

## Insuficiência renal aguda em pacientes infectados pelo H1N1 - correlação clínico-histológica em uma série de casos

Acute Kidney Injury in patients infected by H1N1 - clinical histological correlation in a series of cases

### Autores

Gabriela Sevigani<sup>1</sup>  
 Maria Fernanda Soares<sup>1</sup>  
 Gustavo Lenci Marques<sup>1</sup>  
 Ana Karyn Ehrenfried de Freitas<sup>1</sup>  
 Arthur Gentili<sup>1</sup>  
 Domingos Candiota Chula<sup>1</sup>  
 Marcelo Mazza do Nascimento<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Data de submissão: 31/10/2012.  
 Data de aprovação: 14/05/2013.

### Correspondência para:

Gabriela Sevigani.  
 Hospital de Clínicas - Universidade Federal do Paraná (UFPR).  
 Rua General Carneiro, nº 411, Alto da Glória, Curitiba - PR, Brasil.  
 CEP: 80060-150  
 E-mail: gabisevigani@gmail.com

DOI: 10.5935/0101-2800.20130030

### RESUMO

**Introdução:** O vírus Influenza A (H1N1) foi primeiramente descrito em abril de 2009 e, desde então, diversos estudos relataram as características pertinentes à apresentação clínica e ao acometimento pulmonar da doença. Contudo, informações precisas referentes à insuficiência renal aguda (IRA) e às alterações histopatológicas renais nesses pacientes ainda são escassas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é descrever os achados histopatológicos renais de seis pacientes comprovadamente infectados pelo H1N1, que desenvolveram IRA e realizaram biópsia renal, correlacionando-os com os aspectos clínicos. **Métodos:** Avaliamos seis pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR com diagnóstico de H1N1 por PCR viral em 2009 que evoluíram com IRA e que foram submetidos à biópsia renal. Foram revisados os seus prontuários e das lâminas da biópsia renal. **Resultados:** Todos os casos estudados apresentaram dados clínicos e/ou laboratoriais de IRA, sendo que somente um não apresentou oligúria. À biópsia renal, dois pacientes apresentaram alterações glomerulares: um deles, portador de lupus eritematoso sistêmico, apresentou lesões compatíveis com nefrite lúpica classe III A-C da ISN/RPS 2003 e microangiopatia trombótica focal; outro paciente apresentou glomerulosclerose nodular intercapilar, porém, sem comemorativos clínicos ou laboratoriais de diabetes. Todos os pacientes mostraram graus variáveis de alterações degenerativas vacuolares dos túbulos, com focos de oxalose em dois casos. Dois pacientes possuíam arteriosclerose em grau discreto a moderado. **Conclusão:** Em nosso estudo, todos os pacientes apresentaram graus variáveis de alteração degenerativa vacuolar, contudo, não foram encontrados sinais evidentes de necrose tubular aguda, parecendo existir um componente pré-renal como a causa principal de IRA nestes pacientes.

**Palavras-chave:** biópsia; lesão renal aguda; vírus da influenza A subtipo H1N1.

### ABSTRACT

**Introduction:** Influenza A (H1N1) virus was first reported on April 2009 and, since then, several studies have reported the characteristics concerning the clinical presentation and pulmonary involvement. However, accurate information about the acute kidney injury (AKI) and kidney histopathological findings in these patients remain scarce. **Objective:** To describe the kidney histopathological findings of 6 patients with H1N1 who developed AKI and underwent kidney biopsy, correlating them with clinical features. **Methods:** We studied six patients admitted to Hospital de Clínicas UFPR with a PCR-confirmed diagnosis of H1N1 who developed ARF and underwent kidney biopsy. We reviewed their medical file and the microscopy findings of the biopsy. **Results:** Clinical and/or laboratory evidence of AKI was present in all cases, and only one did not present oliguria. Kidney tissues revealed glomerular lesions in two patients: one patient, with systemic lupus erythematosus, showed changes consistent with lupus nephritis class III A-C according to the ISN/RPS 2003 and focal thrombotic microangiopathy; the other one had intercapillary nodular glomerulosclerosis, but without clinical or laboratory evidence of diabetes. Vacuolar degenerative tubular changes were present in all cases, with focus of oxalosis in two cases. Mild to moderate atherosclerosis was found in two patients. **Conclusion:** In this study, varying degrees of vacuolar degenerative tubular changes were present in all patients, but there were no signs of acute tubular necrosis. It seems that in the present study a prerenal cause of acute renal failure was the main involved mechanism to explain the cause of renal failure in these patients.

**Keywords:** acute kidney injury; biopsy; influenza A virus, H1N1 subtype.

## INTRODUÇÃO

O vírus influenza A (H1N1) foi primeiramente identificado no início de abril de 2009, atingindo rapidamente alcance de proporções mundiais e determinando uma pandemia em junho de 2009.<sup>1,2</sup> Estima-se que a mortalidade relacionada a essa nova infecção seja semelhante à encontrada na gripe por influenza sazonal, diferindo desta pelo fato de que as formas graves da doença não se restringem aos pacientes com comorbidades e em extremos de idade.<sup>2</sup>

A insuficiência renal aguda (IRA) tem sido relatada como uma situação frequente em pacientes criticamente doentes por H1N1, encontrando-se incidência de até 66% em estudos realizados no Canadá, Argentina e Brasil.<sup>3-5</sup> Além disso, a IRA e a necessidade de hemodiálise determinam uma evolução desfavorável nesses pacientes, estando relacionadas a um tempo de internamento prolongado e maior mortalidade.<sup>3-7</sup> Diversos estudos relataram as características pertinentes à apresentação clínica e ao acometimento pulmonar da doença. Contudo, informações precisas referentes à IRA e às alterações histopatológicas renais nesses pacientes ainda são escassas.

A carência de informações em relação aos mecanismos fisiopatológicos da IRA nesses pacientes impõe limitações ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas que permitam um melhor manejo desses casos. O objetivo deste estudo foi descrever a evolução clínica e laboratorial e achados histopatológicos de pacientes que desenvolveram infecção comprovada pelo vírus H1N1 e que evoluíram com IRA durante o surto viral ocorrido na cidade de Curitiba no ano de 2009.

## MÉTODOS

Avaliamos retrospectivamente seis pacientes que foram internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR) no ano de 2009 com diagnóstico de infecção por influenza A (H1N1) e que foram submetidos à biópsia renal. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

A infecção por H1N1 foi confirmada por meio da realização de reação em cadeia da polimerase (PCR) viral em amostras combinadas de secreção nasal e de orofaringe obtidas por “*swab* de *Rayon*” de cada sítio. As amostras foram submetidas, então, à reação da

transcriptase reversa, seguida da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, sendo processadas no equipamento 7500 *Real Time* PCR Systems (*Applied Biosystems, Foster, CA, USA*) disponível na Seção de Biologia Molecular do Laboratório Central do Paraná (LACEN-PR). Os exames bioquímicos (creatinina sérica, creatinafosfoquinase (CPK) e ureia) foram realizados por meio de espectrofotometria interfaciada (*Abbott, IL, USA*). IRA foi definida pelo aumento abrupto (dentro de 48 horas) da creatinina sérica  $\geq 50\%$  ou  $\geq 0.3$  mg/dL do seu valor basal, conforme os critérios AKIN.<sup>8</sup> Em relação ao débito urinário, avaliamos somente a presença ou ausência de oligúria, definida como a redução do volume urinário para um valor inferior a 400 mL.<sup>9,10</sup>

A análise histopatológica de tecido renal foi obtida por meio de biópsia por agulha com auxílio de ultrassonografia em cinco pacientes, sendo três biópsias *post-mortem*. Um sexto paciente foi submetido a exame necroscópico completo. Todos os espécimes obtidos foram submetidos a processamento histológico de rotina, seguindo-se as etapas de desidratação e diafanização em autotécnico rotativo, emblocamento em parafina e microtomia com 2  $\mu$ m de espessura. Os cortes foram imobilizados em lâminas histológicas e coradas pelas técnicas de hematoxilina-eosina, PAS, PAMS e tricrômico de Masson. Nas duas biópsias realizadas *antemortem*, também foi obtido material para pesquisa de imunoglobulinas (IgA, IgG, IgM) e fração C3 do sistema complemento por imunofluorescência.

A história clínica foi baseada na análise dos registros referentes aos dados clínicos e laboratoriais e das lâminas das biópsias.

## RESULTADOS

Seis pacientes com diagnóstico confirmado de infecção por H1N1 foram estudados. Os achados clínicos, laboratoriais e histopatológicos estão resumidos na Tabela 1.

Todos os casos avaliados apresentaram dados clínico-laboratoriais de IRA, sendo que somente um não apresentou oligúria. Cinco pacientes apresentaram valores elevados de CPK. Todos os pacientes apresentaram insuficiência respiratória aguda, com necessidade de ventilação mecânica e drogas vasoativas. Três pacientes foram submetidos à hemodiálise, sendo que os outros três pacientes foram a óbito rapidamente, antes que a terapia dialítica pudesse ser iniciada. A oligúria associada à hipervolemia foi a

**TABELA 1** CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES AMOSTRADOS NO ESTUDO

Identificação (n°)	1	2	3	4	5	6
Sexo	M	F	M	M	M	F
Idade (anos)	60	50	44	24	30	28
Oligúria	+	+	+	-	+	+
Creatinina <sup>1</sup> (mg/dL)	1,9-3,4	0,8-7,1	0,9-6,7	2,7-3,0	3,0-5,4	1,4-4,3
Ureia <sup>1</sup> (mg/dL)	128-151	48-282	32-202	159-166	86-142	42-77
CK (UI/L)	47	4484	2263	14350	2771	2314
Tempo de internamento (dias)	1	18	10	1	1	5
Diálise	-	+	+	-	-	+
Comorbidades	DM HAS DAC	Asma	-	-	Tabagismo Etilismo Drogadição	LES
Evolução	Óbito	Óbito	Óbito	Óbito	Óbito	Óbito
Biópsia (Achado principal)	Arteriosclerose	Focos de oxalose	Focos de oxalose	-	Arteriosclerose Glomerulosclerose nodular	Nefrite lúpica Microangiopatia trombótica

<sup>1</sup> Valor da admissão e valor máximo atingido.

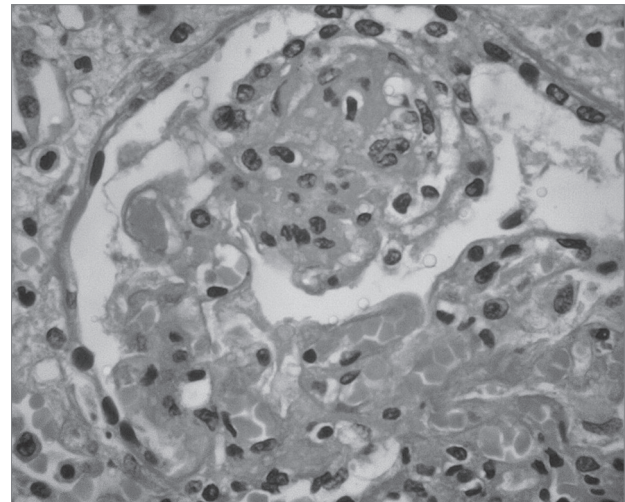
principal indicação de diálise nesses pacientes. Todos os pacientes receberam oseltamivir e foram a óbito.

À biópsia renal por agulha, as amostras possuíam de 7 a 22 glomérulos. Dois pacientes apresentaram alterações glomerulares: um deles, portador de lupus eritematoso sistêmico, apresentou lesões compatíveis com nefrite lúpica classe III A-C da ISN/RPS 2003 e microangiopatia trombótica focal (Figura 1); outro paciente apresentou glomerulosclerose nodular intercapilar (Figura 2). Este paciente não apresentava comorbididades clínicas ou laboratoriais de diabetes mellitus, no entanto tinha história de tabagismo, etilismo e drogadição. Todos os pacientes mostraram graus variáveis de alterações degenerativas vacuolares dos túbulos (Figura 3), com focos de oxalose em dois casos. Dois pacientes possuíam arteriosclerose em grau discreto a moderado. Nas duas biópsias realizadas *antemortem*, a pesquisa de imunoglobulinas e complemento foi consistentemente negativa. O tecido pulmonar do paciente que foi submetido à necropsia mostrou alargamento septal por edema, hemorragia e discreta inflamação linfomononuclear, focos de edema intraveolar, sem exsudação, e sinais de dano alveolar difuso agudo, com a formação de membranas hialinas (Figura 4).

## DISCUSSÃO

A lesão pulmonar aguda tem sido descrita como a marca principal da infecção por H1N1. Entretanto, a disfunção sistêmica de múltiplos órgãos pode se

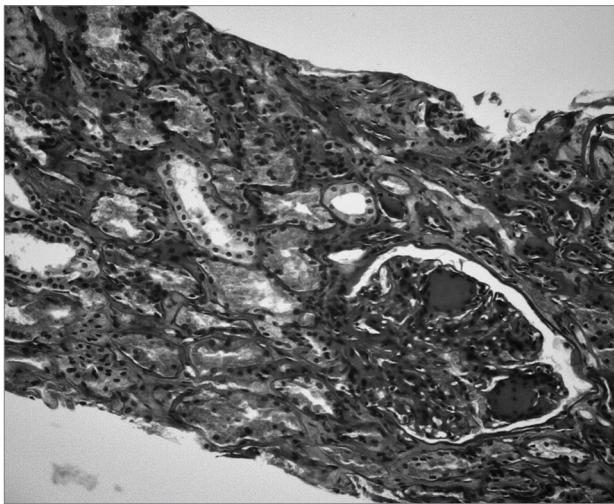
**Figura 1.** Amostra de rim do caso 6, HE com 400x: glomérulo com glomerulonefrite proliferativa endocapilar, infiltração leucocitária e um microtrombo.



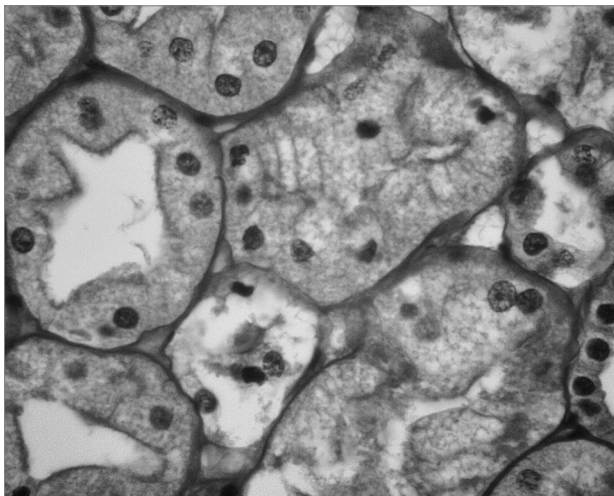
desenvolver e levar o paciente a óbito.<sup>6</sup> Diversos estudos evidenciam o comprometimento de múltiplos órgãos e sistemas: músculo esquelético, cérebro, sangue, além do pulmão.<sup>1,2,11,12</sup> O acometimento renal, apesar de pouco compreendido, é descrito com frequência na literatura, atingindo uma incidência de até 66% em paciente criticamente doentes por H1N1.<sup>3-5</sup> Além disso, altas taxas de mortalidade têm sido descritas na literatura, com índice significativamente maior entre os pacientes com H1N1 que apresentam IRA.<sup>3-7</sup> A alta incidência e mortalidade associada à IRA justifica a importância da avaliação das características clínicas da IRA nesses casos.



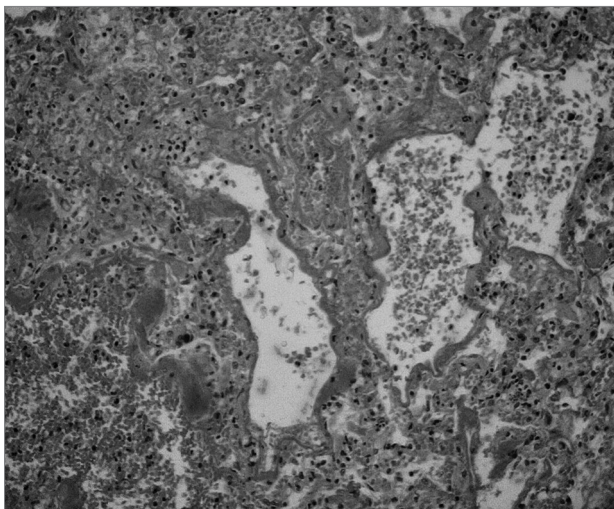
**Figura 2.** Amostra renal do caso 5, PAS com dig 100x: glomérulo com glomeruloesclerose nodular intercapilar.



**Figura 3.** Amostra renal do caso 5, PAS com dig 400x: túbulos proximais com alterações degenerativas vacuolares.



**Figura 4.** Amostra pulmonar do caso 6, HE 100x: tecido pulmonar com inflamação linfomononuclear septal, hemorragia e formação de membrana hialina.



Abdulkader *et al.*<sup>5</sup> relataram uma incidência de IRA em 53% dos casos e uma significativa associação entre a necessidade de ventilação mecânica com o desenvolvimento de IRA (76% dos casos necessitaram de ventilação mecânica). Outros fatores como tensão arterial de oxigênio/fração inspirada de oxigênio < 200 mmHg, uso de vasopressores e níveis elevados de desidrogenase láctica também tiveram impacto na mortalidade desta população. O mesmo estudo aponta que o óbito foi relatado somente nos pacientes que evoluíram com IRA.<sup>5</sup> No presente estudo, todos os pacientes necessitaram de ventilação mecânica e de drogas vasoativas, apresentando IRA e indo a óbito. Esses achados, em conjunto, evidenciam a gravidade do contexto clínico em que a IRA se apresenta, reforçando a necessidade da compreensão dos aspectos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento da IRA nos pacientes com infecção por H1N1.

Estudos recentes relataram a presença do vírus em células renais<sup>6</sup> e em amostras urinárias de pacientes infectados por H1N1.<sup>5,11</sup> Esses resultados, no entanto, não evidenciam a ocorrência de uma lesão renal diretamente provocada pelo vírus. Os achados aqui descritos de necrose tubular aguda (NTA), microangiopatia trombótica e pigmentos de mioglobina foram relatados na literatura.<sup>1,6,11</sup> Contudo, a fisiopatologia da IRA nesses pacientes ainda é pouco compreendida, sendo que alguns autores sugerem um mecanismo multifatorial: uma combinação de hipoperfusão, vasoconstrição renal e rabdomiólise no contexto de uma grave síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS).<sup>3,6,13</sup>

Nossos resultados sugerem que o principal mecanismo envolvido no desenvolvimento de IRA nesses pacientes é de origem pré-renal, podendo estar associado ao quadro de SIRS apresentado na maioria dos casos. No entanto, uma série de limitações, como a pequena amostra e a ausência de exames laboratoriais que reforcem essa hipótese, especialmente o sódio urinário e o cálculo fração de excreção do sódio (FENa), representam uma importante limitação no diagnóstico diferencial entre a IRA pré-renal e renal intrínseca. Marcadores mais recentes como a lipocaína associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) sérica e urinária e a molécula de injúria renal 1 (KIM1) urinária seriam úteis nesses pacientes, uma vez que mostram-se mais precisos no diagnóstico de lesão renal isquêmica em pacientes em estado de choque, que é a hipótese levantada.<sup>14,15</sup> No entanto,

esses marcadores ainda não estavam disponíveis em nosso hospital na época em que os pacientes haviam sido internados.

Uma provável explicação para a possível etiologia pré-renal nesta população de pacientes com infecção pelo H1N1 sob terapia intensiva é a possibilidade de uma estimativa incorreta da adequação do volume intravascular, principalmente em consequência do edema pulmonar característico da lesão pulmonar aguda provocada pelo vírus H1N1. Esse aspecto pode ter dificultado interpretação da necessidade de reposição volêmica adequada e a correção da depleção do espaço intravascular. Outra hipótese para explicar essa possível etiologia é a de que ocorresse um mecanismo similar ao da sepse, em que as citocinas liberadas pelo processo inflamatório provocariam uma vasodilatação, gerando uma redistribuição do fluxo sanguíneo e um conseqüente menor aporte renal.

Tais características clínicas coadunam com os achados histopatológicos de alterações degenerativo-necróticas tubulares, edema intra e extracelular e oxalose. Estes achados são inespecíficos e podem refletir um período de hipóxia prolongada (dano hipoxico-isquêmico) decorrente do quadro de alterações hemodinâmicas e infecciosas desfavoráveis a que estes pacientes foram submetidos. De maneira análoga, os achados histopatológicos pulmonares são inespecíficos, comuns a quadros de falência de múltiplos órgãos, e também apontam para uma resposta do tecido pulmonar à SIRS. Ainda, a ausência de depósitos imunes à imunofluorescência sinaliza para a ausência de mecanismos mediados por anticorpos ou complemento implicados na etiopatogênese das lesões renais observadas. Portanto, o conjunto dos achados de nosso estudo sugere que o mecanismo pré-renal provavelmente seja o principal determinante da IRA encontrada nos pacientes com H1N1, associado a uma grave resposta inflamatória, esperada pela gravidade dos casos relatados.

Além disso, a associação entre a rabdomiólise e o desenvolvimento de IRA foi descrita em alguns estudos.<sup>16-18</sup> A elevação desproporcional da creatinina em alguns pacientes poderia estar relacionada ao processo de lise muscular. Ainda assim, pouco se sabe sobre o mecanismo de desenvolvimento da rabdomiólise nesses pacientes; no entanto, os dados disponíveis na literatura sugerem ser uma das complicações da própria infecção viral, podendo ser relacionado como

um dos fatores envolvidos no desenvolvimento ou agravamento da IRA.<sup>18</sup> Em nossa série de seis pacientes, cinco apresentaram valores de CPK elevados, evidenciando a presença de rabdomiólise e sua relevância clínica em pacientes infectados por H1N1. Mesmo que indicativos histopatológicos de rabdomiólise, como cilindros pigmentados, não tenham sido demonstrados no tecido renal, esta lesão muscular intensa pode ser uma justificativa para o caso de pacientes que apresentaram um aumento rápido da creatinina em 24 horas e evolução para óbito, como o paciente 5, que em 24 horas apresentou um aumento de 2,4 mg/dl de creatinina e CPK de 2771 UI/L.

## CONCLUSÃO

Em nosso estudo, todos os pacientes apresentaram algum grau de alteração histopatológica renal. Contudo, estas alterações são inespecíficas e frequentes em pacientes críticos e que poderiam resultar da presença de outras comorbidades. Desta forma, estes achados sugerem que a IRA nesta população provavelmente seria secundária à associação de diversos fatores, predominando o mecanismo pré-renal. O conjunto de nossas observações reforça a necessidade e a importância de novos estudos que procurem esclarecer e caracterizar os eventos fisiopatológicos que resultam em IRA em pacientes diagnosticados com H1N1.

## REFERÊNCIAS

1. Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, da Silva LF, Schout D, Galas FR, et al. Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:72-9. PMID: 19875682
2. Harms PW, Schmidt LA, Smith LB, Newton DW, Pletneva MA, Walters LL, et al. Autopsy findings in eight patients with fatal H1N1 influenza. *Am J Clin Pathol* 2010;134:27-35. PMID: 20551263
3. Sood MM, Rigatto C, Zarychanski R, Komenda P, Sood AR, Bueti J, et al. Acute kidney injury in critically ill patients infected with 2009 pandemic influenza A(H1N1): report from a Canadian Province. *Am J Kidney Dis* 2010;55:848-55. PMID: 20303633
4. Trimarchi H, Greloni G, Campolo-Girard V, Giannasi S, Pomeranz V, San-Roman E, et al. H1N1 infection and the kidney in critically ill patients. *J Nephrol* 2010;23:725-31.
5. Abdulkader RC, Ho YL, de Sousa Santos S, Caires R, Arantes MF, Andrade L. Characteristics of acute kidney injury in patients infected with the 2009 influenza A (H1N1) virus. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1916-21.
6. Carmona F, Carlotti AP, Ramalho LN, Costa RS, Ramalho FS. Evidence of Renal Infection in Fatal Cases of 2009 Pandemic Influenza A (H1N1). *Am J Clin Pathol* 2011;136:416-23.
7. Martin-Loeches I, Papiol E, Rodríguez A, Diaz E, Zaragoza R, Granada RM, et al. Acute kidney injury in critical ill patients affected by influenza A (H1N1) virus infection. *Crit Care* 2011;15:R66.

8. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11:R31.
9. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al.; Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) Investigators. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 2005;294:813-8. PMID: 16106006
10. Klahr S, Miller SB: Acute oliguria. *N Engl J Med* 1998;338:671-5. PMID: 9486997
11. Gill JR, Sheng ZM, Ely SF, Guinee DG, Beasley MB, Suh J, et al. Pulmonary pathologic findings of fatal 2009 pandemic influenza A/H1N1 viral infections. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:235-43. PMID: 20121613
12. He YX, Gao ZF, Lu M, Sui GJ, Ran GW, Cao B, et al. A histopathological study on Influenza A H1N1 infection in humans. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2010;42:137-9. PMID: 20396350
13. Zarychanski R, Stuart TL, Kumar A, Doucette S, Elliott L, Kettner J, et al. Correlates of severe disease in patients with 2009 pandemic influenza (H1N1) virus infection. *CMAJ* 2010;182:257-64.
14. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, Mitsnefes M, et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:3073-82.
15. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002;62:237-44. PMID: 12081583
16. Carrillo-Esper R, Ornelas-Arroyo S, Pérez-Bustos E, Sánchez-Zúñiga J, Uribe-Esquivel M. Rhabdomyolysis and acute renal failure in human influenza A H1N1 mediated infection. *Gac Med Mex* 2009;145:519-21. PMID: 20077871
17. Lai CC, Wang CY, Lin HI. Rhabdomyolysis and acute kidney injury associated with 2009 pandemic influenza A(H1N1). *Am J Kidney Dis* 2010;55:615. PMID: 20189052
18. Parikh M, Dolson G, Ramanathan V, Sangsriprapha W. Novel H1N1-associated rhabdomyolysis leading to acute renal failure. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:330-2.