically significant differences were observed for gender, BMI and proportion of hypertensive patients. Subjects stratified in the uric acid group ≥6.0 mg/dL were mainly male, mostly hypertensive and had higher BMI values. Levels of fasting glucose, HbA_{1c} and LDL cholesterol were not statistically different between the groups evaluated. Similarly, eGFR levels did not show statistically significant differences. However, biochemical parameters such as total cholesterol and HDL cholesterol differed significantly among the groups.

Interestingly, patients in the group with higher serum uric acid concentrations had significantly higher levels of urinary KIM-1: 80.0 (58.3-123.8) pg/mL vs 122.0 (80.0-162.0) pg/mL (P=0.031) as shown in Figure 1. Differently from urinary KIM-1 levels, ACR levels did not differ between groups (Table 1). It was possible to verify higher urinary levels of IL-1 and IL-6 in patients with increased serum uric acid: 85.0

(70.0-112.0) pg/mL vs 112.5 (79.5-154.8) pg/mL ($P=0.013$) and 108 (91.0-135.0) pg/mL vs 131.5 (96.0-164.0) pg/mL ($P=0.012$), respectively (Figure 2). Similarly, higher urinary levels of TNF-alpha were found in patients with the highest serum concentrations of uric acid: 130.0 (108.0-144.0) pg/mL vs 139.5 (119.5-200.0) pg/mL ($P=0.034$). However, urinary levels cytokine IL-10 did not show significant differences between the groups evaluated in the study (data not shown). Multiple logistic regression analysis showed that the association between serum uric acid concentration and levels of urinary KIM-1 was independent of other factors as gender, BMI, HAS, and use of ACE inhibitors and other antihypertensive agents (Table 2).

The correlation analysis between urinary levels of KIM-1 and cytokines was performed to evaluate the involvement of inflammation in tubular kidney damage. Positive correlations were observed between KIM-1 and IL-1 ($r_s= 0.619$, $P<0.0001$), IL-6 ($r_s= 0.542$, $P<0.0001$) and TNF-alpha ($r_s=0.557$, $P<0.0001$) as shown in Figure 3.

4. Discussion

The purpose of the present study was to evaluate the role of the elevated serum uric acid levels in the tubular damage and in the inflammatory process that occurs in the kidneys of patients with type 2 DM. We found significant differences in groups regarding urinary levels of KIM-1, IL-1, IL-6 and TNF-alpha. Increased levels of the tubular damage biomarker KIM-1 and inflammatory cytokines were observed in the urine of patients with higher serum uric acid levels. Furthermore, it was possible to verify that renal inflammation may play an important role in renal tubular damage,

as demonstrated by the significant positive correlations between urinary KIM-1 and urinary IL-1, IL-6 and TNF-alpha.

Several studies have investigated the role of uric acid in causing kidney damage [3-6, 23]. The uric acid at high levels has the potential to induce renal injury through different mechanisms: renal vasoconstriction mediated by endothelial dysfunction, inflammation, activation of the renin angiotensin system and afferent renal arteriopathy [23-27]. Recently, experimental it is demonstrated that uric acid may promote the phenotypic transition of renal cells even at physiological concentrations [7]. Likewise, high concentrations of uric acid cause tubulointerstitial fibrosis [7]. Our results revealed that patients with increased levels serum uric acid presented higher levels of urinary KIM-1, an important marker of tubular kidney damage, regardless other confounding factors. Our findings are in agreement with the study by Tomczack et al., who observed that hyperuricemic adolescents had elevated urinary levels of KIM-1 when compared to healthy adolescents [28]. To our knowledge, this is the first study that evaluated the urinary levels of KIM-1 in patients with type 2 DM according to different serum uric acid levels. Interestingly, no differences in ACR levels were found between groups. It is known that tubular damage may precede or even occur independently of glomerular dysfunction. Thus, differences may not have been found between ACR levels. Therefore, the evaluation of markers of early renal lesions such as KIM-1 becomes so important [29,30].

The inflammatory process has an important role in the pathophysiology of diabetes mellitus and contributes significantly to the development of renal disease [31,32]. Interestingly, uric acid appears to play a key role both in inflammation and in kidney damage [24,33]. The uric acid may also promote the induction of renal inflammation via the NF-kB signaling pathway [34]. The production of interleukin-1 β

resulting from the induction of the NLRP3 pathway in mesangial renal cells through the action of uric acid has already been shown to be an important means of developing kidney damage [35]. In addition, uric acid is positively associated with the production of inflammatory cytokine such as TNF-alpha and IL-6 [36,37]. Our data revealed that patients who had higher levels of serum uric acid were those that demonstrated increased levels of urinary IL-1, IL-6 and TNF-alpha, important cytokines that play essential roles in the mediation of inflammatory processes and in the pathogenesis of diabetes. These results suggest that uric acid at high concentrations may contribute to the promotion of an inflammatory environment in the kidneys.

Inflammation can play an important role in the tubular damage, since we have observed a positive correlation between the urinary cytokines and urinary KIM-1. Pro-inflammatory cytokines can be produced by all types of kidney-resident cells and promote different renal effects [38,39]. IL-1 and IL-6 present potential actions in the renal tubules, promoting hypercellularity and interstitial fibrosis [40,41]. Similarly, TNF-alpha has cytotoxic action on mesangial and epithelial glomerular cells and may directly induce kidney damage [15,42]. In the present study, we can suggest that the source of this cytokine is the renal tubules, since there was a positive correlation between the urinary cytokines evaluated and urinary KIM-1. It has already been shown that patients with DKD have high urinary concentrations of cytokine when compared to diabetic patients without renal disease. Thus, our study demonstrates that in patients with type 2 DM, increased urinary levels of IL-1, IL-6 and TNF-alpha are seen in patients with high uric acid concentrations.

In conclusion, the present study highlights the important role of uric acid in tubular damage and kidney inflammation in patients with type 2 DM. Notably, diabetic

patients with elevated uric acid levels demonstrated higher levels of the urinary KIM-1 tubular damage marker, as well as increased urinary concentrations of inflammatory cytokines IL-1, IL-6 and TNF-alpha. Inflammation has been shown to play an important role in the context of tubular damage, as observed by the significant positive correlation between urinary pro-inflammatory cytokines and KIM-1. Thus, we suggest that uric acid may be involved in the tubular damage that occurs in patients with type 2 DM through mechanisms linked to inflammation. Therefore, monitor serum uric acid levels in diabetic patients may be useful to prevent or delay the development of kidney disease. Further studies are needed to verify whether pharmacological intervention in uric acid levels may decrease inflammation and renal tubular damage.

Acknowledgments: The authors thank Bioclin/Quibasa (Belo Horizonte, Brazil) for providing biochemical reagents.

Author contributions: All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved submission.

Research funding: This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq/Brazil, number 476758/2012-2). The authors thank the CNPq/Brazil and Capes/Brazil for providing resources.

Employment or leadership: None declared.

Honorarium: None declared.

Competing interests: The funding organization(s) played no role in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

References

1. Baker JF, Krishman E, Chen L, Schumacher HR. Serum uric acid and cardiovascular disease: recent development, and where do they leave us? *Am J Med* 2005;118, p.816-26.
2. Dehghan A, van Hoek M, Sijbrands EJ, Hofman A, Witteman JC. High serum uric acid as a novel risk factor for type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:361-62.
3. Yan D, Tu Y, Jiang F, Wang J, Zhang R, Sun X, et al. Uric acid is independently associated with diabetic kidney disease: a cross-sectional study in a chinese population. *PLoS One* 2015;10:e0129797.
4. Bartáková V, Kuricová K, Pácal L, Nová Z, Dvořáková V, Švrčková M, et al. Hyperuricemia contributes to the faster progression of diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes and Its Complications* 2016;30:1300-7.
5. Chang HY, Lee PH, Lei CC, Tung CW, Hsu YC, Huang TJ, et al. Hyperuricemia is an independent risk factor for new onset micro-albuminuria in a middle-aged and elderly population: a prospective cohort study in Taiwan. *PLoS One* 2013;8:e61450.
6. Hayashino Y, Okamura S, Tsujii S, Ishii H. Association of serum uric acid levels with the risk of development or progression of albuminuria among Japanese patients with type 2 diabetes: a prospective cohort study [Diabetes Distress and Care Registry at Tenri (DDCRT 10)]. *Acta Diabetol* 2016;53: 599-7.
7. Ryu ES, Kim MJ, Shim HS, Jang YH, Choi HS, Jo I, et al. Uric acid-induced phenotypic transition of renal tubular cells as a novel mechanism of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;304:F471-80.

8. Shekarriz B, Stoller ML. Uric acid nephrolithiasis:current concepts and controversies. *J Urol* 2002;168:1307-14.
9. Cirillo P, Gersh MS, Mu W, Scherer PM, Kim KM, Gesualdo L, et al. Ketohexokinase-dependent metabolism of fructose induces proinflammatory mediators in proximal tubular cells. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:545-53.
10. Bagshaw SM, Bellomo R. Early diagnosis of acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care* 2007;13:638-44.
11. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002;62:237-44.
12. de Carvalho JA, Tatsch E, Hausen BS, Bollick YS, Moretto MB, Duarte T, et al. Urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as indicators of tubular damage in normoalbuminuric patients with type 2 diabetes. *Clin Biochem* 2016;49:232–36.
13. Friedewald JJ, Rabb, H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004;66:486-91.
14. Kielar ML, John R, Bennett M, Richardson JA, Shelton JM, Chen L, et al. Maladaptive role of IL-6 in ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3315-25.
15. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:433–42.

16. Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, Singh J, Alaveras A, Kalofoutis A. The inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1084:89-117.
17. Suganuma M, Okabe S, Kurusu M, Iida N, Ohshima S, Saeki Y, et al. Discrete roles of cytokines, TNF-alpha, IL-6 in tumor promotion and cell transformation. *Int J Oncol* 2002;20:131-36.
18. Huang CC, Lou BS, Hsu FL, Hou CC. Use urinary metabolomics to evaluate the effect of hyperuricemia on the kidney. *Food Chem Toxicol* 2014;74:35-44.
19. Pfeilschifter J, Pignat W, Vosbeck K, Märki F. Interleukin-1 and tumor necrosis factor synergistically stimulate prostaglandin synthesis and phospholipase A2 release from rat renal mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;159:385-94.
20. Coleman DL, Ruef C. Interleukin 6: an autocrine regulator of mesangial cell growth. *Kidney Int* 1992;41:604-06.
21. Newman DJ, Pugia MJ, Lott JA, Wallace JF, Hiar AM. Urinary protein and albumin excretion corrected by creatinine and specific gravity, *Clin. Chim. Acta* 2000;294:139–155.
22. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604–12.
23. Hovind P, Rossing P, Johnson RJ, Parving HH. Serum uric acid as a new player in the development of diabetic nephropathy. *J Ren Nutr* 2011;21:124-7.

24. Zoppini G, Targher G, Chonchol M, Ortalda V, Abaterusso C, Pichiri I, et al. Serum uric acid levels and incident chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes and preserved kidney function. *Diabetes Care* 2012;35:99-04.
25. Preitner F, Pimentel A, Metref S, Berthonneche C, Sarre A, Moret C, et al. No development of hypertension in the hyperuricemic liver-Glut9 knock-out mouse. *Kidney Int* 2015; 87:940-7.
26. Kang DH, Nakawaga T, Feng L, Watanabe S, Han L, Mazzali M, et al. A role for uric acid in the progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2888-97.
27. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Avila-Casado C, Soto V, Franco M, Santamaría J, et al. Mild hyperuricemia induces glomerular hypertension in normal rats. *Am J Physiol Ren Physiol* 2002;283:F1105-10.
28. Tomczak J, Wasilewska A, Milewski R. Urine NGAL and KIM-1 in children and adolescents with hyperuricemia. *Pediatr Nephrol* 2013;28:1863-69.
29. Nielsen SE, Reinhard H, Zdunek D, Hess G, Gutiérrez OM, Wolf M, et al. Tubular markers are associated with decline in kidney function in proteinuric type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2012;97:71-6.
30. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, et al. Urinary N-acetyl-beta-(D) glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007;18: 904-12.
31. Williams MD, Nadler JL. Inflammatory mechanisms of diabetic complications. *Curr Diab Rep* 2007;7: 242–48.

32. Navarro JF, Mora C. Role of inflammation in diabetic complications. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:2601–04.
33. Duran-Salgado MB, Rubio-Guerra AF. Diabetic nephropathy and inflammation. *World J Diabetes* 2014;5:393–98.
34. Zhou Y, Fang L, Jiang L, Wen P, Cao H, He W, et al. Uric Acid Induces Renal Inflammation via Activating Tubular NF- κ B Signaling Pathway. *PLoS One* 2012;7:e39738
35. Xiao J, Fu C, Zhang X, Zhu D, Chen W, Lu Y, Ye Z. Soluble monosodium urate, but not its crystal, induces toll like receptor 4-dependent immune activation in renal mesangial cells. *Mol Immunol* 2015;66:310-18.
36. Leyva F, Anker SD, Godsland IF, Teixeira M, Hellewel PG, Kox WJ, et al. Uric acid in chronic heart failure : a marker of chronic inflammation. *Eur Heart J* 1998;19:1814-22.
37. Olexa P, Olexova M, Gonsorcik J, Tkae I, Kisel'ova J, Olejníková M. Uric acid – a marker for systemic inflammatory response in patients with congestive heart failure? *Wien Klin Wochenschr* 200;114:211-15.
38. Sugimoto H, Shikata K, Wada J, Horiuchi S, Makino H. Advanced glycation end products-cytokine-nitric oxide sequence pathway in the development of diabetic nephropathy: aminoguanidine ameliorates the overexpression of tumor necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase in diabetic rat glomeruli. *Diabetologia* 1999;42:878-86.

39. Nakamura T, Fukui M, Ebihara I, Osada S, Nagaoka I, Tomino Y, Koide H. mRNA expression of growth factors in glomeruli from diabetic rats. *Diabetes* 1993;42:450-56.
40. Jones S, Jones S, Phillips AO. Regulation of renal proximal tubular epithelial cell hyaluronan generation: implications for diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2001;59:1739-49.
41. Ranganathan P, Jayakumar C, Ramesh G. Proximal tubule-specific over-expression of netrin-1 suppresses acute kidney injury-induced interstitial fibrosis and glomerulosclerosis through suppression of IL-6/STAT3 signaling. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;304:F1054-65.
42. Navarro-González JF, Mora-Fernández C, Murosde Fuentes M, García-Pérez J. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2011;7:327–40.
43. Navarro JF, Mora C, Muros M, García J. Urinary tumor necrosis factor- α excretion independently correlates with clinical markers of glomerular and tubulointerstitial injury in type 2 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:3428–34.
44. Wu CC, Chen JS, Lu KC, Chen CC, Lin SH, Chu P, et al. Aberrant cytokines/chemokines production correlate with proteinuria in patients with overt diabetic nephropathy. *Clin Chim Acta* 2010;411:700–704.

Table 1: Baseline clinical characteristics of study participants.

	Serum uric acid < 6.0 mg/dl	Serum uric acid ≥ 6.0 mg/dl	P value
Age (y)	60.0 (50.0-68.0)	59.0 (46.0-68.0)	0.644
Male (%)	23.3	54.3	0.001
BMI (kg/m ²)	30.2 (26.8-36.0)	34.70(28.6-40.7)	0.038
Hypertension (%)	69.7	88.6	0.029
Smokers (%)	5.9	16.1	0.082
Diabetes duration (years)	12.0 (8.0-18.0)	10.0 (5.0-21.2)	0.705
Hypoglycemic agents	95.6	91.4	0.359
Antihypertensive agents (%)	67.0	88.5	0.015
ACE inhibitors (%)	31.1	61.8	0.002
Statins use (%)	74.7	62.9	0.195
Alopurinol use (%)	5.7	6.2	1.000
Insulin use (%)	35.2	20.0	0.132
Serum Uric Acid	4.5 ± 0.8	7.0 ± 0.8	<0.0001
Fasting glucose (mmol/l)	7.0 (6.0-9.0)	7.0 (6.0-8.0)	0.855
HbA _{1c} (%)	6.9 (6.0-8.5)	6.4 (5.9-8.6)	0.878
Total cholesterol (mmol/l)	4.6 (4.2-4.9)	4.1 (3.5-5.2)	0.036
LDL cholesterol (mmol/l)	2.6 ± 0.6	2.4 ± 0.8	0.202
HDL cholesterol (mmol/l)	1.2 (1.0-1.5)	1.0 (0.9-1.3)	0.011
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	83.9 ± 21.3	73.5 ± 27.7	0.064
ACR (mg/g creatinine)	7.6 (5.2-14.3)	8.0 (5.8-35.3)	0.416

Data are expressed as percentages, mean ± SD or median and interquartile range. BMI, body mass index; ACE inhibitors, angiotensin-converting-enzyme inhibitor; HbA_{1c}, glycated hemoglobin; eGFR, estimated glomerular filtration; ACR, urinary albumin/creatinine ratio.

Table 2. Multiple regression analysis of KIM-1 in urine as a dependent variable adjusting for gender, BMI, hypertension, ACE inhibitors and antihypertensive agents .

	B	SEb	T	P value
Male (%)	-6.060	10.806	-0.560	0.576
BMI (kg/m ²)	1.110	0.608	1.826	0.071
Hypertension (%)	-5.109	49.715	-0.102	0.918
ACE inhibitors (%)	8.552	11.898	0.718	0.474
Antihypertensive agents (%)	23.386	47.719	0.490	0.625

Regression coefficients (B), standard error of B (SEb), and T statistic with corresponding P value. BMI, body mass index; ACE inhibitors, angiotensin-converting-enzyme inhibitor.

Figure Captions

Figure 1. Box and Whisker plot showing the relation between serum uric acid levels and urinary KIM-1 levels ($P^*=0.0309$). The box contained 50% of all values (from 25th to 75th percentile) and was divided by the horizontal bar of the median value (50th percentile).

Figure 2. Box and Whisker plot showing the relation between serum uric acid levels and urinary cytokines levels (A) IL-1, (B) IL-6 and (C) TNF-alpha in type 2 DM ($*P=0.013$, $P^*=0.012$ and $P^*=0.034$, respectively). The box contained 50% of all values (from 25th to 75th percentile) and was divided by the horizontal bar of the median value (50th percentile).

Figure 3. Correlation between urinary KIM-1 and urinary cytokines (A) IL-1 ($r_s=0.619$, $P<0.0001$), (B) IL-6 IL-6 ($r_s=0.542$, $P<0.0001$) and (C) TNF-alpha ($r_s=0.557$, $P<0.0001$) in patients with type 2 DM.

Figure 1

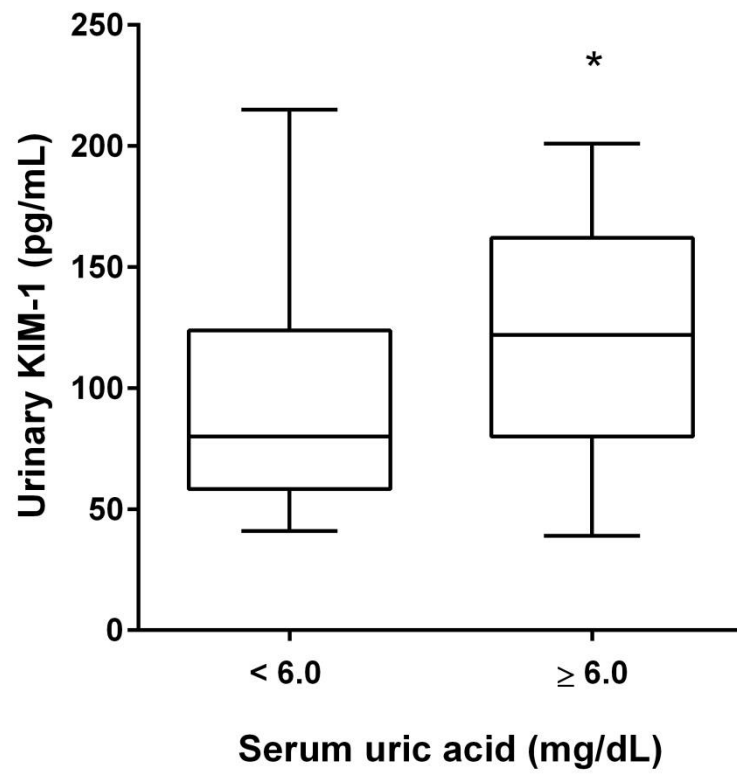


Figure 2

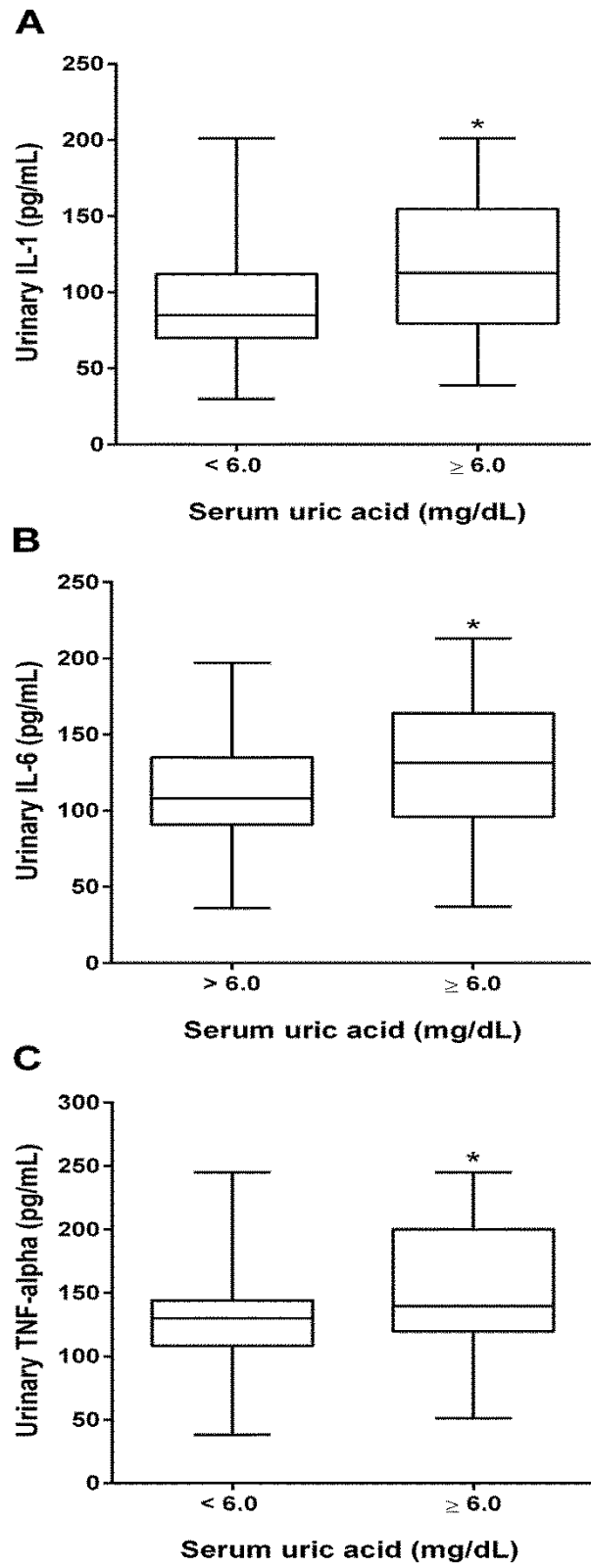
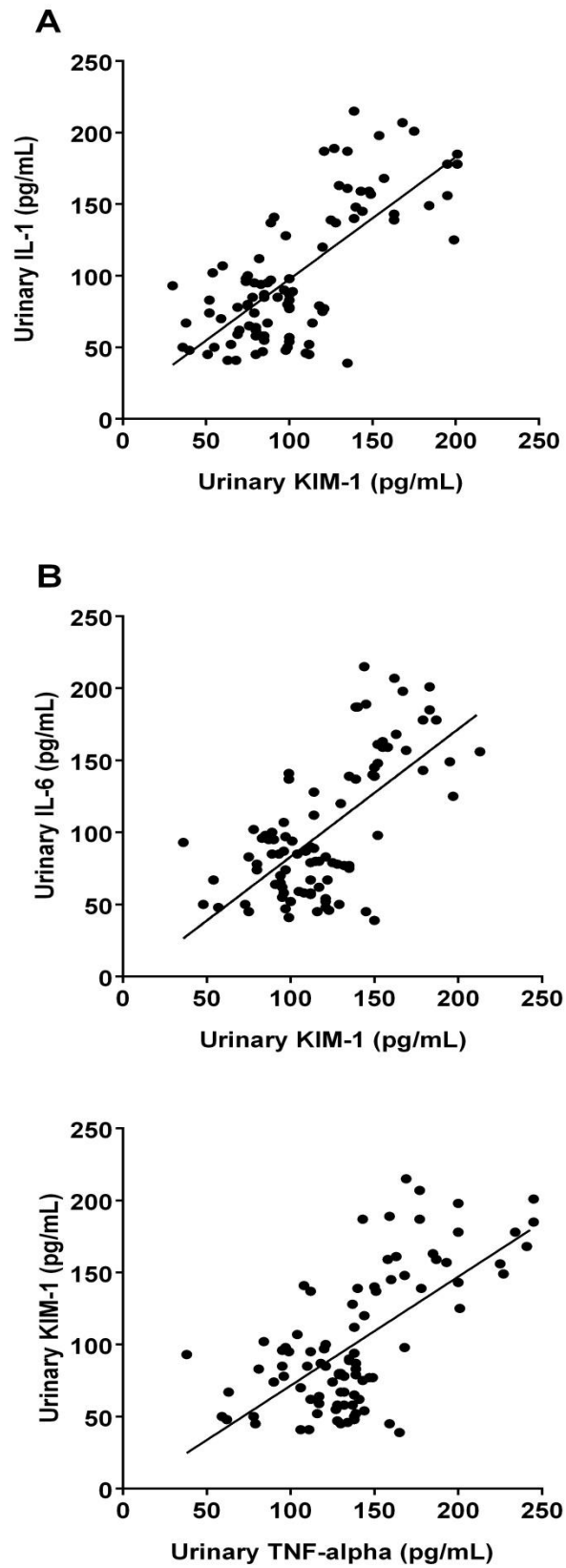


Figure 3



5 CONCLUSÕES

- Pacientes com DM tipo 2 que possuíam concentrações séricas de ácido úrico $\geq 6,0$ mg/dL apresentaram concentrações urinárias mais elevadas do marcador de dano tubular KIM-1;
- Os níveis urinários das citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF-alfa demonstraram ser elevados nos pacientes com DM tipo 2 que possuíam concentrações de ácido úrico sérico $\geq 6,0$ mg/dL;
- As concentrações de KIM-1 em amostras de urina foram positivamente correlacionadas com os níveis urinários das citocinas IL-1, IL-6 e TNF-alfa nos pacientes com DM tipo 2 avaliados no estudo;
- Em suma, os pacientes com DM tipo 2 e elevados níveis séricos de ácido úrico apresentaram maior grau de dano tubular e inflamação renal. Além disso, a inflamação demonstrou estar correlacionada ao processo de dano tubular que ocorre nestes pacientes. Dessa forma, em pacientes com DM tipo 2, o aumento dos níveis de ácido úrico parece contribuir para o dano renal através da inflamação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA, American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus- 2014. **Diabetes Care**, v. 37, p. S81-S90, 2014.

ADA, American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes - 2014. **Diabetes Care**, v. 39, p. S1-S112, 2016.

ADLER, S. Diabetic nephropathy: Linking histology, cell biology, and genetics. **Kidney International**, v. 6, p. 2095-2106, 2004.

ALEXANDRAKI, K. et al. The inflammatory process in type 2 diabetes. The role of cytokines. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1084, p.89-117, 2006.

AMES, B.N. et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical caused aging and câncer: a hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, p.6858-6862, 1981.

ANZAI, N. et al. Recent advances in renal urate transport: characterization of candidate transporters indicated by genome-wide association studies. **Clinical and Experimental Nephrology**, v.16, p.89-95, 2012.

ATKINS, R. C. The epidemiology of chronic kidney disease. **Kidney International**. v. 2, p.S14–8, 2005.

BAGSHAW, S.M.; BELLOMO, R. Early diagnosis of acute kidney injury. **Current Opinion in Critical Care**, v.13, p, 638-644, 2007.

BAKRIS, G.L. Slowing nephropathy progression: Focus on proteinuria reduction. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, p. S3-S10, 2008.

BANGSTAD, H. et al. Renal tubulointerstitial expansion is associated with endothelial dysfunction and inflammation in type 1 diabetes. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v.69, p.138–144, 2009.

BARR, W.G. Uric Acid. In: Walker HH, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical methods: the history, physical, and laboratory examinations. Boston: Butterworths; p. 770–772, 1990.

BARRAT, J.; TOPAHAM, P. Urine proteomics: the present and future of measuring urinary protein components in disease. **Canadian Medical Association Journal**, v.177, p.361-368, 2007.

BARTÁKOVÁ, V. et al. Hyperuricemia contributes to the faster progression of diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v.30, p.1300-1307, 2016.

BECKER, B.F. Towards the physiological function of uric acid. **Free Radical Biology & Medicine**, v.14, p.615-631, 1993.

- BELLOMO, G. et al. Association of uric acid with change in kidney function in healthy normotensive individuals. **American Journal of Kidney Diseases**, v.56, p.264-272, 2010.
- BJORNSTAD, P. et al. Serum uric acid predicts vascular complications in adults with type 1 diabetes: the coronary artery calcification in type 1 diabetes study. **Acta Diabetologica**, v. 51, p.783-791, 2014.
- BLAUCH, M.B.; KOCH, F.C. A new method for the determination of uric acid in blood, with uricase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 130, p.443, 1939.
- BOBULESCU, I.A., MOE, O.W. Renal transport of uric acid: evolving concepts and uncertainties. **Advance in Chronic Kidney Disease**, v.19, p.328-371, 2012.
- BOJESTIG, M. et al. Declining incidence of nephropathy in insulin dependent diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**, v.330, p.15-18, 1994.
- BONVENTRE, J.V. Can we target tubular damage to prevent renal function decline in diabetes? **Seminars in nephrology**, v.32, p.452-462, 2012.
- BRENNER, B.M. The Kidney. **Philadelphia, PA: Elsevier, 2008.**
- BURACK, R.C.; KELLER, J.B.; HIGGINS, M.W. Cardiovascular risk factors and obesity: are baseline levels of blood pressure, glucose, cholesterol and uric acid elevated prior to weight gain? **Journal of chronic diseases**, v.38, p.865-872, 1985.
- BURTIS, C.A. et al. **Fundamentos de Química Clínica (Tietz)**. 6 ed. Rio de Janeiro. Elsevier, 2008
- BURTIS, C.A.; BRUNS, D.E. **Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular (Tietz)**. 7 ed. Elsevier, 2015.
- CHANG, H.Y. et al. Hyperuricemia as an independent risk factor of chronic kidney disease in middle-aged and elderly population . **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 339, p. 509-515, 2010.
- CHANG, H.Y. et al. Hyperuricemia is an independent risk factor for new onset micro-albuminuria in a middle-aged and elderly population: a prospective cohort study in Taiwan. **PLoS One**, v.8, p.:e61450, 2013.
- CHANG, H.Y. et al. Hyperuricemia is an independent risk factor for new onset micro-albuminuria in a middle-aged and elderly population: a prospective cohort study in Taiwan. **PLoS One**, v. 8, p. e61450, 2013.
- CHAUDHARY, K. et al. Uric acid — key ingredient in the recipe for cardiorenal metabolic syndrome. **Cardiorenal Medicine**, v.3, p. 208–220, 2013.
- CHIEN, K.L. et al. Plasma uric acid and the risk of type 2 diabetes in a Chinese community. **Clinical Chemistry**, v.54, p.310-316, 2008.

CIRILLO, P. et al. Ketohexokinase-dependent metabolism of fructose induces proinflammatory mediators in proximal tubular cells. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.20, p.545-553, 2009.

COLEMAN, D.L.; RUEF, C. Interleukin 6: an autocrine regulator of mesangial cell growth. **Kidney International**, v.41, p.604-606, 1992.

CRAIG, M.E.; HATTERSLEY, A.; DONAGHUE, K.C. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. **Pediatric Diabetes**, v. 10, p. 3-12, 2009.

CULLETON, B.F. et al. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. **Annals of internal medicine**, v.131, p.7-13, 1999.

DAVIS, N. The cardio-vascular and renal relations and manifestations of gout. **JAMA**, v. 29, p. 261-262, 1897.

DE CARVALHO, J.A. et al. Urinary kidney injury molécula-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as indicators of tubular damage in normoalbuminuric patients with type 2 diabetes. **Clinical Biochemistry**, v. 49, p.232-236, 2016.

DOMRONGKITCHAIPORN, S. et al. Risk factors for development of decreased kidney function in a Southeast Asian population: a 12-year cohort study. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 16, p.791-799, 2005.

DORUP, J.; MORSING, P.; RASCH, R. Tubule-tubule and tubule-arteriole contacts in rat kidney distal nephrons. **Laboratory Investigation**, v.67, v. 761-769, 1992.

ENOMOTO, A. et al. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. **Nature**, v.417, p.447-452, 2002.

EVANS, J.L. et al. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction? **Diabetes** v.52, p.1-8, 2003.

FICOCIELLO, L.H. et al. High-normal serum uric acid increases risk of early progressive renal function loss in type 1 diabetes: results of a 6-year follow-up. **Diabetes Care**, v. 33, p. 1337-1343, 2010.

FLANDROIS, C. et al. Enzymuria. **Annales de Biologie Clinique**, v. 44, p. 486-490, 1986.

FLYNN, F.V. Assessment of renal function: selected developments. **Clinical Biochemistry**, v.23, p.49-54, 1990.

FOLIN, O.; MACALLUM, A.B. A new method for the (colorimetric) determination of uric acid in urine. **Journal of Biological Chemistry** , v.13, p.363,1912.

FONSECA, V. The role basal insulin therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. **Insulin**, v.1, p. 51-60, 2006.

FORBES, J.M. et al. Role of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.14, p.254-258, 2013.

FREEDMAN, D.S. et al. Relation of serum uric acid to mortality and ischaemic heart disease. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. **American journal of epidemiology**, v.141, p.637-644, 1995.

FUKUI, M. et al. Serum uric acid is associated with microalbuminuria and subclinical atherosclerosis in men with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, v. 57, p.625-629, 2008.

GAGLIARDI, A.C.; MINAME, M.H.; SANTOS, R.D. Uric acid: A marker of increased cardiovascular risk. **Atherosclerosis**, v.202, p.11-17, 2009.

GALICHON, P.; HERTIG, A. Epithelial to mesenchymal transition as a biomarker in renal fibrosis: are we ready for the bedside? **Fibrogenesis Tissue Repair**, v. 4, p.11, 2011.

GALL, M.A. et al. Prevalence of micro- and macroalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and large vessel disease in European type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. **Diabetologia**, v.34, p.655-661, 1991.

GARCÍA-GARCÍA, P.M. et al. Inflammation in diabetic kidney disease. **World Journal of Diabetes**, v.5, p.431-443, 2014.

GIBB, D.M. et al. Renal tubular proteinuria and microalbuminuria in diabetic patients. **Archives of disease in childhood**, v.64, p.129-134, 1989.

GNUDI, L.; GOLDSMITH, D. Renin angiotensin aldosterone system (RAAS) inhibitors in the prevention of early renal disease in diabetes. **Medicine Reports**, v.6, p.319-330, 2010.

GNUDI, L.; THOMAS S.M.; VIBERTI, G. Mechanical forces in diabetic kidney disease: a trigger for impaired glucose metabolism. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.18, p.2226-2232, 2007.

GRGIC, I.; DUFFIELD, J.S.; HUMPHREYS, B.D. The origin of interstitial myofibroblasts in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, v.27, p.183-193, 2012.

GRIFFITHS, M. The mechanism of the diabetogenic action of uric acid. **Journal of Biological Chemistry**, v.184, p. 289-298, 1950.

GROSS J.L. et al. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. **Diabetes Care**, v.28, p.176-188, 2005.

GROSS, J.L. et al. Nefropatia Diabética e Doença Cardíaca. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 51, n. 2, p. 244-256, 2007.

GUIJARRO, C.; EGIDO, J. Transcription factor-kappa B (NF-kappa B) and renal disease. **Kidney International**, v.59, p.415-424, 2001.

HAHN, K. et al. Serum uric acid and acute kidney injury: A mini review. **Journal of Advanced Research**, v.8, p.529-536, 2017.

HAN, W.K. et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney International**, v.62, p.237-244, 2002.

HARJUSTALO, V.; GROOP, P.H. Epidemiology and risk factors for diabetic kidney disease. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v.21, p.260-266, 2014.

HASEGAWA, G. et al. Possible role of tumor necrosis factor and interleukin-1 in the development of diabetic nephropathy. **Kidney International**, v.40, p.1007 – 1012, 1991.

HASEGAWA, G.; NAKANO, K.; KONDO, M. Role of TNF and IL-1 in the development of diabetic nephropathy. **Nefrologia**, v. 15, p.1 –4, 1995.

HAYASHINO, Y. et al. Association of serum uric acid levels with the risk of development or progression of albuminuria among Japanese patients with type 2 diabetes: a prospective cohort study [Diabetes Distress and Care Registry at Tenri (DDCRT 10)]. **Acta Diabetologica**, v.53, p.599-597, 2016.

HEDIGER, M.A. et al. Molecular physiology of urate transport. **Physiology (Bethesda)**, v.20, p.125-133, 2005.

HERGET-ROSENTHAL, S. et al. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. **Clinical Chemistry**, v. 50, p.552-558, 2004.

HIGGINS, D.F. et al. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, p.3810-3820, 2007.

HONG, C.Y.; CHIA, K.S. Markers of diabetic nephropathy. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v.12, p.43-60, 1998.

HOVIND, P. et al. Serum uric acid as a new player in the development of diabetic nephropathy. **Journal of Renal Nutrition**, v.21, p.124–7, 2011.

HOVIND, P. et al. Serum uric acid as a predictor for development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: an inception cohort study. **Diabetes**, v. 25, p.1668-1671, 2009.

HUANG, W. et al. Genetically increased angiotensin I-converting enzyme level and renal complications in the diabetic mouse. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.23, p.13330-13334, 2001.

ICHIMURA, T. et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. **Journal of Biological Chemistry**, v.273, p.4135–4142, 1998.

INGEBRETSEN, O.C.; BORGES, J.; FARSTAD, M. Uric acid determinations: reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet detection compared with kinetic and equilibrium adaptations of the uricase method. **Clinical Chemistry**, v. 28, p.496, 1982.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas**, 7th Edition revision 2015. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acesso: 25 de julho de 2016.

ISEKI, K. et al. Significance of hyperuricemia as a risk factor for developing ESRD in a screened cohort. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 44, p. 642-650, 2004.

JALAL, D.I. et al. Serum uric acid levels predict the development of albuminuria over 6 years in patients with type 1 diabetes: findings from the Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetes study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 25, p. 1865-1869, 2010.

JIN, M. et al., Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. **Frontiers in Bioscience**, v.17, p.656-669, 2012.

JOHNSON, R.J.; RODRIGUEZ-ITURBE, B.; KANG, D.H. et al. A unifying pathway for essential hypertension. **American journal of hypertension**, v. 18, p.431-440, 2005.

KAHN CR: Banting Lecture: Insulin action, diabetogenesis, and the cause of type II diabetes. **Diabetes**, v.43, p.1066, 1994.

KANG, D.H. et al. A role for uric acid in the progression of renal disease. **Journal of the American Society Nephrology**, v.13, p.2888–2897, 2002.

KANG, D.H.; CHEN, W. Uric acid and chronic kidney disease: new understanding of an old problem. **Seminars in Nephrology**, v.31, p.447–552, 2011.

KIM, S.M. et al. Reducing serum uric acid attenuates TGF- β 1-induced profibrogenic progression in type 2 diabetic nephropathy. **Nephron Experimental Nephrology**, v. 121, p.e109-e121, 2012.

KIM, S.S. et al. Clinical implication of urinary tubular markers in the early stage of nephropathy with type 2 diabetic patients. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v.97, p.251–257, 2012.

KODAMA, S. et al. Association between serum uric acid and development of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.32, p.1737-1742, 2009.

- KOHAGURA, K. et al. Na association between uric acid levels and renal arteriopathy in chronic kidney disease: a biopsy-based study. **Hypertension Research**, v. 36, p.43-49, 2013.
- KOSUGI, T. et al. Effect of lowering uric acid on renal disease in the type 2 diabetic db/db mice. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 297, p.F481-F488, 2009.
- KUSHIYAMA, A. et al. Uric acid metabolism and diabetic complications. **World Journal of Diabetes**, v.5, p.787-795, 2014.
- LEWIS, E.J.; XU, X. Abnormal glomerular permeability characteristics in diabetic nephropathy: implications for the therapeutic use of low-molecular weight heparin. **Diabetes Care**, v.31, p. S202-7, 2008.
- LI, J. M. et al. Adenosine enhances nitric oxide production by vascular endothelial-cells. **American Journal of Physiology**, v. 269, p. 190-23, 1995.
- LIM, A.K.H. Diabetic nephropathy-complications and treatment. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v.7, p.361-381, 2014.
- LISOWSKA-MYJAK, B. Serum and Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury. **Blood Purify**, v. 29, p. 357-365, 2010.
- LIU, Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.15, p.1-12, 2004.
- LIU, Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.21, p.212-222, 2010.
- LV, Q. et al. High serum uric acid and increased risk of type 2 diabetes: a systemic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **PLoS One**, v. 8, p. e56864, 2013
- LYTVYN, Y.; PERKINS, B.A.; CHERNEY, D.Z. Uric acid as a biomarker and a therapeutic target in diabetes. **Canadian Journal of Diabetes**, v.39, p.239-246, 2015.
- MARTINON, F. et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. **Nature**, v.440, p.237-241, 2006
- MATHESON, A. et al. Urinary Biomarkers in Type 2 Diabetes. **Diabetes Metabolism Research Reviews**, v.26, n.3, p.150-171, 2010.
- MAZZALI, M. et al. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. **Hypertension**, v.38, p. 1101–1106, 2001.
- MAZZALI, M. et al. Hyperuricemia induces a primary renal arteriopathy in rats by a blood pressure-independent mechanism. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v.282, p.F991-F997, 2002.

- McCARTHY, E.T.; SHARMA, M.; LI, J.Z. et al. TNF-alpha increases albumin permeability of isolated rat glomeruli through the generation of superoxide. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.9, p.433-438, 1998.
- MENDE, C. Management of Chronic Kidney Disease: the relationship between serum uric acid and development of Nephropathy. **Advances in Therapy**, v.32, p.1177-1191, 2015.
- MORA, C.; NAVARRO, J.F. Inflammation and diabetic nephropathy. **Current Diabetes Reports**, v.6, p.463-468, 2006.
- MORA-FERNÁNDEZ, C. et al. Diabetic kidney disease: from physiology to therapeutics. **The Journal of Physiology**, v. 592, p. 3997-4012, 2014.
- MORESCO, R.N. et al., Diabetic nephropathy: traditional to proteomic markers. **Clinica Chimica Acta**, v.421, p.17-30, 2013.
- MOSS, D.W. Methodological principles in the enzymatic determination of substrates illustrated by the measurement of uric acid. **Clinica Chimica Acta**, v.105, p.351, 1980.
- NAKAGAWA T. et al. Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v.1, p.80-86, 2005.
- NAKAGAWA, T. et al. Hyperuricemia causes glomerular hypertrophy in the rat. **American Journal of Nephrology**, v. 23, p.2-7, 2003.
- NAKAMURA, T. et al. mRNA expression of growth factors in glomeruli from diabetic rats. **Diabetes**, v.42, p.450-456, 1993.
- NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney International Supplements**, v. 3, p. 1-150, 2013.
- NAUTA, F.L. et al. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes. **Diabetes Care**, v.34, p. 975–981, 2011.
- NAVARRO, J.F., MORA, C. Role of inflammation in diabetic complications. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.20, p.2601-2604, 2005.
- NAVARRO-GONZÁLEZ, J.F.; MORA-FERNÁNDEZ, C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.19, p.433-442, 2008.
- O'BRYAN, G.T.; HOSTETTER, T.H. The renal hemodynamic basis of diabetic nephropathy. **Seminars in Nephrology**, v.17, p.93–100, 1997.
- OBERMAY, R.P. et al. Elevated uric acid increases the risk for kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.19, p.2407–2423, 2008.

ODA, M. et al. Loss of urate oxidase activity in hominoids and its evolutionary implications. **Molecular Biology and Evolution - Oxford Journals** , v. 19, p. 640-653, 2002.

PEDEN, D.B. et al. Uric acid is a major antioxidant in human nasal airway secretions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.87, p.7638-7642, 1990.

PERLSTEIN, T.S. et al. Uric acid and the state of the intra-renal renin-angiotensin system in humans. **Kidney International**, v. 66, p. 1465-1470, 2004.

PFEILSCHIFTER, J.; MUHL, H. Interleukin-1 and tumor necrosis factor potentiate angiotensin II and calcium ionophore-stimulated prostaglandin E2 synthesis in rat renal mesangial cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v.169, p.585-595, 1990.

PICCIRILLO, L.J. et al. Markers of inflammation in type 1 diabetic patients. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo*, v. 48, p. 253-260, 2004.

PREITNER, F. et al. Glut9 is a major regulator of urate homeostasis and its genetic inactivation induces hyperuricosuria and urate nephropathy. **Proceeding so the National Academy of Sciences**, v. 106, p.15501-15506, 2009.

PREITNER, F. et al. No development of hypertension in the hyperuricemic liver-Glut9 knockout mouse. **Kidney International**, v.87, p. 940-947, 2015.

RICHETTE, P.; BARDIN, T. Gout. **The Lancet**, v.375, p.318-328, 2010..

RODDY, E.; DOHERTY, M. Epidemiology of gout. **Arthritis research & therapy**, v.12, p.223, 2010.

ROSA, M. P.; BARONI, G. V.; PORTAL, V. L. Potencial terapêutico para a prevenção e tratamento da nefropatia e neuropatia diabéticas: evidências do uso do cilostazol. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.51,p.1528-1532, 2007.

RYU, E.S. et al. Uric acid-induced phenotypic transition of renal tubular cells as a novel mechanism of chronic kidney disease. **American Journal of Physiology Renal Physiology**, v.304, p;F471-480, 2013.

SAITO, M.; ISHIMITSU, T.; MINAMI, J. et al. Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protei to traditional cardiovascular risk factor. **Atherosclerosis**, v.167, p.73-79, 2003. **Journal of chronic diseases**, v.38, p.865-872, 1985.

SANCHEZ-LOZADA, L.G. et al. Mild hyperuricemia induces glomerular hypertension in normal rats. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v.283, p. F1105-F1110, 2002.

SANCHEZ-LOZADA, L.G. et al. Mild hyperuricemia induces vasoconstriction and maintains glomerular hypertension in normal and remnant kidney rats. **Kidney International**, v.67, p.237-47, 2005.

SANDERS, G.T.; PASMANN, A.J.; HOEK, F.J. Determination of uric acid with uricase and peroxidase. **Clinica Chimica Acta**, v.101, p.299, 1980.

SAUTIN, Y.Y.; JOHNSON, R.J. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. **Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids**, v.27, p.608-619, 2008.

SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**. São Paulo, 2015.

SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Atualização sobre hemoglobina glicada (A1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. **Posicionamento Oficial SBD, SBPC-ML, SBEM e FENAD 2017/2018**, 2017.

SEGERER, S.; NELSON, P.J.; SCHLONDORFF, D. Chemokines, chemokine receptors, and renal disease: from basic science to pathophysiologic and therapeutic studies. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.11, p.152-176, 2000.

SHI, Y.; EVANS, J.E.; ROCK, K.L. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. **Nature**, v.425, p.516-521, 2003.

SO, A.; THORENS, B. Uric acid transport and disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 6, p. 1791-1799, 2010.

STRAZZULLO, P.; PUIG, J. G. Uric acid and oxidative stress: relative impact on cardiovascular risk. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v.17, p. 409-414, 2007.

SOLTANI, Z. et al. Potential role of uric acid in metabolic syndrome, hypertension, kidney injury, and cardiovascular diseases: is it time for reappraisal? **Current Hypertension Reports**, v.15, p.175-181, 2013.

STURM, G. et al. Uric acid as a risk factor for progression of non-diabetic chronic kidney disease? The Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. **Experimental Gerontology**, v. 43, p. 347-352, 2008.

SUGIMOTO, H. et al. Advanced glycation end products-cytokine-nitric oxide sequence pathway in the development of diabetic nephropathy: aminoguanidine ameliorates the overexpression of tumour necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase in diabetic rat glomeruli. **Diabetologia**, v.42, p.878-886, 1999.

TANAKA, K. et al. Role of elevated serum uric acid levels at the onset of overt nephropathy in the risk for renal function decline in patients with type 2 diabetes. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 6, p. 98-104, 2015.

TANG, S.C.; Leung, J.C.; LAI, K.N. Diabetic tubulopathy: an emerging entity. **Contributions to nephrology**, v.170, p.124-134, 2011.

TOMCZACK, J.; WASILEWSKA, A.; MILEWSKI, R. Urine NGAL and KIM-1 in children and adolescents with hyperuricemia. **Pediatric Nephrology**, v.28, p.1863-1869, 2013.

TOTH-MANIKOWSKI, S., ATTA, M.G. Diabetic Kidney Disease: Pathophysiology and Therapeutic Targets. **Journal of Diabetes Research** , 2015.

VAIDYA, V.S .et al. Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. **Clinical and Translational Science**, v. 1, p.200–208, 2008.

VAIDYA, V.S. et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. **Nature Biotechnology**, v.28, p.478–485, 2010.

VAIDYA, V.S. et al., “Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase. **Kidney International**, v.79, p.464–470, 2011.

VAIDYA, V.S.; FERGUSON, M.A.; BONVENTRE, J.V. Biomarkers of acute kidney injury. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 48, p.463–493, 2008.

van TIMMEREN, M.M.; VAN DEN HEUVEL, M.C.; BAILLY, V. et al. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. **The Journal of Pathology**, v. 212, p.209–217, 2007.

VERZOLA, D. et al. Uric acid promotes apoptosis in human proximal tubule cells by oxidative stress and the activation of NADPH oxidase NOX 4. **PLoS One**, v. 9, p. e115210, 2014.

VIEIRA-SANTOS, I. C. R.etal. Complicações crônicas dos diabéticos tipo 2atendidos nas Unidades de Saúde da Família, Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Maternal Infantil**, v.8, p.427-433, 2008.

VILCEK, J. The cytokines: An overview. In: **The Cytokine Handbook, 4th Ed.**, Thomson AW, LOTZE, M.T. Academic press, Londres, 2003.

WANG, C. et al. Quercetin and allopurinol ameliorate kidney injury in STZ-treated rats with regulation of renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation. **PLoS One**, v. 7, p. e38285, 2012.

WU, X.W.; MUZNY, D.M.; LEE, C.C. Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution. **Journal of Molecular Evolution**, v. 34, p.78-84, 1992.

YAN, D. et al. Uric acid is independently associated with diabetic kidney disease: a cross-sectional study in a Chinese population. **PLoS One**, v.10, p.e0129797, 2015.

YIN, C.; WANG, N. Kidney injury molecule-1 in kidney disease. **Renal Failure**, v.38, p.1567-1573, 2016.

YOO, T.W. et al. Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. **Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society**, v.69, p.928-933, 2005.

ZEISBERG, M.; DUFFIELD, J.S. Resolved: EMT produces fibroblasts in the kidney. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.21, p.12472-1253, 2010.

ZIYADEH, FN. Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-Beta as the major mediator. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.15, p.S55–7, 2004.

ZHOU, Y. et al. Uric Acid Induces Renal Inflammation via Activating Tubular NF-κB Signaling Pathway. **PLoS One**, v.7, p.e39738, 2012.