



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**BIOMARCADORES RENais E ENDOTELIAIS NA DOENÇA DE HAFF**

**FORTALEZA**

**2025**

PAULA BRUNA SOUSA SANTOS

**BIOMARCADORES RENAIOS E ENDOTELIAIS NA DOENÇA DE HAFF**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Farmacologia da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial à obtenção do  
título de Mestra em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Alice Maria Costa  
Martins Nunes

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S237b Santos, Paula Bruna Sousa.

Biomarcadores renais e endoteliais na doença de Haff / Paula Bruna Sousa Santos. – 2025.  
70 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Alice Maria Costa Martins Nunes.

1. Doença de Haff. 2. Injúria Renal Aguda. 3. Rabdomiólise. 4. Biomarcadores. I. Título.

CDD 615.1

---

PAULA BRUNA SOUSA SANTOS

**BIOMARCADORES RENAIOS E ENDOTELIAIS NA DOENÇA DE HAFF**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Farmacologia.

Aprovada em 04/12/2025

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins Nunes

Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Karla Cristina Silva Petruccelli Israel

Universidade Federal do Amazonas

---

Profa. Dra. Elizabeth de Francesco Daher

Universidade Federal do Ceará

Aos meus filhos Samuel e Olívia: tudo que eu faço é tentando ser melhor para vocês, meus amores!

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me sustentar e amar todos os dias da minha vida;

Ao meu marido Ramirez, por ser meu melhor amigo e apoio e aos meus filhos Samuel e Olívia, por serem minha motivação para tentar ser uma pessoa melhor todos os dias;

Aos meus pais, Vicente e Lúcia, pelo amor, cuidado e educação. Por serem essenciais durante tantas conquistas e em mais essa e à minha irmã, Renata, pelo apoio e torcida;

À minha orientadora Profa. Dra. Alice Martins, que gentilmente me recebeu como aluna, me apoiando e me orientando em todos os momentos;

Ao Prof. Dr. Tiago Sampaio, que me orientou desde a seleção do PPG Farmacologia até esse momento e que acreditou em mim; ao Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante, que me orientou e auxiliou na execução desse trabalho; ao Prof. Dr. Geraldo Bezerra, que me orientou e me transmitiu calma em momentos críticos; à Profa. Dra. Karla Petruccelli e ao Dr. Michael Correia por todo apoio e logística com as amostras estudadas;

A todos os colegas do Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica, em especial ao Igor Almeida, que esteve sempre esteve disponível pacientemente durante todas as vezes que eu precisei de ajuda;

Aos colegas da Farmácia Escola; à Profa. Dra. Cristiani Gonçalves, que foi flexível quanto à minha disponibilidade no ambiente de trabalho; e, em especial, ao Daniel, Pauliane, Pedro e Thaís, que me apoiaram e me substituíram durante os momentos que precisei me ausentar;

Às minhas amigas Débora Diogo, Giovanna Riello e Talita Cavalcante, por serem amigas presentes, sempre se preocupando e apoiando o andamento do meu projeto;

Ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, pela oportunidade e tantos ensinamentos;

Aos pacientes, que se dispuseram a participar dessa pesquisa.

Bendiga O Senhor a minha alma!

Não esqueça nenhuma de suas bênçãos!

Salmos 103:2

## RESUMO

A doença de Haff (DH) é uma síndrome rara caracterizada pelo aparecimento súbito de rabdomiólise, manifestando-se principalmente por mialgia, escurecimento da urina e aumento dos níveis séricos de creatinoquinase (CK) e mioglobina. Existem hipóteses de que a DH seja ocasionada por toxinas termoestáveis, entretanto o seu mecanismo fisiopatológico exato ainda não foi elucidado. As complicações decorrentes da DH podem evoluir e culminar no desenvolvimento da Injúria Renal Aguda (IRA). Nesse contexto, a avaliação de biomarcadores renais e endoteliais torna-se essencial, pois permite a detecção precoce de alterações, contribuindo para uma abordagem terapêutica mais eficaz e para a prevenção de complicações. No presente estudo retrospectivo, foram avaliados 29 pacientes diagnosticados com DH, no município de Itacoatiara-AM, entre maio/2021 e outubro/2023. Foram coletadas amostras de sangue e urina, na admissão hospitalar, destinadas às análises dos parâmetros laboratoriais convencionais e detecção de biomarcadores não-convencionais. A população estudada apresentou, em média,  $42 \pm 11$  anos de idade, com predominância do sexo masculino (59%) e tempo médio de internação de  $5 \pm 1$  dias. Todos os pacientes mensurados apresentaram alterações em parâmetros laboratoriais, incluindo elevação de CK (100%), da sua isoenzima CK-MB (100%), de lactato desidrogenase (LDH) (100%), de aspartato aminotransferase (AST) (96,6%), de alanina aminotransferase (ALT) (89,7%) e presença de albuminúria (95%). Em relação aos biomarcadores renais não-convencionais, a molécula de injúria renal (KIM-1) e a lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) apresentaram elevação dos níveis em alguns pacientes; enquanto o biomarcador endotelial VCAM-1 (molécula de adesão celular vascular) manteve-se dentro da média, comparando-o a níveis encontrados em grupos de pacientes saudáveis, anteriormente descritos na literatura. Entre os pacientes sem IRA, foram observadas elevações de KIM-1 e de albuminúria, bem como correlações positivas entre KIM-1 e CK, entre AST e a taxa de filtração glomerular (TFG), além de correlação negativa entre VCAM-1 e TFG. No grupo de pacientes com IRA foi identificada correlação positiva entre angiopoietina-2 (ANG-2) e CK; e correlações negativas entre AST e TFG, dentre outros. Utilizando-se a nova classificação de IRA sugerida em outro estudo, é possível verificar que pacientes anteriormente considerados sem IRA, apresentaram quadro de injúria subclínica. Conclui-se que a DH pode cursar com injúria renal subclínica, identificada por elevações de KIM-1 e albuminúria mesmo

em pacientes sem critérios tradicionais de IRA. Além disso, VCAM-1 mostrou associação com prognóstico renal desfavorável, reforçando a participação endotelial. Em pacientes com IRA, observou-se a expressão de biomarcadores endoteliais como ANG-2, bem como a inversão da relação entre AST e TFG ao longo da progressão da doença. Esses achados indicam que os marcadores convencionais são insuficientes para excluir lesão renal precoce, e que biomarcadores não-convencionais podem aprimorar a detecção e o manejo da doença de Haff.

**Palavras-chave:** doença de Haff; injúria renal aguda; rabdomiólise; biomarcadores.

## ABSTRACT

### RENAL AND ENDOTHELIAL BIOMARKERS IN HAFF DISEASE

Haff disease (HD) is a rare syndrome characterized by the abrupt onset of rhabdomyolysis, manifested primarily by myalgia, darkened urine, and elevated serum levels of creatine kinase (CK) and myoglobin. There are hypotheses suggesting that HD is triggered by thermostable toxins; however, its exact pathophysiological mechanism has not yet been elucidated. Complications arising from HD may progress and culminate in the development of Acute Kidney Injury (AKI). In this context, the evaluation of renal and endothelial biomarkers becomes essential, as it enables the early detection of alterations and contributes to more effective therapeutic strategies and prevention of complications. In this retrospective study, 29 patients diagnosed with HD in the municipality of Itacoatiara, Amazonas State, were evaluated between May 2021 and October 2023. Blood and urine samples were collected at hospital admission for analysis of conventional laboratory parameters and detection of non-conventional biomarkers. The study population presented a mean age of  $42 \pm 11$  years, with a predominance of males (59%) and a mean hospitalization period of  $5 \pm 1$  days. All assessed patients exhibited alterations in laboratory parameters, including elevated CK (100%), CK-MB isoenzyme (100%), lactate dehydrogenase (LDH) (100%), aspartate aminotransferase (AST) (96,6%), alanine aminotransferase (ALT) (89,7%), and the presence of albuminuria. Regarding non-conventional renal biomarkers, Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) showed increased levels in some patients, whereas the endothelial biomarker VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) remained within the expected range when compared to levels reported in healthy control groups in previous studies. Among patients without AKI, increases in KIM-1 and albuminuria were observed, in addition to positive correlations between KIM-1 and CK, and between AST and glomerular filtration rate (GFR), as well as a negative correlation between VCAM-1 and GFR. In the group of patients with AKI, a positive correlation between angiopoietin-2 (ANG-2) and CK was identified, along with negative correlations between AST and GFR, among others. Using the newly proposed AKI classification from another study, it was possible to identify that patients previously categorized as non-AKI exhibited a pattern consistent with subclinical kidney injury. These findings indicate that HD may present with subclinical kidney injury, identified by elevations in KIM-1 and albuminuria even in patients who do not meet traditional AKI diagnostic criteria.

Moreover, VCAM-1 was associated with unfavorable renal prognosis, reinforcing the contribution of endothelial dysfunction. In patients with AKI, the expression of endothelial biomarkers such as ANG-2 was observed, as well as the inversion of the relationship between AST and GFR throughout disease progression. These findings indicate that traditional markers are insufficient to exclude early renal injury, and that non-conventional biomarkers may improve the detection and clinical management of Haff disease.

**Keywords:** Haff disease; acute kidney injury; rhabdomyolysis; biomarkers.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Pacu ( <i>Mylossoma aureum</i> ).....	21
Figura 2	Pirapitinga ( <i>Piaractus brachypomus</i> ).....	21
Figura 3	Tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> ).....	21
Figura 4	Fisiopatologia da doença de Haff.....	22
Figura 5	Estadiamento IRA.....	25
Figura 6	Fluxograma dos pacientes estudados.....	32
Figura 7	Sugestão de nova classificação de IRA.....	33
Figura 8	Gráfico de dispersão correlacionando CK e AST.....	44
Figura 9	Gráfico de dispersão correlacionando CK e ALT.....	44
Figura 10	Gráfico de dispersão correlacionando CK máxima e KIM-1.....	46
Figura 11	Gráfico de dispersão correlacionando AST e TFG.....	46
Figura 12	Gráfico de dispersão correlacionando VCAM-1 e TFG.....	47
Figura 13	Gráfico de dispersão correlacionando CK média e TFG.....	49
Figura 14	Gráfico de dispersão correlacionando CK média e ANG-2.....	49
Figura 15	Gráfico de dispersão correlacionando CK máxima e ALT.....	50
Figura 16	Gráfico de dispersão correlacionando CK máxima e CK-MB.....	50
Figura 17	Gráfico de dispersão correlacionando CK média e ALT.....	51
Figura 18	Gráfico de dispersão correlacionando AST e TFG.....	51
Figura 19	Gráfico de dispersão KIM-1.....	52
Figura 20	Gráfico de dispersão sNGAL.....	52
Figura 21	Gráfico de dispersão uNGAL.....	53

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Casos compatíveis com doença de Haff no Brasil (2021 – 2023) .....	20
Tabela 2	Perfil sociodemográfico e laboratorial dos pacientes com doença de Haff.....	38
Tabela 3	Perfil sociodemográfico e laboratorial de acordo com a incidência de injuria renal aguda (IRA).....	40
Tabela 4	Biomarcadores renais e endoteliais não-convencionais de acordo com a incidência de IRA.....	42
Tabela 5	Correlação de Spearman entre CK e parâmetros laboratoriais.....	43
Tabela 6	Correlação de parâmetros laboratoriais e biomarcadores entre pacientes com DH sem IRA.....	45
Tabela 7	Correlação de parâmetros laboratoriais e biomarcadores entre pacientes com DH com IRA.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
ANG-1	Angiopoietina-1
ANG-2	Angiopoietina-2
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
BSA	Albumina sérica bovina
Ca <sup>+</sup>	Íon cálcio
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
CCDH	Caso Compatível com Doença de Haff
CK	Creatinoquinase
CKD-EPI	Equação para estimar TFG
DH	Doença de Haff
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
IRA	Injúria Renal Aguda
K <sup>+</sup>	Íon potássio
KIM-1	<i>Kidney Injury Molecule 1</i>
LDH	Lactato desidrogenase
MMPs	Metaloproteinases de matriz
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPas	Bomba de sódio e potássio
Na <sup>+</sup>	Íon sódio
NGAL	Lipocalina Associada à Gelatinase Neutrofílica

PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> (Tampão fosfato-salino)
PITXs	Palitoxinas
SDC-1	Syndecan-1
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
VCAM-1	Molécula de Adesão Celular Vascular

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1</b>	<b>Doença de Haff .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.1</b>	<b>Situação epidemiológica no mundo e no Brasil .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Hipótese fisiopatológica .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Sintomas e diagnóstico .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.4</b>	<b>Rabdomiólise e o desenvolvimento de IRA.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.5</b>	<b>Manejo clínico .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2</b>	<b>Avaliação de dano renal .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL) .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Molécula de Injúria Renal (KIM-1) .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Creatinina sérica .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Albuminúria.....</b>	<b>26</b>
<b>2.3</b>	<b>Avaliação de ativação endotelial.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Angiopoietina 2 (ANG-2).....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Syndecan 1 (SDC-1) .....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Molécula de adesão vascular (VCAM-1).....</b>	<b>27</b>
<b>2.4</b>	<b>Avaliação de dano muscular .....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1</b>	<b>Objetivo geral .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
<b>5.1</b>	<b>Tipo de estudo .....</b>	<b>31</b>
<b>5.2</b>	<b>Locais de estudo .....</b>	<b>31</b>
<b>5.3</b>	<b>Amostra e período de estudo.....</b>	<b>31</b>
<b>5.4</b>	<b>Critérios de admissão, de inclusão e de exclusão.....</b>	<b>31</b>
<b>5.5</b>	<b>Coleta de dados laboratoriais.....</b>	<b>32</b>

<b>5.6</b>	<b>Coleta, armazenamento e processamento das amostras biológicas .....</b>	<b>32</b>
<b>5.7</b>	<b>Análises laboratoriais.....</b>	<b>32</b>
<b>5.8</b>	<b>Avaliação de injúria renal .....</b>	<b>33</b>
<b>5.9</b>	<b>Quantificação de biomarcadores endoteliais e biomarcadores renais não-convencionais.....</b>	<b>34</b>
<b>5.10</b>	<b>Análise estatística .....</b>	<b>35</b>
<b>5.11</b>	<b>Aspectos éticos .....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>6.1</b>	<b>Características sociodemográficas e laboratoriais dos pacientes com doença de Haff.....</b>	<b>37</b>
<b>6.2</b>	<b>Perfil sociodemográfico e laboratorial de acordo com a incidência de injúria renal aguda (IRA).....</b>	<b>39</b>
<b>6.3</b>	<b>Comparação de biomarcadores renais e endoteliais em pacientes com doença de Haff de acordo com a incidência de IRA.....</b>	<b>42</b>
<b>6.4</b>	<b>Correlação entre creatinoquinase e parâmetros laboratoriais .....</b>	<b>43</b>
<b>6.5</b>	<b>Correlação entre os parâmetros laboratoriais e os biomarcadores em pacientes com doença de Haff na presença e ausência de IRA.....</b>	<b>45</b>
<b>6.6</b>	<b>Nova classificação de IRA .....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>62</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>63</b>
	<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A doença de Haff (DH) é uma síndrome rara, caracterizada pelo aparecimento súbito de rabdomiólise, manifestando-se principalmente por sintomas como mialgia, fraqueza muscular, náuseas, escurecimento da urina, elevação dos níveis de creatinoquinase (CK) e de mioglobina séricas, dentre outros; geralmente, em até 24 horas após o consumo de pescados, previamente cozidos ou fritos (CARDOSO *et al.*, 2022).

Existem várias hipóteses de que a DH seja ocasionada por toxinas aquáticas termoestáveis, devido ao fato de permanecerem viáveis nesses alimentos, mesmo após o seu cozimento e/ou fritura (ALMEIDA *et al.*, 2019).

O mecanismo fisiopatológico ainda não foi completamente elucidado, entretanto especula-se que essa toxina agiria elevando a concentração de cálcio ( $\text{Ca}^+$ ) no meio intracelular, havendo posteriormente a interação deste com proteínas como actina e miosina (contráteis) e, com isso, haveria o consumo total do Adenosina trifostato (ATP) armazenado e, finalmente, a necrose do músculo (SERFATY *et al.*, 2024).

Com isso, ocorrem tanto manifestações clínicas como a rabdomiólise, ou seja, a destruição dos miócitos (células musculares) como o consequente extravasamento do conteúdo intracelular para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos de CK e de mioglobina e, posteriormente, excreção de mioglobina pela urina (mioglobinúria), tornando-a escurecida (ARAÚJO, 2023).

Todas essas complicações podem ser agravadas e levar o paciente ao desenvolvimento de Injúria Renal Aguda (IRA) e, com isso, o indivíduo pode apresentar quadro de hipercalemia, acidose metabólica e parada cardiorrespiratória, ocasionando o óbito (BRASIL, 2024). Adicionalmente, os gastos públicos com saúde tornam-se cada vez maiores, devido à necessidade de hospitalização e ao tempo de tratamento desses indivíduos.

Observa-se, portanto, a importância de mais estudos sobre esse assunto, ainda bastante desconhecido, principalmente objetivando esclarecer aspectos clínicos-laboratoriais dos indivíduos acometidos. Ademais, faz-se necessário identificar novos biomarcadores ou padrões entre os já existentes para detectar precocemente a IRA, os quais podem apresentar maior sensibilidade, para que haja uma melhor tomada de decisão dos profissionais de saúde, frente à condição, e apresentação de estratégias de tratamento mais efetivas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Doença de Haff

Essa síndrome rara foi descrita pela primeira vez na Europa, mais especificamente no ano de 1924, no período que compreende as estações do verão e outono, na região litorânea de Königsberg Haff, do mar Báltico, na Prússia Oriental, sendo hoje uma área que pertence à Rússia (BUCHHOLZ *et al.*, 2000). De origem alemã, o termo “Haff” significa “lagoa rasa”, provavelmente em alusão ao peixe: veículo da toxina associada à doença (AGUIAR *et al.*, 2024).

Observou-se que, de forma repentina, alguns pacientes apresentaram grave rigidez muscular e produção de urina com coloração escurecida. Contudo, não foram observados sintomas como esplenomegalia, hepatomegalia, sintomas neurológicos ou febre. Durante esse período de surto, em 1924, houve uma grande variação em relação ao desfecho da doença: alguns pacientes se recuperaram rapidamente, entretanto outros foram à óbito (BUCHHOLZ *et al.*, 2000).

Após alguns anos, ocorreu outro surto na região da lagoa de Königsberg e, desta vez, cerca de mil indivíduos foram acometidos pelos sintomas característicos da DH (CAMPOS *et al.*, 2021).

#### 2.1.1 Situação epidemiológica no mundo e no Brasil

Os surtos de DH continuaram sendo relatados em outros países. Houve indivíduos apresentando os mesmos sintomas na Rússia e na Suécia. Em 1984, nos Estados Unidos, ocorreram os primeiros casos, após o consumo de peixe búfalo; entre 1999 e 2008 foram descritos casos no Japão; e em 2000 ocorreram os primeiros relatos na China (ARAÚJO, 2023).

No Brasil, houve o relato do primeiro caso da doença no ano de 2008 em que uma mulher de 39 anos foi admitida em um hospital, no estado do Amazonas, relatando mialgia e fortes dores no peito, além disso, apresentando níveis séricos elevados de CK, após a ingestão de peixe nas últimas 24 horas (DOS SANTOS *et al.*, 2009). Adicionalmente a este, ocorreram outros 27 casos no mesmo ano (CAMPOS *et al.*, 2021).

Em 2013, novos casos foram relatados no estado do Amazonas. Nos anos de 2016 e 2017, mais de 100 indivíduos foram diagnosticados com DH, dos quais 2 evoluíram para óbito (BANDEIRA *et al.*, 2017).

De acordo com o Ministério da Saúde (2024), a partir de 2021 houve a normatização da vigilância epidemiológica dos Casos Compatíveis com a Doença de Haff (CCDH). Com isso,

mais de 15 estados realizaram o registro dos casos, facilitando assim, a quantificação. Destes, a maior quantidade ocorreu nas regiões Norte e Nordeste. Apesar de não fazer parte da lista nacional de doenças que exigem notificação compulsória, essa doença está descrita como Evento de Saúde Pública, o qual possui a necessidade de ser notificado compulsoriamente dentro de um período de 24 horas.

Entre os anos de 2021 e 2023, foram notificados 537 casos da doença no Brasil, sendo destes a maioria na região Norte (433 casos = 80,5%). É importante observar ainda a presença de sazonalidade em relação ao aumento de casos pois, nos três anos de vigilância, agosto e setembro foram os meses com o maior número de notificações. No ano de 2023 foram notificados 137 casos que resultaram em 97 internações e 1 óbito registrado (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE, 2024).

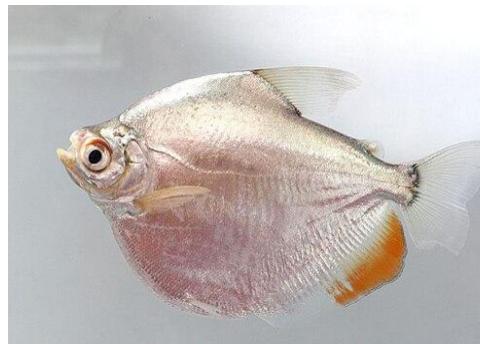
No estado do Amazonas foram notificados 248 casos, sendo 76 no ano de 2021, 103 no ano de 2022 e 69 no ano de 2023. Em relação ao estado do Ceará, notificou-se 32 casos entre os anos de 2021 e 2023, destes: 13 casos em 2021, 9 casos em 2022 e 10 casos em 2023. Houve um aumento relevante na quantidade de casos no segundo semestre do ano, mais especificamente nos meses de agosto e setembro em todos os anos analisados (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE, 2024).

Tabela 1 – Casos compatíveis com doença de Haff no Brasil (2021 – 2023)

<u>REGIÃO</u>	<u>UNIDADE FEDERATIVA (UF)</u>	<u>2021</u>	<u>2022</u>	<u>2023</u>	<u>TOTAL</u>
<u>NORTE</u>		Casos	%	Casos	%
		111	73	214	86,3
	<u>Amazonas</u>	76	50	103	41,5
<u>NORDESTE</u>		40	26,3	29	11,7
	<u>Ceará</u>	13	8,6	9	3,6
<u>SUDESTE</u>		1	0,7	4	1,6
<u>CENTRO-OESTE</u>		0	0	1	0,4
<u>BRASIL</u>		152	100	248	100
				137	100
				<b>537</b>	100

Fonte: Adaptado de Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (2024)

Dentre as espécies de peixes envolvidas nos casos da doença no Brasil, estão tanto as de água doce, como o pacu (gênero *Mylossoma*), a pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e o tambaqui (*Colossoma macropomum*), como demonstrado nas Figuras 1, 2 e 3, respectivamente; quanto as de água salgada, como o badejo (*Mycteroherca spp.*) e o olho de boi/arabaiana (*Seriola spp*) (ARAÚJO, 2023).

Figura 1 – Pacu (*Mylossoma aureum*)

Fonte: Wikimedia Commons (2025)

Figura 2 – Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*)

Fonte: Wikimedia Commons (2025)

Figura 3 – Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Fonte: Wikimedia Commons (2025)

Com isso, a DH é categorizada como uma Doença Transmitida por Alimentos (DTA) de origem tóxica, visto que estas são doenças caracterizadas por sua disseminação através do consumo de alimentos e água contaminados pelo agente causador (ARAÚJO, 2023).

Adicionalmente à problemática relacionada à intoxicação ocorrida nesse período, através desses alimentos, existiu uma preocupação envolvendo a economia, especialmente nas regiões Norte e Nordeste, visto que a população passou a ter receio em realizar o consumo desses produtos, impactando negativamente no comércio de pescados (PIEREZAN *et al.*, 2024).

### 2.1.2 Hipótese fisiopatológica

A hipótese de que a DH seja ocasionada por toxinas termoestáveis presentes nos peixes e/ou crustáceos é defendida, conforme demonstrado na Figura 4, devido ao fato de essas substâncias permanecerem viáveis nos alimentos, mesmo após o seu cozimento e/ou fritura (ALMEIDA *et al.*, 2019).

Agentes biológicos estão descartados de serem a causa da síndrome pois, dentre os sintomas apresentados, não há a ocorrência de febre e, além disso, foram obtidas diversas análises negativas para a detecção de bactérias e vírus nas amostras de peixes envolvidas (CARDOSO *et al.*, 2022).

Dentre as principais preocupações existentes, em relação à contaminação de pescados, estão as toxinas aquáticas. Estas substâncias podem ser acumuladas nos tecidos dos animais, permitindo que haja amplificação à medida que sobem na cadeia alimentar. Os organismos que estariam envolvidos na produção dessas toxinas seriam principalmente as cianobactérias (ambiente de água doce); os corais e as microalgas (ambiente de água salgada) (PIEREZAN *et al.*, 2024).

Outro aspecto importante a ser considerado seria a sazonalidade da doença, que ocorre com maior frequência entre os meses de agosto e outubro. Esse período apresenta níveis de temperaturas mais elevadas, o que favoreceria as florações das algas e, consequentemente, a produção de biotoxinas (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE, 2024).

De acordo com Cardoso *et al* (2019), foram encontradas substâncias características de toxinas, que pertencem ao grupo das palitoxinas (PITXs), em amostras de peixe cozido que foram analisadas. A hipótese é fortalecida, considerando-se que os sintomas de intoxicação por PITXs são semelhantes aos da DH.

Conforme Pierezan *et al* (2024), fragmentos amina, que são característicos das PITXs, foram encontrados em 15 das 16 análises realizadas em amostras de peixes ou sobras dos pescados analisadas.

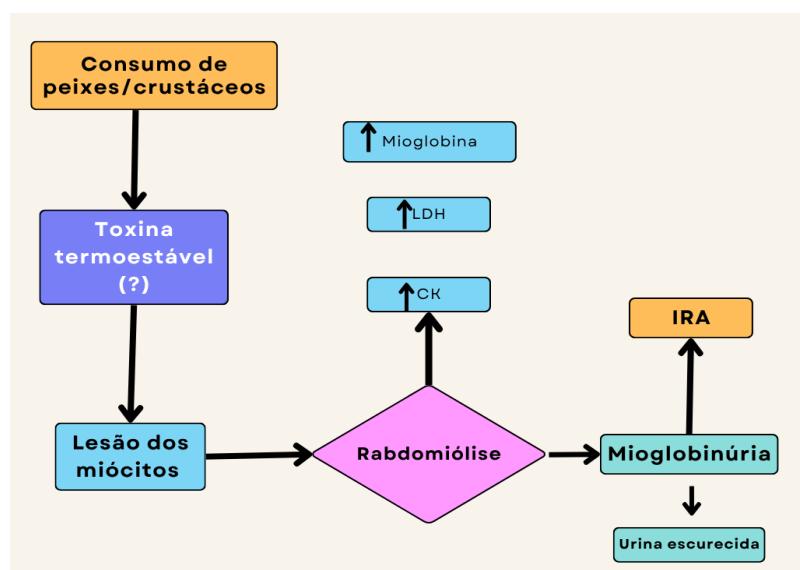


Figura 4: Fisiopatologia da doença de Haff - adaptada pelo autor (AGUIAR *et al*, 2024). CK: creatinoquinase; LDH: lactato desidrogenase; IRA: injúria renal aguda.

### 2.1.3 Sintomas e diagnóstico

Dentre os sintomas clínicos mais comuns estão mialgia, fraqueza muscular, náusea e urina escurecida; além de alterações nos parâmetros laboratoriais, como a elevação dos níveis de CK e de mioglobina. Adicionalmente, enzimas como a lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) também podem apresentar valores alterados, devido a sua presença no tecido muscular esquelético (AGUIAR *et al.*, 2024).

Dessa forma, como se trata de sintomas gerais e inespecíficos, o diagnóstico de um CCDH é clínico-epidemiológico e fica estabelecido devido o indivíduo apresentar rabdomiólise, de origem desconhecida, e ter consumido pescados nas últimas 24 horas. A rabdomiólise, por sua vez, caracteriza-se por dor muscular de início inesperado e alterações nos exames laboratoriais, como a elevação da CK para valores cinco vezes maiores que o de referência ou, alteração muscular de início súbito e apresentação de urina escurecida (BRASIL, 2024).

### 2.1.4 Rabdomiólise e o desenvolvimento de IRA

Como mencionado, a manifestação clínica mais relevante da síndrome é a rabdomiólise, caracterizada pela destruição dos miócitos com consequente extravasamento do conteúdo intracelular, principalmente a mioglobina, para a circulação. Esse processo resulta na elevação dos níveis séricos de CK e mioglobina e, posteriormente, a filtração glomerular desta última, culminando em sua excreção urinária provocando mioglobinúria. Em decorrência disso, a urina pode apresentar uma coloração mais escurecida (ARAÚJO, 2023).

A injúria muscular pode levar ao desenvolvimento de IRA, ao desequilíbrio dos níveis de eleutrólitos e até à coagulação intravascular disseminada (CID). Embora a rabdomiólise seja a maior causa de IRA, o prognóstico tende a ser favorável quando o diagnóstico e o manejo são realizados precocemente (STANLEY *et al.*, 2025). Além dessas complicações, o indivíduo com a IRA estabelecida pode apresentar hipercalemia, acidose metabólica e parada cardiorrespiratória, ocasionando o óbito do paciente (BRASIL, 2024).

A IRA é uma condição clínica complexa que cursa com a diminuição abrupta da função renal e que pode estar associada à oligúria e aumento dos níveis séricos de creatinina, geralmente dentro de um curto período. É um dos distúrbios fisiopatológicos de maior frequência e índices altos de morbimortalidade. Entretanto, caso seja diagnosticada precocemente, pode haver uma melhora no prognóstico e diminuição da mortalidade (REN *et al.*, 2023).

Normalmente, esta condição pode ser reversível, porém alguns pacientes podem permanecer dependentes de diálise ou evoluir para Doença Renal Crônica (DRC), podendo ou não haver a necessidade de transplante renal. Dentre os pacientes hospitalizados, essa evolução ocorre em cerca de 20%, principalmente naqueles em unidades de terapia intensiva (JUNIOR *et al.*, 2017; KOZA, 2016; OSMAN *et al.*, 2018; VASCO *et al.*, 2018; LEVEY e JAMES, 2017).

Por outro lado, é possível existir ainda um quadro de injúria subclínica ou subfuncional, no qual os pacientes apresentam biomarcadores de dano renal elevados, sem efetivamente ter havido perda da função renal. Possibilitando, dessa forma, que a detecção de dano ocorra de forma precoce, antes de haver o estabelecimento de IRA (HUSAIN-SYED *et al.*, 2022).

### **2.1.5 Manejo clínico**

O tratamento é basicamente sintomático, pois ainda não há um tratamento específico para a DH. Baseia-se principalmente em hidratação continuada; alcalinização da urina; monitoramento da elevação dos níveis de CK e de outras enzimas como LDH, AST e ALT; monitoramento da função renal através de biomarcadores e da taxa de filtração glomerular (TFG); monitoramento da função hepática e de eletrolitos, objetivando evitar uma possível evolução do quadro para injúria renal. Além disso, faz-se importante desestimular a utilização de medicamentos da classe dos anti-inflamatórios não esteroidais e do ácido acetilsalicílico, pelos profissionais de saúde (AGUIAR *et al.*, 2024; ALMEIDA *et al.*, 2019).

De acordo com Serfaty *et al* (2024), o período médio de internação dos pacientes acometidos pela DH foi em torno de 3 a 8 dias. Sintomas como mialgia e fraqueza permanecem em média durante 3 dias e os níveis de CK tendem a normalizar geralmente após 5 ou 6 dias. De forma geral, a doença possui um bom prognóstico, se tratada precocemente (AGUIAR *et al.*, 2024).

### **2.2 Avaliação de dano renal**

Atualmente, o diagnóstico da IRA se estabelece por uma queda importante da TFG, que se dá através dos níveis de creatinina sérica aumentados ( $\geq 0,3\text{mg/dL}$  dentro de 48 horas OU  $\geq 1,5$  vezes o valor basal) ou ainda através da verificação de produção de urina diminuída ( $< 0,5\text{mL/kg/h}$  durante 6 horas), como demonstrado na Figura 5 (KDIGO, 2012).

Estágio	Creatinina	Débito urinário
1	aumento $\geq 0,3$ mg/dL ou entre 1,5 a 1,9 vezes o valor basal.	< 0,5 mL/kg/h (6 - 12h).
2	aumento entre 2 - 2,9x o valor basal.	< 0,5 mL/kg/h ( $\geq 12h$ ).
3	$\geq 4$ mg/dL ou aumento $\geq 3$ x valor basal ou necessidade de TRS.	< 0,3 mL/kg/h ( $\geq 24h$ ) ou anúria ( $\geq 12h$ ).

Figura 5 – Estadiamento IRA – adaptada pelo autor (KDIGO, 2012).

Contudo, durante os últimos anos, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas objetivando encontrar biomarcadores que possam ser detectados antes mesmo do estabelecimento da IRA (YOON *et al.*, 2022).

Além da creatinina e ureia, tradicionalmente utilizadas na avaliação da função renal, outros biomarcadores mais recentes têm sido propostos para complementar essa análise. Esses biomarcadores costumam ser classificados em três grupos principais: marcadores de estresse, marcadores de dano e marcadores funcionais. Dentre os marcadores de dano destacam-se: a Molécula de Injúria Renal (*Kidney Injury Molecule* - KIM-1) e a Lipocalina Associada à Gelatinase Neutrofílica (*Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin* - NGAL) (YOON *et al.*, 2022).

### 2.2.1 Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL)

A NGAL, também conhecida como Lipocalina - 2, é uma glicoproteína que possui 198 aminoácidos. Ela se apresenta em três formas: um monômero de 25 kDa liberado pelos túbulos renais, um homodímero de 45 kDa secretado pelos neutrófilos durante as respostas inflamatórias e um complexo de 135 kDa formado por NGAL e metaloproteinases da matriz (MMPs). Ademais, pode ser expressa em células tubulares de diversos órgãos, como rins, fígado e coração (ROMEJKO; MARKOWSKA; NIEMCZYK, 2023; JABERI *et al.*, 2021; SMERTKA; CHUDEK, 2012).

Entre os biomarcadores de detecção precoce de IRA, em estudos clínicos, a NGAL tem se destacado pelo uso crescente, podendo ser mensurado por ELISA (*Enzyme Linked Immuno*

*Sorbent Assay*) em amostras de urina ou soro e entre outros fluidos biológicos (PLATT *et al.*, 2024).

De acordo com Wasung *et al* (2015), a NGAL já pode ser detectada no plasma já duas horas após o estabelecimento da IRA, apresentando seu pico de concentração em aproximadamente seis horas. Também é possível observar elevação significativa desse biomarcador na urina. Além disso, NGAL sérica e urinária podem ser detectadas até 24 horas antes do aumento dos níveis de creatinina, conferindo a esse marcador sensibilidade para a detecção precoce de lesão renal (ROMEJKO; MARKOWSKA; NIEMCZYK, 2023).

### **2.2.2 Molécula de Injúria Renal (KIM-1)**

A KIM-1 é uma glicoproteína de membrana utilizada como biomarcador de injúria renal, devido a sua presença em células epiteliais renais, apresentando importante expressão em danos no túbulo proximal renal, além de também ser expressa por células do sistema imune. Esse biomarcador é minimamente expresso por essas células em condições de normalidade do tecido renal (KARMAKOVA *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2025).

De acordo com Dieterle *et al* (2010), esse biomarcador possui propriedades adequadas para indicar lesão no epitélio do túbulo renal proximal pois, devido à sua grande massa molecular, não poderia ser filtrado livremente através dos glomérulos, sendo proveniente de outras fontes que não fossem renais. Portanto, sua excreção urinária elevada torna-se bastante específica para injúria renal.

### **2.2.3 Creatinina sérica**

A creatinina é uma substância decorrente do metabolismo da creatina. Devido a sua excreção por via urinária, tornou-se um marcador amplamente utilizado para avaliação da função renal, mais especificamente na avaliação da TFG: comparando-se a concentração de creatinina no sangue e a concentração que é eliminada pela urina durante um período de 24 horas (RIOS *et al.*, 2021).

### **2.2.4 Albuminúria**

A albumina é uma proteína que está presente no plasma, representando 50% da composição proteica. Ela possui um importante papel no transporte de substâncias endógenas e exógenas através da corrente sanguínea, além de ser responsável pela regulação da pressão oncótica plasmática. Apenas em situações patológicas, essa proteína é capaz de atravessar a barreira glomerular e ser detectada na urina, condição conhecida como albuminúria ( $>30\text{mg}$  em

urina de 24 horas). Podendo, dessa forma, demonstrar lesão estrutural glomerular e, com isso, revelando seu potencial como parâmetro para avaliação de função renal (BARZILAY *et al.*, 2024).

### 2.3 Avaliação de ativação endotelial

A IRA é uma condição complexa e de etiologia multifatorial. Entre os principais mecanismos envolvidos destacam-se: as alterações hemodinâmicas, o estresse oxidativo, os mecanismos imuno-mediados, o dano mitocondrial e o dano endotelial (MESFINE, 2024).

#### 2.3.1 Angiopoietina-2 (ANG-2)

A ANG-2 é uma proteína que faz parte de uma família de fatores de crescimento (Angiopoietinas 1 – 4), a qual está envolvida na homeostase vascular. As duas principais são a ANG-1 e a ANG-2: elas se ligam aos receptores Tie-2. A ANG-1 causa a fosforilação do receptor e a ANG-2 inibe essa atividade. Os níveis de ANG-2 são baixos em cenário de homeostasia, entretanto essa substância pode ter sua quantidade aumentada durante a inflamação e o câncer. Portanto, ANG-2 pode ser considerada um biomarcador de inflamação. Além disso, alterações nesse marcador têm sido observadas na maioria das doenças cardiovasculares e em condições associadas, como no caso de doenças renais (LI *et al.*, 2023; AKWII *et al.*, 2019).

#### 2.3.2 Syndecan-1 (SDC-1)

O SDC-1 é uma proteína de membrana, membro da família dos proteoglicanos, que participa de processos inflamatórios, de proliferação e migração celular, além de cicatrização de feridas e remodelação de matriz extracelular. Ela está presente em grande quantidade no fígado e sua alteração é importante indicativo de doença hepática (RESZEGI *et al.*, 2022).

Além disso, o SDC-1 é um marcador de dano no glicocálice endotelial que, na fisiopatologia da IRA, é de extrema importância. Ele pode estar elevado também em situações como: inflamações agudas e crônicas, sepse, traumas e grandes cirurgias (AY *et al.*, 2023; HAHN; ZDOLSEK; ZDOLSEK, 2021).

#### 2.3.3 Molécula de Adesão Celular Vascular (VCAM-1)

A VCAM-1 é uma proteína que está presente na membrana das células endoteliais, pertencente à família das imunoglobulinas. Citocinas pró-inflamatórias são capazes de induzir

sua expressão e a VCAM-1 está presente em vários locais, incluindo rins, coração e cérebro (TRONCOSO *et al.*, 2021).

De acordo com Ren *et al* (2023), durante a IRA, há uma elevação na expressão de VCAM-1 em células endoteliais vasculares, sendo essencial para o desenvolvimento da doença. Essas moléculas promovem a agregação de leucócitos, presentes nos rins, gerando dano nas células endoteliais além de bloqueio de microvasos, consequentemente ocorrendo intensificação de modificações na perfusão microvascular renal e na resposta inflamatória.

#### **2.4 Avaliação de dano muscular**

No diagnóstico da DH, o dano muscular é estabelecido através da dosagem de CK com valores cinco vezes maiores que o valor de referência. A CK é a enzima responsável por catalisar a transformação de creatina a fosfocreatina que, por sua vez, tem a função de suplementar tecidos que possuem necessidade de ATP, como o músculo esquelético, cérebro e coração. Várias situações podem ocasionar o aumento dos níveis dessa enzima, como a rabdomiólise. Portanto, a CK costuma ser utilizada como biomarcador para avaliação de dano muscular (AGUIAR *et al.*, 2024; AUJLA; ZUBAIR; PATEL, 2024).

De acordo com Khatri *et al* (2021) enzimas como AST e ALT também podem ser quantificadas na avaliação de possível dano muscular, pois estão presentes no músculo esquelético, inclusive em quantidade bem maior a do fígado, se os volumes dos órgãos em questão forem comparados. Portanto, em situações de injúria muscular, essas transaminases podem se apresentar em níveis mais elevados do que o comum.

Dessa forma, a ampliação do conhecimento sobre aspectos laboratoriais e clínicos ainda pouco esclarecidos da doença de Haff poderá contribuir para um manejo clínico mais eficaz, reduzindo o tempo de internação e o impacto econômico para o sistema público de saúde.

### 3 JUSTIFICATIVA

A doença de Haff é uma síndrome rara descrita desde 1924, que ainda hoje permanece com sua fisiopatologia pouco compreendida. Essa escassez de informações contribui para dificuldades no diagnóstico, com consequente atraso terapêutico e dificuldade no manejo clínico, em razão da falta de dados clínicos e laboratoriais sobre a sua evolução. Em conjunto, esses fatores aumentam a suscetibilidade ao agravamento da doença e prognóstico desfavorável.

A ausência de um biomarcador específico para diagnosticar essa doença, bem como a inexistência de associações entre os biomarcadores existentes na atualidade, gera uma dificuldade ainda maior no seu diagnóstico (AGUIAR *et al.*, 2024). Ademais, a DH não diagnosticada, ou diagnosticada tarde, pode acarretar implicações clínicas desde a falência múltipla de órgãos até o óbito (AHMAD; SIM; SINERT, 2019).

Nesse contexto, torna-se evidente a necessidade de novos estudos a respeito da doença de Haff, a fim de identificar biomarcadores com potencial aplicabilidade clínica na detecção precoce de injúria renal aguda e na estratificação de risco de pacientes com doença de Haff. Além disso, a vigilância contínua é essencial considerando tanto a gravidade da doença, quanto o desconhecimento acerca de sua etiologia e sua crescente incidência.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

Avaliação de biomarcadores renais e endoteliais na doença de Haff.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o perfil sociodemográfico e laboratorial dos pacientes com DH;
- Avaliar a incidência de IRA e fatores associados na DH;
- Avaliar lesão renal subclínica na DH;
- Avaliar biomarcadores de ativação endotelial na DH;
- Analisar a correlação entre parâmetros laboratoriais convencionais de lesão renal e os biomarcadores endoteliais e renais não-convencionais na DH;
- Avaliar a correlação dos biomarcadores renais e endoteliais com a abdomiólise na DH.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Tipo de estudo

O estudo é do tipo retrospectivo, com amostragem de pacientes que receberam diagnóstico de DH no Hospital Regional José Mendes (HRJM), localizado na cidade de Itacoatiara, no estado do Amazonas, Brasil.

### 5.2 Locais do estudo

Os experimentos foram realizados na cidade de Fortaleza, estado do Ceará, com amostras recebidas pelo HRJM e biorrepositório realizado na Universidade de Fortaleza (UNIFOR). As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) e no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Professor Doutor Eurico Lintton Pinheiro de Freitas (LACT), localizado no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT), na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

### 5.3 Amostra e período do estudo

Um total de 29 pacientes, com diagnóstico confirmado para DH, durante o período de maio de 2021 a outubro de 2023, foram selecionados para a pesquisa.

### 5.4 Critérios de admissão, de inclusão e de exclusão

Foram admitidos 57 pacientes com diagnóstico confirmado para DH. Pacientes acima de 18 anos, que apresentaram diagnóstico de DH, foram incluídos no estudo. Após isso, foram excluídos do estudo aqueles pacientes os quais não foi possível acesso aos seus respectivos prontuários, contendo os dados de parâmetros laboratoriais durante o período de internação. Por fim, após a aplicação desses critérios, 29 pacientes com idade entre 20 e 68 anos foram incluídos na pesquisa, conforme demonstrado na Figura 6.

Os pacientes do estudo foram orientados a respeito dos detalhes da pesquisa e aceitaram participar, autorizando através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

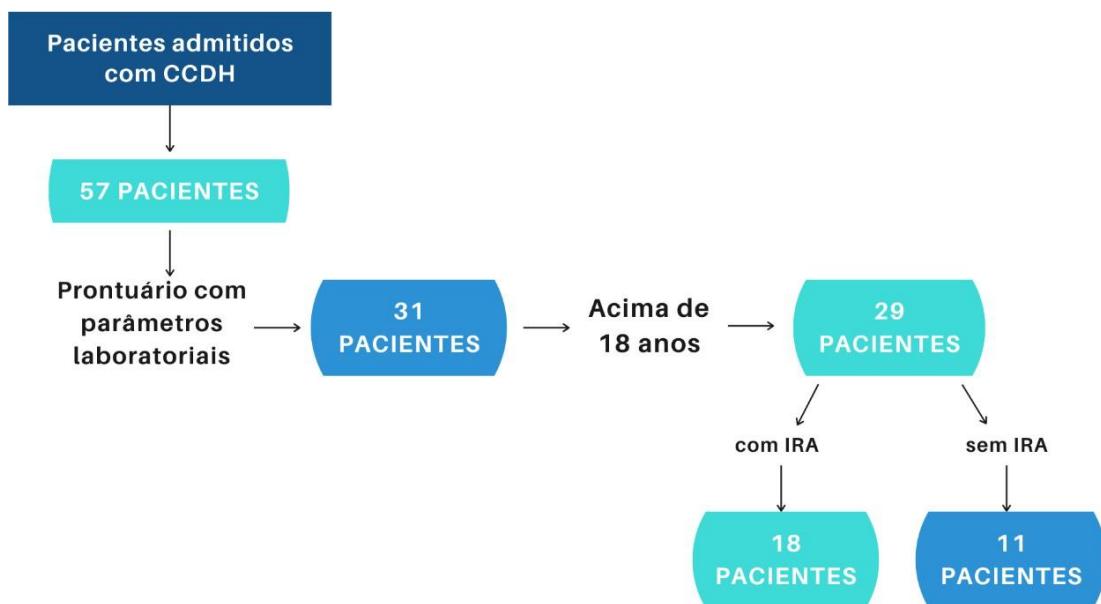


Figura 6 – Fluxograma dos pacientes estudados.

### 5.5 Coleta de dados laboratoriais

Alguns dados laboratoriais dos 5 primeiros dias de internação, como hemograma, creatinina sérica (utilizada para definir classificação de IRA, de acordo com KDIGO (2012)), AST, ALT, CK, CK-MB e LDH, dos pacientes do estudo, foram coletados através dos seus respectivos prontuários, que estão localizados no HRJM.

### 5.6 Coleta, armazenamento e processamento das amostras biológicas

Foram realizadas coletas de amostras de soro e de urina dos pacientes, para o processamento das análises laboratoriais, no HRJM. Tubos com ativador de coágulo e gel separador foram utilizados para a obtenção de amostras de soro, centrifugados por 15 minutos, após a coleta. Foram utilizados coletores estéreis para a coleta e armazenamento de urina. As amostras foram aliquotadas e congeladas a -80 °C até o momento do envio para o seu biorrepositório na UNIFOR e posterior realização das análises bioquímicas na UFC.

### 5.7 Análises laboratoriais

As dosagens de creatinina sérica, creatinina urinária (para normalizar os marcadores urinários), albuminúria e TFG (calculada a partir da creatinina sérica admissional que dosamos) foram realizadas em um aparelho bioquímico automatizado (Mindray B-240).

## 5.8 Avaliação de injúria renal

De acordo com o KDIGO (2012), o diagnóstico da IRA é estabelecido devido a uma queda importante da TFG, que se dá através dos níveis de creatinina sérica aumentados ( $\geq 0,3\text{mg/dL}$ , dentro de 48 horas OU  $\geq 1,5$  vezes o valor basal) ou ainda através da verificação da diminuição do débito urinário ( $< 0,5\text{mL/kg/h}$  durante 6 horas) (Figura 5).

Para a realização da categorização de IRA nesse estudo, a creatinina basal foi considerada como o menor valor obtido durante o período dos primeiros 5 dias de internação dos pacientes (NEVES *et al.*, 2015).

Adicionalmente, realizamos outra classificação de IRA, conforme estudo desenvolvido em 2022, no qual há estadiamento do dano em 7 categorias e que, a presença de apenas um biomarcador de injúria renal positivo (KIM-1, uNGAL ou sNGAL), é capaz de enquadrar o paciente no primeiro nível da classificação: injúria renal subclínica, conforme demonstrado na Figura 7 (HUSAIN-SYED *et al.*, 2022). Os valores de corte utilizados para considerar os pacientes como positivos, foram descritos em estudos anteriores: 0,42 ng/mg-Cr para KIM-1 (GENG *et al.*, 2021); 143 ng/mg-Cr para uNGAL (HAMDY *et al.*, 2018) e 100 ng/mL para sNGAL (GEUS *et al.*, 2016).

### → Sugestão de nova classificação de IRA

CRITÉRIO FUNCIONAL	ESTÁGIO	CRITÉRIO DE BIOMARCADOR
Sem aumento de creatinina sérica $\geq 0,3\text{mg/dL}$ durante 48h ou de 150% durante 1 semana e se oligúria não for $< 0,5\text{mL/kg/h}$ durante período de 6h.	1S	Biomarcador
Aumento de creatinina sérica de $\geq 0,3\text{mg/dL}$ durante 48h ou de 150% em <7 dias e/ou oligúria $< 0,5\text{mL/kg/h}$ por >6h.	1A	Biomarcador
Aumento de creatinina sérica de $\geq 0,3\text{mg/dL}$ durante 48h ou de 150% em <7 dias e/ou oligúria $< 0,5\text{mL/kg/h}$ por >6h.	1B	Biomarcador
Aumento de creatinina sérica $> 200\%$ e/ou oligúria $< 0,5\text{mL/kg/h}$ por >12h.	2A	Biomarcador
Aumento de creatinina sérica $> 200\%$ e/ou oligúria $< 0,5\text{mL/kg/h}$ por >12h.	2B	Biomarcador
Aumento de creatinina sérica $> 300\%$ (ou $\geq 0,4\text{mg/dL}$ com aumento importante de $\geq 0,3\text{mg/dL}$ ) ou oligúria $< 0,3\text{mL/kg/h}$ por >24h ou anúria por >12h ou terapia de reposição renal.	3A	Biomarcador
Aumento de creatinina sérica $> 300\%$ (ou $\geq 0,4\text{mg/dL}$ com aumento importante de $\geq 0,3\text{mg/dL}$ ) ou oligúria $< 0,3\text{mL/kg/h}$ por >24h ou anúria por >12h ou terapia de reposição renal.	3B	Biomarcador

Figura 7 – Sugestão de nova classificação de IRA – adaptada pelo autor (HUSAIN-SYED *et al.*, 2022).

## 5.9 Quantificação de biomarcadores endoteliais e biomarcadores renais não-convencionais

Foram analisados os biomarcadores VCAM-1, SDC-1, ANG-2 para a avaliação de ativação endotelial. Ademais, os biomarcadores renais não-convencionais NGAL e KIM-1 foram analisados para avaliação de dano renal.

Todos os biomarcadores citados foram quantificados pela técnica de ELISA tipo sanduíche, em alíquotas de soro e/ou urina, neste caso, com a correção da concentração pelos níveis de creatinina urinária (WAIKAR; SABBISSETTI; BONVENTRE, 2010).

Para os ensaios em questão foram utilizados os kits comerciais da marca R&D Systems ® (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), de acordo com o seguinte protocolo:

- 1) Sensibilização: a solução de anticorpos primários, com afinidade pelo epítopo do biomarcador de interesse, foi adicionada a uma microplaca de 96 poços (100 µL/poço), diluída em tampão fosfato-salino (PBS) e na concentração de trabalho determinada pelo kit. Posteriormente, a placa foi incubada “overnight” sob temperatura ambiente e agitação constante.
- 2) Bloqueio: após a sensibilização, a placa foi lavada 3 vezes consecutivas (300 µL/poço) com solução de lavagem (PBS-Tween 20 - 0,1%) objetivando a remoção dos anticorpos excedentes, os quais não se ligaram ao fundo da placa. Os sítios desocupados foram bloqueados com a adição de solução diluente com albumina sérica bovina (PBS-BSA 1%) (300 µL/poço). Após isso, a placa foi novamente incubada sob temperatura ambiente durante 1 hora.
- 3) Adição de amostras e padrões: as alíquotas das amostras dos pacientes foram descongeladas e homogeneizadas em vórtex. Após isso, houve a reconstituição da proteína recombinante, fornecida junto ao kit como amostra padrão, em solução diluente e a partir dela foram preparadas 7 concentrações de trabalho obtidas por diluição em série para elaboração da curva padrão. A solução diluente foi utilizada como branco. Outra etapa de lavagem de 3 ciclos foi realizada. Então, amostras, padrão e diluente foram adicionados à placa (100 µL/poço) e houve incubação novamente sob temperatura ambiente durante 2 horas.
- 4) Detecção: houve mais uma etapa de lavagem (3 ciclos) e, após isso, o anticorpo secundário biotinilado, previamente diluído até a concentração de trabalho especificada no kit, foi adicionado (100 µL/poço). A placa foi incubada em temperatura ambiente por 1 hora e novamente realizada a lavagem (3 ciclos). A enzima peroxidase conjugada

a estreptavidina, previamente diluída, foi adicionada à placa (100 µL/poço) para ligação à biotina do anticorpo secundário, já fixado. Em seguida, a placa foi incubada em temperatura ambiente sob abrigo da luz por 20 minutos até a adição do substrato cromógeno TMB (3,3',5,5'-tetra-metilbenzidina) (100 µL/poço), após lavagem (3 ciclos). A placa foi incubada sob temperatura ambiente por um período de até 30 minutos, ou até a formação de coloração característica.

- 5) Leitura: após a obtenção da coloração próxima ao ponto de saturação, a reação da peroxidase foi interrompida por desnaturação com a adição de solução de ácido sulfúrico 2N (100 µL/poço). Através de leitura em espectrofotômetro, utilizando-se comprimento de onda de 570nm, houve a medição da intensidade da cor gerada. As concentrações das amostras foram calculadas a partir da equação da curva padrão.

### 5.10 Análise estatística

Os dados categóricos foram expressos como frequência de contagem absoluta e porcentagens e comparados usando o teste Qui-quadrado. Todas as variáveis foram testadas para a distribuição normal, usando o teste de Shapiro Wilk. As variáveis distribuídas normalmente ou quase normais foram relatadas como a média  $\pm$  desvio padrão, e para dados não-paramétricos como mediana e amplitude interquartil. O teste t de Student ou o correspondente de Mann-Whitney foram aplicados para comparar as médias ou medianas de variáveis contínuas, respectivamente, de acordo a distribuição dos dados de pacientes com doença de Haff. As correlações entre os biomarcadores renais e os biomarcadores endoteliais apresentadas pelos pacientes com doença de Haff foram avaliadas através do coeficiente Rho de Spearman. Todas as análises foram realizadas por meio de software R-Studio (R Core Team, 2023, pacotes readxl, dplyr, gtsummary, stringr, tidyr, flextable, officer, purrr e ggplot2), adotando como critério de significância: p-valor  $< 0,05$ .

### 5.11 Aspectos éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (Coética) da Universidade de Fortaleza (CAAE – 89582425.6.0000.5052) e foi conduzido de acordo com o que é preconizado pela Resolução nº 466/2012. Os participantes assinaram o TCLE (apêndice A) após prestados os esclarecimentos das informações referentes à pesquisa para que, após isso, as coletas e as análises pudessem ser realizadas. Todas as

informações obtidas foram tratadas com sigilo, assegurando a confidencialidade e o anonimato dos pacientes, e utilizadas apenas no âmbito deste estudo.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Características sociodemográficas e laboratoriais dos pacientes com doença de Haff

No presente estudo foram incluídos 29 pacientes com diagnóstico de DH. Conforme demonstrado pela Tabela 2, destes, a maioria era do sexo masculino (17 pacientes – referente a 59%), enquanto 12 pacientes (41%) do sexo feminino, com idade média de  $42 \pm 11$  anos. Todos os pacientes foram submetidos à internação hospitalar com duração média de  $5 \pm 1$  dia.

Em relação ao perfil laboratorial geral, foi observado que nenhum dos pacientes apresentou alteração nos níveis de plaquetas e amilase. Entretanto, parte deles apresentou alterações em parâmetros como: hemoglobina (24,1%); hematócrito (44,8%) e gama-GT (21,4%). Outros, em sua maioria, demonstraram níveis anormais de leucócitos (51,7%); ALP (53,6%); AST (96,6%) e ALT (89,7%). Alterações em LDH, CK-MB e CK foram identificadas em todos os pacientes avaliados.

No que se refere à função renal, foi verificado que a maioria apresentou níveis elevados de albuminúria (95%), além de alterações em parâmetros como ureia (38,5%) e TFG (40%). Foram analisados também biomarcadores não-convencionais como: KIM-1, com valor médio de 506,3 pg/mgCr e NGAL, com valores médios de 37,3 ng/mgCr (urinário) e 160,3 ng/mL (sérico). Quanto ao perfil endotelial, os seguintes biomarcadores foram mensurados e apresentaram os respectivos valores médios: ANG-2 - 1,0 ng/mL, VCAM-1 - 461,2 ng/mL e SDC-1 - 88,3 ng/mL.

Tabela 2 – Perfil sociodemográfico e laboratorial dos pacientes com doença de Haff

	Pacientes com doença de Haff (n = 29) <sup>1</sup>	Pacientes com alterações laboratoriais (n, %) <sup>2</sup>
<b>Dados laboratoriais e sociodemográficos</b>		
Sexo		
Feminino	12 (41%)	
Masculino	17 (59%)	
Idade (anos)	42,54 ± 11,72	
Tempo de internação (dias)	5,44 ± 1,45	
<b>Parâmetros laboratoriais gerais</b>		
Hemoglobina (g/dL)	14,9 (13,9–15,8)	7 (24,1%)
Hematócrito (%)	44,8 (42,0–47,9)	13 (44,8%)
Leucócitos (x10 <sup>3</sup> /µL)	11.712,5 (9.280,0–13.407,5)	15 (51,7%)
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /µL)	264.400,0 (222.250,0–287.600,0)	0 (0%)
LDH (U/L)	624,8 (463,0–1.056,7)	21 (100%)
ALP (U/L)	77,0 (43,5–157,4)	15 (53,6%)
Gama-GT (U/L)	32,3 (25,5–45,2)	6 (21,4%)
Amilase (U/L)	62,1 (51,8–66,3)	0 (0%)
AST (U/L)	135,6 (79,0–167,1)	28 (96,6%)
ALT (U/L)	131,0 (99,4–173,4)	26 (89,7%)
CK-MB (U/L)	283,9 (126,8–662,1)	29 (100%)
CK (U/L)	3.960,4 (2.816,5–4.776,6)	27 (100%)
<b>Parâmetros de função renal</b>		
Creatinina sérica (mg/dL)	0,60 (0,60–0,70)	2 (7,4%)
Albuminúria (mg/mgCr)	173,6 (89,2–757,2)	19 (95%)
Ureia (mg/dL)	18,7 (14,4–23,4)	5 (38,5%)
TFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	117,8 (114,0–128,3)	10 (40%)
KIM-1 (pg/mgCr)	506,3 (281,1–1.560,4)	
uNGAL (ng/mgCr)	37,3 (11,2–166,8)	
sNGAL (ng/mL)	160,3 (137,6–183,9)	
<b>Parâmetros de função endotelial</b>		
ANG-2 (ng/mL)	1,0 (0,5–17)	
VCAM-1 (ng/mL)	461,2 (311,3–625,3)	
SDC-1 (ng/mL)	88,3 (10,1–113,5)	

<sup>1</sup> Dados contínuos apresentados como mediana (intervalo interquartil) ou como média ± desvio padrão e dados categóricos apresentados como valor absoluto (percentual). <sup>2</sup> Dados apresentados como valor absoluto (percentual). LDH: lactato desidrogenase; ALP: fosfatase alcalina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; CK: creatinoquinase; CK-MB: creatinoquinase - isoenzima MB; TFG: taxa de filtração glomerular; KIM-1: molécula de injúria renal; uNGAL: NGAL urinária; sNGAL: NGAL sérica; ANG-2: angiopoietina-2; VCAM-1: molécula de adesão celular vascular; SDC-1: syndecan-1.

## **6.2 Perfil sociodemográfico e laboratorial de acordo com a incidência de Injúria Renal Aguda (IRA)**

É possível observar na Tabela 3, uma comparação entre os dois grupos de pacientes que foi definido nesse estudo: aqueles que não apresentaram IRA durante o período de internação e os que apresentaram IRA, durante esse mesmo período. Não houve diferença significativa entre os pacientes do sexo feminino e do sexo masculino ( $p$ -valor =  $> 0,9$ ), nem no período de internação dos dois grupos estudados ( $p$ -valor = 0,4), tampouco no perfil laboratorial.

Tabela 3 – Perfil sociodemográfico laboratorial de acordo com incidência de Injúria Renal Aguda (IRA)

	Sem IRA N = 11 <sup>1</sup>	Com IRA N = 18 <sup>1</sup>	p-valor <sup>2</sup>			
Sexo	>0,9					
Feminino	5 (45%)	7 (39%)				
Masculino	6 (55%)	11 (61%)				
Idade (anos)	47,0 ± 10,9	39,6 ± 11,6	0,082			
Dias de internação	5,7 ± 1,7	5,3 ± 1,3	0,4			
	Valores médios	Valores máximos	Valores médios	Valores máximos	p-valor <sup>3</sup>	p-valor <sup>4</sup>
Hemoglobina (g/dL)	15,1 (15,0–15,9)	16,2 (15,3–16,6)	14,3 (13,6–15,8)	15,8 (14,3–17,3)	0,2	0,9
Hematócrito (%)	47,8 (43,3–49,8)	48,8 (43,3–51,4)	42,9 (41,2–46,6)	47,5 (44,2–50,4)	0,2	0,7
Leucócitos (/mm <sup>3</sup> )	13.134,0 (11.712,5–17.802,0)	18.970,0 (16.580,0–21.520,0)	10.218,3 (8.318,0–13.202,5)	15.580,0 (11.960,0–19.420,0)	0,068	0,15
Plaquetas (/mm <sup>3</sup> )	270.500,0 (206.750,0–315.200,0)	301.000,0 (240.000,0–364.000,0)	260.916,7 (222.250,0–287.600,0)	315.000,0 (268.000,0–372.000,0)	0,9	0,6
LDH (U/L)	583,1 (434,1–1.227,5)	878,5 (610,5–1.229,9)	765,0 (592,8–1.056,7)	799,7 (638,9–1.059,0)	0,8	0,7
ALP (U/L)	69,2 (37,8–149,3)	75,9 (37,8–174,4)	85,5 (48,5–165,6)	89,1 (48,5–187,3)	0,7	0,8
Gama-GT (U/L)	33,7 (21,9–43,7)	37,9 (23,7–50,6)	31,8 (27,0–46,7)	33,0 (28,4–50,0)	0,9	0,9
Amilase (U/L)	54,0 (51,2–66,3)	61,4 (52,5–72,9)	63,9 (56,0–68,9)	67,3 (65,0–75,1)	0,3	0,3
AST (U/L)	142,4 (91,7–280,7)	203,0 (159,9–328,0)	112,6 (60,6–167,1)	211,5 (122,5–259,0)	0,2	0,7
ALT (U/L)	156,8 (120,2–178,4)	169,0 (161,6–239,0)	108,3 (78,0–161,7)	154,9 (100,0–208,3)	0,092	0,3
CK-MB (U/L)	395,7 (210,7–820,7)	871,0 (387,7–1.504,0)	220,9 (76,3–367,8)	452,6 (166,3–1.161,6)	0,2	0,5
CK (U/L)	4.215,1	7.357,9	3.196,9	5.999,7	0,13	0,2

Sem IRA N = 11 <sup>1</sup>	Com IRA N = 18 <sup>1</sup>	p-valor <sup>2</sup>
(3.322,6–4.783,7)	(7.071,2–8.019,7)	(2.473,5–4.252,8)

<sup>1</sup> Dados contínuos apresentados como mediana (intervalo interquartil) ou como média ± desvio padrão e dados categóricos apresentados como valor absoluto (percentual). <sup>2</sup> Teste Qui Quadrado ou Mann-Whitney. <sup>3</sup> Teste Mann-Whitney em relação aos valores médios de “Sem IRA” e “Com IRA”. 4 Teste Mann-Whitney em relação aos valores máximos de “Sem IRA” e “Com IRA”. LDH: lactato desidrogenase; ALP: fosfatase alcalina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; CK: creatinoquinase; CK-MB: creatinoquinase - isoenzima MB.

### 6.3 Comparação de biomarcadores renais e endoteliais em pacientes com doença de Haff de acordo com a incidência de IRA

Na tabela 4, foi observado que o biomarcador não-convencional de lesão renal, KIM-1, apresentou valor mais elevado em pacientes sem IRA do que em pacientes com IRA ( $p$ -valor = 0,02). Além disso, foi verificado que os valores de albuminúria também estavam mais elevados no mesmo grupo de pacientes ( $p$ -valor = 0,006).

Tabela 4 – Biomarcadores renais e endoteliais não convencionais de acordo com a incidência de Injúria Renal Aguda (IRA)

	Sem IRA N = 11 <sup>1</sup>	Com IRA N = 18 <sup>1</sup>	p-valor <sup>2</sup>
KIM-1 (pg/mgCr)	2.385 (543–7.995)	397 (214–728)	<b>0,020</b>
uNGAL (ng/mgCr)	37 (13–278)	37 (13–149)	0,8
sNGAL (ng/mL)	160 (155–192)	160 (150–167)	0,5
CK (U/L)	8.077 (4.453–20.423)	14.106 (5.024–21.753)	0,7
Creatinina sérica (mg/dL)	0,60 (0,60–0,70)	0,60 (0,60–0,70)	0,8
Albuminúria (mg/mgCr)	757 (274–1.041)	117 (74–181)	<b>0,006</b>
Ureia (mg/dL)	18,7 (14,4–19,1)	18,7 (18,7–18,7)	>0,9
TFG (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	118 (106–126)	118 (115–130)	0,3
ANG-2 (ng/mL)	1,00 (0,70–1,14)	1,15 (0,56–1,77)	0,4
VCAM-1 (ng/mL)	461 (431–785)	458 (314–555)	0,3
SDC-1 (ng/mL)	88 (85–97)	88 (9–109)	>0,9

<sup>1</sup> Dados contínuos apresentados como mediana (intervalo interquartil). <sup>2</sup> Teste de Mann-Whitney. TFG: taxa de filtração glomerular; KIM-1: molécula de injúria renal; uNGAL: NGAL urinária; sNGAL: NGAL sérica; CK: creatinoquinase; ANG-2: angiopoietina-2; VCAM-1: molécula de adesão celular vascular; SDC-1: syndecan-1.

## 6.4 Correlação entre a creatinoquinase e os parâmetros laboratoriais

Foi verificado na Tabela 5, que houve uma correlação positiva entre os valores de CK e os valores das enzimas AST (Rho = 0,4 / p-valor = 0,04) e ALT (Rho = 0,53 / p-valor = 0,005), conforme demonstrados nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Entretanto, não foi observada correlação significativa com biomarcadores renais convencionais e não-convencionais, nem com biomarcadores endoteliais.

Tabela 5 – Correlação de Spearman entre Creatinoquinase (CK) e parâmetros laboratoriais

	Rho	p-valor
<b>Parâmetros renais</b>		
KIM-1 (pg/mg-Cr)	0.12	0.627
uNGAL (ng/mg-Cr)	0.06	0.784
sNGAL (ng/mL)	0.10	0.694
Creatinina sérica (mg/dL)	-0.20	0.470
Albuminúria (mg/g-Cr)	0.11	0.647
Ureia (mg/dL)	-0.07	0.829
TFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0.25	0.391
<b>Parâmetros endoteliais</b>		
ANG-2 (ng/mL)	0.34	0.122
VCAM-1 (ng/mL)	0.15	0.506
SDC-1 (ng/mL)	0.35	0.124
<b>Parâmetros hepáticos e pancreáticos</b>		
LDH (U/L)	0.11	0.636
ALP (U/L)	-0.01	0.959
GAMA-GT (U/L)	0.24	0.247
Amilase (U/L)	-0.33	0.146
AST (U/L)	0.40	<b>0.040</b>
ALT (U/L)	0.53	<b>0.005</b>
<b>Creatinoquinase cardíaca</b>		
CK-MB (U/L)	0.25	0.205

LDH: lactato desidrogenase; ALP: fosfatase alcalina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; CK: creatinoquinase; CK-MB: creatinoquinase - isoenzima MB; TFG: taxa de filtração glomerular; KIM-1: molécula de injúria renal; uNGAL: NGAL urinária; sNGAL: NGAL sérica; ANG-2: angiopoietina-2; VCAM-1: molécula de adesão celular vascular; SDC-1: syndecan-1.

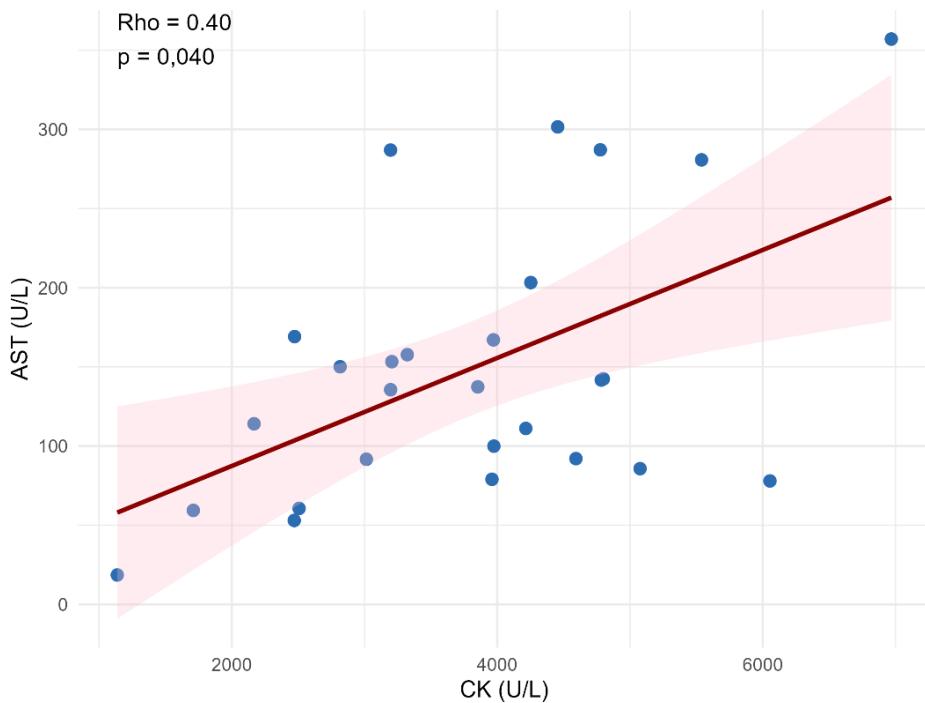


Figura 8 – Gráfico de dispersão correlacionando CK e AST.

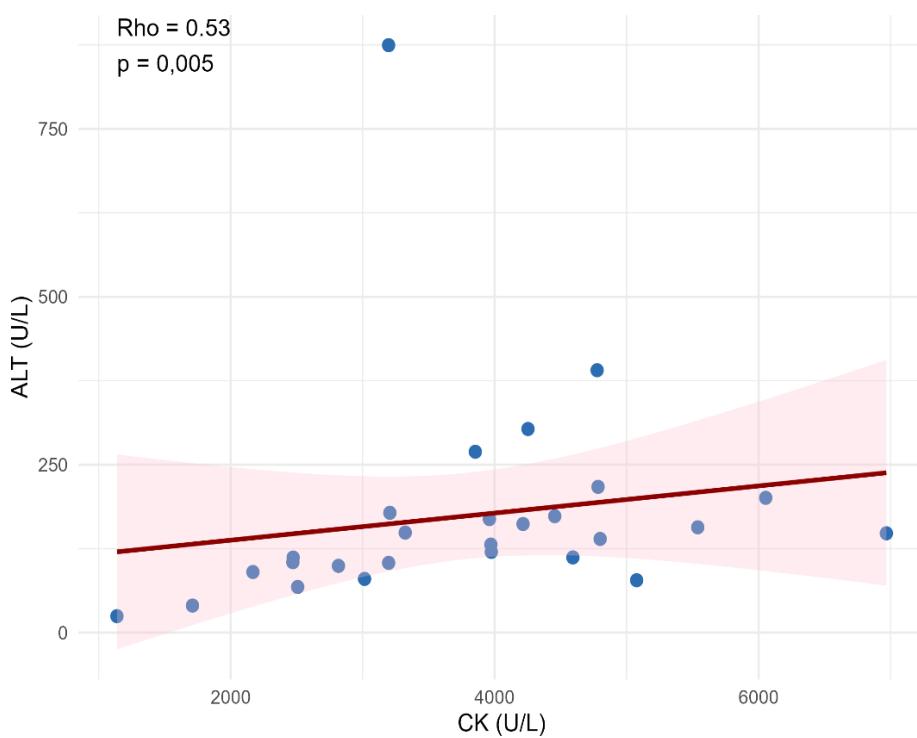


Figura 9 – Gráfico de dispersão correlacionando CK e ALT.

## 6.5 Correlação entre os parâmetros laboratoriais e os biomarcadores em pacientes com doença de Haff na ausência e presença de IRA

Na Tabela 6, é observada uma correlação positiva, nos pacientes sem IRA, entre os valores máximos de CK e de KIM-1 (Rho = 0,74 / p-valor = 0,015) (Figura 10). Além disso, foi verificada uma correlação positiva entre AST e TFG (Rho = 0,75 / p-valor = 0,007) (Figura 11). E adicionalmente, uma correlação negativa entre VCAM-1 e TFG (Rho = -0,83 / p-valor = 0,001) (Figura 12).

Tabela 6 – Correlações de parâmetros laboratoriais e biomarcadores entre pacientes com doença de Haff sem Injúria Renal Aguda (IRA)

	Correlação com CK (média)		Correlação com CK (máximo)		Correlação com TFG	
	Rho	p-valor	Rho	p-valor	Rho	p-valor
KIM-1 (pg/mgCr)	0,02	0,959	0,74	<b>0,015</b>	0,10	0,759
uNGAL (ng/mgCr)	0,32	0,364	-0,29	0,424	0,29	0,381
sNGAL (ng/mL)	-0,19	0,599	0,09	0,800	0,27	0,414
Creatinina sérica (mg/dL)	-0,54	0,132	-0,16	0,689	-0,07	0,851
Albuminúria (mg/mgCr)	0,43	0,397	0,66	0,156	-0,31	0,544
Ureia (mg/dL)	-0,28	0,437	-0,51	0,131	-0,12	0,717
TFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	0,30	0,405	-0,39	0,260	-	-
ANG-2 (ng/mL)	-0,10	0,789	0,13	0,725	-0,52	0,099
VCAM-1 (ng/mL)	-0,26	0,471	0,44	0,200	-0,83	<b>0,001</b>
SDC-1 (ng/mL)	0,07	0,853	-0,26	0,461	-0,36	0,280
LDH (U/L)	-0,46	0,294	0,54	0,215	-0,36	0,432
ALP (U/L)	0,05	0,881	-0,36	0,310	0,38	0,247
Gama-GT (U/L)	0,60	0,067	-0,24	0,511	0,12	0,729
Amilase (U/L)	-0,52	0,154	-0,27	0,488	0,41	0,244
AST (U/L)	0,38	0,276	0,12	0,751	0,75	<b>0,007</b>
ALT (U/L)	0,26	0,467	-0,08	0,829	0,16	0,631
CK-MB (U/L)	-0,10	0,777	-0,58	0,082	-0,21	0,537

LDH: lactato desidrogenase; ALP: fosfatase alcalina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; CK: creatinoquinase; CK-MB: creatinoquinase - isoenzima MB; TFG: taxa de filtração glomerular; KIM-1: molécula de injúria renal; uNGAL: NGAL urinária; sNGAL: NGAL sérica; ANG-2: angiopoietina-2; VCAM-1: molécula de adesão celular vascular; SDC-1: syndecan-1.

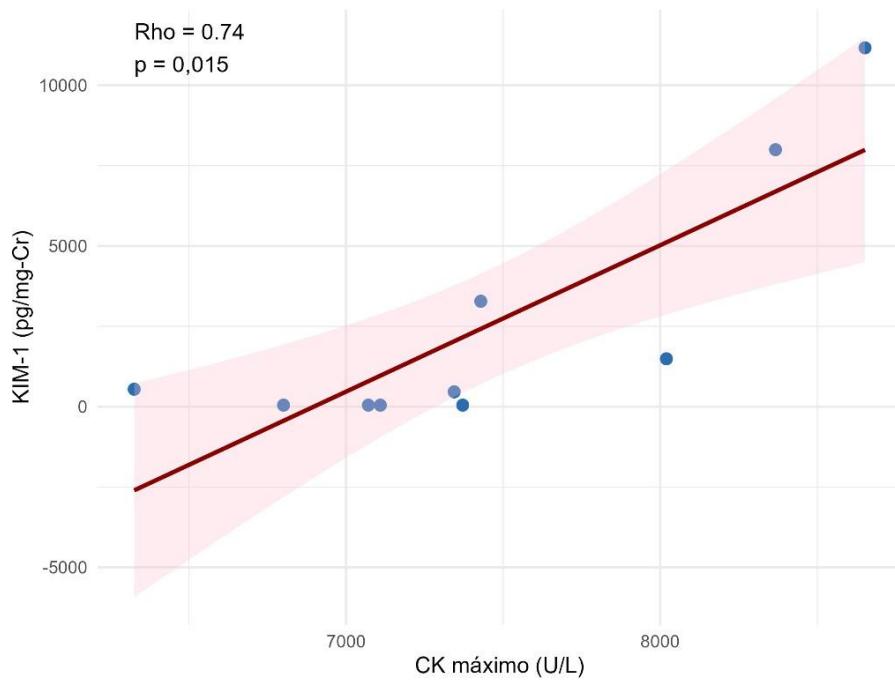


Figura 10 – Gráfico de dispersão correlacionando CK máxima e KIM-1.

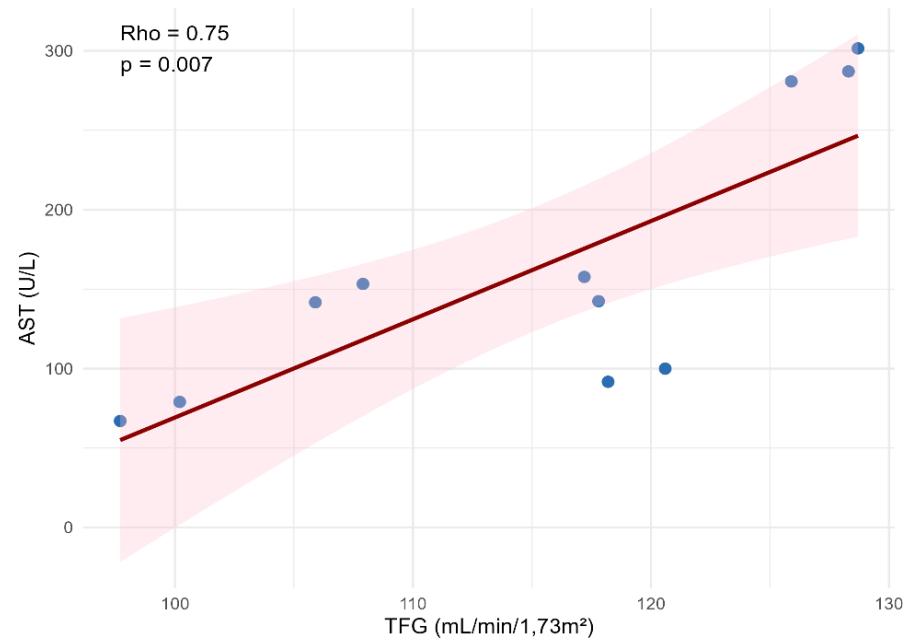


Figura 11 – Gráfico de dispersão correlacionando AST e TFG.

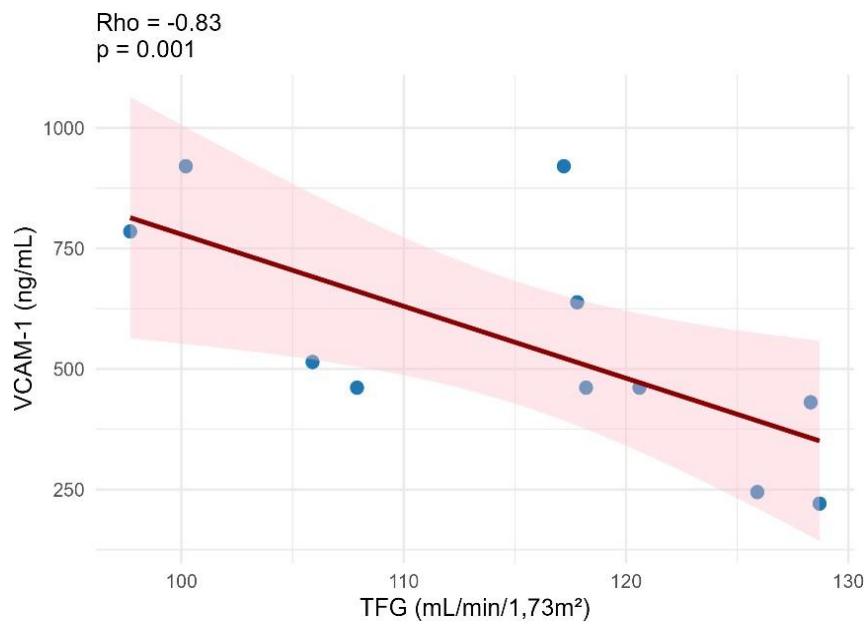


Figura 12 – Gráfico de dispersão correlacionando VCAM-1 e TFG.

Na tabela 7, foi observada, em pacientes com IRA, uma correlação negativa entre os valores médios de CK e de TFG ( $\text{Rho} = -0,55$  /  $\text{p-valor} = 0,021$ ) (Figura 13). Adicionalmente, foi verificada uma correlação positiva entre os valores médios de CK e de ANG-2 ( $\text{Rho} = 0,49$  /  $\text{p-valor} = 0,046$ ) (Figura 14), bem como entre os valores médios de CK e ALT ( $\text{Rho} = 0,59$  /  $\text{p-valor} = 0,012$ ) (Figura 15). Também foi identificada correlação positiva entre os valores máximos de CK e de CK-MB ( $\text{Rho} = 0,68$  /  $\text{p-valor} = 0,002$ ) (Figura 16) e entre os valores máximos de CK e ALT ( $\text{Rho} = 0,75$  /  $\text{p-valor} = <0,001$ ) (Figura 17). Por fim, uma correlação negativa entre TFG e os valores de AST ( $\text{Rho} = -0,48$  /  $\text{p-valor} = 0,043$ ) (Figura 18) também foi constatada.

Tabela 7 – Correlações de parâmetros laboratoriais e biomarcadores entre pacientes com doença de Haff com Injúria Renal Aguda (IRA)

	Correlação com CK (média)		Correlação com CK (máximo)		Correlação com TFG	
	Rho	p-valor	Rho	p-valor	Rho	p-valor
KIM-1 (pg/mgCr)	-0,08	0,763	0,12	0,623	0,22	0,377
uNGAL (ng/mgCr)	-0,06	0,825	0,18	0,481	0,09	0,710
sNGAL (ng/mL)	0,00	0,992	0,08	0,758	0,18	0,483
Creatinina sérica (mg/dL)	-0,01	0,979	-0,25	0,340	-0,35	0,165
Albuminúria (mg/mgCr)	-0,16	0,590	0,27	0,350	-0,27	0,353
Ureia (mg/dL)	0,21	0,427	0,05	0,843	-0,31	0,216
TFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0,55	<b>0,021</b>	-0,39	0,110	-	-
ANG-2 (ng/mL)	0,49	<b>0,046</b>	0,12	0,630	-0,17	0,504
VCAM-1 (ng/mL)	0,33	0,198	0,01	0,981	-0,07	0,769
SDC-1 (ng/mL)	0,33	0,201	0,25	0,326	-0,28	0,261
LDH (U/L)	0,34	0,263	0,17	0,563	-0,31	0,273
ALP (U/L)	-0,06	0,837	-0,09	0,736	-0,06	0,826
Gama-GT (U/L)	0,00	0,991	0,04	0,881	0,01	0,978
Amilase (U/L)	-0,19	0,557	0,31	0,331	0,18	0,570
AST (U/L)	0,40	0,115	0,38	0,117	-0,48	<b>0,043</b>
ALT (U/L)	0,59	<b>0,012</b>	0,75	<b>&lt;0,001</b>	-0,24	0,346
CK-MB (U/L)	0,43	0,088	0,68	<b>0,002</b>	-0,32	0,190

LDH: lactato desidrogenase; ALP: fosfatase alcalina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; CK: creatinoquinase; CK-MB: creatinoquinase - isoenzima MB; TFG: taxa de filtração glomerular; KIM-1: molécula de injúria renal; uNGAL: NGAL urinária; sNGAL: NGAL sérica; ANG-2: angiopoietina-2; VCAM-1: molécula de adesão celular vascular; SDC-1: syndecan-1.

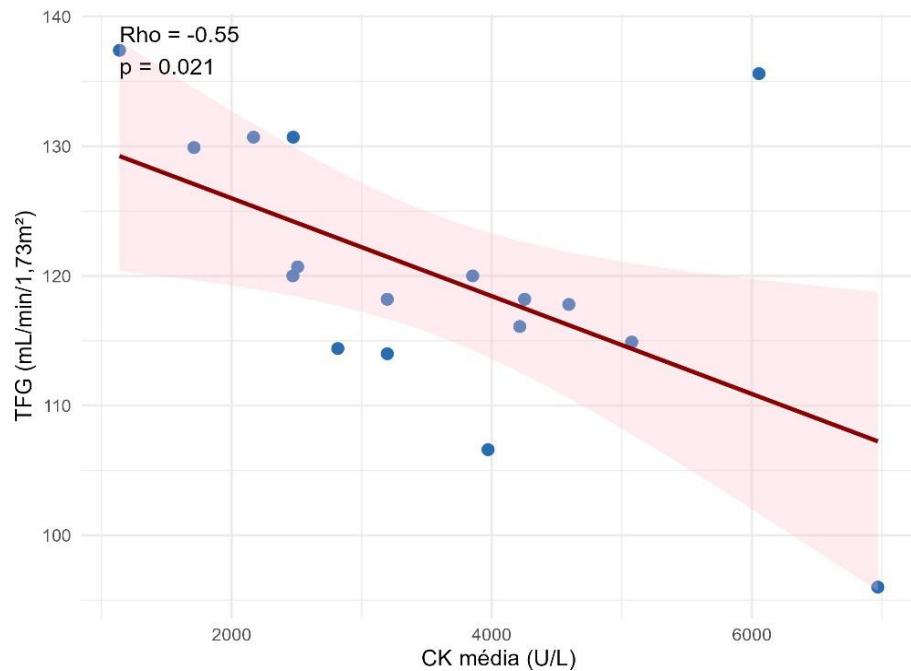


Figura 13 – Gráfico de dispersão correlacionando CK média e TFG.

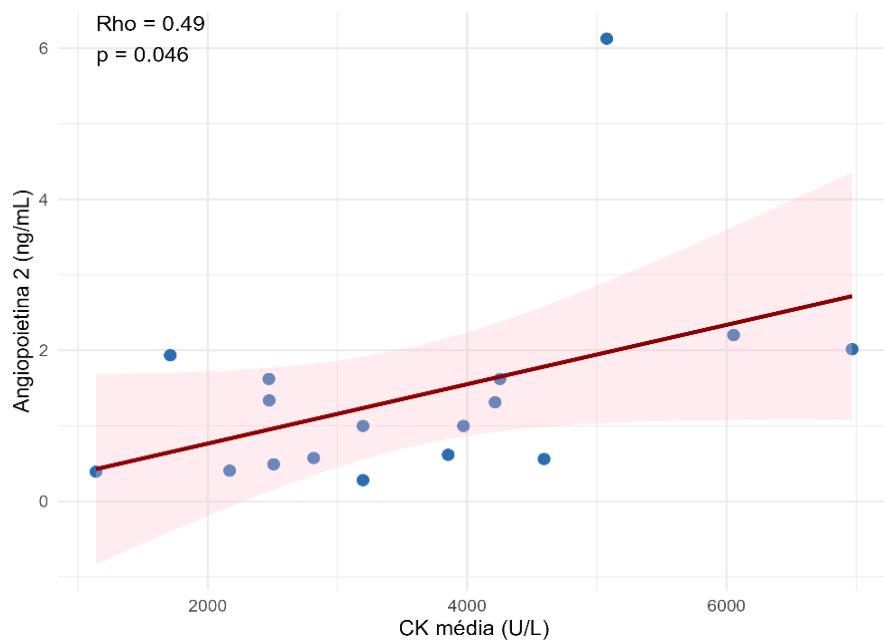


Figura 14 – Gráfico de dispersão correlacionando CK média e ANG-2.

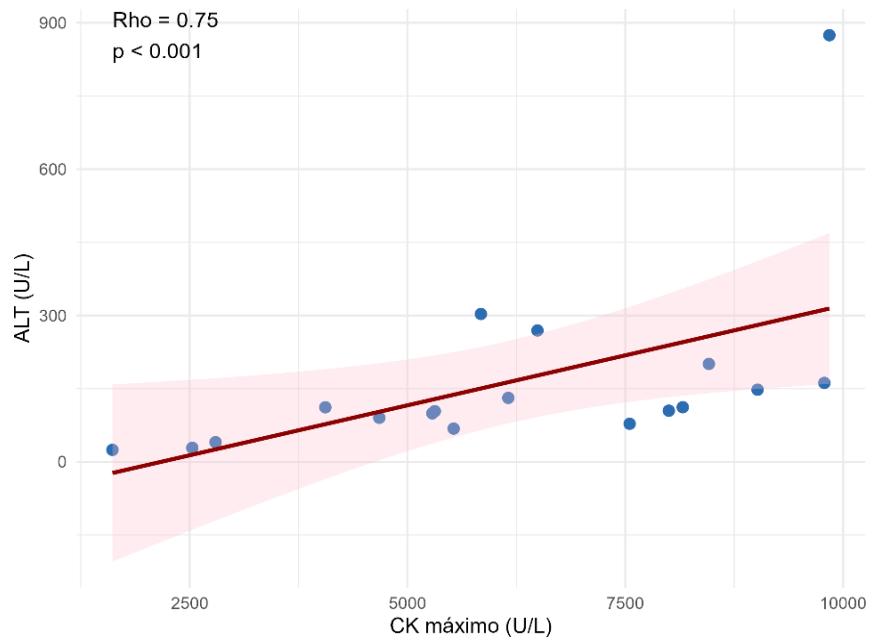


Figura 15 – Gráfico de dispersão correlacionando CK máxima e ALT.

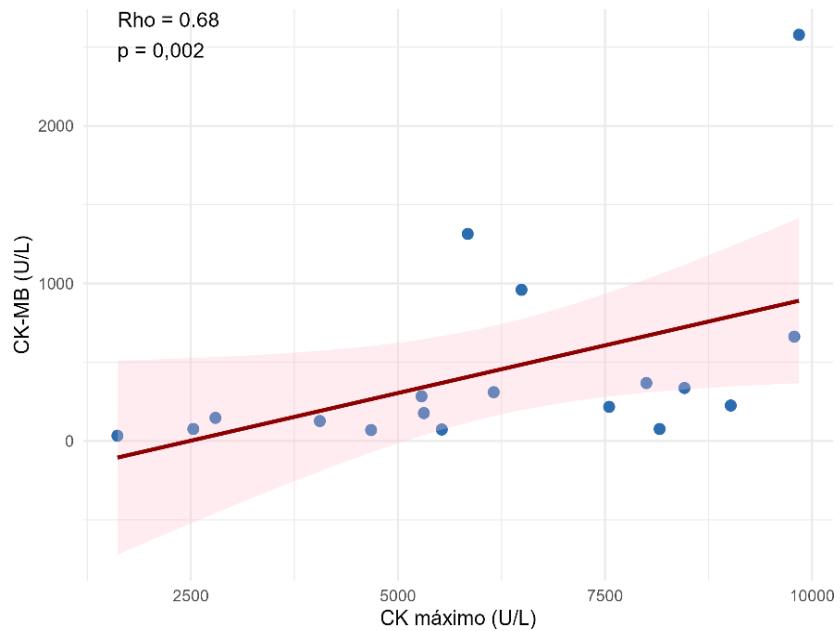


Figura 16 – Gráfico de dispersão correlacionando CK máxima e CK-MB.

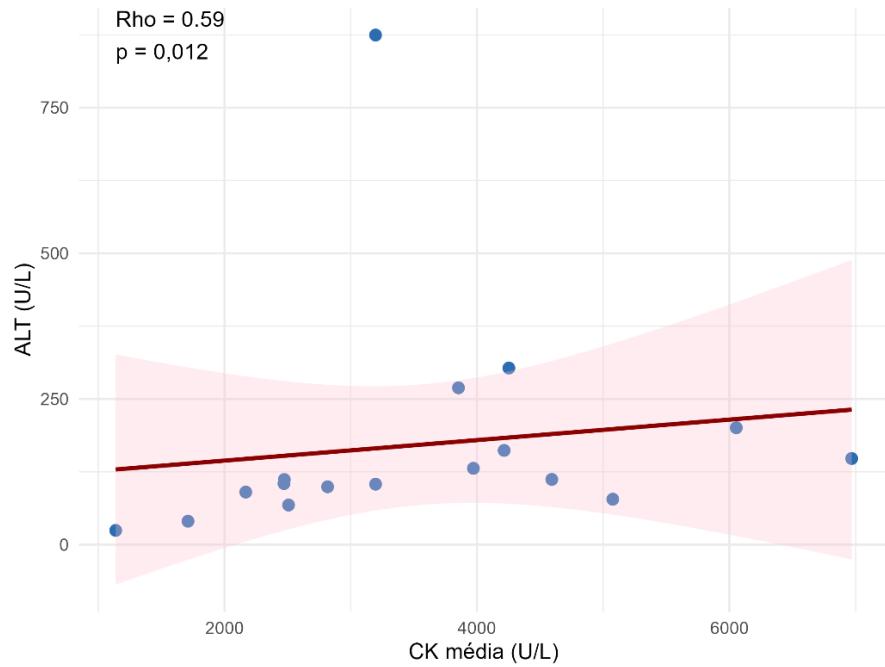


Figura 17 – Gráfico de dispersão correlacionando CK média e ALT.

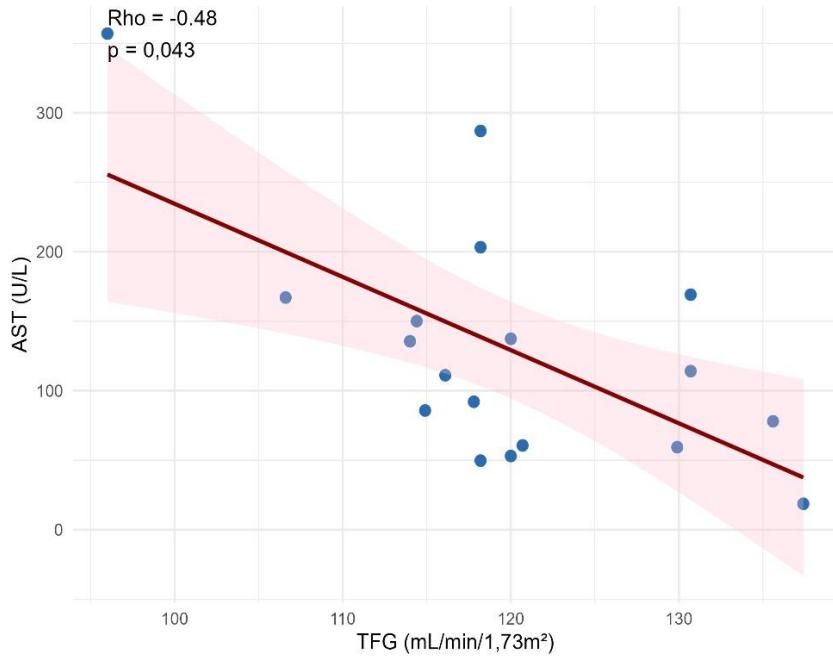


Figura 18 – Gráfico de dispersão correlacionando AST e TFG.

## 6.6 Nova classificação de IRA

De acordo com a nova sugestão para classificação de IRA, 24 pacientes foram enquadrados no primeiro estágio de injúria renal (subclínica/subfuncional). Dessa forma, 6 pacientes migraram do grupo “sem IRA”, conforme KDIGO (2012), para a classificação de “injúria renal subclínica”, de acordo HUSAIN-SYED *et al.* (2022), como demonstrado nos gráficos abaixo (Figuras 19, 20 e 21).

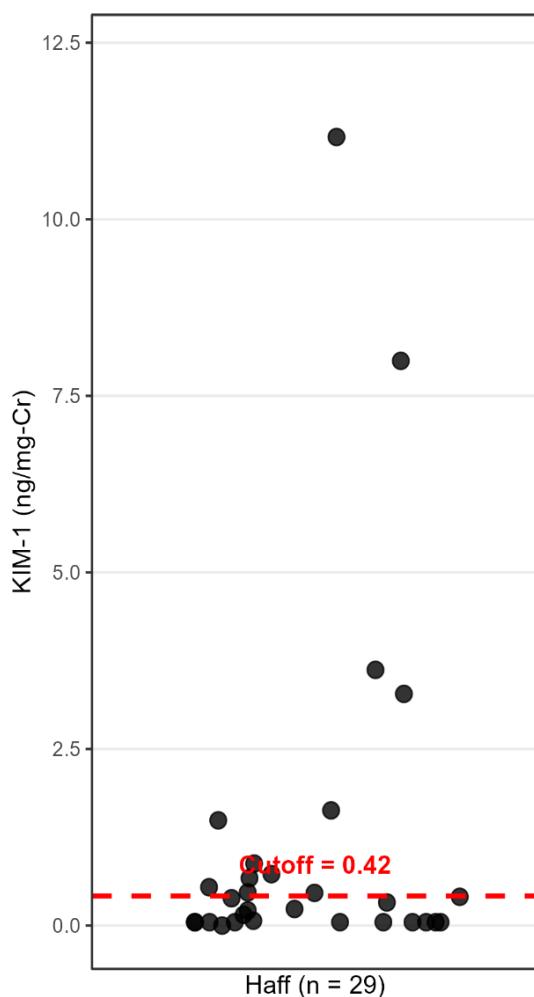


Figura 19 – Gráfico de dispersão KIM-1.

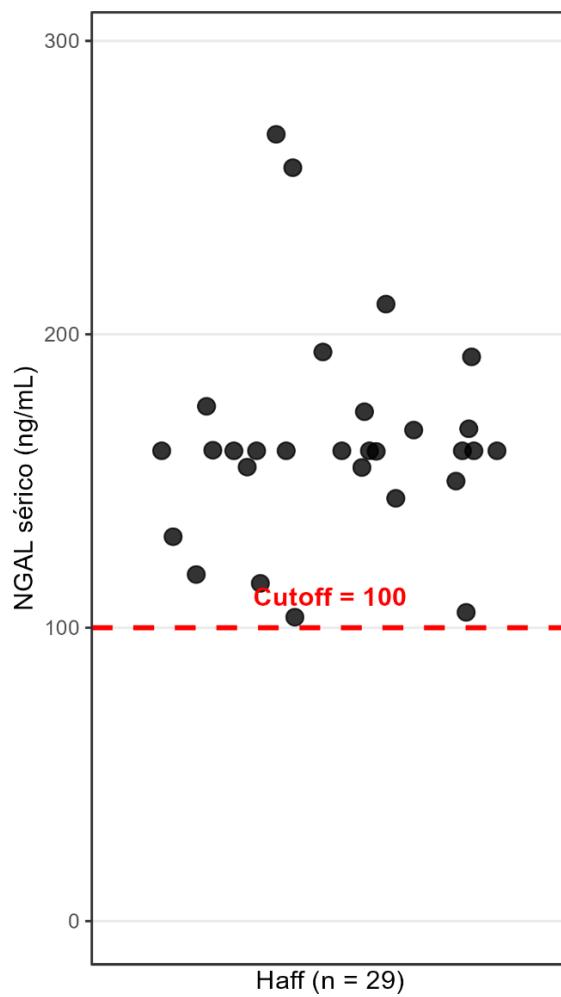


Figura 20 – Gráfico de dispersão sNGAL.

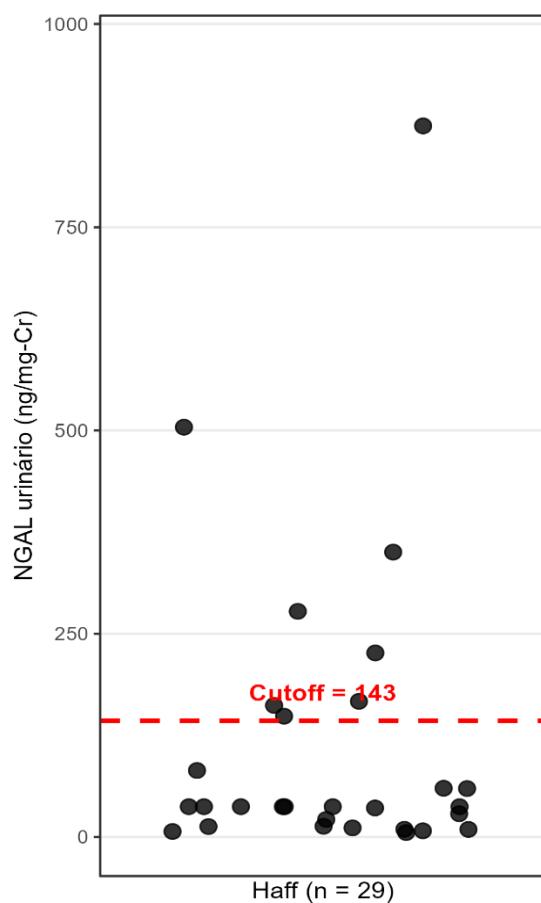


Figura 21 – Gráfico de dispersão uNGAL.

## 7. DISCUSSÃO

No presente estudo, foi investigado o comportamento de novos biomarcadores renais e endoteliais em pacientes acometidos pela doença de Haff, com ênfase no possível desenvolvimento de Injúria Renal Aguda. Parâmetros laboratoriais e biomarcadores foram correlacionados entre pacientes sem IRA e com IRA, classificados de acordo com os critérios estabelecidos pelo KDIGO (2012), considerando que essa complicaçāo pode prolongar o tempo de internação hospitalar e, consequentemente, aumentar os custos para o sistema de saúde; adicionalmente foi realizada a classificação de acordo com nova sugestāo realizada por HUSAIN-SYED *et al.* (2022). Além disso, foram analisadas correlaçāes entre biomarcadores e parâmetros laboratoriais com a TFG e com a enzima CK, cuja elevaçāo caracteriza o quadro de rabdomiólise.

A análise do perfil sociodemográfico dos pacientes estudados com DH revelou discreta predominância do sexo masculino, achado compatível com os dados epidemiológicos pelo Ministério da Saúde, através do Boletim Epidemiológico - volume 55 – nº 16 (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2024). A idade média dos pacientes foi em torno de 42 anos, condizente com a literatura, que descreve maior acometimento entre adultos jovens (AZEVEDO *et al.*, 2025).

O grupo de pacientes estudado foi submetido à internação hospitalar em média de 5±1 dia, tempo semelhante a dados divulgados de um surto da doença ocorrido na China em 2016, que mostrou que o tempo médio de internação de 197 pacientes com DH foi de 7,3 dias (MA *et al.*, 2020). Vários surtos de doenças causadas por alimentos, ocorridos nos anos entre 2018 e 2020, levaram vários pacientes à internação e duraram em torno de 2 a 5 dias (YANG *et al.*, 2025). Adicionalmente, de acordo com Serfaty *et al* (2024), o período médio de internação de pacientes acometidos com DH foi em torno de 3 a 8 dias.

Enzimas como AST e ALT são comumente relatadas como alteradas em pacientes com DH. De acordo com Lv *et al.* (2020), todos os pacientes que foram tratados com carvão ativado e manitol, após a contaminação por pescado, apresentaram níveis de AST e ALT mais baixos do que aqueles que não receberam o mesmo tipo de tratamento. Da mesma forma, foi demonstrado no grupo de pacientes do estudo em questão, alteraçāo dessas transaminases em quase todos os casos. Apesar destas enzimas estarem presentes nos hepatócitos e serem marcadores de possível inflamação hepática, elas também estão presentes em outros órgãos, como no músculo esquelético, coração e rins, por exemplo. Dessa forma, em situaçāes como a rabdomiólise, a elevaçāo dos níveis de AST e ALT,

associada a níveis também elevados de CK é utilizada como biomarcador relacionado à injúria muscular ocorrida (JO *et al.*, 2019).

Os níveis elevados de CK nos pacientes em estudo, comprovam a rabdomiólise (5x ou mais comparada ao valor de referência) e, associada a outros fatores como a mioglobinúria, classifica os pacientes com DH. Isso se dá, pois essa proteína intracelular é liberada para o meio extracelular após a ocorrência da injúria muscular (VANGSTAD; BJORNAAS; JACOBSEN, 2017; WEIBRECHT *et al.*, 2010). A CK-MB é uma isoenzima da CK responsável pela produção de energia nos músculos. Pode-se observar que houve alteração em todos os pacientes mensurados, da mesma forma que ocorreu com os níveis de CK. Esse padrão é o mesmo ocorrido em outros estudos, como na análise retrospectiva sobre DH realizada em 2019, na qual a fração MB se elevou proporcionalmente ao nível de CK nos pacientes com rabdomiólise (HUANG *et al.*, 2019).

Conforme Wu; Zhou; Gu (2019), pacientes com DH, diagnosticados após o consumo de lagostim, apresentaram níveis elevados de LDH, da mesma forma como foi demonstrada na pesquisa em questão, na qual todos os pacientes estudados tiveram alterações dessa enzima. A LDH está presente em quase todos os tecidos do organismo e é liberada do meio intracelular em situações de destruição celular, aumentando seus níveis na circulação. Outros parâmetros como albuminúria também se apresentaram elevados em praticamente todos os pacientes, sendo um marcador da integridade glomerular. Possivelmente, pode-se inferir que há algum grau de lesão glomerular ou que o glomérulo esteja com a sua permeabilidade aumentada, favorecendo uma melhor compreensão da fisiopatologia da IRA nesses casos (HAIDER; ASLAM, 2023).

Em relação aos biomarcadores renais não-convencionais mensurados no grupo estudado, foi verificado que os valores médios de KIM-1 estavam dentro do intervalo apresentado por pacientes saudáveis, considerando-se valores declarados em estudos anteriores (0,007 – 0,988 ng/mg-Cr) (CHATURVEDI; FARMER; KAPKE, 2009). Contudo, alguns pacientes apresentaram níveis acima desse intervalo. Em relação ao uNGAL, considerando-se um estudo realizado com 1000 pacientes, sem doença renal conhecida, o qual demonstrou que o intervalo de valores desse biomarcador nesses pacientes estava entre 41,0 e 77,6 ng/mg-Cr, podemos verificar que alguns pacientes do estudo apresentaram, em média, valores abaixo dessa faixa, entretanto alguns apresentaram valores aumentados desse biomarcador (TOMONAGA *et al.*, 2012). Foi realizado um estudo multicêntrico na França que avaliou pacientes com rabdomiólise e

detectou valores de sNGAL, no momento da admissão,  $\geq 129$  ng/mL e essa condição previa a evolução para IRA dentro de um prazo de 48 horas (POMMET *et al.*, 2024). Apesar de esse valor de corte não representar um valor de referência, foi observado que, no grupo de pacientes com DH, os valores de sNGAL estão acima desse valor descrito anteriormente, podendo revelar tendência a um desfecho renal insatisfatório.

Considerando-se os níveis de ANG-2 apresentados pelos pacientes do estudo e comparando-os com um grupo controle saudável descrito na literatura ( $1,38 \pm 0,14$  ng/mL) foi possível verificar que, a média obtida estava um pouco abaixo da média descrita. Entretanto, houve uma grande variação dos resultados, acima e abaixo dos valores limítrofes da faixa (MAKOWSKA *et al.*, 2016). Em relação aos níveis de VCAM-1, considerando-se um grupo controle saudável com 223 pacientes apresentando média de valores desse biomarcador de  $631,5 \pm 127,8$  ng/mL, pode-se considerar que os pacientes do estudo apresentaram valores dentro da média descrita (ZHANG; MAO, 2020). Finalmente, em relação aos valores de SDC-1 obtidos nesse estudo, levando-se em consideração o intervalo de valores de estudo anterior realizado com grupo de pacientes saudáveis ( $13,7 - 27,3$  ng/mL), os pacientes do estudo em questão apresentaram valores médios acima deste intervalo (ODA *et al.*, 2019).

Foi avaliado ainda o perfil sociodemográfico e laboratorial, dividindo-se os pacientes em dois grupos: os que apresentaram IRA e os que não apresentaram IRA, conforme os critérios do KDIGO (2012). É possível perceber que não houve diferença significativa entre os dois grupos, nem entre os valores médios, nem entre os valores máximos dos parâmetros avaliados.

KIM-1 é um biomarcador importante de lesão em células tubulares renais e ainda não havia sido verificada sua expressão na rabdomiólise, no contexto da DH. Nesse estudo, foi demonstrado que a sua quantificação apresentou níveis bem mais elevados no grupo de pacientes sem IRA, quando comparado ao grupo de pacientes com IRA. Apesar de parecer contraditório inicialmente, podemos considerar que durante a rabdomiólise ocorre a liberação de mioglobina. Esta, por sua vez, pode ocasionar nefrotoxicidade direta nas células tubulares renais, mesmo antes do estabelecimento da IRA e que o aumento do biomarcador tem sido verificado em situações como toxicidade, hipóxia e isquemia (HEBERT *et al.*, 2022; WAJDA *et al.*, 2020). Adicionalmente, KIM-1 é um biomarcador de lesão tubular mais precoce, podendo se manifestar de forma anterior às alterações de creatinina, necessárias para categorizar o paciente com IRA. Isso também fortalece a hipótese de que pacientes com quadro de rabdomiólise podem apresentar alteração de

KIM-1, demonstrando lesão tubular, mesmo sem IRA, quando a classificação ocorre pelos critérios usuais, devido ao fato de os marcadores mais convencionais sofrerem alteração apenas de forma mais tardia (WADJA *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2025). A adição deste marcador poderia, portanto, modificar a conduta dos profissionais e manejo clínico desses pacientes e evitar maiores danos renais aos pacientes acometidos com DH.

Em relação à albuminúria, houve o mesmo padrão de KIM-1: os níveis mais elevados estavam presentes em pacientes sem IRA. Esse marcador é importante na verificação da integridade de estruturas renais. Considerando-se que, durante a abdomiólise, há grande quantidade de mioglobina sendo liberada do músculo e que esta será filtrada pelo glomérulo, é possível haver toxicidade direta nessa estrutura (PLOTNIKOV *et al.*, 2009). De acordo com Das; Hanuman; Mylapalli (2020), caso ocorra uma injúria muscular esquelética acima de 100g, os níveis de mioglobina excedem a capacidade de ligação com as proteínas plasmáticas e, consequentemente, podem ir para o filtrado glomerular e se acumular nos túbulos. No ambiente ácido da urina são capazes de formar cilindros que podem obstruir e necrosar tais estruturas. Todos esses fenômenos levam à hipótese de que o glomérulo, além de outras estruturas adjacentes, pode ser afetado. Foi demonstrado por Yang *et al* (2022) que a albuminúria foi capaz de evidenciar de forma precoce uma injúria renal, sem ter havido alterações detectáveis nos níveis de creatinina sérica, ou seja, IRA estabelecida.

Na análise de correlação de Spearman entre a CK e os parâmetros laboratoriais não foram observadas associações significativas com biomarcadores renais (KIM-1, NGAL, creatinina, ureia, albuminúria e TFG) ou endoteliais (ANG-2, VCAM-1 e SDC-1). Esse achado sugere que a magnitude da abdomiólise, refletida pelos níveis de CK, não esteve diretamente relacionada ao grau de disfunção renal ou ativação endotelial na amostra estudada. Contudo, foi verificada correlação positiva entre a CK e as enzimas AST e ALT, indicando que o aumento da CK foi acompanhado pela elevação das transaminases. Esse resultado reflete a presença de quantidade importante das aminotransferases no músculo esquelético, apesar de estarem comumente mais relacionadas a alterações hepáticas. Portanto, devido ao grande volume de tecido muscular, o aumento nos níveis dessas enzimas pode ser detectado facilmente após injúria (LIM *et al.*, 2020).

No presente estudo, foi possível observar diferenças significativas entre os biomarcadores e parâmetros laboratoriais na ausência e na presença de IRA. No grupo de pacientes classificados sem IRA, observou-se correlação positiva entre os valores máximos de CK e o biomarcador KIM-1, indicando que, mesmo na ausência de critérios

formais para IRA, já podem ocorrer sinais iniciais de injúria tubular relacionados à rabdomiólise. O papel da rabdomiólise na fisiopatologia da IRA, causando liberação de mioglobina e outras substâncias no meio extracelular, é bem estabelecido. Com isso, o aumento dos níveis de CK ocorridos na rabdomiólise, precedem o desenvolvimento de IRA. Sendo KIM-1 um biomarcador precoce de dano renal, nesse contexto, pode-se levar à hipótese de que é possível este marcador já apresentar níveis anormais durante o mesmo período em que os níveis de CK também estão elevados, ou seja, no início da síndrome. Caracterizando possivelmente um estado de injúria subclínica. Sabe-se, também, que esse biomarcador pode ser alterado devido a outras condições, como aterosclerose, hipertensão e diabetes (KHREBA *et al.*, 2019). Entretanto, essas correlações não puderam ser estabelecidas no presente estudo, uma vez que não foi possível ter acesso aos dados clínicos dos pacientes estudados.

Foi verificada ainda, no grupo de pacientes sem IRA, correlação negativa entre os níveis do biomarcador VCAM-1 e a TFG. Conforme Troncoso *et al* (2021), o VCAM-1 é uma glicoproteína que se faz presente na superfície das células endoteliais e possui como principal função mediar a adesão e migração dos leucócitos em direção aos tecidos durante os processos inflamatórios. Essas moléculas são expressas nos túbulos proximais e na cápsula de Bowman. Sua expressão nesses locais pode ser aumentada devido a estímulos de origem inflamatória, demonstrando ativação endotelial. Conforme estudo realizado por Feng *et al* (2018), foi observado que os níveis de VCAM-1 e a TFG eram inversamente proporcionais na população geral e que um aumento nos níveis de VCAM-1 é capaz de prever um declínio na TFG, normalmente. Dessa forma, a detecção desse padrão na nossa amostra é biologicamente plausível, indicando ainda que a ativação endotelial pode preceder à diminuição da função renal.

Adicionalmente, de acordo com Belliere *et al* (2015), foi possível demonstrar através de um estudo experimental realizado em ratos, no qual um modelo de rabdomiólise foi estabelecido, que uma técnica de imagem imunomagnética foi capaz de exibir a grande expressão de VCAM-1 em locais como córtex e medula desses animais, reforçando a hipótese de que a presença de mioglobina e da própria injúria muscular é capaz de ativar o endotélio, com consequente expressão desse biomarcador.

Avaliando-se ainda a categoria de pacientes sem IRA, foi possível observar correlação positiva entre valores de AST e de TFG, que se trata de um achado não descrito anteriormente na literatura em pacientes apresentando quadro de rabdomiólise. É possível inferir que, inicialmente na síndrome, quando os níveis de AST e CK estão bastante

elevados, a função renal ainda está preservada (JO *et al.*, 2019; LIM *et al.*, 2020). Alinhando-se ao resultado anteriormente exibido de KIM-1, o qual apresentou níveis mais alterados no início da síndrome, demonstrando um possível quadro subclínico da injúria. Entretanto, se faz necessário que essa correlação possa ser investigada em estudos posteriores. De acordo com Hansrivijit *et al* (2020), um paciente do sexo masculino de 22 anos de idade com severo quadro de rabdomiólise, inclusive com urina escurecida durante uma semana antes de ser submetido à internação, apresentou níveis elevados de AST e permaneceu com a TFG preservada, sem desenvolvimento de IRA, apoiando o achado do presente estudo.

Entre os pacientes com DH que apresentaram critérios de IRA, observou-se correlação negativa entre a TFG e os níveis médios de CK. Esse achado é consistente com a fisiopatologia da rabdomiólise, uma vez que, após o estabelecimento da injúria muscular, a TFG tende a reduzir-se de forma inversamente proporcional à elevação da CK. Isso ocorre porque a queda dessa enzima no sangue se inicia apenas após 3 a 5 dias do episódio de lesão muscular (HU; NG, 2016). Adicionalmente, a CK está relacionada geralmente a desfechos renais mais desfavoráveis. Conforme estudo realizado por Nielsen *et al* (2020), que incluiu 1027 pacientes acima de 18 anos, apresentando níveis de CK  $> 1000$  U/L, e avaliou o risco de evolução para IRA destes, durante um período de 30 dias, mostrou que quantidades inicialmente elevadas de CK, no contexto da rabdomiólise, estão associadas a um maior risco de IRA. Embora existam outros vieses a serem considerados, como fatores que podem influenciar na queda da TFG, independentemente do aumento de CK, nessas circunstâncias, como a presença de outras comorbidades, idade e uso de medicamentos nefrotóxicos, por exemplo, não foi possível estabelecer essas relações pois, como dito anteriormente, o estudo apresentou limitações quanto ao acesso a dados clínicos completos dos pacientes.

Outro achado do estudo foi a correlação positiva entre os níveis de ANG-2 e os valores médios de CK, em pacientes com DH e critérios para IRA. A ANG-2 está relacionada, dentre outros contextos, a estímulos inflamatórios, sendo promovida rapidamente a sua liberação na circulação, após tais estímulos, associando-se dessa forma à ativação endotelial e à evolução renal desfavorável. Estudos anteriores demonstraram que a expressão desse biomarcador estava acentuada no tecido renal em modelos animais de injúria renal e na prática clínica em pacientes com IRA (LI *et al*, 2023). A rabdomiólise é capaz de ocasionar resposta inflamatória através da produção de espécies reativas de oxigênio mediada pela liberação de mioglobina, durante a injúria muscular (PETEJOVA;

MARTINEK, 2014). Portanto, considerando-se também que os níveis de CK estejam bastante elevados durante a rabdomiólise, espera-se que CK e ANG-2 tenham correlação positiva nos pacientes com DH, no contexto de IRA.

Foi verificada ainda correlação positiva entre os valores médios e máximos de CK e os valores de ALT nos pacientes com IRA. A elevação das transaminases durante a rabdomiólise é um fenômeno já bem descrito na literatura, uma vez que essas enzimas, embora tradicionalmente associadas ao fígado, também estão presentes em quantidade significativa no músculo esquelético. Assim, o aumento de ALT acompanha o processo de lesão muscular, reforçando a interpretação de que elevações dessa enzima podem refletir não apenas dano hepático, mas também a extensão da injúria muscular observada nesses pacientes (LIM *et al.*, 2020). Conforme descrito por Nielsen *et al* (2020), a rabdomiólise está associada a desfecho renal mais desfavorável. Assim, a presença de níveis elevados de CK acompanhados por aumento proporcional de transaminases pode indicar maior risco de evolução para injúria renal estabelecida, refletindo a magnitude da agressão muscular. Ainda assim, esse entendimento requer confirmação em estudos adicionais que permitam acompanhar esses pacientes ao longo do tempo e obtenção de dados clínicos mais completos.

Os valores da fração MB de CK foram relacionados positivamente com os valores máximos de CK. É possível inferir que, conforme observado no presente estudo, no qual todos os pacientes estudados apresentaram valores anormais de CK-MB, é realmente esperado que a quantidade da isoenzima se eleve proporcionalmente à quantidade total da enzima referente (HUANG *et al.*, 2019). Apesar de não existirem estudos robustos apoiando esse achado, é possível inferir, contudo, que os níveis de CK de uma forma geral estão associados, no contexto da rabdomiólise, a um desfecho renal desfavorável, como discutido anteriormente (NIELSEN *et al*, 2020). Portanto, faz sentido o aumento dos níveis de CK-MB, proporcionalmente elevados aos níveis de CK, comum na rabdomiólise, em pacientes que apresentaram injúria renal.

De maneira oposta ao observado no grupo sem IRA, os pacientes com IRA apresentaram uma relação inversa entre AST e TFG. Esses achados vão ao encontro dos resultados de Omrani *et al* (2020), que identificaram a AST como um dos principais fatores preditivos para o desenvolvimento de IRA, em pacientes que sofreram rabdomiólise. Assim, a persistência de níveis elevados de AST pode sinalizar uma evolução renal desfavorável, à medida que essa evolução acompanha a redução progressiva da TFG, refletindo a incapacidade do rim de manter sua função filtrante.

Adicionalmente, a nova classificação de IRA proposta por HUSAIN-SYED *et al.* (2022), permitiu identificar que um número maior de pacientes inicialmente categorizados como “sem IRA” migrou para o grupo de injúria renal subclínica. Esse achado reforça os resultados observados no presente estudo, que evidenciaram elevação de KIM-1 e de albuminúria já nos estágios iniciais da rhabdomílise, mesmo na ausência de IRA estabelecida.

Dessa forma, tais biomarcadores não-convencionais mostram potencial clínico para detecção precoce de lesão renal, o que, após validação em estudos prospectivos mais prolongados, poderá contribuir para condutas clínicas precoces, menor tempo de internação e redução dos impactos econômicos associados.

Por fim, algumas limitações desse estudo devem ser consideradas. O número reduzido de pacientes, que reflete o caráter raro e sazonal da DH; a coleta das amostras no primeiro dia de internação, também constitui uma limitação, uma vez que não é possível assegurar que todos os pacientes buscaram atendimento médico imediatamente após o início dos sintomas, assim alterações dos parâmetros laboratoriais e de biomarcadores anteriores à internação não foram registradas; além da impossibilidade de acesso completo aos prontuários para avaliação de parâmetros clínicos dos pacientes do estudo, não sendo possível verificar doença renal prévia ou outras comorbidades que possam influenciar diretamente na interpretação das correlações estabelecidas.

Esses achados sugerem que a avaliação de biomarcadores renais e endoteliais pode fornecer informações para detecção precoce de alterações orgânicas em pacientes com doença de Haff, permitindo identificar lesões subclínicas que não seriam reconhecidas apenas pelos biomarcadores convencionais. Entretanto, destaca-se a necessidade de estudos prospectivos, com seguimento longitudinal e maior número de participantes, a fim de aprofundar a compreensão da dinâmica desses biomarcadores ao longo da evolução clínica da doença e fortalecer sua aplicabilidade no contexto diagnóstico e prognóstico.

## 8. CONCLUSÃO

No presente estudo, a população acometida pela doença de Haff caracterizou-se predominantemente por indivíduos do sexo masculino, com idade média de 42 anos e tempo de internação aproximado de cinco dias. A análise integrada de parâmetros laboratoriais convencionais e de biomarcadores não-convencionais permitiu identificar alterações relevantes para a compreensão da fisiopatologia renal e endotelial associada à síndrome.

Destacou-se a elevação do biomarcador renal não-convencional KIM-1, especialmente entre pacientes que não atendiam aos critérios clássicos de IRA, de acordo com KDIGO (2012). Esse achado reforça o potencial desse biomarcador para detectar injúria renal subclínica em fases iniciais da doença, possibilitando intervenções clínicas mais precoces e, possivelmente, prevenindo a progressão do dano renal e o estabelecimento da IRA.

As correlações positivas entre CK e as transaminases AST e ALT confirmam o envolvimento dessas enzimas no contexto da rabdomiólise na DH. No grupo sem IRA, observaram-se ainda, correlações positivas entre CK e KIM-1, assim como entre AST e TFG; e correlação negativa entre VCAM-1 e TFG, sugerindo participação endotelial no processo de disfunção renal antes mesmo do estabelecimento injúria. Já no grupo com IRA, as correlações positivas entre CK e ANG-2; entre CK e ALT e entre CK e CK-MB; associadas às correlações negativas entre CK e TFG e entre AST e TFG apontam para maior comprometimento muscular, renal e endotelial, reforçando o padrão de piora funcional observado nesses pacientes.

Em conjunto, os resultados evidenciam que biomarcadores renais e endoteliais, como KIM-1 e ANG-2, apresentam potencial aplicabilidade clínica na detecção precoce de injúria renal e na estratificação de risco de pacientes com doença de Haff. Estudos prospectivos com maior número de participantes e acompanhamento longitudinal são necessários para consolidar esses achados e apoiar a sua incorporação na prática clínica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, G. R. F. *et al.* Haff disease: overview and clinical features. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 66, e52, 2024.

AHMAD, S. C.; SIM, C.; SINERT, R. Elevated liver enzymes as a manifestation of Haff disease. **J Emerg Med**, v. 57, p. e181-e183, 2019.

AKWII, R. G. *et al.* Role of Angiopoietin-2 in vascular physiology and pathophysiology. **Cells**, v. 8, p. 471, 2019.

AUJLA, R. S.; ZUBAIR, M.; PATEL, R. Creatine Phosphokinase. **StatPearl**; 2024, Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31536231/>

ALMEIDA, L. K. R. *et al.* Rhabdomyolysis following fish consumption: a contained outbreak of Haff Disease in São Paulo. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 23, p. 278-280, 2019.

ARAÚJO, G. L. Síndrome de Haff: relato de um caso. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, p. 25437-25445, 2023.

AY, D. *et al.* Syndecan-1 as a marker to predict acute kidney injury after isolated coronary artery by-pass graft operations. **Rev Assoc Med Bras**, v. 69, p. 107 – 111, 2023.

AZEVEDO, A. P. *et al.* Características clínicas e epidemiológicas da Doença de Haff no Amazonas. **Revista Científica Multidisciplinar**, v. 6, 2025.

BANDEIRA, A. C. *et al.* Clinical and laboratory evidence of Haff disease – case series from an outbreak in Salvador, Brazil, December 2016 to April 2017. **Eurosurveillance**, v. 22, n. 24, p. 30-52, 2017.

BARZILAY, J. I. *et al.* Albuminuria: na underappreciated risk factor for cardiovascular disease. **Journal of the American Heart Association**, 2024.

BELLIERE, J. *et al.* Unmasking silente endothelial activation in the cardiovascular system using molecular magnetic resonance imaging. **Theranostics**, v. 5, p. 1187 – 1202, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Nota Técnica Nº 35/2024-CGZV/DEDT/SVSA/MS. Brasília, DF, 2024. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/nota-tecnica-35-2024>. Acesso em: 29 jan. 2025.

BUCHHOLZ, U. *et al.* Haff disease: from the Baltic Sea to the U.S. Shore. **Emerging Infectious Diseases**, v. 6, p. 192-195, 2000.

CAMPOS, G. A. *et al.* Haff disease in the pandemic COVID-19 period in Brazil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. 1-8, 2021.

CARDOSO, C. W., *et al.* Haff Disease in Salvador, Brazil, 2016-2021: Attack rate and detection of toxin in fish samples collected during outbreaks and disease surveillance. **The Lancet Regional Health**, v. 5, 2022.

CHATURVEDI, S.; FARMER, T.; KAPKE, G. F. Assay validation for KIM-1: human urinary renal dysfunction biomarker. **International Journal of Biological Sciences**, v. 5, 2019.

DAS, S.; HANUMAN, S. B.; MYLAPALLI, J. L. Rhabdomyolysis associated acute renal failure – report of two fatal cases and a brief review of literature. **Journal of forensic and legal medicine**, v. 71, 2020.

DIETERLE, F., *et al.* Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMEA and predictive safety testing consortium. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 5, 2010.

DUSSE, L. M. S. *et al.* Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente? **RBAC**, v. 49, p. 41 - 51, 2017.

FENG, Y-M. *et al.* Glomerular function in relation to circulating adhesion molecules and inflammation markers in a general population. **Nephrol Dial Transplant**, v. 33, p. 426 – 435, 2018.

van GELDER, M. K. *et al.* Urea removal strategies for dialysate regeneration in a wearable artificial kidney. **Biomaterials**, v. 234, 2020.

GENG, J. *et al.* The value of kidney injury molecule 1 in predicting acute kidney injury in adult patients: a systematic review and Bayesian meta-analysis. **Journal of Translational Medicine**, v. 19, 2021.

GEUS, H. R. H. *et al.* The cardiac surgery-associated neutrophil gelatinase-associated lipocalin (CSA-NGAL) score: a potential tool to monitor acute tubular damage. **The journal of thoracic and cardiovascular surgery**, 2016.

HAHN, R. G.; ZDOLSEK, M.; ZDOLSEK, J. Plasma concentrations of sydecan-1 are dependente on kidney function. **Acta Anaesthesiol Scand**, p. 1 – 7, 2021.

HAIDER, M. Z.; ASLAM, A. Proteinuria. In: STATPEARLS [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK564390/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK564390/?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 23 set. 2025.

HAMDY, H. S. *et al.* Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in cirrhotic patients with acute kidney injury. **Annals of Hepatology**, v. 17, p. 624 – 630, 2018.

HANSRIVIJIT, P. *et al.* Extremely high creatine kinase activity in rhabdomyolysis without acute kidney injury. **American Journal of Case Reports**, v. 21, 2020.

HEBERT, J. F. *et al.* Molecular mechanisms of rhabdomyolysis-induced kidney injury: from bench to bedside. **Kidney International Reports**, v. 8, p. 17 – 29, 2022.

HU, J.; NG, D. Rhabdomyolysis after ankle strain and light cycling. **J Clin Med Res**, v. 8, p. 676 – 679, 2016.

HUANG, C. *et al.* A retrospective analysis of crayfish-related rhabdomyolysis (Haff Disease). **Emergency Medicine International**, v. 2019, 2019.

HUSAIN-SYED, F. *et al.* Advances in laboratory detection of acute kidney injury. **Practical Laboratory Medicine**, v. 31, 2022.

JO, K. M. *et al.* Serum aminotransferase level in rhabdomyolysis according to concurrent liver disease. **Korean J. Gastroenterol**, v. 74, p. 205 – 211, 2019.

KARMAKOVA, T. A. *et al.* Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1): a multifunctional glycoprotein and biological marker (review). **CTM**, v. 13, p. 64, 2021.

KHREBA, N. A. *et al.* Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1) as an early predictor for acute kidney injury in post-cardiopulmonary by-pass (CPB) in open heart surgery patients. **International Journal of Nephrology**, v. 2019, 2019.

KIDNEY DISEASE: Improving Global Outcomes. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. **Kidney International Supplements**, v. 2, n. 1, p. 1 – 138, 2012. Disponível em: <https://kdigo.org/wp-content/uploads/2016/10/KDIGO-2012-AKI-Guideline-English.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2025.

JABERI, S. A. *et al.* Lipocalin-2: structure, function, distribution and role in metabolic disorders. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 142, 2021.

KHATRI, P. *et al.* Strenuous Exercise-Induced Tremendously Elevated Transaminases Levels in a Healthy adult: a diagnostic dilemma. **Case Reports in Hepatology**, v. 2021, 2021.

LI, M. *et al.* Impact of Angiopoietin-2 on kidney diseases. **Kidney Dis**, v. 9, p. 143 – 156, 2023.

LIM, A. K. H. *et al.* A cross-sectional study of the relationship between serum creatine kinase and liver biochemistry in patients with rhabdomyolysis. **Journal of Clinical Medicine**, 2020.

LV, J. *et al.* Efficacy of active charcoal and mannitol in patients with Haff Disease caused by the consumption of crayfish (*Procambarus clarkii*): a retrospective cohort study. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2020, 2020.

MA, H. *et al.* Outbreak of Haff Disease along the Yangtze River, Anhui Province, China, 2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, 2020.

MAKOWSKA, J. S. *et al.* Angiopoietin-2 concentration in serum is associated with severe asthma phenotype. **Allergy, Asthma and Clinical Immunology**, v. 12, 2016.

NEVES, F. M. de O. *et al.* Syndecan-1 in acute decompensated heart failure – association with renal function and mortality. **Official Journal of the Japanese Circulation Society**, 2015.

NIELSEN, F. E. *et al.* The association between rhabdomyolysis, acute kidney injury, renal replacement therapy and mortality. **Clinical Epidemiology**, v. 12, p. 989 – 995, 2020.

ODA, K. *et al.* Factors enhancing serum Syndecan-1 concentrations: a large-scale comprehensive medical examination. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, 2019.

OMRANI, H. *et al.* Acute kidney injury following traumatic rhabdomyolysis in Kermanshah earthquake victims: a cross-sectional study. **American Journal of Emergency Medicine**, 2020.

PETEJOVA, N.; MARTINEK, A. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. **Critical Care**, v. 18, 2014.

PIEREZAN, M. D. *et al.* Investigating the etiology of Haff Disease: Optimization and validation of a sensitive LC-MS/MS method for palytoxins analysis in directly associated freshwater and marine food samples from Brazil. **Food Research International**, v. 190, 2024.

PLATT, E. *et al.* NGAL in the development of acute kidney injury in a murine model of remote ischaemic preconditioning and liver ischaemic reperfusion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, 2024.

POMMET, S. *et al.* Does serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin level predict acute kidney injury in patients with acute rhabdomyolysis in the emergency department? A multicentre prospective study. **BMJ Open**, v. 14, 2024.

REN, L. *et al.* Ultrasound molecular imaging for early detection of acute renal ischemia-reperfusion injury. **Bioengineering & Translational Medicine**, v. 9, 2024.

RESZEGI, A. *et al.* Syndecan-1 in liver pathophysiology. **American Journal of Physiology**, v. 323, p. 289 – 294, 2022.

RIOS, D. R. *et al.* Creatinine filtration kinetics in critically III neonates. **Pediatr Res**, v. 89, p. 952 - 957, 2021.

ROMEJKO, K.; MARKOWSKA, M.; NIEMCZYK, S. The review of current knowledge on neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, 2023.

SANTOS, M. C. *et al.* Outbreak of Haff disease in the Brazilian Amazon. **Rev Panam Salud Publica**, v. 26, p. 469-470, 2009.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE. Boletim epidemiológico, v. 55, n. 16, 14 nov. 2024. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br>. Acesso em: 17 fev. 2025.

SERFATY, D. da S. M. *et al.* Haff disease in Brazil: systematic review. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 17, p. 01-18, 2024.

SMERTKA, M.; CHUDEK, J. Using NGAL as an early diagnostic test of acute kidney injury. **Informa Healthcare**, v. 34, p. 130 – 133, 2012.

STANLEY, M. *et al.* Rhabdomyolysis. **StatPearl**; 2025. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448168/>

TOMONAGA, Y. *et al.* Insights on urinary NGAL obtained in a primary care setting. **Clinica Chimica Acta**, v. 413, p. 733 – 739, 2012.

TRONCOSO, M. F. *et al.* VCAM-1 as a predictor biomarker in cardiovascular disease. **BBA – Molecular Basis of Disease**, 2021.

WAIKAR, S. S.; SABBISSETTI, V. S.; BONVENTRE, J. V. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. **Kidney International**, v. 78, n. 5, p. 486–94, 2010.

WAJDA, J. *et al.* The marker of tubular injury, kidney injury molecule-1 (KIM-1), in acute kidney injury complicating acute pancreatitis: a preliminary study. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, 2020.

WASUNG, M. E.; CHAWLA, L. S.; MADERO, M. Biomarkers of renal function, which and when? **Clinica Chimica Acta**, v. 438, p. 350 – 357, 2015.

WEIBRECHT, K. *et al.* Liver aminotransferases are elevated with rhabdomyolysis in the absence of significant liver injury. **J. Med. Toxicol**, v. 6, p. 294 – 300, 2010.

YANG, H. *et al.* Advances in the diagnosis of early biomarkers for acute kidney injury: a literature review. **BMC Nephrology**, v. 26, 2025.

YANG, J-N. *et al.* Preoperative dipstick albuminuria is associated with acute kidney injury in high-risk patients following non-cardiac surgery: a single center prospective cohort study. **Journal of Anesthesia**, v. 36, p. 747 – 756, 2022.

YANG, Y. *et al.* Epidemiological Characteristics of Foodborne Disease Outbreaks in a Hospital: a 5-year retrospective study. **International Journal of General Medicine**, v. 18, p. 1529 – 1542, 2025.

YOON, S. -Y *et al.* Acute kidney injury: biomarker-guided diagnosis and management. **Medicina**, v. 58, p. 340, 2022.

ZHANG, L.; MAO, H. The relationship between serum VCAM-1 and Alzheimer's disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy**, v. 13, p. 4661 – 4667, 2020.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**TÍTULO DA PESQUISA:** Biomarcadores renais e endoteliais na doença de Haff.

**NOME DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Geraldo Bezerra da Silva Júnior

Prezado(a) Participante,

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa desenvolvida por GERALDO BEZERRA DA SILVA JÚNIOR que irá investigar INJÚRIA RENAL E DANO ENDOTELIAL EM PACIENTES COM DOENÇA DE HAFF. Nós estamos desenvolvendo esta pesquisa porque queremos saber SE ESSES MARCADORES CONSEGUEM DETECTAR INJÚRIA RENAL DE FORMA MAIS PRECOCE, AUXILIANDO NO PROGNÓSTICO DOS PACIENTES.

### 1. POR QUE VOCÊ ESTÁ SENDO CONVIDADO A PARTICIPAR?

O convite para a sua participação se deve a SEU DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE HAFF TER SIDO ESTABELECIDO.

### 2. COMO SERÁ A MINHA PARTICIPAÇÃO?

Ao participar desta pesquisa você AUTORIZA A COLETA E ANÁLISE DE AMOSTRAS DE URINA E SANGUE PARA QUE ESSES MARCADORES SEJAM QUANTIFICADOS. Lembramos que a sua participação é voluntária, isto é, ela não é obrigatória, e você tem plena autonomia e liberdade para decidir se quer ou não participar e poderá desistir a qualquer momento, mesmo após ter iniciado o(a)/os(as) EXAMES LABORATORIAIS sem nenhum prejuízo para você. Não haverá nenhuma penalização caso você decida não consentir a sua participação ou desistir da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa.

### 3. QUEM SABERÁ SE EU DECIDIR PARTICIPAR?

Somente o pesquisador responsável e sua equipe saberão que você está participando desta pesquisa. Ninguém mais saberá da sua participação. Entretanto, caso você deseje que o seu nome, rosto ou voz ou o nome da sua instituição constem do trabalho final, nós respeitaremos sua decisão. Basta que você marque ao final deste termo a sua opção.

### 4. GARANTIA DA CONFIDENCIALIDADE E PRIVACIDADE

Todos os dados e informações que você nos fornecer serão guardados de forma sigilosa. Garantimos a confidencialidade e a privacidade dos seus dados e das suas informações. Tudo que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que for conseguido por DADOS DE EXAMES LABORATORIAIS, DADOS PESSOAIS E EXAMES será utilizado somente para esta pesquisa. Os dados coletados serão armazenados em local seguro e guardados em arquivo, por, pelo menos, 5 anos após o término da pesquisa. Qualquer dado que possa identificar você será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa.

### 5. EXISTE ALGUM RISCO SE EU PARTICIPAR?

O(s) procedimento(s) utilizado(s) na pesquisa SERÃO A COLETA DE SANGUE E URINA apresenta(m) um risco MÍNIMO DURANTE A REALIZAÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS que será reduzido pela(o) CUIDADO QUE O PROFISSIONAL TERÁ DURANTE À COLETA.

## 6. EXISTE ALGUM BENEFÍCIO SE EU PARTICIPAR?

Os benefícios esperados com a pesquisa são no sentido de OS PACIENTES TEREM ACESSO AOS RESULTADOS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS E MARCADORES CONVENCIONAIS E NÃO CONVENCIONAIS.

## 7. FORMAS DE ASSISTÊNCIA E RESSARCIMENTO DAS DESPESAS

Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira. Caso haja algum gasto resultante da sua participação na pesquisa e dela decorrente, você será ressarcido, ou seja, o pesquisador responsável cobrirá todas as suas despesas e de seus acompanhantes, quando for o caso, para a sua vinda até o local da pesquisa.

## 8. ESCLARECIMENTOS

Se você tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Nome do pesquisador responsável: Geraldo Bezerra da Silva Júnior

Endereço: Av. Washington Soares, 1321, Bloco E, sala E-01 – Bairro Edson Queiroz.

Telefone para contato: (85) 3477.3280

Horário de atendimento: 9h as 12h – 14h as 17h.

Se você desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade de Fortaleza. O Comitê de Ética tem como finalidade defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade de Fortaleza-COÉTICA. Av. Washington Soares, 1321, Bloco M, Sala da Vice-Reitoria de Pesquisa. Bairro Edson Queiroz, CEP 60811-341. Telefone (85) 3477-3122, Fortaleza, CE.

## 9. CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO

Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar da pesquisa deve assinar este documento que será elaborado em duas vias; uma via deste Termo ficará com o(a) Senhor(a) e a outra ficará com o pesquisador.

O participante de pesquisa, deve rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE, com a sua assinatura ou impressão dactiloscópica na última página do referido Termo. O pesquisador responsável deve, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE, com a sua assinatura na última página do referido Termo.

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais (Resolução CNS/MS 466/12 e Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais-LGPD), o Sr.(a) \_\_\_\_\_, CPF: \_\_\_\_\_ declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores. Ciente dos procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do

lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa.

E, por estar de acordo, assina o presente termo, que também será assinado pelo pesquisador.

Fortaleza, CE, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

---

Participante ou Representante Legal

---

Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Júnior

Pesquisador Responsável