

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

**BRUNA DE FREITAS OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DO INFLAMASSOMA NLRP3, INTERLEUCINA 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) E  
INTERLEUCINA 18 (IL- 18) NA NEFROPATIA DIABÉTICA EM PACIENTES  
IDOSOS E ADULTOS**

**UBERABA**

**2025**

Bruna de Freitas Oliveira

Avaliação do inflamassoma NLRP3, interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 18 (IL- 18) na  
Nefropatia Diabética em pacientes idosos e adultos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração “Ciências da Saúde”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Reis Machado e Silva

Coorientadora: Profa. Bruna Cunha Zaidan

UBERABA

2025

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro**

O45a Oliveira, Bruna de Freitas  
Avaliação do inflamassoma NLRP3, interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e  
interleucina 18 (IL- 18) na Nefropatia Diabética em pacientes idosos e  
adultos / Bruna de Freitas Oliveira. -- 2025.  
98 f. : il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal  
do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2025  
Orientadora: Profa. Dra. Juliana Reis Machado e Silva  
Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Cunha Zaidan

1. Rins - Doenças. 2. Nefropatias diabéticas. 3. Inflamassomos. I. Silva,  
Juliana Reis Machado e. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro.  
III. Título.

CDU 616.61

**BRUNA DE FREITAS OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DO INFLAMASSOMA NLRP3, INTERLEUCINA 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) E  
INTERLEUCINA 18 (IL- 18) NA NEFROPATIA DIABÉTICA EM PACIENTES  
IDOSOS E ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração “Ciências da Saúde”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Uberaba, 15 de dezembro de 2025.

**Banca Examinadora:**

---

Avaliador

Instituição

---

Avaliador

Instituição

---

Avaliador

Instituição

Dedico à minha família, que sempre acreditou em mim mesmo nos meus silêncios. E aos meus ancestrais, cuja força invisível guiam meu caminho.

## AGRADECIMENTOS

Sou profundamente grata a Oxalá e a todos os Orixás, que, em sua sabedoria sagrada, me concedem força, resiliência e bênçãos constantes.

Agradeço a minha vó Jô, vó Cida, bisa Maria e tia Shirley que continuam me acolhendo mesmo após sua partida. Sinto seu carinho e bênçãos, e até consigo pensar quais conselhos me dariam quando fico muito tensa.

Sou grata a minha mãe Rosely, meu universo, e ao meu pai Dagoberto, observando a dedicação de ambos eu compreendi o que é ser adulta, ter responsabilidades e batalhar para garantir o melhor para aqueles que amamos.

A minha tia Rosana que sempre me apoiou e me aconselhou durante minha trajetória acadêmica. Ao meu avô João, cuja memória não é mais a mesma, ainda me recebe com alegria ao telefone, dizendo: “Oi, Bruninha!”. Instantes assim me encham de afeto, pois mostram que o amor permanece mais forte que o seu diagnóstico de Alzheimer.

Aos meus amigos de longa data Ana Carolina, Daniella, Janete, Alessandra, Thaís e Maike minha eterna gratidão. Obrigada por permanecerem ao meu lado ao longo dos anos, oferecendo apoio, escuta, risos e leveza mesmo nos momentos mais difíceis. A amizade de vocês foi um refúgio seguro em meio às incertezas e pressões do percurso acadêmico. Cada palavra de incentivo, cada gesto de carinho e cada memória compartilhada fizeram toda a diferença.

Meus agradecimentos também aos amigos do setor da patologia: Tauana, Ana Laura, Giovanna, Roberta e Flaviana – nossos “15 minutinhos” de café foram minha recarga de energia e carinho, gestos simples que ficarão para sempre comigo.

As risadas e longas conversas que tive com a Elisandra, uma mulher maravilhosa que me inspira e encoraja a cada dia, levo comigo não só os aprendizados, mas também a certeza de uma amizade verdadeira.

Ao Gabriel e a Cristiana, minha gratidão pelo acolhimento e pelas conexões verdadeiras que se transformaram em uma grande amizade.

Minha eterna gratidão a Liliane, Crislaine, Aline, Laura e Rafael por compartilharem seus conhecimentos e me ensinarem técnicas essenciais para a conclusão desta pesquisa.

À professora Juliana, agradeço a orientação durante uma fase turbulenta da minha vida. Sua experiência na pesquisa foi um diferencial que contribuiu para que eu superasse os desafios durante o mestrado. Encerro essa jornada grata pelo crescimento profissional e pessoal que sua orientação me proporcionou.

À Dra. Bruna, que aceitou o desafio de participar desta pesquisa, dividindo comigo sua experiência e profissionalismo — meu sincero agradecimento.

Agradeço também aos técnicos de laboratório do Centro de Pesquisa em Rim (CePRim/UFTM), cujo trabalho foi fundamental para o desenvolvimento e continuidade desta pesquisa.

Estendo meus agradecimentos à Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), ao Setor de Referência da Biblioteca Central da UFTM, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/UFTM, aos docentes que o compõem e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio e fomento.

“Não sei o que o futuro me reserva, mas sei que estarei na companhia e proteção dos Orixás!”

– Anônimo.

## RESUMO

A Nefropatia Diabética (ND) constitui uma das principais complicações crônicas do Diabetes Mellitus e representa uma das causas mais frequentes de doença renal crônica e de progressão para a doença renal em estágio terminal. Embora as alterações metabólicas e hemodinâmicas sejam tradicionalmente reconhecidas como centrais na fisiopatologia da ND, evidências crescentes indicam que mecanismos inflamatórios desempenham papel determinante no desenvolvimento e na progressão das lesões renais associadas à doença. Nesse contexto, o inflamassoma NLRP3 e as citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18 têm sido amplamente investigados devido à sua participação na ativação e na perpetuação da inflamação renal. O presente estudo teve como objetivo avaliar a expressão do inflamassoma NLRP3 e das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18 nos compartimentos glomerular e intersticial de biópsias renais de pacientes idosos e não idosos com ND, visando compreender o envolvimento desse eixo inflamatório na fisiopatologia da doença. Foram analisadas 80 biópsias renais de pacientes com ND, sendo 28 provenientes de indivíduos idosos e 52 de não idosos, além de 22 amostras-controle obtidas de necrópsias. As análises foram realizadas por meio de técnicas de imuno-histoquímica, com posterior avaliação semiquantitativa da imunomarcação. Os resultados demonstraram aumento significativo da imunomarcação do inflamassoma NLRP3 em todas as células glomerulares avaliadas, incluindo células mesangiais, endoteliais e podócitos, bem como no compartimento intersticial de pacientes com ND, quando comparados ao grupo controle. De forma consistente, verificou-se incremento expressivo da imunomarcação de IL-1 $\beta$  e IL-18 nos mesmos compartimentos, com destaque para as células mesangiais e podócitos. A análise comparativa entre as faixas etárias não evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre pacientes idosos e não idosos, resultado igualmente observado na comparação entre as classes histológicas da ND e os marcadores inflamatórios avaliados em ambos os grupos etários. Nas células endoteliais, observou-se correlação positiva e significativa entre a expressão de NLRP3 e IL-1 $\beta$  em ambos os grupos etários. Adicionalmente, no grupo não idoso, identificou-se correlação positiva e significativa entre NLRP3 e IL-18 nos podócitos e no interstício renal. Ainda nesse grupo, a expressão mesangial e intersticial do NLRP3 apresentou correlação positiva e significativa com os níveis séricos de creatinina. A imunomarcação intersticial de IL-1 $\beta$  também se correlacionou de forma positiva e significativa com os níveis séricos de creatinina em ambos os grupos etários. Por outro lado, a IL-18 não apresentou correlação significativa com os níveis séricos de creatinina, assim como os demais marcadores não demonstraram associações relevantes com outros parâmetros clínicos avaliados. Em conjunto, os achados

sugerem que a ativação do inflamassoma NLRP3 e a expressão de IL-1 $\beta$  e IL-18 contribuem de maneira significativa para a manutenção do estado inflamatório e para o declínio da função renal na ND, independentemente da idade. Dessa forma, o eixo NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 configura-se como um mecanismo na fisiopatologia da doença, destacando-se como um potencial marcador prognóstico e um promissor alvo terapêutico na ND.

**Palavras-chave:** Inflamassoma NLRP3; IL-1 $\beta$ ; IL-18; Nefropatia diabética; Inflamação renal.

## ABSTRACT

Diabetic Nephropathy (DN) is one of the major chronic complications of Diabetes Mellitus and represents one of the most frequent causes of chronic kidney disease and progression to end-stage renal disease. Although metabolic and hemodynamic alterations are traditionally recognized as central to the pathophysiology of DN, growing evidence indicates that inflammatory mechanisms play a decisive role in the development and progression of renal lesions associated with the disease. In this context, the NLRP3 inflammasome and the pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 have been widely investigated due to their involvement in the activation and perpetuation of renal inflammation. The present study aimed to evaluate the expression of the NLRP3 inflammasome and the cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 in the glomerular and interstitial compartments of renal biopsies from elderly and non-elderly patients with DN, in order to better understand the involvement of this inflammatory axis in the pathophysiology of the disease. A total of 80 renal biopsies from patients with DN were analyzed, including 28 from elderly individuals and 52 from non-elderly individuals, as well as 22 control samples obtained from autopsies. Analyses were performed using immunohistochemical techniques, followed by semiquantitative evaluation of immunostaining. The results demonstrated a significant increase in NLRP3 inflammasome immunostaining in all glomerular cell types evaluated, including mesangial cells, endothelial cells, and podocytes, as well as in the interstitial compartment of patients with DN when compared to the control group. Consistently, a marked increase in IL-1 $\beta$  and IL-18 immunostaining was observed in the same compartments, with particular emphasis on mesangial cells and podocytes. Comparative analysis between age groups revealed no statistically significant differences between elderly and non-elderly patients, a finding that was also observed when comparing histological classes of DN with the inflammatory markers evaluated in both age groups. In endothelial cells, a positive and significant correlation was observed between NLRP3 and IL-1 $\beta$  expression in both age groups. Additionally, in the non-elderly group, a positive and significant correlation between NLRP3 and IL-18 was identified in podocytes and in the renal interstitium. In this group, mesangial and interstitial NLRP3 expression also showed a positive and significant correlation with serum creatinine levels. Interstitial IL-1 $\beta$  immunostaining likewise correlated positively and significantly with serum creatinine levels in both age groups. In contrast, IL-18 did not show a significant correlation with serum creatinine levels, and the remaining markers did not demonstrate relevant associations with other clinical parameters evaluated. Taken together, these findings suggest that activation of the NLRP3 inflammasome and the expression

of IL-1 $\beta$  and IL-18 contribute significantly to the maintenance of the inflammatory state and to the decline of renal function in DN, regardless of age. Therefore, the NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 axis emerges as an important mechanism in the pathophysiology of the disease, highlighting its potential as a prognostic marker and a promising therapeutic target in DN.

**Keywords:** NLRP3 inflammasome; IL-1 $\beta$ ; IL-18; Diabetic nephropathy; Renal inflammation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Nefropatia Diabética Classe I. ....	22
Figura 2 – Nefropatia Diabética Classe II. ....	23
Figura 3 – Nefropatia Diabética Classe III. ....	23
Figura 4 – Nefropatia Diabética Classe IV. ....	24
Figura 5 – Fisiopatogênese da Nefropatia Diabética. ....	25
Figura 6 - Inflamassoma NLRP3. ....	29
Figura 7 – Percentual da imunomarcção do inflamassoma NLRP3 nos grupos com Nefropatia Diabética. ....	45
Prancha 1 – Imunomarcção do inflamassoma NLRP3 nos compartimentos renais nos grupos com Nefropatia Diabética. ....	46
Figura 8 – Percentual da imunomarcção da IL-1 $\beta$ nos grupos com Nefropatia Diabética. ....	47
Prancha 2 – Imunomarcção da IL-1 $\beta$ nos compartimentos renais nos grupos com Nefropatia Diabética. ....	48
Figura 9 – Percentual da imunomarcção da IL-18 nos grupos com Nefropatia Diabética. ....	49
Prancha 3 – Imunomarcção da IL-18 nos compartimentos renais nos grupos com Nefropatia Diabética. ....	50
Figura 10– Correlação da imunomarcção entre o inflamassoma NLRP3 e IL-1 $\beta$ . ....	51
Figura 11 – Correlação da imunomarcção entre o inflamassoma NLRP3 e IL-18. ....	52
Figura 12 – Correlação clínica entre o inflamassoma NLRP3 e creatinina sérica. ....	53
Figura 13 – Correlação clínica entre a citocina IL-1 $\beta$ e creatinina sérica. ....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Especificações da imuno-histoquímica. ....	39
Tabela 2 – Proporção da Imunomarcção. ....	40
Tabela 3 – Perfil epidemiológico dos pacientes com Nefropatia Diabética.....	41
Tabela 4 – Perfil do subtipo e tempo de diagnóstico do Diabetes Mellitus. ....	42
Tabela 5– Perfil clínico- laboratorial dos pacientes com Nefropatia Diabética.....	43
Tabela 6 – Classificação histopatológica da Nefropatia Diabética. ....	43

## LISTA DE SIGLAS

DM – Diabetes Mellitus

Células  $\beta$  – células beta pancreática

DM1 – Diabetes Mellitus Tipo 1

DM2 – Diabetes Mellitus Tipo 2

IDF – *International Diabetes Federation*

ND – Nefropatia Diabética

DRC – Doença Renal Crônica

TFG – taxa de filtração glomerular

MBG – membrana basal glomerular

HE – hematoxilina eosina

TM – tricrômico de masson

PKC – proteína quinase C

EROs – espécies reativas de oxigênio

TGF- $\beta$  – fator de crescimento transformador- $\beta$

AGEs – produtos finais da glicação avançada

NF- $\kappa$ B – fator nuclear Kappa B

ICAM-1 – moléculas de adesão intracelular 1

CAM-1 – molécula de adesão de células vasculares 1

ESAM – molécula de adesão seletiva de células endoteliais

VEGF – fator de crescimento endotelial vascular

SRAA – Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

SGLT2 – cotransportador sódio-glicose 2

JAK-STAT – via de sinalização Janus Quinase - Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição

NLRP3 – inflamassoma da proteína 3 contendo domínios NOD, LRR e pirina

CARD/CARD – domínio de recrutamento de caspases

PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos

DAMPs – padrões moleculares associados a danos

CDKs – cinase dependente de ciclina

CePRim – Centro de Pesquisa em Rim

UFTM – Universidade Federal do Triângulo Mineiro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>1.1 DIABETES MELLITUS</b> .....	<b>17</b>
<b>1.2 NEFROPATIA DIABÉTICA</b> .....	<b>19</b>
1.2.1 Classificação clínica da Nefropatia Diabética.....	19
1.2.2 Classificação histopatológica glomerular da Nefropatia Diabética .....	21
1.2.3 Inflamassoma NLRP3 e Interleucinas IL-1 $\beta$ e IL-18 na Nefropatia Diabética.....	28
1.2.4 Nefropatia Diabética em idosos.....	32
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>34</b>
<b>3 HIPÓTESE</b> .....	<b>35</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>36</b>
<b>4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO</b> .....	<b>36</b>
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1 CASUÍSTICA</b> .....	<b>37</b>
<b>5.2 ASPECTOS ÉTICOS</b> .....	<b>38</b>
<b>5.3 IMUNO-HISTOQUÍMICA</b> .....	<b>38</b>
5.3.1 Imunoperoxidade .....	38
5.3.2 Análise semiquantitativa.....	39
<b>5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>40</b>
<b>5.5 NORMAS PARA A CONFECÇÃO DO MANUSCRITO</b> .....	<b>40</b>
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>41</b>
<b>6.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO</b> .....	<b>41</b>
<b>6.2 PERFIL DO DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS</b> .....	<b>41</b>
<b>6.3 PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL</b> .....	<b>42</b>
<b>6.4 PERFIL HISTOPATOLÓGICO</b> .....	<b>43</b>
<b>6.5 ANÁLISE SEMIQUANTITATIVA</b> .....	<b>44</b>
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>8 CONCLUSÃO</b> .....	<b>61</b>

REFERÊNCIAS .....	62
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	69
ANEXO B– ARTIGO .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A prevalência do Diabetes Mellitus (DM) tem apresentado um aumento expressivo nas últimas décadas, constituindo um desafio crescente para os sistemas de saúde pública em todo o mundo. Alterações metabólicas e hemodinâmicas têm sido consideradas fatores clássicos envolvidos no desenvolvimento da lesão renal em pacientes diabéticos, entretanto, evidências recentes reforçam a contribuição do componente inflamatório na progressão da doença renal (DONATE-CORREA *et al.*, 2020; BESSA, 2024).

A Nefropatia Diabética (ND) é reconhecida como uma das principais complicações microvasculares do diabetes, caracterizada por alterações morfológicas progressivas e funcional dos rins. Considerada a principal causa de doença renal crônica e de doença renal em estágio terminal no mundo, estima-se que cerca de 30% dos pacientes com DM tipo 1 e 40% dos pacientes com DM tipo 2 desenvolvam ND (RAYEGO-MATEOS *et al.*, 2020; SAMSU, 2021).

A ND é uma complicação progressiva, em que a persistência da hiperglicemia crônica desencadeia alterações estruturais glomerulares e vasculares, tais como espessamento da membrana basal glomerular, expansão mesangial e lesão podocitária nos estágios iniciais, evoluindo para glomerulosclerose global, hialinose arteriolar, fibrose intersticial e atrofia tubular nos estágios mais avançados (DWIVEDI; SIKARWAR, 2021; GUPTA *et al.*, 2023).

Evidências recentes indicam que a inflamação estéril de baixo grau está intimamente relacionada à progressão da ND, sendo a ativação do inflamassoma NLRP3 um dos mecanismos na manutenção desse estado inflamatório (SHAHZAD *et al.*, 2022; WILLIAMS *et al.*, 2022).

Estímulos associados ao ambiente diabético, como hiperglicemia, produtos finais de glicação avançada (AGEs), estresse oxidativo e disfunção mitocondrial, são capazes de ativar o inflamassoma NLRP3 (SHAHZAD *et al.*, 2022), promovendo a ativação enzimática da caspase-1 resultando na clivagem das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18 (MASUMOTO *et al.*, 1999; LU *et al.*, 2014; EL-SHARKAWY *et al.*, 2020).

Em indivíduos diabéticos, o envelhecimento renal ocorre de forma acelerada, envolvendo estresse glicêmico, acúmulo de AGEs, hipertensão e senescência celular, resultando em disfunção estrutural e funcional dos néfrons (GUO *et al.*, 2020). No contexto da ND, essas alterações contribuem para a ativação persistente do inflamassoma NLRP3 e das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18, fundamentais na progressão do dano renal (GRITSENKO *et al.*, 2020).

É importante destacar que, em idosos, o diagnóstico de ND é particularmente desafiador, uma vez que a taxa de filtração glomerular (TFG) declina fisiologicamente com a idade, mesmo

na ausência de doença renal, o que pode levar à superestimação da presença de comprometimento renal, bem como ao atraso na detecção da doença. Além disso, a proteinúria, marcador clássico da doença, pode ser discreta ou ausente, dificultando o reconhecimento precoce da ND (RAVENDER *et al.*, 2024).

Diante desse cenário, a avaliação da expressão de NLRP3, IL-1 $\beta$  e IL-18 constitui uma estratégia promissora para aprofundar a compreensão da fisiopatologia da ND, auxiliar no diagnóstico diferencial em idosos e identificar possíveis biomarcadores de relevância terapêutica.

## 1.1 DIABETES MELLITUS

O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica caracterizada por níveis persistentemente elevados de glicose no sangue, decorrentes da disfunção das células  $\beta$  pancreáticas – que podem apresentar redução ou ausência da secreção de insulina – ou da resistência periférica a esse hormônio. Esses mecanismos dificultam a entrada da glicose nas células, levando à hiperglicemia crônica. Trata-se de uma condição que afeta indivíduos de todas as idades, gêneros e regiões, configurando-se como um dos problemas de saúde pública mais prevalentes e preocupantes no cenário global (BERBUDI *et al.*, 2020).

A adequada classificação do DM é essencial para a escolha do tratamento e o rastreamento de comorbidades e complicações crônicas. A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2023) recomenda uma classificação baseada na etiopatogenia, que inclui: diabetes tipo 1 (DM1), diabetes tipo 2 (DM2), diabetes gestacional (DMG) e outros tipos de diabetes associados à disfunção das células  $\beta$ . Entre esses, os subtipos mais prevalentes são o DM1 e o DM2, que possuem critérios diagnósticos amplamente consolidados, baseados em parâmetros laboratoriais como glicemia de jejum, teste oral de tolerância à glicose, hemoglobina glicada e glicemia casual associada a sintomas como poliúria, sede excessiva e perda ponderal involuntária. Sendo que, a diferenciação entre os tipos de diabetes realizada a partir de características clínicas, imunológicas e da avaliação do peptídeo C (GBD, 2021).

O DM1 decorre predominantemente da destruição autoimune das células  $\beta$ , levando a deficiência grave na secreção de insulina. Embora seja mais prevalente em crianças e adolescentes, sua incidência em adultos vem crescendo significativamente. A identificação de indivíduos com maior risco pode ser realizada por marcadores genéticos e pela detecção de autoanticorpos contra componentes das células das ilhotas pancreáticas. Nos casos de início tardio, a progressão é geralmente mais lenta e a apresentação clínica mais branda (SBD, 2023; LESLEI *et al.*, 2021).

Já o DM2 representa 90–95% dos casos e constitui um dos maiores desafios em saúde pública devido ao aumento contínuo de sua prevalência. Afeta predominantemente adultos entre 40 e 69 anos, embora a incidência em jovens vem apresentando aumento significativo, devido a obesidade e sedentarismo presentes nesses indivíduos. Sua etiologia é multifatorial, resultando da interação entre predisposição genética, resistência à insulina e fatores ambientais, como dieta hipercalórica, sedentarismo e estresse crônico. Condições como obesidade visceral, síndrome metabólica, hipertensão e dislipidemia aumentam substancialmente o risco de desenvolvimento do DM2, que costuma ser assintomático nos estágios iniciais e está associado a complicações microvasculares e macrovasculares quando não tratado adequadamente (SBD, 2023; FLOR; CAMPOS, 2017; PLEUS *et al.*, 2024).

A identificação precoce dos subtipos de DM é essencial para o direcionamento de abordagens terapêuticas específicas e para a prevenção de complicações crônicas, contribuindo para melhor prognóstico e qualidade de vida. O aumento global da incidência e prevalência do DM está relacionado ao envelhecimento populacional, à elevação dos índices de obesidade e sobrepeso, ao sedentarismo e aos processos de urbanização (FLOR; CAMPOS, 2017). Além disso, fatores genéticos, epigenéticos e ambientais desempenham papel importante no crescimento contínuo dos diagnósticos em todo o mundo, conforme apontado pela Federação Internacional de Diabetes (IDF).

Segundo a 11ª edição do Atlas da IDF, aproximadamente 589 milhões de adultos entre 20 e 79 anos são diagnosticados atualmente com diabetes, com projeções para 853 milhões de diabéticos até 2050. O Brasil ocupa o 6º lugar no ranking mundial de países com maior número de casos, com cerca de 17 milhões de adultos diagnosticados atualmente ficando atrás da China, Índia, Estados Unidos, Paquistão e Indonésia – com estimativa de alcançar 24 milhões de casos até 2050 (IDF, 2025). A SBD (2023) estima ainda que cerca de 600 mil pessoas tenham DM1 no país, enquanto o DM2 corresponde a aproximadamente 90% dos diagnósticos.

A hiperglicemia crônica persistente – um dos principais determinantes do DM – compromete significativamente a resposta imune, favorecendo a disseminação de patógenos, aumentando a suscetibilidade a infecções e contribuindo para o desenvolvimento de complicações microvasculares, como retinopatia, neuropatia e nefropatia (BERBUDI *et al.*, 2020). Entre essas, destaca-se a Nefropatia Diabética (ND), uma complicação microvascular caracterizada por lesões nos pequenos vasos dos glomérulos renais, desencadeando processos inflamatórios e degenerativos (THIPSAWAT, 2021). A ND corresponde a um diagnóstico específico associado a alterações estruturais e funcionais resultantes da exposição prolongada dos rins à hiperglicemia crônica (MACIEL *et al.*, 2019).

## 1.2 NEFROPATIA DIABÉTICA

A Nefropatia Diabética (ND) é uma complicação recorrente do DM1 e DM2. Estima-se que cerca de 30% dos pacientes com DM1 e 40% dos pacientes com DM2 desenvolvam ND (RAYEGO-MATEOS *et al.*, 2020). A condição é reconhecida como a principal causa de doença renal crônica (DRC) e de doença renal em estágio terminal no mundo (SAMSU, 2021). Dessa forma, representa uma das principais indicações para o início da terapia renal substitutiva entre os pacientes acometidos (SAGOO; GNUDI, 2020). No Brasil, dados do censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia de 2024 indicam que, entre os 170 mil casos de DRC em diálise no país, uma parcela significativa corresponde a pessoas com diabetes (SÁ *et al.*, 2025), o que reforça a relevância de compreender os mecanismos que sustentam a progressão e o desenvolvimento da ND.

A ND é uma doença progressiva que se desenvolve ao longo do tempo, com pico de incidência após 10 anos do diagnóstico de DM2 (THIPSAWAT, 2021), a persistência da hiperglicemia crônica desencadeia lesões e alterações em nível glomerular e extra-glomerular, incluindo vasos, túbulos e interstício renal dos pacientes com ND (TERVAERT *et al.*, 2010). Em decorrência dessas alterações ocorrem espessamento da membrana basal glomerular, expansão mesangial e lesão podocitária nos estágios iniciais da ND, seguidas por glomeruloesclerose global e de alterações vasculares como hialinose arteriolar, fibrose intersticial e atrofia tubular, presentes nos estágios mais avançados da doença (TERVAERT *et al.*, 2010; DWIVEDI; SIKARWAR, 2021).

Clinicamente a ND corresponde a hiperfiltração glomerular, albuminúria progressiva, declínio da taxa de filtração glomerular (TFG) e insuficiência renal terminal. São habitualmente descritos 5 estágios e, embora a definição não seja consensual, esta permanece como melhor classificação já que se baseia na avaliação funcional da doença renal (BOUÇA *et al.*, 2021).

### 1.2.1 Classificação clínica da Nefropatia Diabética

- **Estágio 1 – Hiperfiltração:**

Embora seus mecanismos fisiopatológicos não estejam completamente esclarecidos esse estágio inicial está presente na minoria dos pacientes com ND, sendo caracterizado por ausência de albuminúria, aumento da TFG e da pressão nos capilares glomerulares e túbulos renais, decorrente da hipertrofia renal e alterações hemodinâmicas intrarrenais.

- **Estágio 2 – Fase Silenciosa:**

Não apresenta evidência clínica ou bioquímica de qualquer disfunção renal, pacientes neste estágio apresentam TFG e pressão arterial na faixa da normalidade além de episódios de albuminúria transitória. A análise histopatológica dos glomérulos pode revelar espessamento da membrana basal e expansão mesangial, alterações iniciais representativas da ND. Trata-se de um estágio crucial para a aplicação de biomarcadores que auxiliem no diagnóstico precoce, possibilitando a implementação de estratégias terapêuticas capazes de retardar a progressão da ND.

- **Estágio 3 – Albuminúria Moderada:**

Neste estágio a TFG pode estar aumentada, reduzida ou até dentro da faixa da normalidade, pacientes apresentam também hipertensão leve e microalbuminúria persistente, com valores entre 30 e 300 mg/dia. A persistência da microalbuminúria é um indicador precoce de DRC. Este estágio da ND pode ser transitório e até reversível se existir bom controle metabólico e da pressão arterial.

- **Estágio 4 – Albuminúria Grave:**

Caracterizado por macroalbuminúria, hipertensão e declínio da TFG. Normalmente ocorre após 10 anos de diagnóstico de DM e prediz a progressão para DRC, estabelecendo, assim, uma interação no qual a hipertensão arterial promove a redução progressiva da TFG, enquanto a diminuição da função renal contribui para o agravamento do quadro hipertensivo.

- **Estágio 5 – Uremia:**

É o estágio mais crítico, exigindo, em muitos casos, o início da terapia de substituição renal. Atualmente, grande parte dos pacientes nesse estágio é submetida ao transplante renal. Embora essa abordagem proporcione uma sobrevida superior à daqueles que permanecem em hemodiálise, as lesões típicas da ND podem acontecer no rim transplantado. Dessa forma, o transplante combinado de pâncreas-rim tem se mostrado uma alternativa terapêutica promissora, pois a restauração do controle glicêmico impede a ativação de processos que levariam à formação excessiva de tecido fibroso, culminando em acúmulo de matriz extracelular comprometendo a função do rim transplantado.

Sob o ponto de vista morfológico, as alterações histopatológicas da ND são evidenciadas por meio da biópsia renal, considerada padrão-ouro para o diagnóstico das glomerulopatias,

entretanto em pacientes diabéticos a biópsia renal é indicada somente quando esses pacientes apresentam microalbuminúria sem retinopatia diabética, um declínio rápido na TFG, aumento acelerado da proteinúria, um início repentino de síndrome nefrótica, hematuria e sinais ou sintomas de doenças sistêmicas (ARAÚJO *et al.*, 2020).

A biópsia renal é essencial para o diagnóstico da ND pois permite um tratamento mais direcionado e eficaz, podendo oferecer uma descrição detalhada das alterações histopatológicas dos tecidos renais, viabilizando a implementação de terapias específicas que visam diretamente as lesões causadas pelo diabetes no sistema renal (BESSA, 2024). Estudos destacam que a realização de biópsias em momentos iniciais da doença pode fornecer novas perspectivas de intervenção, com direcionamentos na compreensão da disfuncional renal e no controle rigoroso das complicações metabólicas associadas ao diabetes (CAVIEDES-CLEVES *et al.*, 2022).

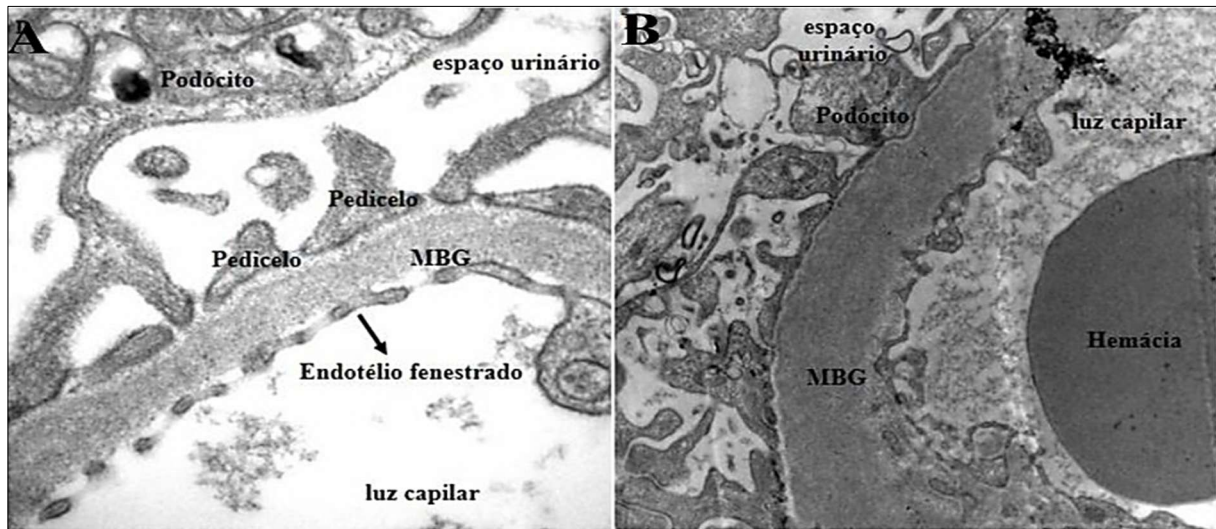
O sistema de classificação de ND proposto por Tervaert *et al.* (2010) por meio de um consenso internacional, reconhece e categoriza as alterações histopatológicas glomerulares em quatro classes progressivas. Embora ainda não tenha sido validado com desfechos clínicos, esse sistema constitui uma ferramenta relevante na prática clínica e na pesquisa, auxiliando na classificação da gravidade das lesões da ND, que progride do espessamento da membrana basal glomerular, expansão mesangial, lesões de Kimmelstiel-Wilson para a glomerulosclerose global (TERVAERT *et al.*, 2010; AGARWAL, 2021).

### **1.2.2 Classificação histopatológica glomerular da Nefropatia Diabética**

- **Nefropatia Diabética Classe I – Espessamento da Membrana Basal Glomerular:**

Evidenciado na avaliação ultraestrutural, o espessamento da membrana basal glomerular (MBG) constitui uma alteração estrutural precoce e pouco específica que, de forma isolada, não se associa diretamente a manifestações clínicas, em razão da preservação da função renal nas fases iniciais da doença. Os pacientes investigados apresentam elevação da pressão arterial, sem alterações evidentes da TFG ou da proteinúria. O espessamento da MBG decorre do acúmulo de matriz extracelular, resultante do aumento da síntese e/ou da redução da degradação de seus componentes, incluindo colágeno dos tipos IV e VI, laminina e fibronectina. Em condições fisiológicas, a espessura da MBG varia entre 300 e 400 nanômetros, sendo valores superiores a 430 nanômetros em homens e a 395 nanômetros em mulheres considerados indicativos de lesão (Figura 1).

**Figura 1** – Nefropatia Diabética Classe I.



Fonte: Araújo *et al.*, 2022.

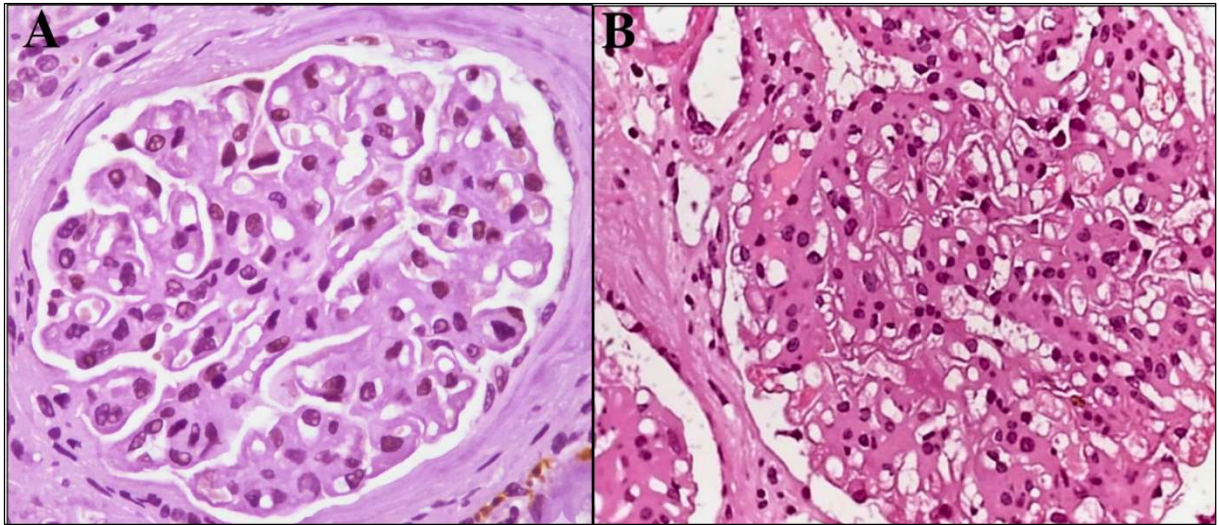
Nota: Ultramicrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão demonstrando MBG normal (A; 30.000x) e espessamento da MBG de paciente com Nefropatia Diabética (B; 12.000x).

MBG: Membrana basal glomerular.

- **Nefropatia Diabética Classe II – Expansão Mesangial Leve (IIa) ou Acentuada (IIb):**

Abrange os pacientes que apresentam proteinúria aumentada e expansão da matriz mesangial leve ou acentuada sem esclerose nodular. A diferença entre expansão leve e acentuada baseia-se se na área mesangial expandida for menor ou maior que a área média de um lúmen capilar. Quando se observa uma expansão mesangial leve, envolvendo menos de 25% do mesângio total em todos os glomérulos avaliados na biópsia, esta é classificada como IIa. Por outro lado, quando há uma expansão mesangial acentuada, acometendo mais de 25% do mesângio total, a biópsia é classificada como IIb (Figura 2).

**Figura 2** – Nefropatia Diabética Classe II.



Fonte: (A) Elaborado pelo próprio autor, 2025; (B) Araújo *et al.*, 2022.

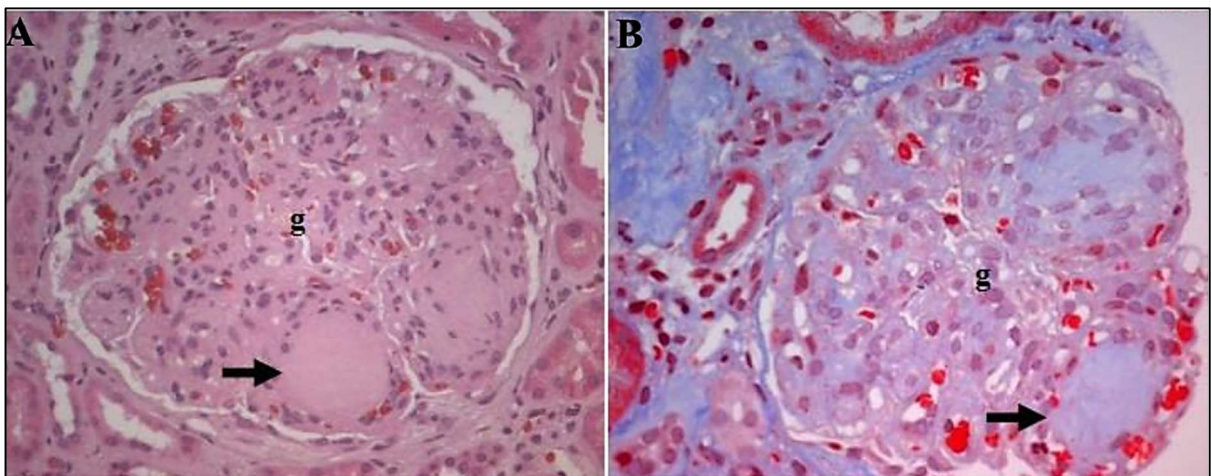
Nota: Fotomicrografias representativas da expansão da matriz mesangial sem esclerose nodular nos glomérulos de paciente com Nefropatia Diabética Classe IIa – leve (A) e Classe IIb – acentuada (B) coradas em HE no aumento de 40x.

g: glomérulo.

- **Nefropatia Diabética Classe III – Esclerose Nodular (Lesões de Kimmelstiel-Wilson):**

As lesões de Kimmelstiel-Wilson aparecem em pacientes com DM1 e DM2 com quadro clínico de proteinúria elevada. Pacientes diabéticos irão receber essa classificação se pelo menos uma lesão de Kimmelstiel-Wilson for encontrada e no fragmento de biópsia renal analisado e não apresentar mais de 50% dos glomérulos com esclerose global (Figura 3).

**Figura 3** – Nefropatia Diabética Classe III.



Fonte: Araújo *et al.*, 2022.

Nota: Fotomicrografias representativas da esclerose nodular (lesão de Kimmelstiel- Wilson) nos glomérulos de paciente com Nefropatia Diabética corado com HE no aumento de 20x (A) e corado com TM no aumento de 20x,

destacando em azul o acúmulo da matriz mesangial (B).

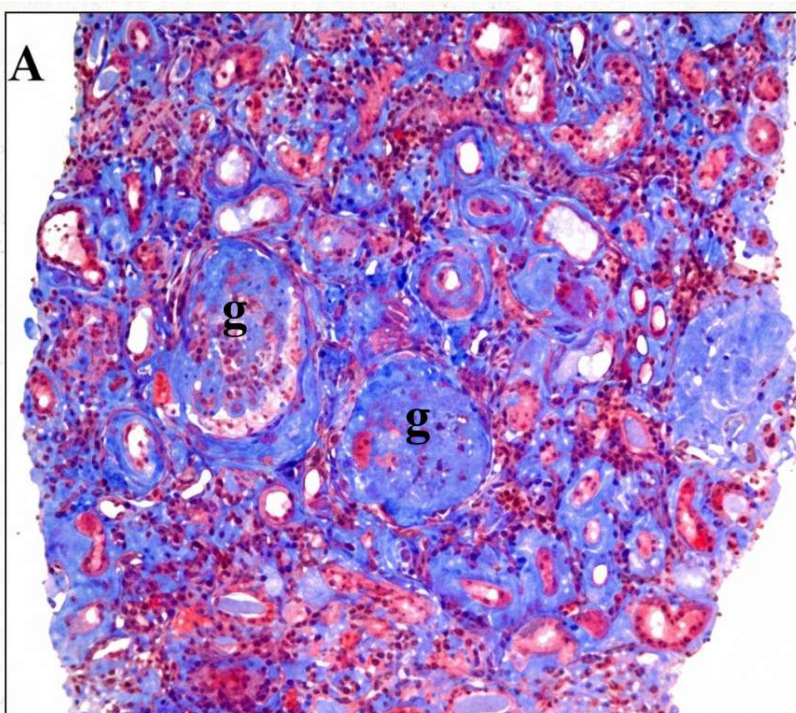
seta: nódulos de esclerose mesangial com núcleos voltados para a periferia (lesão de Kimmelstiel- Wilson).

g: glomérulo.

- **Nefropatia Diabética Classe IV – Glomeruloesclerose avançada:**

Caracterizada por apresentar glomeruloesclerose em mais de 50% dos glomérulos da biópsia renal analisada. Pacientes com essa classificação manifestam uma disfunção renal severa. A glomeruloesclerose observada representa o estágio avançado decorrente de mecanismos multifatoriais que levam ao acúmulo de proteínas da matriz extracelular, como colágeno tipos I, III e IV e fibronectina no espaço mesangial que progride para estágios de expansão mesangial e desenvolvimento de lesão Kimmelstiel-Wilson até avançar para a glomeruloesclerose global (Figura 4).

**Figura 4** – Nefropatia Diabética Classe IV.



Fonte: Araújo *et al.*, 2022.

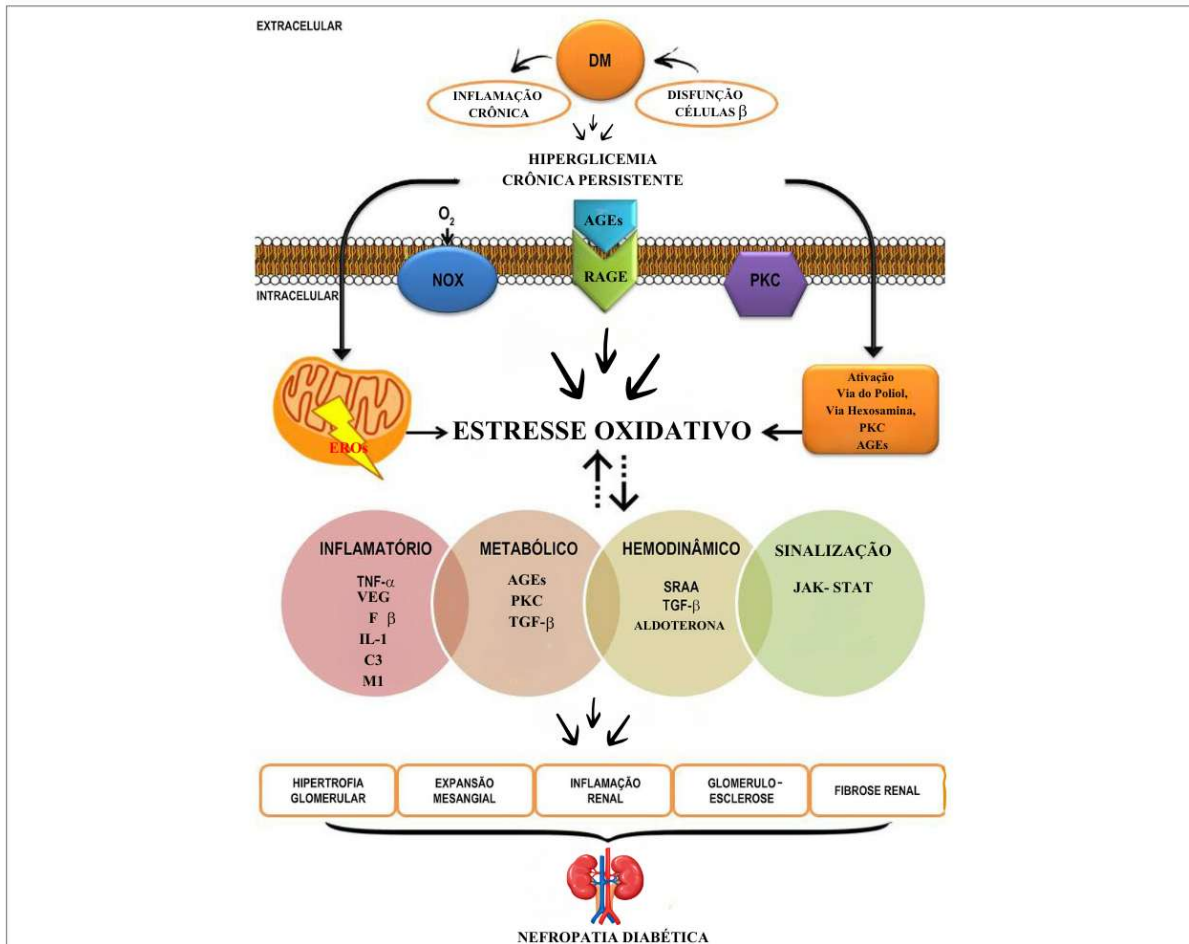
Nota: Fotomicrografia representativa dos glomérulos totalmente esclerosados.

g: glomérulo com esclerose global.

No contexto da fisiopatogênese da ND, a persistência da hiperglicemia crônica leva à ativação de diversas vias moduladas por fatores metabólicos, hemodinâmicos, imunológicos e intracelulares. Essas vias interagem de maneira dinâmica e contribuem para o comprometimento progressivo, estrutural e funcional nos glomérulos, túbulos, interstício e

vasos renais dos pacientes com DM1 e DM2 que evoluem para o desenvolvimento de ND (SAGOO; GNUDI, 2020; AGARWAL, 2021), conforme demonstrado na Figura 5.

**Figura 5** – Fisiopatogênese da Nefropatia Diabética.



Fonte: Adaptado de Amorim *et al.*, 2019.

Nota: Mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento e progressão da Nefropatia Diabética.

AGEs: produtos finais de glicação avançada.

RAGE: receptor de AGEs.

PKC: proteína quinase C.

EROs: espécies reativas de oxigênio.

M1: macrófagos.

Os fatores metabólicos associados à insuficiência renal estão intimamente relacionados com a ativação da via do poliol, da hexosamina e da PKC, em grande parte por meio da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). O estresse oxidativo induzido por EROs resulta em inflamação local e sistêmica, causando lesões nos podócitos, células mesangiais e endoteliais – essenciais para a manutenção da barreira de filtração glomerular – culminando

em proteinúria e fibrose tubulointersticial (DWIVEDI; SIKARWAR, 2021).

Nesse contexto, destaca-se o papel da hexosamina, uma via metabólica secundária da glicose ativada em condições de hiperglicemia persistente (AGARWAL, 2021). Essa via está associada com o aumento da expressão do fator de crescimento transformador- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) que estimula a produção de matriz extracelular mesangial e tubular, exacerbando a esclerose glomerular presente na ND (WU *et al.*, 2023). Além de promover o aumento da transcrição genética da fibronectina e do TGF- $\beta$  nas células mesangiais e endoteliais, desencadeando lesões iniciais da ND como espessamento da MBG e expansão mesangial (EFIONG *et al.*, 2025).

Por sua vez, a via poliol contribui para o aumento das EROs ao converter o excesso de glicose em sorbitol e, posteriormente, em frutose, promovendo estresse osmótico – um dos principais fatores envolvidos nas complicações microvasculares do diabetes. O aumento do fluxo nessa via também ativa a PKC, que, por sua vez, regula a expressão de TGF- $\beta$ , angiotensina II e fibronectina, intensificando o espessamento da MBG, o acúmulo de matriz extracelular e a progressão da fibrose glomerular, com possível extensão para a fibrose tubulointersticial (DWIVEDI; SIKARWAR, 2021; EFIONG *et al.*, 2025).

Outra via modulada por fatores metabólicos é a ativação do receptor de produtos finais de glicação avançada (AGEs) associada com a liberação do fator nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B). Este fator de transcrição regula a expressão de diversas citocinas inflamatórias e proteínas de adesão celular incluindo IL-1, IL-6, IL-18, TNF- $\alpha$ , moléculas de adesão intercelular 1 (ICAM-1), molécula de adesão de células vasculares 1 (CAM-1), molécula de adesão seletiva de células endoteliais (ESAM), E-selectina e  $\alpha$ -actinina-4. Tais mediadores estão implicados em alterações morfológicas significativas no parênquima renal, além de induzirem a produção de EROs, acentuando o estresse oxidativo renal (SAMSU, 2021). Essas moléculas em conjunto com o acúmulo de AGEs contribuem para o espessamento da MBG, aumento da matriz mesangial e do volume extracelular intersticial (AGARWAL, 2021). Esse quadro é agravado pela ativação da PKC que estimula a síntese de endotelina-1, um potente vasoconstritor, e pela regulação da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), desencadeando expansão vascular, que pode estar associado ao desenvolvimento de arteriosclerose hialina e ao comprometimento renal associado à hipertensão.

Fatores hemodinâmicos também desempenham um papel central na progressão da ND. Nesse contexto, a renina contribui para a lesão renal ao induzir estresse oxidativo, especialmente nos estágios iniciais da doença. A ativação do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), tanto sistêmico quanto intrarrenal, intensifica a pressão glomerular e favorece o desenvolvimento de proteinúria, inflamação e fibrose. Por outro lado, a aldosterona,

ao interagir com as células mesangiais, estimula a síntese de TGF- $\beta$ , resultando em um acúmulo ainda maior de matriz extracelular e na intensificação da fibrose (DWIVEDI; SIKARWAR, 2021). Já o cotransportador sódio-glicose 2 (SGLT2), promove aumento da reabsorção de sódio nos túbulos proximais, exacerbando o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial (BOUÇA *et al.*, 2021). A hipertensão glomerular, devido a dilatação das artérias aferentes glomerulares induzidas pela hiperglicemia crônica, contribui para a albuminúria e a redução da TFG, alterações clínicas e hemodinâmicas observadas no estágio inicial da ND (BOUÇA *et al.*, 2021).

Em relação aos fatores imunológicos há uma forte correlação com a inflamação de baixo grau presente na ND, definida como ativação da resposta do sistema imunológico inato representado, clinicamente, pelo aumento nos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  e IL-18 (MATOBA *et al.*, 2019; SAMSU, 2021). Além da IL-1, IL-6, IL-18, IL-33, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  também demonstraram participar ativamente do desenvolvimento e progressão da ND e, portanto, estão envolvidas na fisiopatogênese dessa doença (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Em decorrência da ativação do sistema imune inato irá ocorrer o recrutamento de macrófagos, atraídos para o rim a partir da disfunção de células endoteliais que estimulam a produção de moléculas de adesão ICAM-1 e ESAM, exacerbando assim a migração dos macrófagos. O aumento de EROs e de angiotensina II no ambiente renal promove a ativação de macrófagos, levando à maior expressão de TGF- $\beta$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Esses mediadores contribuem para a proliferação celular, intensificam o acúmulo de matriz extracelular e favorecem o surgimento de lesões nas células endoteliais, mesangiais, podócitos e nas estruturas tubulares (LIN *et al.*, 2018; AGARWAL, 2021; CHEN *et al.*, 2022).

À medida que a hiperglicemia crônica persiste, o componente C3 do sistema complemento é ativado, provocando a infiltração de leucócitos e mastócitos nos rins. Conforme a ND evolui, a suscetibilidade à isquemia renal torna-se mais aparente, o que intensifica a inflamação renal por meio do aumento acentuado da infiltração de neutrófilos e macrófagos no ambiente renal, resultando nas lesões glomerulares e na disfunção renal características da doença (LIN *et al.*, 2018; AGARWAL, 2021).

Entre as vias moleculares envolvidas na ND, a sinalização Janus Quinase–Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição (JAK-STAT) tem se destacado devido ao seu papel na mediação de processos inflamatórios e fibrogênicos associados ao desenvolvimento e à progressão da doença. Essa via tem íntima relação com a manutenção da hiperglicemia, estresse mecânico, formação de AGEs, expressão de NF- $\kappa$ B, inflamação crônica e lesão renal (DWIVEDI; SIKARWAR, 2021; SAMSU, 2021). Outro mecanismo significativo é a hipóxia

renal, decorrente do aumento do consumo energético e da diminuição do fornecimento de oxigênio devido à hiperfiltração glomerular e a fibrose tubulointersticial (LIN *et al.*, 2018; DWIVEDI; SIKARWAR, 2021).

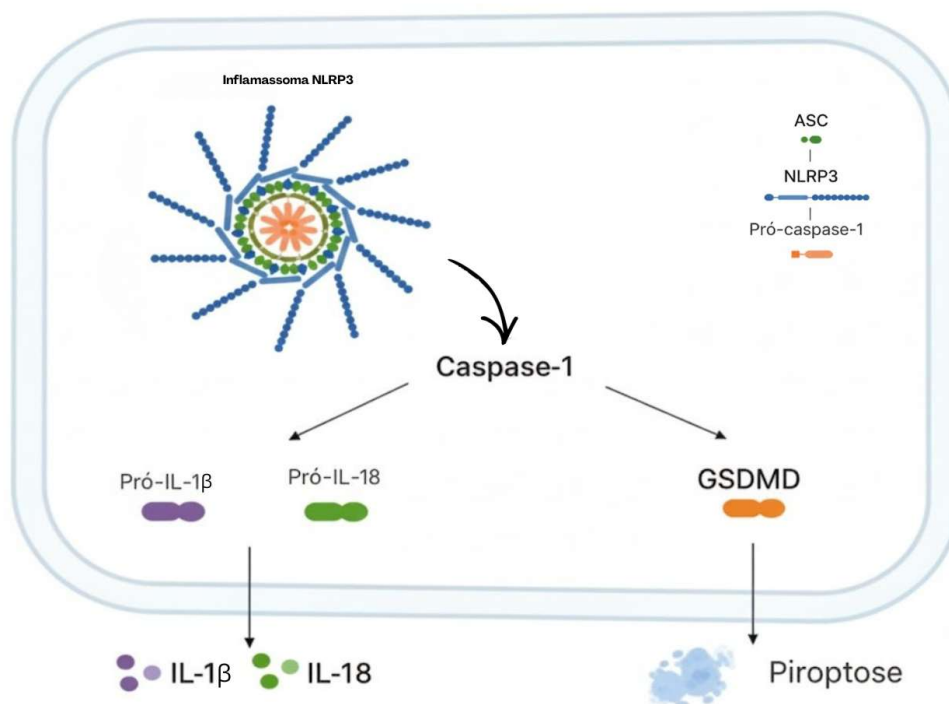
Logo, a inflamação crônica desempenha um papel central no desenvolvimento e progressão da ND. Nesse contexto, o inflamassoma NLRP3 e as citocinas pró-inflamatórias IL-18 e IL-1 $\beta$  emergem como potenciais mediadores desse processo.

### **1.2.3 Inflamassoma NLRP3 e Interleucinas IL-1 $\beta$ e IL-18 na Nefropatia Diabética**

Considerando a importância da resposta imune inata no desenvolvimento da ND, o inflamassoma da proteína 3 contendo domínios NOD, LRR e pirina (NLRP3) vem ganhando destaque como um mediador da resposta inflamatória (WILLIAMS *et al.*, 2022). Os inflamassomas são complexos multiproteicos que atuam como base para a ativação de caspases, regulando a maturação de citocinas, inflamação e piroptose, um tipo de morte celular inflamatória que ocorre principalmente em resposta a patógenos intracelulares (KOMADA; MURUVE, 2019).

A ativação do inflamassoma NLRP3 (Figura 6) constitui um evento molecular crucial na síntese de citocinas inflamatórias. Nesse processo, a pró-caspase-1 é recrutada por meio de interações CARD/CARD (domínios de recrutamento de caspases), permitindo sua clivagem e formação da caspase-1 ativa. A caspase-1 irá atuar como principal efetor enzimático responsável pela clivagem e liberação de citocinas pró-inflamatórias; contudo, não é a única capaz de maturar IL-1 $\beta$  e IL-18. Em determinados contextos inflamatórios, outras proteases também podem promover essa conversão, como a caspase-8, além de enzimas derivadas de neutrófilos, incluindo a elastase, a proteinase-3 e a catepsina G. Ainda assim, no inflamassoma NLRP3, a caspase-1 permanece o mediador predominante na conversão das formas precursoras pró-IL-1 $\beta$  e pró-IL-18 em IL-1 $\beta$  e IL-18 maduras (MASUMOTO *et al.*, 1999; LU *et al.*, 2014; EL-SHARKAWY *et al.*, 2020).

**Figura 6 - Inflamassoma NLRP3.**



Fonte: Adaptado de BROWN; BEDELL, 2025

Nota: O inflamassoma NLRP3 é composto por domínio NOD, LRR, ASC, pirina e pró-caspase-1. Após a ativação, o complexo promove a clivagem da pró-caspase-1 em caspase-1 ativa, que por sua vez processa a pró-IL-1 $\beta$  e a pró-IL-18 em suas formas ativas de citocinas. A caspase-1 também cliva a GSDMD, resultando na morte celular por piroptose.

Na ausência de infecção, o inflamassoma NLRP3 atua como um importante mediador da inflamação estéril, geralmente iniciada pela sinalização de receptores Toll-like, estimulados tanto por PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) quanto por DAMPs (padrões moleculares associados a danos teciduais). Além desses sinais, diversos distúrbios celulares podem induzir a montagem do complexo inflamatório, incluindo o efluxo de potássio, a ação de toxinas formadoras de poros, o influxo de cálcio, a disfunção mitocondrial e o aumento da produção de EROs. Em conjunto, esses mecanismos convergem para a ativação do NLRP3 (TANG; YIU, 2020).

A inflamação mediada pelo NLRP3 está intimamente relacionada às alterações na tolerância à glicose, à resistência à insulina e à hiperglicemia crônica persistente, características comuns em pacientes com DM1 e DM2 (WILLIAMS *et al.*, 2022). No ambiente renal, evidências demonstram que a formação e a ativação do inflamassoma NLRP3 ocorrem não apenas em células imunes clássicas, como macrófagos e células dendríticas, mas também em células renais não imunológicas, incluindo células epiteliais tubulares, células mesangiais e

podócitos (CONLEY *et al.*, 2017; XIONG *et al.*, 2021).

A ampla distribuição do inflamassoma NLRP3 no parênquima renal associa-se a lesões estruturais graves, como fibrose tubulointersticial e glomeruloesclerose, cuja progressão é intensificada pela acentuada infiltração de macrófagos (XIONG *et al.*, 2021). Tanto as células imunes residentes quanto as infiltrantes no tecido renal expressam os componentes necessários para a montagem funcional do NLRP3, favorecendo a ativação das citocinas pró-inflamatórias IL-1  $\beta$  e IL-18 (SPEER *et al.*, 2022).

Em modelos experimentais, Shahzad *et al.* (2022) demonstraram aumento da expressão do inflamassoma NLRP3 em camundongos diabéticos. Os autores também relataram que EROs e AGEs estão associados à ativação do inflamassoma em podócitos expostos à hiperglicemia. Além disso, a inibição das EROs suprimiu a expressão do NLRP3 nos glomérulos, retardando a progressão da ND. Esses achados sugerem que a modulação do NLRP3 pode representar uma estratégia terapêutica promissora (SHAHZAD *et al.*, 2022).

Aprofundando a análise dos mediadores inflamatórios, observa-se que a IL-1 $\beta$  é expressa não apenas por macrófagos, mas também por células epiteliais tubulares renais e por podócitos (XIONG *et al.*, 2021). Além disso, a IL-1 $\beta$  intensifica a resposta inflamatória renal ao induzir a expressão de moléculas de adesão ICAM-1, ESAM e E-selectina nas células endoteliais, promovendo a migração de leucócitos para o local da inflamação. Promovendo também o aumento da produção de mediadores inflamatórios, como IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-8, comprometendo a integridade tecidual renal. Adicionalmente, a IL-1 $\beta$  tem sido associada à disfunção da barreira de filtração glomerular, aumento da proteinúria, indução de estresse oxidativo e ativação de vias fibrogênicas que culminam em glomeruloesclerose e fibrose tubulointersticial, alterações marcantes na progressão da ND (RAYEGO-MATEOS *et al.*, 2020).

Um estudo de coorte prospectivo e unicêntrico conduzido por Li *et al.* (2019) relatou que níveis elevados de IL-1 $\beta$  promovem apoptose de células  $\beta$ , reduzindo a capacidade secretora de insulina e levando à hiperglicemia persistente. Os autores também observaram que a IL-1 $\beta$  participa do declínio da TFG, da perda de podócitos e da inflamação renal em camundongos diabéticos. De forma complementar, Lei *et al.* (2019) demonstraram, por meio de imuno-histoquímica em biópsias renais de pacientes com ND, aumento da expressão de IL-1 $\beta$  em macrófagos, células tubulares e no compartimento tubulointersticial.

Evidências recentes indicam que a IL-1 $\beta$  exerce papel na progressão da lesão renal, promovendo alterações estruturais e disfunção dos podócitos, o que contribui para o desenvolvimento e agravamento da glomeruloesclerose por meio da ativação da via NF- $\kappa$ B.

Adicionalmente, a inibição da sinalização IL-1/IL-1R tem sido associada à redução da proteinúria e à preservação da função glomerular, o que reforça a relevância dessa citocina não apenas como mediadora da inflamação, mas também como alvo terapêutico e marcador de progressão da ND (KOVALIK *et al.*, 2024).

A IL-18 atua como um importante efetor do processo inflamatório e da progressão da ND. Essa citocina é expressa por macrófagos, células dendríticas, queratinócitos, osteoblastos e diversos outros tipos celulares. Nos rins, sua expressão ocorre predominantemente em células epiteliais tubulares, sendo intensificada por citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 e IL-6. Além disso, células do compartimento tubulointersticial e podócitos também contribuem para sua produção, ampliando o microambiente inflamatório renal (YARIBEYGI *et.al.*, 2018; XIONG *et al.*, 2021; HIROOKA; NOZAKI, 2021).

De forma complementar, experimentos *in vitro* demonstraram que a IL-18 induz apoptose celular por meio da sinalização Fas/FasL, eventos que contribuem diretamente para o desenvolvimento de fibrose intersticial, estabelecendo um ciclo contínuo de inflamação crônica e lesão progressiva nos tecidos renais (HIROOKA; NOZAKI, 2021).

Estudos clínicos demonstraram que os níveis séricos e urinários da IL-18 apresentaram um aumento em pacientes com ND quando comparados a diabéticos sem comprometimento renal e a indivíduos saudáveis, sendo observada correlação positiva com a progressão da lesão renal e disfunção renal precoce em pacientes com DM1 e DM2 (YARIBEYGI *et.al.*, 2018). Esses achados sugerem que a IL-18 pode representar um marcador precoce de lesão renal e de progressão da ND.

Além disso, no rim a IL-18 está fortemente associada mecanismos moleculares patogênicos envolvidos na ND. Foi relatado que a IL-18 tem um papel fundamental na regulação de moléculas de adesão aumentando a expressão de ICAM-1, ESAM e E-selectina em células endoteliais recrutando leucócitos, que promove a infiltração de macrófagos induzindo fibrose renal à medida que a ND progride (YARIBEYGI *et.al.*, 2018).

A ativação da IL-18 pode desempenhar um papel relevante nas lesões renais associadas ao desequilíbrio redox. Roland *et al.* (2010) demonstraram que os níveis plasmáticos de IL-18 se correlacionam positivamente com marcadores de estresse oxidativo, indicando que sua ação pode representar um mecanismo adicional pelo qual essa citocina contribui para o desenvolvimento da ND (ROLAND *et al.*, 2010; YARIBEYGI *et.al.*, 2018).

Logo, o inflamassoma NLRP3 e as citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18 poderão atuar como alvos promissores para intervenções terapêuticas no desenvolvimento e progressão da ND. No entanto, estudos futuros são necessários para explorar a inibição seletiva desses

mediadores. Aprofundar esse entendimento pode, portanto, abrir caminhos para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas para pacientes com ND.

#### 1.2.4 Nefropatia Diabética em idosos

A ND constitui uma das principais causas de DRC em idosos, contribuindo significativamente para a morbimortalidade nessa população. O DM e a DRC são comorbidades frequentes em adultos mais velhos, e o DM pode acelerar o processo de envelhecimento renal, dificultando o diagnóstico baseado em critérios clássicos, como proteinúria acentuada e redução progressiva da TFG (FRANSCISCO *et al.*, 2022; RAVENDER *et al.*, 2024). Estudos populacionais em idosos brasileiros indicam alta prevalência e incidência de DM, destacando fatores como sobrepeso e descontrole glicêmico, o que contribui para a progressão de complicações renais agravada principalmente pela manutenção de um ambiente inflamatório e metabólico desfavorável (SANTOS *et al.*, 2020; FRANSCISCO *et al.*, 2022).

Em indivíduos diabéticos, o envelhecimento renal ocorre de forma acelerada, impulsionado por estresse glicêmico, AGEs, hipertensão e senescência celular, caracterizada pelo encurtamento de telômeros e pela ativação de inibidores da quinase dependente de ciclina (CDKs). Esses mecanismos contribuem para alterações estruturais e funcionais nos néfrons, favorecendo o início e progressão da ND (GUO *et al.*, 2020).

A imunossenescência e o *inflammaging* atuam de maneira sinérgica para intensificar a ativação do inflamassoma NLRP3 nos rins. O envelhecimento promove disfunção imunológica e celular, marcada pelo acúmulo de dano mitocondrial, redução da autofagia e aumento da liberação de DAMPs, que funcionam como estímulos diretos ao NLRP3. Paralelamente, o *inflammaging* estabelece um estado inflamatório crônico de baixo grau, no qual citocinas como IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\alpha$  sustentam a etapa de sensibilização do inflamassoma por meio da ativação contínua de NF- $\kappa$ B, ampliando a expressão de NLRP3, pró-IL-1 $\beta$  e pró-IL-18. Em conjunto, esses processos favorecem a ativação persistente do NLRP3 em células renais, incluindo podócitos, células tubulares e mesangiais intensificando a produção de IL-1 $\beta$  e IL-18, promovendo inflamação, fibrose e acelerando a progressão de comprometimento renal associado ao envelhecimento (GRITSENKO *et al.*, 2020; CISNEROS *et al.*, 2022; WRONA *et al.*, 2024).

Já a IL-1 $\beta$  participa da inflamação renal e apresenta níveis elevados em biópsias renais e na urina de pacientes com ND, associando-se à gravidade da proteinúria e da glomeruloesclerose (GRITSENKO *et al.*, 2020). Em idosos, essa citocina intensifica a perda

estrutural de podócitos e induz apoptose em células epiteliais tubulares, contribuindo para fibrose tubulointersticial e declínio progressivo da função renal (CISNEROS *et al.*, 2022). Enquanto a IL-18, atua de forma complementar estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , potencializando o microambiente inflamatório renal (CHI *et al.*, 2022). Além disso, exerce efeitos pró-apoptóticos, perpetuando a inflamação local e comprometimento funcional dos rins (WRONA *et al.*, 2024).

A persistência de níveis elevados de IL-1 $\beta$  e IL-18 em idosos diabéticos representa um ponto de convergência entre imunossenescência, inflamação metabólica e envelhecimento renal. Essas citocinas não apenas intensificam as lesões estruturais, como glomerulosclerose e fibrose tubulointersticial, mas também contribuem para a fragilidade clínica típica dessa faixa etária. Nesse contexto, a modulação farmacológica do inflamassoma NLRP3 ou a inibição seletiva de IL-1 $\beta$  e IL-18 surge como uma estratégia terapêutica promissora, embora ainda pouco explorada especificamente em idosos (GRITSENKO *et al.*, 2020; CISNEROS *et al.*, 2022).

Por fim, destaca-se que o diagnóstico de ND em idosos apresenta desafios adicionais, dado que a TFG declina naturalmente com a idade, mesmo na ausência de doença renal, podendo levar a interpretação excessiva do comprometimento renal quanto ao atraso na detecção da doença. Além disso, a proteinúria – marcador clássico da ND – pode ser discreta ou ausente em idosos, dificultando sua identificação precoce (RAVENDER *et al.*, 2024).

O manejo clínico requer abordagem individualizada, considerando comorbidades, fragilidades e o perfil farmacológico do idoso. Recomenda-se cautela no uso de inibidores de SGLT2 e antagonistas do SRAA, uma vez que essa população é frequentemente pouco representada em ensaios clínicos (RAVENDER *et al.*, 2024). Ainda assim, os avanços no entendimento das vias inflamatórias, especialmente envolvendo o inflamassoma NLRP3 e as citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18, abrem perspectivas para intervenções terapêuticas mais precisas no manejo da ND em idosos.

## 2 JUSTIFICATIVA

O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica e altamente prevalente, marcada por hiperglicemia persistente que desencadeia inflamação de baixo grau mediada pela imunidade inata (BERBUDI *et al.*, 2020). Como condição crônica, aumenta o risco de diversas complicações macro e microvasculares, afetando órgãos como olhos, nervos, vasos sanguíneos, coração e rins. Entre essas complicações, destaca-se a Nefropatia Diabética (ND), principal causa mundial de doença renal crônica e de doença renal em estágio terminal (THIPSAWAT, 2021).

A inflamação persistente do tecido renal é um fator central na progressão da ND (SAMSU, 2021). Em idosos, esse processo é agravado por alterações fisiológicas do envelhecimento, hipertensão e controle glicêmico inadequado, aumentando a vulnerabilidade ao dano renal (SANTOS *et al.*, 2020; FRANCISCO *et al.*, 2022).

No ambiente hiperglicêmico, estímulos como excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), acúmulo de produtos de glicação avançada (AGEs) e estresse oxidativo mitocondrial ativam o inflamassoma NLRP3, levando à liberação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18, que contribuem para fibrose, apoptose e disfunção glomerular e tubular (WILLIAMS *et al.*, 2022).

Dado o papel significativo que o NLRP3 exerce na fisiopatologia da ND, estudos demonstram que sua inibição reduz a inflamação renal, a proteinúria e a fibrose em modelos experimentais, reforçando seu potencial como alvo terapêutico (SHAHZAD *et al.*, 2022). Logo, a análise *in situ* da expressão do NLRP3 e das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18 torna-se essencial para a compreensão dos mecanismos inflamatórios envolvidos na ND e para subsidiar o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

### **3 HIPÓTESE**

Pacientes com Nefropatia Diabética apresentam aumento da expressão tecidual do inflamassoma NLRP3 e das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18, o que se associa à gravidade das lesões renais inflamatórias, especialmente nos pacientes idosos.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a expressão tecidual do inflamassoma NLRP3 e das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18 em biópsias renais de pacientes com Nefropatia Diabética, comparando grupos etários distintos e investigar possíveis associações com achados clínicos e histopatológicos.

### 4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Caracterizar os aspectos epidemiológicos e clínicos de pacientes idosos e não idosos com diagnóstico de Nefropatia Diabética;
- Quantificar a expressão do inflamassoma NLRP3 e das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18 em biópsias renais de pacientes idosos e não idosos com Nefropatia Diabética nos compartimentos glomerular e intersticial, comparativamente ao grupo controle;
- Comparar a expressão do inflamassoma NLRP3 e das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18 em biópsias renais de pacientes idosos e não idosos com Nefropatia Diabética nos compartimentos glomerular e intersticial, em relação ao grupo controle;
- Correlacionar a expressão do inflamassoma NLRP3 e das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18 em biópsias renais de pacientes idosos e não idosos com Nefropatia Diabética nos compartimentos glomerular e intersticial e associar com os parâmetros clínicos.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 CASUÍSTICA

Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo e de delineamento observacional, conduzido com a participação de seres humanos. As variáveis incluídas no protocolo de análise apresentaram natureza semiquantitativa, sendo avaliadas a partir de critérios metodológicos previamente estabelecidos. Ressalta-se que não foi empregado o procedimento de duplo-cego entre as etapas analíticas, uma vez que as alterações histopatológicas glomerulares da Nefropatia Diabética são características e de fácil reconhecimento, o que inviabilizaria o mascaramento sem comprometer a acurácia interpretativa.

Inicialmente, os dados foram organizados em planilhas eletrônicas (Microsoft Excel®) e incluíram informações clínicas (hipertensão arterial sistêmica, uso de antidiabéticos e tempo em anos do diagnóstico de Diabetes Mellitus), laboratoriais (creatinina sérica, depuração de creatinina, taxa de filtração glomerular estimada, glicemia e proteinúria) e epidemiológicas (idade e gênero), extraídas das solicitações de biópsia de rins nativos de pacientes diabéticos adultos ( $\geq 18$  anos). Incluíram-se também a respectiva classificação histopatológica glomerular da Nefropatia Diabética, segundo Tervaert *et al.* (2010), obtidas nos laudos anatomopatológicos do Centro de Pesquisa em Rim (CePRim) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba/MG.

Para fins de análise comparativa entre faixas etárias, os indivíduos incluídos no estudo foram classificados em dois grupos: idosos, definidos como aqueles com idade igual ou superior a 60 anos, e não idosos, com idade entre 18 e 59 anos. Esse critério etário segue as recomendações da Organização Mundial da Saúde para países em desenvolvimento e está alinhado às disposições do Estatuto do Idoso (Lei nº 8.842/1994), que reconhece como idosos as pessoas a partir de 60 anos no contexto brasileiro.

Por fim, foram identificadas 107 biópsias renais com diagnóstico de Nefropatia Diabética no CePRim/UFTM entre os anos de 2006 a 2024. Destas, 27 foram excluídas devido à ausência de dados conclusivos para Nefropatia Diabética ou para o diagnóstico de Diabetes Mellitus, perda do fragmento tecidual durante o processo de recuperação antigênica, faixa etária pediátrica, presença de doenças sobrepostas ou relato de doença sistêmica. Assim, 80 casos permaneceram elegíveis para a análise imuno-histoquímica.

O grupo controle ( $n = 22$ ) foi constituído por rins obtidos de necrópsias de pacientes adultos ( $\geq 18$  anos) cujo óbito não esteve associado a doenças renais, infecciosas ou

inflamatórias. As amostras foram disponibilizadas pelo Serviço de Patologia da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP.

## 5.2 ASPECTOS ÉTICOS

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP/UFTM) com o protocolo número 3.001.006 (Anexo A).

O material no qual foi realizada a pesquisa é proveniente de biópsias renais solicitadas e realizadas pelo médico e encaminhadas ao CePRim/UFTM para análise e diagnóstico. Esse trabalho utilizou os resultados da análise da biópsia renal solicitada e para manter a confidencialidade do paciente não foi divulgado seu nome ou quaisquer informações contidas nos laudos, mantendo-se assim o sigilo e privacidade, uma vez que os casos foram identificados com letras e números.

## 5.3 IMUNO-HISTOQUÍMICA

### 5.3.1 Imunoperoxidase

A técnica de imunoperoxidase foi realizada manualmente em lâminas reservas contendo seções de tecido da biópsia renal incluído em parafina de 2 µm cada. As lâminas foram pré-tratadas com solução Trilogy (Cell Marque) 1:20 para desparafinação, hidratação e recuperação antigênica na panela Pascal (Dako) por aproximadamente 30 minutos, em seguida as lâminas foram lavadas com tampão PBS e incubadas em câmara úmida e escura com bloqueador de peroxidase (Peroxidase Block, Kit Novolink) por 30 minutos. Após, as lâminas foram lavadas com tampão PBS por 2 vezes por 5 minutos cada lavagem. Depois foram incubadas com bloqueador de proteínas (Protein Block, Kit Novolink) por 25 minutos. Depois de verter o bloqueador de proteínas, as lâminas foram incubadas *overnight*, a 4 °C, em câmara úmida e escura, com os anticorpos primários diluídos em solução PBS/BSA 2%, conforme detalhado na Tabela 1. Utilizaram-se: (1) anti-NLRP3 (Thermo Fisher), 1:500; (2) anti-IL-1β (Bio SB), 1:100; e (3) anti-IL-18 (Thermo Fisher), 1:500. Depois, foram lavadas com tampão PBS por 3 vezes de 5 minutos e incubadas com pós-primário (Post Primary Block, Kit Novolink) por 30 minutos. Após, as lâminas foram lavadas com tampão PBS por 2 vezes de 5 minutos cada lavagem e incubadas com polímero (Polymer, Kit Novolink) por 30 minutos. Depois, foram lavadas com tampão PBS por 2 vezes de 5 minutos e incubadas com cromógeno (Liquid Dab, Kit Dako) por 2 minutos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água corrente e contra-coradas com Hematoxilina de Harris por 1 minuto. Por fim, as lâminas foram desidratadas em uma sequência de álcoois (70%, 80%, 90% e 95%), diafanizadas em xilol (I, II e III), montadas

com meio de montagem permanente e lâmina.

**Tabela 1** – Especificações da imuno-histoquímica.

<b>Anticorpo primário</b>	<b>Fornecedor</b>	<b>Clone ou código</b>	<b>Concentração</b>
Anticorpo policlonal anti-NRLRP3	Thermo Fisher	PA5-79740	1:500
Anticorpo monoclonal anti-IL1 $\beta$	Bio SB	PI3706	1:100
Anticorpo monoclonal anti-IL18	Thermo Fisher	MA5-47203	1:500

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

### 5.3.2 Análise semiquantitativa

A análise incluiu todo fragmento da biópsia renal presente na lâmina. As células mesangiais, podócitos e células endoteliais, nos glomérulos, bem como o infiltrado de células inflamatórias no interstício renal que apresentaram coloração marrom, foram consideradas como imunomarcção positiva por patologista experiente, em microscópio de luz (40x).

A proporção de imunomarcção foi estabelecida com base no percentual de células imunomarcadas. No compartimento glomerular, foram avaliados todos os glomérulos presentes no fragmento, selecionando-se aqueles mais representativos, sem esclerose ou artefatos de dobra e com maior extensão das alças capilares visível. No compartimento intersticial, foram quantificadas as células inflamatórias com citoplasma marrom, indicativo de positividade para imunomarcção, sem identificação do subtipo celular, uma vez que apenas a presença de imunomarcção era relevante para a análise. Os túbulos renais foram excluídos da avaliação devido à presença de imunomarcção inespecífica.

Os achados foram categorizados em uma escala ordinal variando de 0%, correspondente à ausência de imunomarcção, a 89%, representando imunomarcção acentuada, já que não foram observadas proporções entre 90% e 100% (FERRO, 2014). Os resultados foram posteriormente agrupados de acordo com a proporção da imunomarcção (Tabela 2).

**Tabela 2** – Proporção da Imunomarcação.

<b>Percentual</b>	<b>Característica</b>
0 – 1%	Marcação ausente
2 – 10%	Marcação discreta
11 – 49%	Marcação moderada
50 – 89%	Marcação acentuada
90 – 100%	Marcação muito acentuada

Fonte: Adaptado de FERRO, 2014.

#### 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para organização dos dados foi elaborado uma planilha eletrônica (Microsoft Excel®) e para análise estatística e confecção dos gráficos foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 5.0 (Graphpad Software®). A normalidade das variáveis foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparações entre três ou mais grupos foi utilizado o teste Kruskal-Wallis (H), seguido do pós- teste de Dunn e as variáveis contínuas foram expressas como média  $\pm$  desvio-padrão. As correlações foram avaliadas pelo coeficiente de Pearson (S), quando os dados apresentaram distribuição normal, ou pelo coeficiente de Spearman (rS) em casos de distribuição não paramétrica. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

#### 5.5 NORMAS PARA A CONFECÇÃO DO MANUSCRITO

O presente manuscrito foi confeccionado de acordo com o Manual para Apresentação de Trabalhos Acadêmicos, 5ª edição de 2025 da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, disponível em: <https://www.uftm.edu.br/biblioteca/manual-para-apresentacao-de-trabalhos-academicos>.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

Dos 80 casos diagnosticados com Nefropatia Diabética, 28 pertenciam ao grupo idoso. Desses, 18 eram do sexo masculino, com média de idade de 66 anos, e 10 do sexo feminino, com média de idade de 65 anos, conforme apresentado na Tabela 3. No grupo não idoso, 52 casos foram diagnosticados com Nefropatia Diabética, sendo 25 do sexo masculino, com média de idade de 50 anos, e 27 do sexo feminino, com média de idade de 41 anos (Tabela 3).

No grupo controle (n = 22), 12 indivíduos eram do sexo masculino e 10 do sexo feminino, com média geral de idade de  $47 \pm 16,57$  anos.

**Tabela 3** – Perfil epidemiológico dos pacientes com Nefropatia Diabética.

	<b>Grupo idoso (n=28)</b>	<b>Grupo não idoso (n=52)</b>
<b>Idade (Média ± DP)</b>		
Masculino	65,73± 4,41	46,80 ± 10,23
Feminino	66,17± 4,91	46,06 ± 10,24
<b>Gênero n (%)</b>		
Masculino	18 (64,2%)	25 (48%)
Feminino	10 (35,7%)	27 (51,9%)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: n: número de casos.

Média ± DP: valor médio acompanhado do desvio padrão.

### 6.2 PERFIL DO DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS

No grupo idoso, 17 apresentavam diagnóstico de DM2, enquanto em 11 casos não havia dados suficientes para definir o tipo de diabetes, nenhum paciente relatou diagnóstico de DM1 (Tabela 4). Quanto ao tempo de doença, 13 idosos tinham diagnóstico há mais de 10 anos, 8 idosos entre 1 e 10 anos, e 7 idosos não souberam informar há quantos anos foram diagnosticados com diabetes.

No grupo não idoso, 9 casos apresentavam DM1, 19 casos DM2 e em 24 casos não havia registro que permitisse identificar o tipo de diabetes. Em relação ao tempo de diagnóstico, 32 casos tinham diabetes há mais de 10 anos, 13 casos entre 1 e 10 anos, e 7 casos sem informação do tempo de diagnóstico do diabetes (Tabela 4).

**Tabela 4** – Perfil do subtipo e tempo de diagnóstico do Diabetes Mellitus.

	<b>Grupo idoso (n=28)</b>	<b>Grupo não idoso (n=52)</b>
<b>Diabetes Mellitus n (%)</b>		
Tipo 1	0	9 (17,31%)
Tipo 2	17 (61%)	19 (36,54%)
Não informado	11 (39%)	24 (46,15%)
<b>Tempo de diagnóstico do Diabetes Mellitus (n)</b>		
> 10 anos	13 (46,43%)	32 (61,54%)
1 – 10 anos	8 (28,57%)	13 (25%)
Não informado	7 (25%)	7 (13,46%)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: n: número de casos.

### 6.3 PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL

Em relação aos dados clínicos do grupo idoso, 23 pacientes eram hipertensos, 2 pacientes não apresentavam hipertensão arterial e em 3 casos, não havia registro sobre hipertensão arterial. Do total de 23 idosos hipertensos, 15 são homens e 8 são mulheres. Quanto aos dados laboratoriais desses pacientes a média da proteinúria foi de  $5,86 \pm 5,67$  g/24h, a média de creatinina sérica foi de  $3,39 \pm 4,89$  mg/dL, a média da taxa de filtração glomerular estimada foi de  $28,7 \pm 18,01$  ml/min/1,73m<sup>2</sup> e a média da glicemia foi de  $157 \pm 91,21$  mg/dL, como demonstrado na Tabela 5.

Quando analisamos o grupo não idoso 38 são hipertensos, 8 não hipertensos e 6 não há informação sobre o diagnóstico de hipertensão. Do total de 38 não idoso são hipertensos, 20 são homens e 18 são mulheres. Em relação aos dados laboratoriais do grupo não idoso a média da proteinúria foi de  $5,01 \pm 3,59$  g/24h, a média de creatinina sérica foi de  $2,86 \pm 2,30$  mg/dL, a média da taxa de filtração glomerular estimada foi de  $43,6 \pm 31,18$  ml/min/1,73m<sup>2</sup> e a média da glicemia foi de  $167 \pm 80,41$  mg/dL (Tabela 5).

**Tabela 5**– Perfil clínico- laboratorial dos pacientes com Nefropatia Diabética.

	<b>Grupo idoso (n=28)</b>	<b>Grupo não idoso (n=52)</b>
<b>Hipertensos (n) %</b>		
Sim	23 (82,14%)	38 (73,07%)
Não	2 (7,14%)	8 (15,38%)
Não informado	3 (10,71%)	6 (11,53%)
Homens hipertensos	15 (53,57%)	20 (38,46%)
Mulheres hipertensas	8 (28,57%)	18 (34,61%)
<b>Proteinúria (Média ± DP)</b>	5,86 ± 5,67	5,01 ± 3,59
<b>Creatinina sérica (Média ± DP)</b>	3,39 ± 4,89	2,86 ± 2,30
<b>Taxa de filtração glomerular (Média ± DP)</b>	28,7 ± 18,01	43,6 ± 34,18
<b>Glicemia (Média ± DP)</b>	157 ± 91,21	167 ± 80,41

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: n: número de casos.

Média ± DP: valor médio acompanhado do desvio padrão.

#### 6.4 PERFIL HISTOPATOLÓGICO

A classificação da Nefropatia Diabética, adotada neste estudo de acordo com os critérios propostos por Tervaert *et al.* (2010), foi realizada com base na análise dos laudos anatomopatológicos emitidos pelo CePRim/UFTM. Os dados obtidos foram organizados em categorias conforme a classificação proposta (Tabela 6), permitindo a visualização da distribuição dos pacientes segundo as classes histopatológicas identificadas.

**Tabela 6** – Classificação histopatológica da Nefropatia Diabética.

	<b>Grupo idoso (n=28)</b>	<b>Grupo não idoso (n=52)</b>
<b>Classes (n)</b>		
I	0	1 (1,92%)
IIa	4 (14,28%)	2 (3,84%)
IIb	2 (7,14%)	1 (1,92%)
III	11 (39,29%)	32 (61,54%)
IV	11 (39,29%)	16 (30,77%)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: n: número de casos.

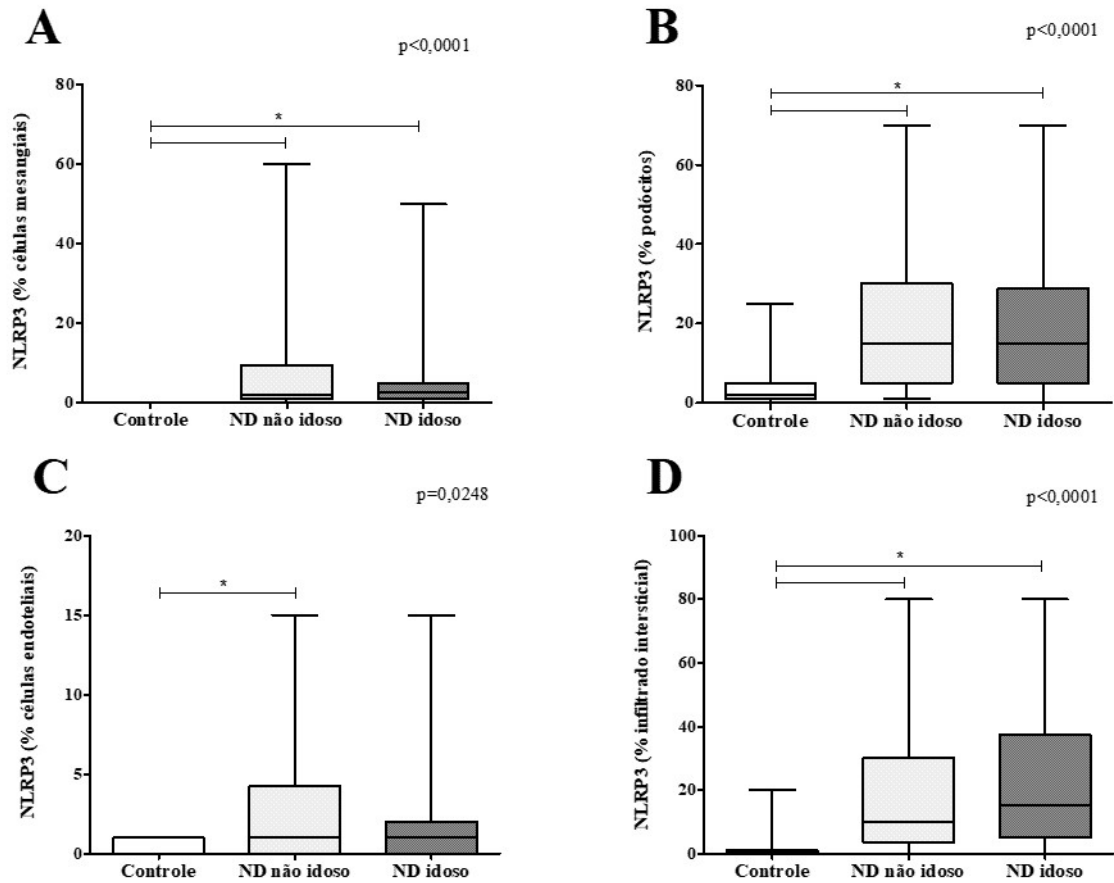
## 6.5 ANÁLISE SEMIQUANTITATIVA

A expressão do inflamassoma NLRP3 e das citocinas pró-inflamatórias IL1 $\beta$  e IL18 foram analisadas em diferentes células glomerulares e no interstício renal dos pacientes idosos e não idosos com Nefropatia Diabética (ND). Observou-se que o percentual de células mesangiais imunomarcadas com o inflamassoma NLRP3 (Figura 7A) foi significativamente maior tanto no grupo idosos quanto no grupo não idosos de pacientes com ND, quando comparados ao grupo controle ( $p < 0,0001$ ). Da mesma forma, a imunomarcação do NLRP3 nos podócitos (Figura 7B) apresentou aumento significativo em ambos os grupos etários com ND em relação ao grupo controle ( $p < 0,0001$ ), mantendo-se equivalentes entre o grupo idosos e o grupo não idosos.

Na análise das células endoteliais glomerulares (Figura 7C), verificou-se maior expressão de NLRP3 no grupo não idosos de pacientes com ND em comparação ao controle ( $p = 0,0248$ ) entretanto, o grupo idosos de pacientes com ND não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Enquanto no infiltrado intersticial (Figura 7D), houve um aumento significativo da imunomarcação do NLRP3 em ambos os grupos com ND, independentemente da idade, em relação ao grupo controle ( $p < 0,0001$ ).

Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos idoso e não idoso com ND nos compartimentos glomerular e intersticial analisados com imunomarcação para NLRP3. Além disso, a análise comparativa entre as classes de ND também não demonstrou variações relevantes na expressão de NLRP3, independentemente da faixa etária.

**Figura 7** – Percentual da imunomarcção do inflamassoma NLRP3 nos grupos com Nefropatia Diabética.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Análise comparativa do percentual da imunomarcção do NLRP3 em células mesangiais (A), nos podócitos (B), em células epiteliais (C) e no infiltrado intersticial (D).

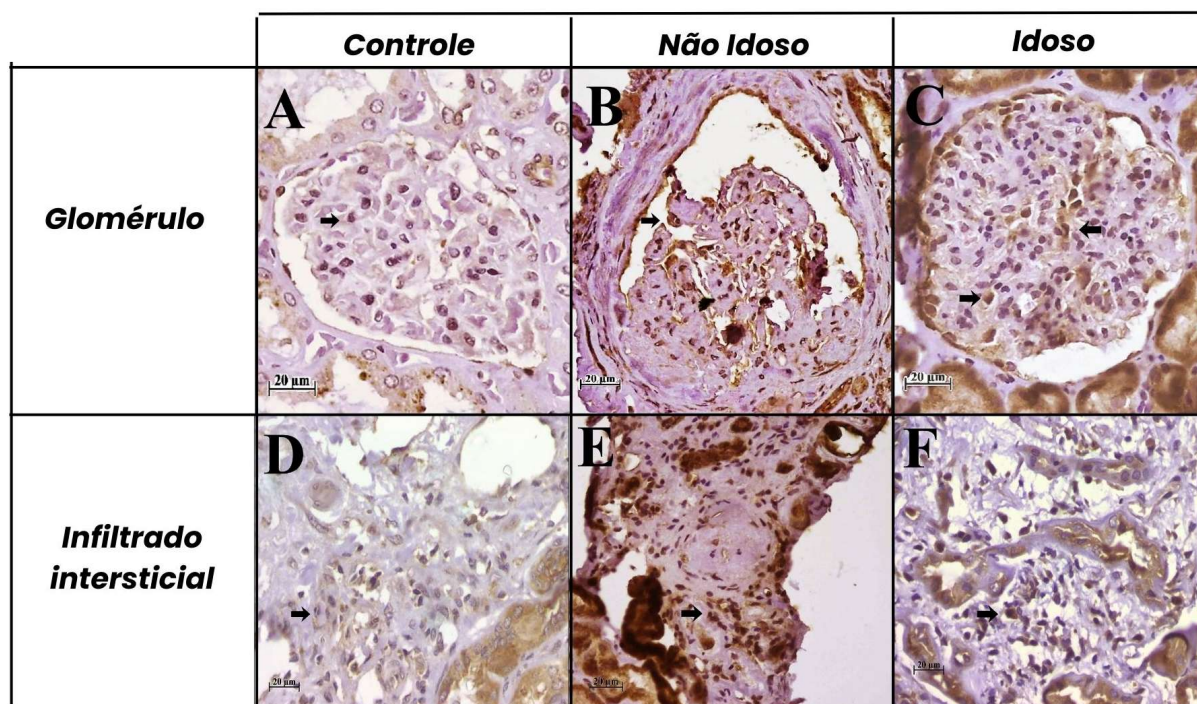
%; percentual de células imunomarcadas.

ND: Nefropatia Diabética.

Teste Kruskal – Wallis.  $*p < 0,05$ .

Resultados: expressos como mediana (mín.–máx.). As linhas horizontais representam a mediana, as barras correspondem aos percentis 25–75% e as linhas verticais representam os percentis 10–90%.

**Prancha 1** – Imunomarcção do inflamassoma NLRP3 nos compartimentos renais nos grupos com Nefropatia Diabética.



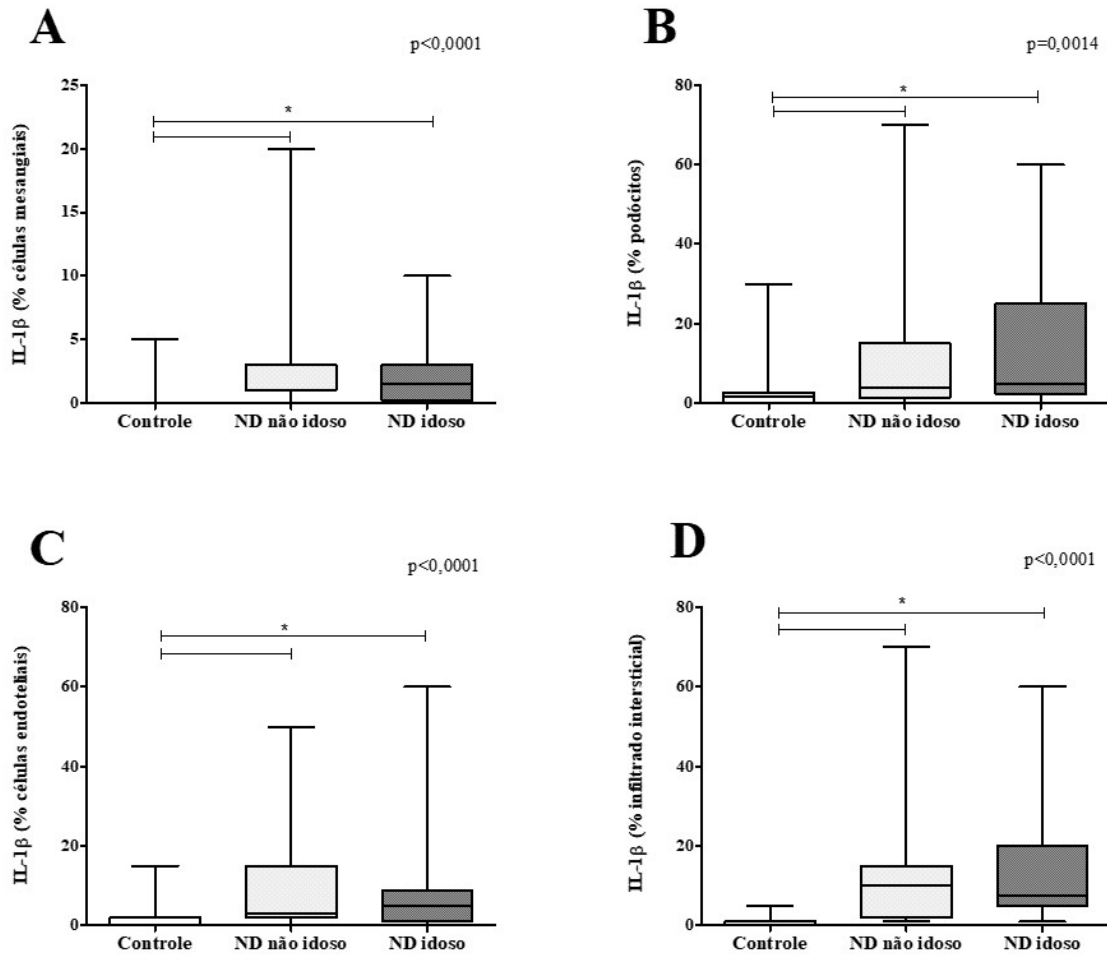
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Imunomarcção do inflamassoma NLRP3 em biópsia renal de pacientes com Nefropatia Diabética (ND) e controle, coradas em HE e observadas no aumento 40x. (A) Glomérulo de rim controle, com imunomarcção discreta de NLRP3 em células mesangiais, indicado pela seta. (B) Glomérulo de pacientes não idosos com ND, com acentuada imunomarcção de NLRP3 em podócitos, indicado pela seta. (C) Glomérulo de pacientes idosos com ND, com moderada imunomarcção de NLRP3 em células mesangiais e endoteliais, indicado pela seta. (D) Região intersticial de um caso controle, com marcação discreta de NLRP3, indicado pela seta. (E-F) Região intersticial de caso de ND, com forte imunomarcção de NLRP3 em células inflamatórias de pacientes não idosos (E) e idosos (F) com ND.

A imunomarcção para IL-1 $\beta$  apresentou aumento significativo em diferentes células renais de pacientes com ND, tanto em indivíduos idosos quanto em não idosos, quando comparados ao grupo controle. Esse aumento foi observado nas células mesangiais (Figura 8A;  $p < 0,0001$ ), podócitos (Figura 8B;  $p = 0,0014$ ), células endoteliais (Figura 8C;  $p < 0,0001$ ) e no infiltrado intersticial (Figura 8D;  $p < 0,0001$ ).

Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos idoso e não idoso com ND nos compartimentos glomerular e intersticial analisados com imunomarcção para IL-1 $\beta$ . Além disso, a análise comparativa entre as classes de ND também não demonstrou variações relevantes na expressão de IL-1 $\beta$ , independentemente da faixa etária.

**Figura 8** – Percentual da imunomarcação da IL-1 $\beta$  nos grupos com Nefropatia Diabética.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Análise comparativa do percentual da imunomarcação da IL-1 $\beta$  em células mesangiais (A), nos podócitos (B), em células epiteliais (C) e no infiltrado intersticial (D).

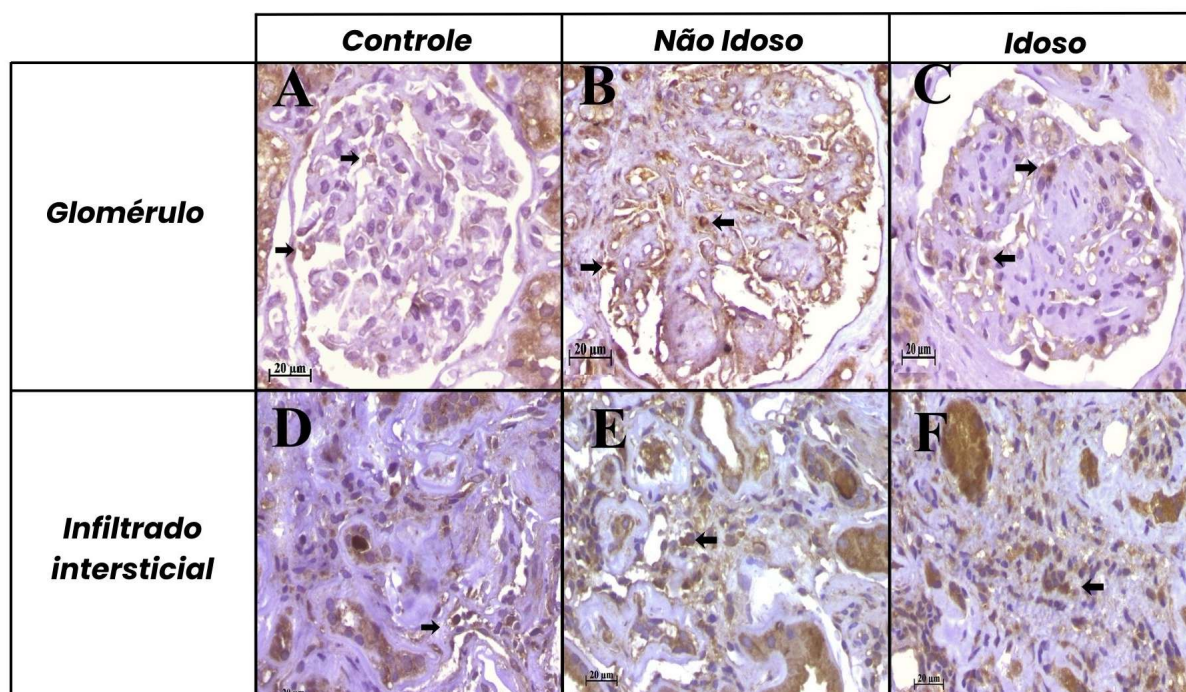
%; percentual de células imunomarcadas.

ND: Nefropatia Diabética.

Teste Kruskal – Wallis. \* $p < 0,05$ .

Resultados: expressos como mediana (mín.–máx.). As linhas horizontais representam a mediana, as barras correspondem aos percentis 25–75% e as linhas verticais representam os percentis 10–90%.

**Prancha 2** – Imunomarcção da IL-1 $\beta$  nos compartimentos renais nos grupos com Nefropatia Diabética.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Imunomarcção da IL-1 $\beta$  em biópsia renal de pacientes com Nefropatia Diabética (ND) e controle, coradas em HE e observadas no aumento 40x. (A) Glomérulo de rim controle, com imunomarcção discreta de IL-1 $\beta$  em podócitos, indicado pela seta. (B) Glomérulo de pacientes não idosos com ND, com acentuada imunomarcção de IL-1 $\beta$  em podócitos e células mesangiais, indicado por seta. (C) Glomérulo de pacientes idosos com ND, com acentuada imunomarcção de IL-1 $\beta$  em células endoteliais, indicado pela seta. (D) Região intersticial de rim de um caso controle, com imunomarcção acentuada de IL-1 $\beta$ , indicado pela seta. (E-F) Região intersticial de caso de ND, com acentuada imunomarcção de IL-1 $\beta$  em células inflamatórias de pacientes não idosos (E) e idosos (F) com ND.

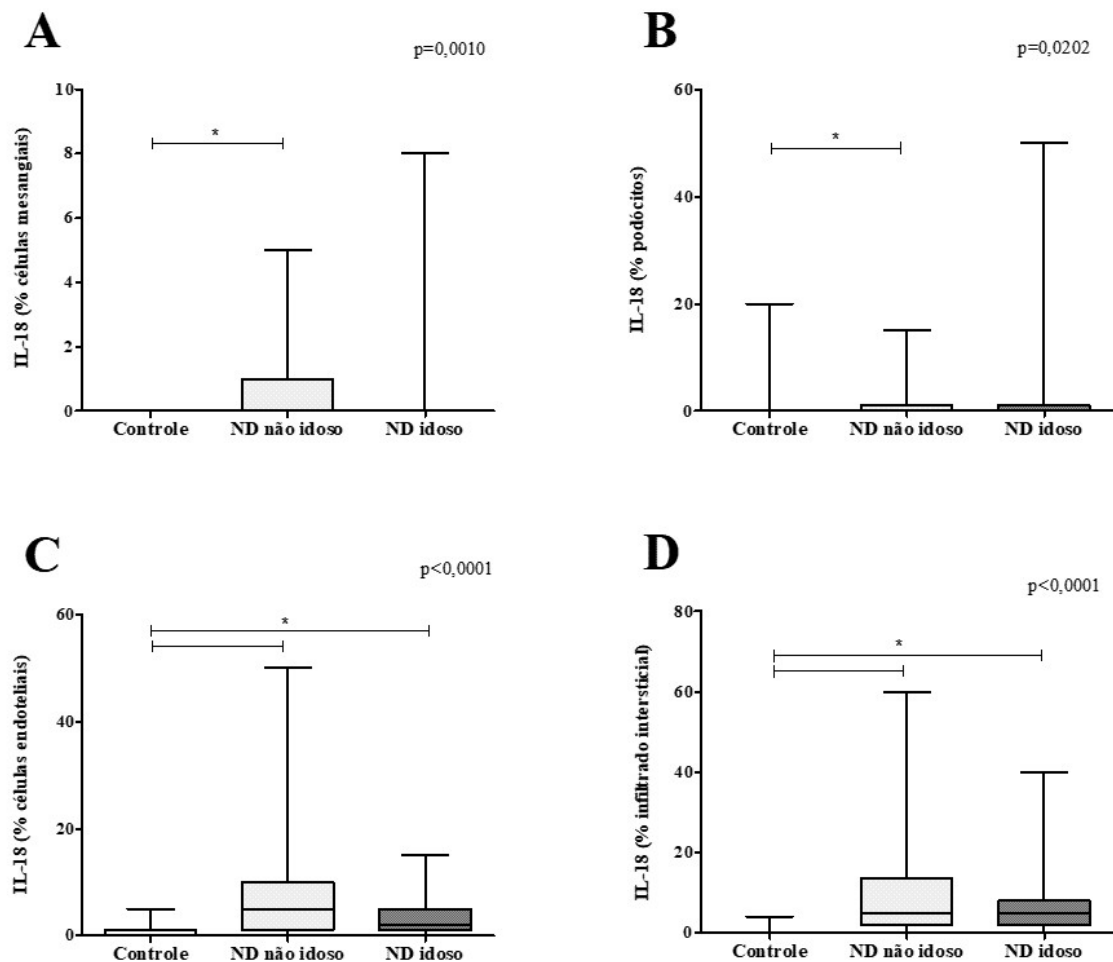
Na análise das células mesangiais imunomarcadas com IL-18 (Figura 9A), observou-se aumento significativo da imunomarcção no grupo não idoso de pacientes com ND em comparação ao grupo controle ( $p = 0,0010$ ). De forma semelhante, os podócitos também apresentaram maior percentual de imunomarcção para IL-18 em indivíduos não idosos com ND em relação aos controles (Figura 9B;  $p = 0,0202$ ). Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas entre as imunomarcções da IL-18 do grupo controle e o grupo idoso de pacientes com ND.

Em relação às células endoteliais (Figura 9C), a expressão de IL-18 foi elevada nos grupos idoso e não idoso de pacientes com ND, quando comparados ao grupo controle ( $p < 0,0001$ ). Por fim, no infiltrado intersticial (Figura 9D), verificou-se aumento significativo da imunomarcção para IL-18 em ambos os grupos etários de pacientes com ND quando

comparados ao grupo controle ( $p < 0,0001$ ).

Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos idoso e não idoso com ND nos compartimentos glomerular e intersticial analisados com imunomarcção para IL-18. Além disso, a análise comparativa entre as classes de ND também não demonstrou variações relevantes na expressão de IL-18, independentemente da faixa etária.

**Figura 9** – Percentual da imunomarcção da IL-18 nos grupos com Nefropatia Diabética.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Análise comparativa do percentual da imunomarcção da IL-18 em células mesangiais (A), nos podócitos (B), em células epiteliais (C) e no infiltrado intersticial (D).

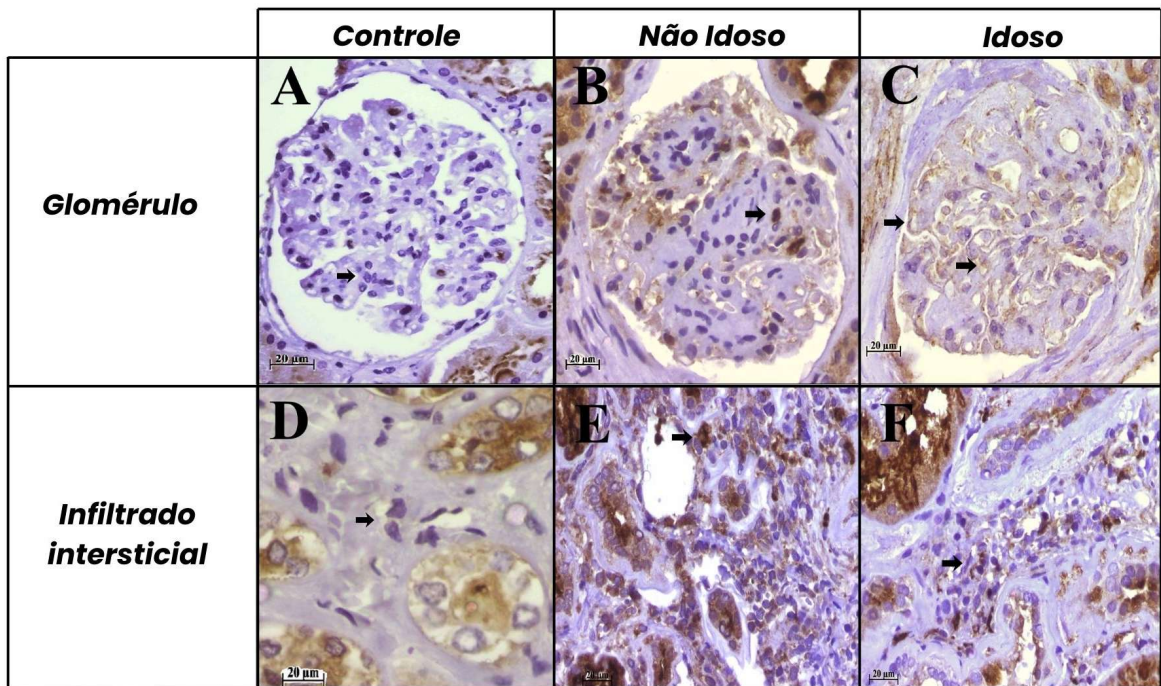
%; percentual de células imunomarcadas.

ND: Nefropatia Diabética.

Teste Kruskal – Wallis.  $*p < 0,05$ .

Resultados: expressos como mediana (mín.–máx.). As linhas horizontais representam a mediana, as barras correspondem aos percentis 25–75% e as linhas verticais representam os percentis 10–90%.

**Prancha 3** – Imunomarcção da IL-18 nos compartimentos renais nos grupos com Nefropatia Diabética.



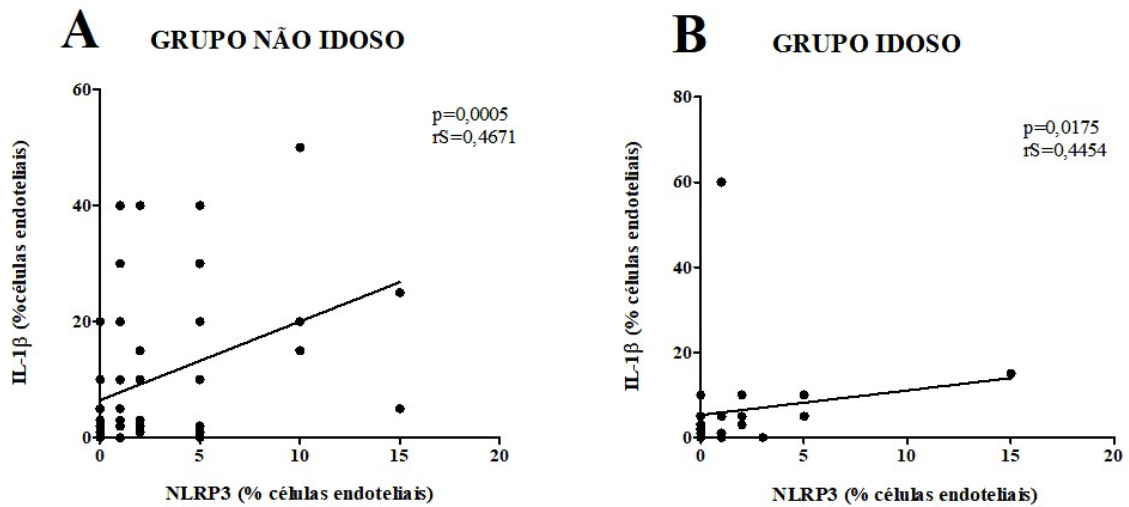
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Imunomarcção da IL-18 em biópsia renal de pacientes com Nefropatia Diabética (ND) e controle, coradas em HE e observadas no aumento 40x. (A) Glomérulo de rim controle, com imunomarcção ausente de IL-18 em células mesangiais, indicado pela seta. (B) Glomérulo de pacientes não idosos com ND, com acentuada imunomarcção de IL-18 em podócitos, indicado por seta. (C) Glomérulo de pacientes idosos com ND, com acentuada imunomarcção de IL-18 em podócitos e células endoteliais, indicado pela seta. (D) Região intersticial de rim de um caso controle, com imunomarcção ausente de IL-18, indicado pela seta. (E-F) Região intersticial de caso de ND, com forte imunomarcção de IL-18 em células inflamatórias de pacientes não idosos (E) e idosos (F) com ND.

Na Figura 10A, observou-se correlação positiva significativa entre o número de células endoteliais imunomarcadas para NLRP3 e IL-1 $\beta$  no grupo não idoso de pacientes com ND ( $p = 0,0005$ ;  $rS = 0,4671$ ), indicando uma associação direta entre o aumento da expressão do inflamassoma e a maior presença da citocina nessas células. De forma semelhante, no grupo idoso de pacientes com ND (Figura 10B), também identificada uma correlação positiva entre NLRP3 e IL-1 $\beta$  nas células endoteliais ( $p = 0,0175$ ;  $rS = 0,4454$ ), embora com significância estatística de menos intensidade que a observada nos indivíduos não idosos.

Não houve correlação significativa entre NLRP3 e IL-1 $\beta$  nas células mesangiais, em podócitos ou no interstício renal, independentemente da faixa etária.

**Figura 10**– Correlação da imunomarcagem entre o inflamassoma NLRP3 e IL-1 $\beta$ .



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

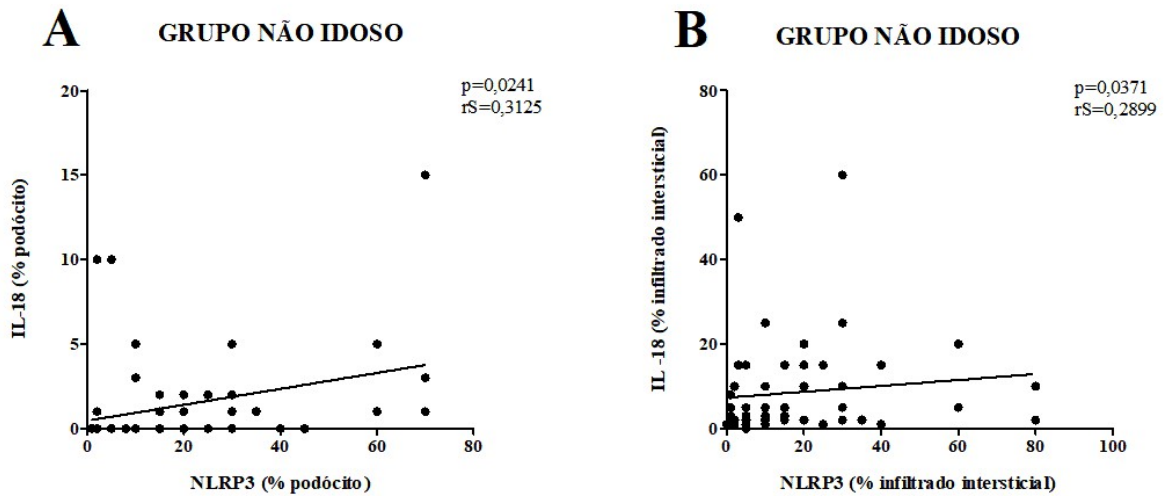
Nota: Correlação entre o inflamassoma NLRP3 e a citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$  nas células endoteliais dos grupos não idoso (A) e idoso (B).

Ao analisarmos a correlação entre a expressão do inflamassoma NLRP3 e a citocina pró-inflamatória IL-18 observamos uma correlação positiva e significativa em diferentes compartimentos renais do grupo não idoso de pacientes com ND. Na Figura 11A, observa-se uma tendência de correlação positiva fraca entre a quantidade de podócitos imunomarcados para NLRP3 e IL-18 ( $p = 0,0241$ ;  $rS = 0,3125$ ), indicando que o aumento da imunomarcagem de NLRP3 nos podócitos está relacionada a maior expressão de IL-18 nessas células, o que sugere uma possível ativação inflamatória no compartimento glomerular.

De modo semelhante, a Figura 11B demonstra correlação positiva e significativa entre a imunomarcagem de NLRP3 e de IL-18 no infiltrado intersticial ( $p = 0,0371$ ;  $rS = 0,2899$ ), sugerindo que a ativação do inflamassoma também ocorre no microambiente intersticial, contribuindo para o processo inflamatório característico na ND.

Não houve correlação significativa entre NLRP3 e IL-18 nas células mesangiais e endoteliais, independentemente da faixa etária.

**Figura 11** – Correlação da imunomarcção entre o inflamassoma NLRP3 e IL-18.

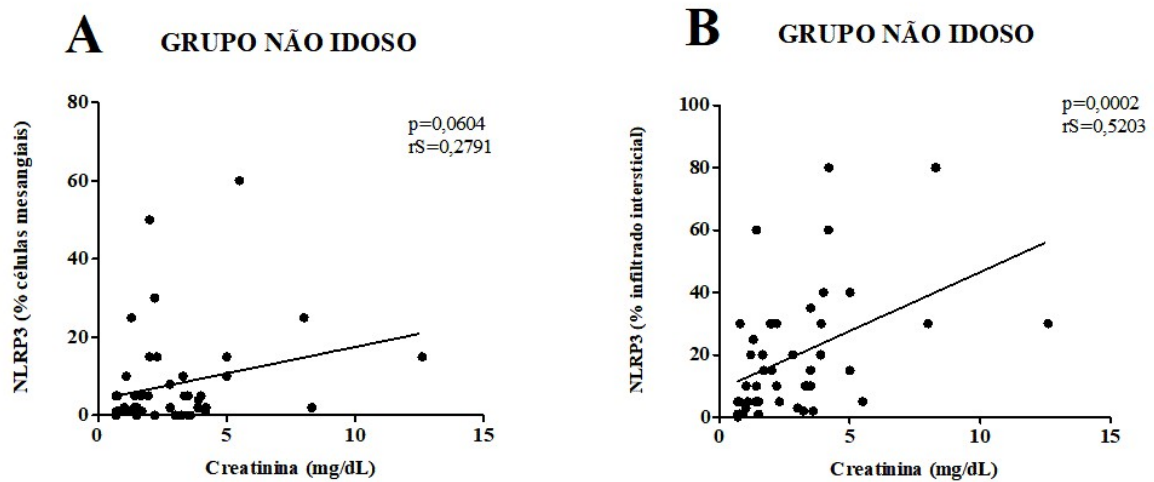


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Correlação entre o inflamassoma NLRP3 e a citocina pró-inflamatória IL-18 nos podócitos (A) e no infiltrado intersticial (B) do grupo não idoso.

Ao relacionarmos os dados clínicos com as imunomarcções, observamos uma tendência de correlação positiva entre a marcação de NLRP3 nas células mesangiais do grupo não idoso de pacientes com ND e a creatinina sérica (Figura 12A;  $p = 0,0604$ ;  $rS = 0,2791$ ), sugerindo que a ativação do inflamassoma NLRP3 no mesângio pode estar relacionada à piora da função renal. Por outro lado, a Figura 12B mostra uma correlação positiva e significativa entre creatinina sérica e a imunomarcção intersticial de NLRP3 ( $p = 0,0002$ ;  $rS = 0,5203$ ), evidenciando uma associação mais expressiva entre a elevação dos níveis de creatinina sérica e a ativação do inflamassoma nesse compartimento.

**Figura 12** – Correlação clínica entre o inflamassoma NLRP3 e creatinina sérica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

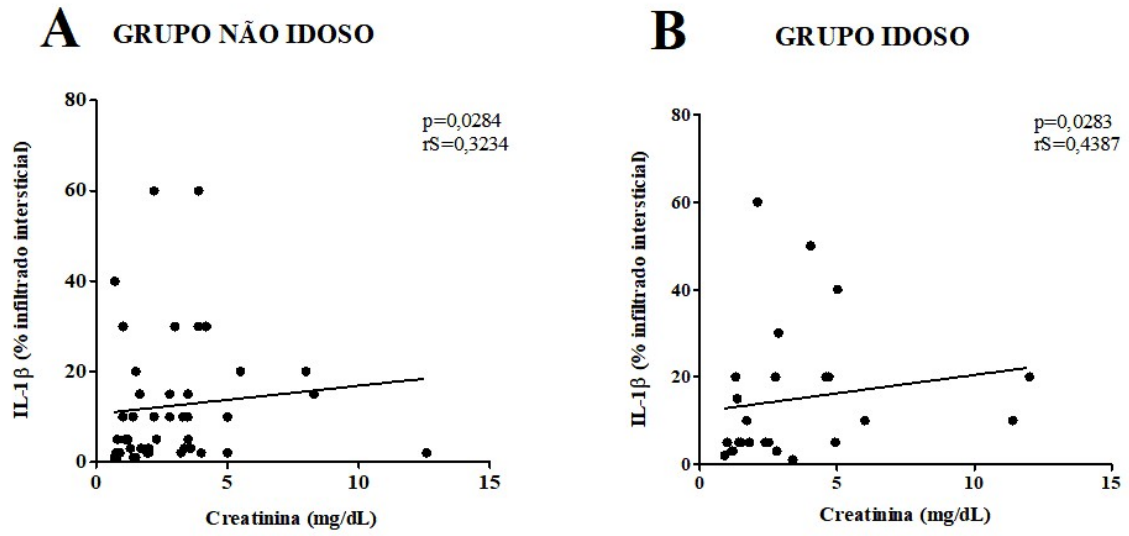
Nota: Correlação entre o inflamassoma NLRP3 nas células mesangiais (A) e no interstício renal (B) com os níveis de creatinina sérica do grupo não idoso.

A Figura 13A, evidencia a correlação positiva e significativa entre a expressão intersticial de IL-1 $\beta$  e a creatinina sérica do grupo não idoso de pacientes com ND ( $p = 0,0284$ ;  $rS = 0,3234$ ), indicando que o aumento da creatinina sérica está associado à maior imunomarcagem intersticial de IL-1 $\beta$ . Este achado sugere uma possível relação entre a disfunção renal e a ativação de mediadores inflamatórios no compartimento intersticial.

De forma semelhante, a Figura 13B apresenta a correlação positiva e significativa entre a expressão intersticial de IL-1 $\beta$  no grupo idoso de pacientes com ND ( $p = 0,0283$ ;  $rS = 0,4387$ ). Embora a correlação tenha sido moderada, o resultado reforça a hipótese de que a elevação da creatinina sérica acompanha o aumento da resposta inflamatória mediada por IL-1 $\beta$  no tecido renal, independentemente da faixa etária, mas com maior intensidade no grupo idoso.

Não houve correlação significativa entre os parâmetros clínicos incluindo proteinúria, taxa de filtração glomerular e glicemia nas células mesangiais, endoteliais, podócitos ou no interstício renal, independentemente da faixa etária.

**Figura 13** – Correlação clínica entre a citocina IL-1 $\beta$  e creatinina sérica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Nota: Correlação entre a citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$  no interstício renal e os níveis de creatinina sérica nos grupos não idoso (A) e idoso (B).

## 7 DISCUSSÃO

A Nefropatia Diabética (ND) é uma complicação progressiva do Diabetes Mellitus, emergindo como uma das principais causas de doença renal crônica e de doença renal em estágio terminal. Caracterizada por um aumento progressivo da proteinúria e por um declínio persistente da taxa de filtração glomerular, a ND culmina em danos renais irreversíveis, comprometendo gravemente a qualidade de vida dos pacientes. Com a projeção de que a população diabética global atinja 853 milhões nos próximos 25 anos, espera-se que a prevalência da ND aumente de modo semelhante, tornando-se um grande desafio para a saúde pública (JIANGYUAN *et al.*, 2024).

Visando compreender a progressão da ND em pacientes idosos e não idosos diagnosticados com essa doença, o presente estudo classificou como idosos os indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos e como não idosos aqueles com idade entre 18 e 59 anos. Essa classificação segue o critério adotado pela Organização Mundial da Saúde para países em desenvolvimento, que considera idosas as pessoas com 60 anos ou mais. Da mesma forma, está em conformidade com o Estatuto do Idoso no Brasil, Lei nº 8.842/1994, que estabelece que indivíduos nessa faixa etária integram o grupo idoso e dispõe sobre seus direitos no contexto brasileiro.

Diante disso, dos 80 casos de ND avaliados nesta pesquisa, 35% pertenciam ao grupo idoso, com predominância masculina, correspondendo a 64,2% dos casos, e idade média de aproximadamente 66 anos. No grupo não idoso, a distribuição por gênero foi mais equilibrada, com 48% de homens e 52% de mulheres, o que sugere que os fatores de risco e a progressão da ND podem apresentar perfis distintos conforme a faixa etária. A predominância feminina no grupo não idoso é compatível com alguns achados epidemiológicos no qual reflete maior prevalência de mulheres diabéticas no Brasil, uma vez que a população feminina comparece regularmente aos serviços de saúde, proporcionando uma maior quantidade de diagnóstico (VIGITEL, 2023; NETO *et al.*, 2024). Por outro lado, a maior prevalência de homens no grupo idoso reforça a tendência cultural segundo a qual os cuidados com a saúde e o acompanhamento desses indivíduos recaem majoritariamente sobre as mulheres, sejam elas familiares ou cuidadoras (PINHEIRO *et al.*, 2023).

Em relação ao diagnóstico do diabetes, observou-se que 61% dos idosos apresentavam diabetes tipo 2, não sendo identificado nenhum caso de diabetes tipo 1 nesse grupo. Entre os não idosos, por sua vez, 36,54% dos casos correspondiam ao diabetes tipo 2 e 17,31% ao diabetes tipo 1, achado compatível com dados da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023), que apontam maior prevalência de diabetes tipo 1 em indivíduos mais jovens.

No que se refere ao tempo de diagnóstico, verificou-se uma proporção expressiva de idosos e não idosos vivendo com diabetes tipo 2 há mais de 10 anos, representando 46,43% e 61,54% dos casos, respectivamente. Esse padrão sugere que a progressão da ND requer um período prolongado de evolução da doença, sobretudo em indivíduos expostos cronicamente à hiperglicemia. Tal evidência reforça que o tempo de evolução do diabetes constitui um importante fator de risco para o surgimento e agravamento da ND, uma vez que se trata de uma condição progressiva, que se desenvolve gradualmente ao longo dos anos e apresenta pico de incidência por volta de 10 anos após o diagnóstico do diabetes tipo 2 (THIPSAWAT, 2021).

Apesar da predominância de casos com mais de uma década de doença, não foram identificadas diferenças estatísticas significativas quando esses dados foram comparados entre os grupos avaliados. Uma possível justificativa para esse achado reside na ausência de informações completas sobre o subtipo de diabetes e o tempo preciso de diagnóstico relatado pelos pacientes.

Os dados clínico-laboratoriais demonstraram que as médias de proteinúria, creatinina, taxa de filtração glomerular e glicemia, tanto no grupo idoso quanto no não idoso, não apresentaram discrepâncias aparentes relevantes, sugerindo que, independentemente da idade, uma parcela considerável dos pacientes já se encontrava em estágio moderado a avançado de comprometimento renal. Esse cenário contribui para explicar a ausência de diferença estatística observada na comparação dessas variáveis com os mediadores inflamatórios avaliados. A elevada prevalência de hipertensão em ambos os grupos, 82% no grupo idoso e 73% no grupo não idoso, confirma que a presença de comorbidade cardiovascular constitui um fator inicial importante na progressão da ND nesses indivíduos (BOUÇA *et al.*, 2021).

Em termos histopatológicos, a maioria dos casos de ND em ambos os grupos se apresentou nas classes III e IV da classificação proposta por Tervaert *et al.* (2010), refletindo lesões glomerulares mais avançadas. Essa predominância de lesões avançadas evidencia que pacientes submetidos à biópsia renal por suspeita de ND frequentemente exibem estágios mais elevados da classificação histopatológica e, conseqüentemente, pior prognóstico renal. Esses achados estão de acordo com as recomendações atuais sobre as indicações de biópsia renal em indivíduos diabéticos, que destacam a proteinúria significativa como marcador-chave para a investigação histopatológica (CHANDRAGIRI *et al.*, 2020).

A presença dessas lesões glomerulares avançadas sugere não apenas um processo de dano estrutural, mas também a participação ativa de mecanismos inflamatórios e imunes na progressão da ND. Nossos achados estão alinhados com a literatura, incluindo a revisão de Jiangyuan *et al.* (2024), que destaca o papel do inflamassoma NLRP3 na ativação da caspase-

1, promovendo a maturação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18 e contribuindo para lesão tecidual, estresse oxidativo e morte celular por piroptose. Além disso, a ausência de diferenças estatísticas entre NLRP3, IL-1 $\beta$  e IL-18 nas distintas classes da ND indica que a ativação inflamatória mediada por esse eixo se mantém relativamente homogênea ao longo da evolução histopatológica da doença.

Corroborando essa hipótese, os resultados obtidos neste estudo demonstraram elevação significativa da imunomarcagem do inflamassoma NLRP3 nos compartimentos mesangial, podocitário e intersticial nos grupos idoso e não idoso com ND, além do compartimento endotelial no grupo não idoso, quando comparados ao grupo controle. Esses achados reforçam o papel do NLRP3 na inflamação estéril crônica e no avanço da lesão renal em indivíduos diabéticos, em concordância com estudos prévios que descrevem a ativação desse complexo como um dos fatores determinantes na progressão da ND (TANG; YIU, 2020; XIONG *et al.*, 2021; WILLIAMS *et al.*, 2022).

No contexto que ressalta a importância desses achados, revisões recentes demonstram que a via NLRP3/IL-1 $\beta$  representa um alvo terapêutico promissor no contexto do diabetes tipo 2 e de suas comorbidades renais. Em pacientes submetidos a estresse metabólico e envelhecimento, a ativação dessa via inflamatória exacerba a lesão tecidual sistêmica e renal (MEIER *et al.*, 2024). Portanto, esses dados da literatura apoiam a interpretação de que, no tecido renal humano, a expressão local de NLRP3 e IL-1 $\beta$  pode refletir mecanismos patológicos em curso que relacionam disfunção renal à ativação inflamatória local.

Os achados deste estudo demonstram uma associação consistente entre a expressão do inflamassoma NLRP3 e da citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$  nas células endoteliais, tanto em indivíduos idosos quanto em não idosos, sendo a correlação mais acentuada no grupo não idoso. Esses resultados são coerentes com os trabalhos realizados por Shahzad *et al.*, (2015), que demonstraram ativação do NLRP3 em células endoteliais, em modelos diabéticos e em pacientes com ND, associando a via NLRP3/IL-1 $\beta$  ao desenvolvimento das lesões glomerulares em indivíduos diabéticos.

A ativação do inflamassoma NLRP3 desencadeia a clivagem da pró-caspase-1 em caspase-1 ativa, promovendo a maturação e secreção de IL-1 $\beta$ , citocina-chave na amplificação da inflamação renal. Esse processo culmina em disfunção endotelial, aumento do estresse oxidativo, alteração da barreira glomerular e infiltração de células inflamatórias, eventos reconhecidos como críticos na progressão da ND. Em nosso estudo, a correlação entre NLRP3 e IL-1 $\beta$  nas células endoteliais reforça a hipótese de que, no microambiente glomerular, o inflamassoma atua como um sensor intracelular capaz de intensificar a inflamação local e

contribuir para lesão tecidual sustentada, achado convergente com a revisão de Bai *et al.* (2020), que destaca as células endoteliais como mediadoras da ativação do NLRP3, ao induzirem estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e ativação imune, exacerbando, assim, a disfunção endotelial.

As correlações positivas e significativas entre NLRP3 e IL-1 $\beta$  nas células endoteliais de ambos os grupos etários indicam que, nesse segmento, o inflamassoma está diretamente associado à indução de IL-1 $\beta$ . Esse achado é relevante, pois aponta o endotélio glomerular como ator central na cascata de ativação inflamatória, o que pode impactar a permeabilidade capilar e promover disfunção endotelial proximal (DWIVEDI; SIKARWAR, 2021).

Em contraste, no interstício renal do grupo não idoso, não foi identificada correlação significativa entre NLRP3 e IL-1 $\beta$ , sugerindo que, em regiões intersticiais, a ativação dessas moléculas pode ocorrer de forma parcialmente independente ou ser modulada por outras vias regulatórias, como a atuação de células do sistema imune infiltradas ou estímulos locais de lesão tubular.

A expressão de IL-18 apresentou um padrão mais heterogêneo. Observou-se aumento significativo nas células mesangiais e nos podócitos em comparação ao grupo controle, sem diferença estatística no grupo idoso nessas células quando comparado ao controle. Nas células endoteliais e no interstício, verificou-se aumento significativo em ambos os grupos em relação ao grupo controle. Esse comportamento sugere que a regulação da IL-18 pode ser mais sensível ao microambiente local, ao grau de lesão ou ao estágio clínico da ND, podendo depender de fatores adicionais não capturados no presente estudo.

Por outro lado, a correlação positiva e significativa entre NLRP3 e IL-18 nos podócitos e no interstício, especialmente no grupo não idoso, reforça a hipótese de que o NLRP3 pode modular a expressão de IL-18 nesses compartimentos de forma mais restrita ou localizada, indicando que a IL-18 pode estar mais condicionada à ativação pontual ou modular, possivelmente associada à lesão local ou ao estresse oxidativo.

Esses resultados alinham-se com estudos experimentais que relataram que a ativação específica do inflamassoma NLRP3 em podócitos promove lesão glomerular e progressão da ND, destacando o papel da sinalização local mediada por esse complexo inflamatório (SHAHZAD *et al.*, 2022). Além disso, evidências experimentais demonstraram que a inibição do NLRP3 pelo composto MCC950, um inibidor seletivo e potente desse inflamassoma, pode atenuar a expressão de IL-1 $\beta$ , reduzir a proteinúria e mitigar a progressão da lesão renal, tornando esse composto um importante alvo terapêutico para a ND (ZHANG *et al.*, 2019).

Neste estudo, observou-se uma tendência à correlação positiva entre a expressão de

NLRP3 nas células mesangiais e os níveis de creatinina sérica no grupo não idoso, sugerindo que a ativação do inflamassoma mesangial pode contribuir para a piora da função renal. Além disso, foi identificada correlação positiva e significativa entre NLRP3 intersticial e creatinina sérica no grupo não idoso, indicando que a ativação do inflamassoma no interstício renal apresenta forte relação com a disfunção renal, possivelmente refletindo lesão tubulointersticial progressiva.

Esses achados reforçam a participação do compartimento intersticial, e não apenas do glomerular, no avanço da ND, sugerindo que a progressão da doença pode estar mais associada à fibrose e à inflamação intersticial do que às lesões glomerulares iniciais, destacando assim o as lesões extra-glomerulares da ND. A forte correlação entre NLRP3 intersticial e creatinina sérica sugere que a ativação do inflamassoma nesse compartimento pode representar um marcador relevante da resposta inflamatória e do avanço da doença.

A correlação entre a expressão intersticial de IL-1 $\beta$  e a creatinina sérica, em ambos os grupos, apresentou-se positiva e significativa, sugerindo que a inflamação intersticial mediada por IL-1 $\beta$  acompanha, e possivelmente contribui para o declínio da função renal, independentemente da idade.

Adicionalmente, a correlação entre IL-1 $\beta$  intersticial e creatinina sérica em pacientes idosos sugere que, mesmo em idades avançadas, a resposta inflamatória se relaciona ao comprometimento funcional renal, indicando que processos inflamatórios não se restringem apenas aos estágios iniciais da ND. Esse padrão de correlação é compatível com estudos conduzidos por Li *et al.* (2024), que avaliaram os níveis plasmáticos de NLRP3 e IL-1 $\beta$  em idosos, demonstrando correlação positiva entre o aumento desses marcadores, a elevação da creatinina sérica e o aumento da proteinúria, fatores intimamente relacionados à progressão da ND.

Em conjunto, nossos resultados sugerem que o inflamassoma NLRP3, juntamente com IL-1 $\beta$  e IL-18, desempenha papel ativo nos mecanismos fisiopatológicos da ND, atuando em diferentes compartimentos renais, com destaque para o interstício. A correlação entre inflamação e creatinina sérica indica que esse marcador reflete diretamente o declínio funcional renal, decorrente da redução da TFG e do aumento da proteinúria. Contudo, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre TFG e proteinúria em relação aos níveis de NLRP3, IL-1 $\beta$  e IL-18. Isso pode ser explicado pelo fato de que os mediadores inflamatórios se manifestam de forma tardia e contínua, enquanto alterações clínicas, como a redução da TFG e o aumento da proteinúria, tendem a surgir nos estágios clínicos iniciais da ND e com maior variabilidade entre os indivíduos (NIGRO *et al.*, 2018). Dessa forma, mesmo diante de ativação

inflamatória evidente, os marcadores funcionais podem não acompanhar esse processo no mesmo ritmo, justificando a ausência de significância estatística.

Por fim, a comparação entre os grupos idoso e não idoso oferece um ponto de reflexão relevante. O fato de ambos apresentarem elevação do inflamassoma NLRP3 e das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18, sem diferenças estatísticas significativas entre os grupos etários, sugere que, após a instalação da ND, os mecanismos de ativação desses mediadores ocorrem independentemente da idade do paciente. É provável que fatores de risco sistêmicos e crônicos, como hiperglicemia persistente, estresse oxidativo e inflamação de baixo grau, exerçam influência dominante sobre o processo inflamatório renal, reduzindo o impacto da idade na expressão desses marcadores. Nesse contexto, as correlações observadas entre NLRP3, IL-1 $\beta$  e IL-18 em ambos os grupos etários contribuem para a compreensão de seu envolvimento modular na progressão e no desenvolvimento da ND.

## 8 CONCLUSÃO

A expressão do inflamassoma NLRP3 e das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-18 não diferiu entre pacientes idosos e não idosos, porém apresentou aumento significativo em todas as estruturas glomerulares e no interstício renal quando comparada ao grupo controle. Esse comportamento homogêneo entre faixas etárias indica atuação inflamatória persistente e independentemente da idade, reforçando o envolvimento desse eixo molecular na fisiopatologia da Nefropatia Diabética.

Reconhecem-se limitações, como o número reduzido de amostras no grupo idoso, perda parcial de glomérulos na análise semiquantitativa, ausência de dados completos sobre tempo e subtipo do diabetes e o delineamento transversal, que impede inferências causais. Ainda assim, os achados apresentados contribuem para o entendimento dos mecanismos imunes envolvidos na Nefropatia Diabética, ampliando a base científica disponível para construção de abordagens terapêuticas mais precisas.

Em síntese, o eixo NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 apresenta-se como potencial marcador do processo inflamatório na Nefropatia Diabética. A continuidade das investigações poderá transformar esse conhecimento em aplicações clínicas concretas, direcionando o futuro do manejo da Nefropatia Diabética.

## REFERÊNCIAS

- AGARWAL, R. Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. **Chronic Kidney Disease and Type 2 Diabetes**. Arlington (VA): American Diabetes Association, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db20211-2>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- AMORIM, R. G.; GUEDES, G. S.; VASCONCELOS, S. M. L.; SANTOS, J. C. F. Doença Renal do Diabetes: Cross-Linking entre Hiperglicemia, Desequilíbrio Redox e Inflamação. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, vol. 112, ed. 5, p. 577-587, maio. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/abc.20190077>. Acesso em: 22 nov. 2025.
- ARAÚJO, L. S.; SILVA, M.V.; DA SILVA, C. A.; MONTEIRO, M. L. R.; PERREIRA, L. H. M.; ROCHA, L. P. *et al.* Cytokines and T Helper Cells in Diabetic Nephropathy Pathogenesis. **Journal of Diabetes Mellitus**, v. 6, p. 230-246, set. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/jdm.2016.64025>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- ARAÚJO, L. S.; TORQUATO, B. G. S.; DA SILVA, C. A.; MONTEIRO, M. L. G. R.; MARTINS, A. L. M. S.; SILVA, M. V. *et al.* Renal expression of cytokines and chemokines in diabetic nephropathy. **BMC Nephrology**, v. 21, ed. 308, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12882-020-01960-0>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- ARAÚJO, S. L.; SILVA, M. R. J. Nefropatia Diabética. In: Editora Creative. **Atualizações em Nefropatologia**. Edição 1. João Pessoa, PB: Editora Creative, 2022. p. 1-154. Disponível em: <https://doi.org/10.53924/nefropat.07>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- BAI, B.; YANG, Y.; WANG, Q.; MIN, L.; TIAN, C. *et al.* NLRP3 inflammasome in endothelial dysfunction. **Cell Death Disease**, v. 11, ed. 776, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02985-x>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- BERBUDI, A.; RAHMADIKA, N.; TIAHJADI, A. I.; RUSLAMI, R. Type 2 Diabetes and its impact on the Immune System. **Curr Diabetes Rev.**, v. 16, ed. 5, p. 442-449, maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1573399815666191024085838>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- BESSA, F. X. M. Perfil epidemiológico dos pacientes com Diabetes Mellitus, submetidos a biópsia renal em um hospital terciário. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 12, p. 6983, dez. 2024. Disponível em: <https://ojs.revistacontemporanea.com/ojs/index.php/home/article/view/6983>. Acesso em: 25 nov. 2025.
- BOUÇA, B.; BOGALHO, A. P.; AGAPITO, A. Nefropatia Diabética. **Revista Portuguesa de Diabetes**, v. 16, ed. 2, p. 80-89, jan. 2021. Disponível em: [https://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2021/07/RPD\\_Junho\\_2021\\_ARTIGO-DE-REVISAO\\_80-89.pdf](https://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2021/07/RPD_Junho_2021_ARTIGO-DE-REVISAO_80-89.pdf). Acesso em: 25 nov. 2025.
- BROWN, Alexa; BEDELL, Barry J. *NLRP3 – A Target for Neuroscience Drug Development: An overview of NLRP3 inflammasome activation triggers, disease associations, and therapeutic targeting strategies* [online]. **Montréal: Biospective Inc.**, 18 jul. 2025. Disponível em: <https://biospective.com/resources/what-is-nlrp3>. Acesso em: 22 nov. 2025.
- CAVIEDES-CLEVES, M. A.; ARIAS, L. F.; OSPINA-OSPINA, S. Achados histopatológicos em biópsia renal de pacientes com COVID-19 e envolvimento renal. **Medicina e Laboratório**, v. 26, ed. 3, p. 261-271, abr. 2022. Disponível em: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/v7ksj>. Acesso em: 25 nov. 2025.

CHANDRAGIRI, S.; RAJU, S. B.; MANDARAPU, S. B.; GOLI, R.; NIMMAGADDA, S. *et al.* A Clinicopathological Study of 267 Patients with Diabetic Kidney Disease Based on the Renal Pathology Society – 2010 Classification System. **Indian Journal of Nephrology**, v. 20, ed. 2, p. 104-109, fev. 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.4103/ijn.IJN\\_424\\_17](https://doi.org/10.4103/ijn.IJN_424_17). Acesso em: 25 nov. 2025.

CHEN, J.; LIU, Q.; HE, J.; LI, Y. Immune responses in diabetic nephropathy: Pathogenic mechanisms and therapeutic target. **Frontiers in Immunology**, v. 13, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.958790>. Acesso em: 25 nov. 2025.

CHI, M.; TIAN, Z.; MA, K.; LI, Y.; EANG, L.; NASSER, M. *et al.* The diseased kidney: aging and senescent immunology. **Immunity & Ageing**, v. 19, nov. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12979-022-00313-9>. Acesso em: 25 nov. 2025.

CISNEROS, B.; GARCÍA-AGUIRRE, I.; UNZUETA, J.; ARRIETA-CRUZ, I.; GONZÁLEZ-MORALES, O.; DOMÍNGUEZ-LARRIETA, J. M. *et al.* Immune system modulation in aging: Molecular mechanisms and therapeutic targets. **Frontiers in Immunology**, v. 13, dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1059173>. Acesso em: 25 nov. 2025.

CONLEY, M. S.; ABAIS, M. J.; BOINI, M. K.; LI, L. P. Inflammasome activation in chronic glomerular diseases. **Curr Drug Targets**, v. 18, ed. 9, p. 1019–1029, abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1389450117666160817103435>. Acesso em: 25 nov. 2025.

DONATE-CORREA, J.; LUIS-RODRÍGUEZ, D.; MARTÍN-NÚÑEZ, E.; TAGUA, V.G.; HERNÁNDEZ-CARBALLO, C. *et al.* Inflammatory Targets in Diabetic Nephropathy. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, ed. 2, fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jcm9020458>. Acesso em: 25 nov. 2025.

DWIVEDI, S.; SIKARWAR, M. S. Diabetic Nephropathy: Pathogenesis, Mechanisms, and Therapeutic Strategies. **Hormone and Metabolic Research**, v. 57, ed. 1, p. 7-17, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-2435-8264>. Acesso em: 25 nov. 2025.

EFIONG, E. E., MAEDLER, K., EFFA, E.; UCHECHUKWU, L. O.; PETERS, E. *et al.* Decoding diabetic kidney disease: a comprehensive review of interconnected pathways, molecular mediators, and therapeutic insights. **Diabetol Metab. Syndr.**, v. 17, p. 192 jun. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13098-025-01726-4>. Acesso em: 25 nov. 2025.

EL-SHARKAWY, L. Y.; BROUGH, D.; FREEMAN, S. Inhibiting the NLRP3  
FENG, H.; GU, J.; GOU, F.; HUANG, W.; GOA, C.; CHEN, G. *et al.* High Glucose and Lipopolysaccharide Prime NLRP3 Inflammasome via ROS/TXNIP Pathway in Mesangial Cells. **Journal of Diabetes Research.**, v. 2016, p. 11, out. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/6973175>. Acesso em: 25 nov. 2025.

FERRO, A. B. Controle de qualidade. In : **IMUNO-HISTOQUÍMICA**. Portugal: 2014. cap. 12, p. 99-100. ISBN 978-989-20-5416-2. Disponível em: <https://repositorio.ipl.pt/entities/publication/3c461218-22c6-4942-9f7b-25160f1328b7>. Acesso em: 25 nov. 2025.

FLOR, L. S.; CAMPOS, M. R. Prevalência de diabetes mellitus e fatores associados na população adulta brasileira: evidências de um inquérito de base populacional. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. 1, p. 16–29, jan. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-5497201700010002>. Acesso em: 25 nov. 2025.

FRANCISCO, P. M. S. B.; ASSUMPÇÃO, D.; BACURAU, A. G. M.; SILVA, D. S. M.; YASSUDA, M. S.; BORIM, F. S. A. Diabetes mellitus em idosos, prevalência e incidência:

resultados do Estudo Fibra. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 25, ed. 5, fev. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-22562022025.210203.pt>. Acesso em: 25 nov. 2025.

GBD 2021 Diabetes Collaborators. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. **The Lancet**, v. 402, ed. 10397, p. 203-234, jul. 2023. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01301-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01301-6). Acesso em: 25 nov. 2025.

GRITSENKO, A.; GREEN, J. P.; BROUGH, D.; LOPEZ-CASTEJO, G. Mechanisms of NLRP3 priming in inflammaging and age-related diseases. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 55, p. 15-25, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.08.003>. Acesso em: 25 nov. 2025.

GUO, J.; ZHENG, H. J.; ZHANG, W.; LOU, W.; XIA, C.; HAN, X. T. *et al.* Accelerated Kidney Aging in Diabetes Mellitus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, ed. 1, jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/1234059>. Acesso em: 25 nov. 2025.

GUPTA, S.; DOMINGUEZ, M.; GOLESTANEH, L. Diabetic Kidney Disease: An Update. **Medical Clinics of North America**, v. 107, ed. 4, p. 689-705, jul.2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2023.03.004>. Acesso em: 25 nov. 2025.

HIROOKA, Y.; NOZAKI, Y. Interleukin-18 in Inflammatory Kidney Disease. **Frontiers in Medicine**, v. 8, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.639103>. Acesso em: 25 nov. 2025.

Inflammasome. **Molecules** v. 25, ed. 23, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25235533>. Acesso em: 22 nov. 2025.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas**. 11. ed. Bruxelas: International Diabetes Federation, 2025. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>. Acesso em: 25 nov. 2025.

JIANGYUAN, J.; MIANZHI, Z. Exploring the role of NLRP3 inflammasome in diabetic nephropathy and the advancements in herbal therapeutics. **Frontiers in Endocrinology**, v. 15, jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1397301>. Acesso em: 25 nov. 2025.

KOMADA, T.; MURUVE, D. A. The role of Inflammasomes in Kidney Disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 15, p. 501–520, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0158-z>. Acesso em: 25 nov. 2025.

KOVALIK, M. E.; DACANAY, M. A.; CROWLEY, S. D.; HALL, G. Swollen Feet: Considering the Paradoxical Roles of Interleukins in Nephrotic Syndrome. **Biomedicines**, v. 12, ed. 4, mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12040738>. Acesso em: 25 nov. 2025.

LEI, Y.; DEVARAPU, S. K.; MOTRAPU, M.; COHEN, C. D.; LINDENMEYER, M. T.; MOLL, S. *et al.* Interleukin-1 $\beta$  Inhibition for Chronic Kidney Disease in Obese Mice With Type 2 Diabetes. **Frontiers Immunology**, v.10, maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01223>. Acesso em: 25 nov. 2025.

LESLIE, R. D.; EVANS-MOLINA, C.; FREUND-BROWN, J.; BUZZETTI, R.; DABELEA, D. *et al.* Adult-Onset Type 1 Diabetes: Current Understanding and Challenges. **Diabetes Care**,

v. 44, ed. 11, p. 2449-2456, out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc21-0770>. Acesso em: 22 nov. 2025.

LI, J.; XU, J.; QIN, X.; YANG, H.; HAN, J.; JIA, Y. *et al.* Acute pancreatic beta cell apoptosis by IL-1 $\beta$  is responsible for postburn hyperglycemia: Evidence from humans and mice. **Molecular Basis of Disease**, v. 1865, ed. 2, p. 275-284, fev. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.005>. Acesso em: 25 nov. 2025.

LI, X.; LIU, S.; HUANGFU, J.; LAI, N.; SHANG, Y. Clinical significance of NLRP3 Inflammasome and related cell molecules in early diabetic kidney disease in elderly population. **Journal of Medical Biochemistry**, v. 43, ed. 6, p. 828-834, nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.5937/jomb0-45950>. Acesso em: 25 nov. 2025.

LIN, Y. C.; CHANG, Y. H.; YANG, S. Y.; WU, K. D.; CHU, T. S. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 117, p. 662-675, fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.02.007>. Acesso em: 25 nov. 2025.

LU, A.; MAGUPALLI, V. G.; RUAN, J.; YIN, Q.; ATIANAND, M. K. *et al.* Unified Polymerization Mechanism for the Assembly of Asc-dependent Inflammasomes. **A Cell Press Journal**. v. 156, ed. 6, p. 1193–1206, mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.008>. Acesso em: 22 nov. 2025.

MACIEL, R. O.; VASCONCELOS, M. R. S.; ANDRADE, C. R. Diabetic nephropathy - incidence and associated risk factors. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n.4, p. 3808-3823, ago. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv2n4-142>. Acesso em: 25 nov. 2025.

MASUMOTO, J.; TANIGUCHI, S.; AYUKAWA, K.; SARVOTHAM, H.; KISHINO, T. *et al.* ASC, a Novel 22-kDa Protein, Aggregates during Apoptosis of Human Promyelocytic Leukemia HL-60 Cells. **Journal of Biological Chemistry**. v. 274, ed. 48, p. 33835–33838, nov. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.48.33835>. Acesso em: 22 nov. 2025.

MATOBA, K.; TAKEDA, Y.; NAGIA, Y.; KAWANAMI, D.; UTSUNOMIYA, K.; NISHIMURA, R. Unraveling the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Diabetic Kidney Disease. **Internacional Journal of Molecular Sciences**, v. 20, ed. 14, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20143393>. Acesso em: 25 nov. 2025.

MEIER, D.T.; DE PAULA SOUZA, J.; DONATH, M.Y. Targeting the NLRP3 inflammasome–IL-1 $\beta$  pathway in type 2 diabetes and obesity. **Diabetologia**, v. 68, p. 3-16, nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-024-06306-1>. Acesso em: 25 nov. 2025.

NETO, M. F. S.; ROCHA, T. P. C.; SOARES, J. V. M.; SOARES, V. M.; LIMA, J. V. Q.; *et al.* O perfil clínico-epidemiológico de pacientes nefropáticos em decorrência do Diabetes Mellitus no hospital do rim no município de Guanambi – BA. **Revista Contemporânea**, v. 4, ed. 6, p. e4829, jun. 2024. Disponível em: <https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/7XkMvLp9/>. Acesso em: 25 nov. 2025.

NIGRO, M.; VIGGIANO, D.; RAGONE, V. *et al.* A cross-sectional study on the relationship between hematological data and quantitative morphological indices from kidney biopsies in different glomerular diseases. **BMC Nephrology**, v. 19, p. 62, mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0846-0>. Acesso em: 25 nov. 2025.

PINHEIRO, L.; MEDEIROS, M.; COSTA, J.; BARBOSA, A. Gênero é o que importa: determinantes do trabalho doméstico não remunerado no Brasil. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada**, n. 2920, p. 44, set. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.38116/td2920-port>. Acesso em: 25 nov. 2025.

PLEUS, S.; TYTKO, A.; LANDGRAF, R.; HEINEMANN, L.; WERNER, C. *et al.* Definition, classification, diagnosis and differential diagnosis of diabetes mellitus: update 2023. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 132, n. 3, p. 1, mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-2166-6643>. Acesso em: 25 nov. 2025.

QIU, Y. Y.; TANG, L. Q. Roles of the NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of diabetic nephropathy. **Pharmacological Research**, v. 114, p. 251–264, nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.11.004>. Acesso em: 25 nov. 2025.

RAVENDER, R.; ROUMELIOTI, M. E.; SCHMIDT, D. W.; UNRUH, M. L.; ARGYROPOULOS, C. Chronic Kidney Disease in the Older Adult Patient with Diabetes. **Journal Clinical Medicine**, v. 13, ed. 2, p. 348, jan. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jcm13020348>. Acesso em: 25 nov. 2025.

RAYEGO-MATEOS, S.; MORGADO-PASCAL, J. L.; OPAZO-RÍOZ, L.; GUERRERO-HUE, M.; GARCÍA-CABALLERO, C.; CARBALLO-VÁZQUEZ, C. *et al.* Pathogenic Pathways and Therapeutic Approaches Targeting Inflammation in Diabetic Nephropathy. **Internacional Journal of Molecular Sciences**, v. 21, ed. 11, maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21113798>. Acesso em: 25 nov. 2025.

ROLAND, L.; GAGNÉ, A.; BÉLANGER, M. C.; BOUTET, M.; JULIEN, P. *et al.* Plasma interleukin-18 (IL-18) levels are correlated with antioxidant vitamin coenzyme Q10 in preeclampsia. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 89, ed. 3, p. 360–366, dez. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/00016340903576020>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SÁ, J. R.; CANANI, L. H.; RANGEL, E. B.; BAUER, A. C.; ZELMANOVITZ, T. *et al.* Manejo da Doença Renal do Diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2025)**, DOI: 10.29327/5660187.2025-2, ISBN: 978-65-5941-367-6. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/manejo-da-doenca-renal-do-diabetes/>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SAGOO, M. K.; GNUDI, L. Nefropatia Diabética: Uma Visão Geral. **Nefropatia Diabética. Métodos em Biologia Molecular**, v. 2067. 2020 Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9841-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9841-8_1). Acesso em: 25 nov. 2025.

SAMSU, N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1–17, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/1497449>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SANTOS, W. P.; FREITAS, F. B. D.; SOARES, R. M.; SOUZA, G. L. A.; CAMPOS, P. I. S.; BEZERRA, C. M. O. *et al.* Complicações do diabetes mellitus na população idosa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, ed. 6, jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-038>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SHAHZAD, K.; BOCK, F.; DONG, W.; WANG, H.; KOPF, S.; KOHLI, S. *et al.* Nlrp3-inflammasome activation in non-myeloid-derived cells aggravates Diabetic Nephropathy. **Kidney Int.**, v. 87, ed. 1, p.74–84, jul. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ki.2014.271>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SHAHZAD, K.; FATIMA, S.; KHAWAJA, H.; ELWAKIEL, A.; GADI, I.; AMBREEN, S. *et al.* Podocyte-specific Nlrp3 inflammasome activation promotes diabetic kidney disease. **Kidney International**, v. 102, p.766-779, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2022.06.010>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Dados epidemiológicos SBD: com T1D index. São Paulo: SBD, 2023. 39 p. Disponível em: [https://profissional.diabetes.org.br/wp-content/uploads/2023/06/Dados-Epidemiologicos-SBD\\_comT1Dindex.pdf](https://profissional.diabetes.org.br/wp-content/uploads/2023/06/Dados-Epidemiologicos-SBD_comT1Dindex.pdf). Acesso em: 25 nov. 2025.

SPEER, T.; DIMMELER, S.; SCHUNK, S. L.; FLISER, D.; RIDKER, P. M. Targeting innate immunity-driven inflammation in CKD and cardiovascular disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 18, p. 768-778, set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00621-9>. Acesso em: 25 nov. 2025.

TANG, S. C. W.; YIU, W. H. Innate immunity in diabetic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, p. 206-222, jan. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0234-4>. Acesso em: 25 nov. 2025.

TERVAERT, T. W.; MOOYAART, A. L.; AMANN, K.; COHEN, A. H.; HIGANO, S. T.; FIER, T. Pathologic classification of diabetic nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**, p. 556–563, abr. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1681/ASN.2010010010>. Acesso em: 25 nov. 2025.

THIPSAWAT, S. Early detection of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus: A review of the literature. **Diabetes & Vascular Disease Research**, v. 18, p. 6, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/14791641211058856>. Acesso em: 25 nov. 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO. Biblioteca Central. **Manual de apresentação de trabalhos acadêmicos baseado nas normas de documentação da ABNT**. 5. ed. Uberaba, MG: UFTM, 2025. 139 f. Disponível em: <https://sistemas.uftm.edu.br/integrado/sistemas/pub/publicacao.html?secao=724&publicacao=792>. Acesso em: 25 nov. 2025.

VIGITEL BRASIL 2023: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2023 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Análise Epidemiológica e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel\\_brasil\\_2023.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2023.pdf). Acesso em: 25 nov. 2025.

WILLIAMS, B. M.; CLIFF, C. L.; LEE, K.; SQUIRES, P. E.; HILLS, C. E. The role of the NLRP3 inflammasome in mediating glomerular and tubular injury in diabetic nephropathy. **Frontiers in Physiology**, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.907504>. Acesso em: 25 nov. 2025.

WRONA, M. V.; GHOSH, R.; COLL, K.; CHUN, C.; YOUSEFZADEH, M. J. The 3 I's of immunity and aging: immunosenescence, inflammaging, and immune resilience. **Frontiers Aging**, v. 5, out. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fragi.2024.1490302>. Acesso em: 25 nov. 2025.

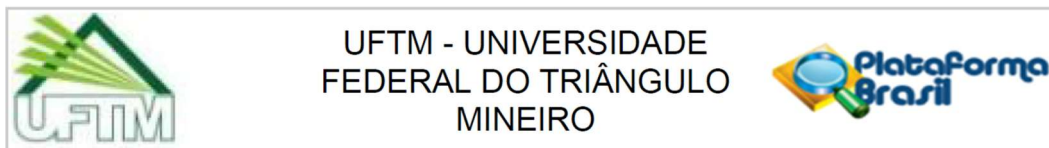
WU, T.; DING, L.; ANDOH, V.; ZHANG, J.; CHEN, L. The Mechanism of Hyperglycemia-Induced Renal Cell Injury in Diabetic Nephropathy Disease: An Update. **Life**, v.13, ed. 2, p. 539, fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life13020539>. Acesso em: 25 nov. 2025.

XIONG, W.; MENG, X. F.; ZHANG, C. NLRP3 Inflammasome in Metabolic-Associated Kidney Diseases: An Update. **Frontiers in Immunology**, v. 12, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.714340>. Acesso em: 25 nov. 2025.

YARIBEYGI, H.; ATKIN, S. L.; SAHEBKAR, A. Interleukin-18 and diabetic nephropathy: A review. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, ed. 5, p. 5674-5682, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcp.27427>. Acesso em: 25 nov. 2025.

ZHANG, C.; ZHU, X.; LI, L.; MA, T.; SHI, M. *et al.* A small molecule inhibitor MCC950 ameliorates kidney injury in diabetic nephropathy by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 12, p. 1297-1309, ago. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/DMSO.S199802>. Acesso em: 25 nov. 2025.

## ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação histopatológica e de citocinas séricas em pacientes diabéticos com ou sem alteração renal

**Pesquisador:** Juliana Reis Machado e Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 88997018.6.0000.5154

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Triângulo Mineiro

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.001.006

#### Apresentação do Projeto:

Segundo os pesquisadores:

A Nefropatia Diabética é considerada a principal causa de insuficiência renal terminal com necessidade de terapia renal substitutiva. De acordo com os dados da International Diabetes Federation, o número de diabéticos na população adulta com idade superior a 20 anos poderá ultrapassar 430 milhões em 2030 (Atkins, 2005).

A patogênese da Nefropatia Diabética vem sendo intensamente investigada. Pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos na evolução e progressão desta entidade. Alterações nos podócitos e na espessura da membrana basal glomerular (MBG) são cruciais para o aparecimento gradual de proteinúria nestes pacientes (White, Bilous e Group, 2004).

O podócito é um dos componentes responsável pela integridade da barreira de filtração glomerular, alterações como achatamento ou redução no número de células podem levar ao desenvolvimento de proteinúria (Lemley et al., 2002). Estudos revelam que o apagamento dos processos podocitários é evidente nas fases de proteinúria maciça, porém, foi observado que os pacientes normoalbuminúricos ou microalbuminúricos também podem apresentar certo grau de apagamento e que a gravidade destas lesões é proporcional ao aumento da taxa de excreção de albumina (Perrin et al., 2006; Toyoda et al., 2007).

Foi observado que lesões podocitárias graves podem levar a perda de podócitos pela urina com consequente diminuição do número de podócitos no glomérulo. Pacientes com Diabetes Mellitus

**Endereço:** Rua Conde Prados, 191

**Bairro:** Nossa Sra. Abadia

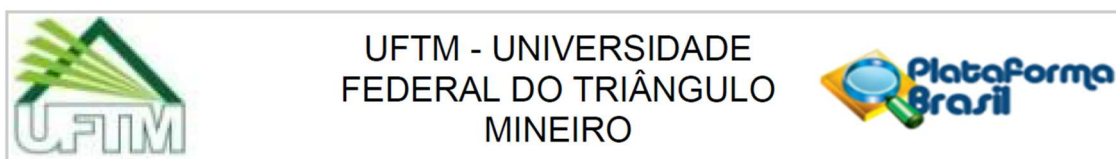
**CEP:** 38.025-260

**UF:** MG

**Município:** UBERABA

**Telefone:** (34)3700-6803

**E-mail:** cep@uftm.edu.br



Continuação do Parecer: 3.001.006

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

UBERABA, 05 de Novembro de 2018

---

**Assinado por:**

**Alessandra Cavalcanti de Albuquerque e Souza**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Rua Conde Prados, 191

**Bairro:** Nossa Sra. Abadia

**CEP:** 38.025-260

**UF:** MG

**Município:** UBERABA

**Telefone:** (34)3700-6803

**E-mail:** cep@uftm.edu.br

## ANEXO B– ARTIGO

*For consideration in Mediators of Inflammation*

Page 1 of 27

**Mediators of Inflammation**

Research Article

**Tissue Expression of NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 in Glomerular and Interstitial Inflammation Associated with Diabetic Nephropathy****Submission ID** 62e990c3-5152-45dc-b96d-69bd2c87e1d1**Submission Version** Initial Submission**PDF Generation** 26 Nov 2025 08:02:28 EST by Atypon ReX**Authors**

Miss Bruna de Freitas Oliveira

 [ORCID  
https://orcid.org/0009-0000-6085-5965](https://orcid.org/0009-0000-6085-5965)**Affiliations**

- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Dr. Liliane Silvano Araújo

**Affiliations**

- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Dr. Crislaine Aparecida da Silva

**Affiliations**


- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Dr. Laura Penna Rocha

 [ORCID  
https://orcid.org/0000-0001-6554-0241](https://orcid.org/0000-0001-6554-0241)**Affiliations**

- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Dr. Marlene Antônia dos Reis

 **ORCID**  
<https://orcid.org/0000-0003-2523-2097>

**Affiliations**

- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Dr. Bruna Cunha Zaidan

**Affiliations**


- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Dr. Rafael Obata Trevisan

**Affiliations**

- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

Prof. Juliana Reis Machado  
*Corresponding Author*  
*Submitting Author*

 **ORCID**  
<https://orcid.org/0000-0002-8673-7788>

**Affiliations**

- Kidney Research Center/ Department of Pathology, Genetics and Evolution/ Institute of Biological and Natural Sciences/ Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

### Files for peer review

All files submitted by the author for peer review are listed below. Files that could not be converted to PDF are indicated; reviewers are able to access them online.

Name	Type of File	Size	Page
manuscript.docx	Main Document - MS Word	7.7 MB	<a href="#">Page 4</a>

## **Tissue Expression of NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 in Glomerular and Interstitial Inflammation Associated with Diabetic Nephropathy**

Bruna de Freitas Oliveira<sup>1</sup>, Liliâne Silvano Araújo<sup>1</sup>, Crislaine Aparecida da Silva<sup>1</sup>, Laura Penna Rocha<sup>1</sup>, Marlene Antônia dos Reis<sup>1</sup>, Bruna Cunha Zaidan<sup>1</sup>, Rafael Obata Trevisan<sup>1</sup>, Juliana Reis Machado<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisa em Rim, Department of General Pathology, Institute of Biological and Natural Sciences, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil.

### **\*Autor correspondente**

Juliana Reis Machado, PhD

Professor General Pathology

Praça Manoel Terra, 330, Nossa Senhora da Abadia, 38025-015, Uberaba, Minas Gerais, Brasil

juliana.patologiageral@gmail.com

(34) 3700-6452

Email address:

Bruna de Freitas Oliveira - [brunes21@gmail.com](mailto:brunes21@gmail.com)

Liliâne Silvano Araújo – [liliane.araujo@uftm.edu.br](mailto:liliane.araujo@uftm.edu.br)

Crislaine Aparecida Silva - [crislaine.silva@uftm.edu.br](mailto:crislaine.silva@uftm.edu.br)

Laura Penna Rocha – [laura.rocha@uftm.edu.br](mailto:laura.rocha@uftm.edu.br)

Marlene Antônia dos Reis - [mareispatologia@gmail.com](mailto:mareispatologia@gmail.com)

Bruna Cunha Zaidan - [bruna.zaidan@uftm.edu.br](mailto:bruna.zaidan@uftm.edu.br)

Rafael Obata Trevisan - [rafaelotrevisan@gmail.com](mailto:rafaelotrevisan@gmail.com)

Juliana Reis Machado - [juliana.patologiageral@gmail.com](mailto:juliana.patologiageral@gmail.com)

**ABSTRACT**

Activation of the NLRP3 inflammasome and its downstream cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 has been increasingly associated with the inflammatory mechanisms underlying diabetic nephropathy (DN), the leading cause of chronic kidney disease and end-stage renal disease worldwide. This study investigated the expression of these inflammatory mediators in renal tissue from patients with DN. Eighty renal biopsies from adult patients ( $\geq 18$  years) with a histopathological diagnosis of DN and 22 control samples obtained from autopsies were analyzed. NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 expression was assessed by immunohistochemistry, and semi-quantitative analysis was performed to determine the proportion of immunostained cells in the glomerular and interstitial compartments. A significant increase in immunostaining for all three mediators was observed in mesangial cells, podocytes, endothelial cells, and the interstitium of DN samples compared with controls ( $p < 0.05$ ). Positive and significant correlations were found between NLRP3 and IL-1 $\beta$  in endothelial cells ( $p < 0.0001$ ;  $rS = 0.4720$ ) and in the interstitium ( $p = 0.0230$ ;  $rS = 0.2540$ ), as well as between NLRP3 and IL-18 in podocytes ( $p = 0.0055$ ;  $rS = 0.3074$ ). Moreover, interstitial expression of NLRP3 and IL-1 $\beta$  correlated positively with serum creatinine levels ( $p = 0.0015$ ;  $rS = 0.3708$ ; and  $p = 0.0029$ ;  $rS = 0.3480$ , respectively), suggesting an association between inflammasome-mediated inflammation and renal dysfunction. Collectively, these findings indicate that the NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 axis plays a central role in glomerular and interstitial injury in DN, supporting its potential as a prognostic biomarker and a promising therapeutic target for disease modulation.

**Keywords:** NLRP3 inflammasome; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-18; diabetic nephropathy; renal inflammation.

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) has shown a continuous increase in global prevalence and represents a major public health challenge due to its metabolic, hemodynamic, immunological, and renal complications. Among these, diabetic nephropathy (DN) is particularly relevant, as it remains the leading cause of chronic kidney disease and end-stage renal disease worldwide (Sagoo & Gnudi, 2020; Samsu, 2021). The condition affects approximately 30% of patients with type 1 DM and 40% of those with type 2 DM (Rayego-Mateos et al., 2020), resulting from persistent hyperglycemia-induced metabolic and hemodynamic alterations that culminate in glomerular injury, glomerulosclerosis, and tubulointerstitial fibrosis (Dwivedi & Sikarwar, 2021). Clinically, DN is characterized by glomerular hyperfiltration, progressive albuminuria, decline in glomerular filtration rate (GFR), and eventual kidney failure (Bouça et al., 2021).

Renal biopsy, considered the gold standard for the diagnosis of glomerular diseases—including DN—enables the identification of histopathological patterns that guide individualized therapeutic strategies (Araújo et al., 2020; Bessa, 2024). The use of biopsy in early stages may improve diagnostic accuracy, expand therapeutic opportunities, and enhance the understanding of early renal dysfunction, contributing to stricter control of metabolic complications associated with diabetes (Caviedes-Cleves et al., 2022).

The pathophysiology of DN involves a complex network of interrelated mechanisms. Among metabolic pathways, the hexosamine pathway increases TGF- $\beta$  expression and promotes extracellular matrix accumulation (Wu et al., 2023; Efiog et al., 2025), while the polyol pathway exacerbates osmotic stress, activates protein kinase C (PKC), and contributes to matrix deposition (Efiog et al., 2025). The interaction of advanced glycation end-products (AGEs) with their receptors activates NF- $\kappa$ B, enhancing the production of pro-inflammatory cytokines and adhesion molecules—including IL-1, IL-6, IL-18, TNF- $\alpha$ , ICAM-1, VCAM-1, ESAM, E-selectin, and  $\alpha$ -actinin-4 (Samsu, 2021; Agarwal, 2021). PKC activation further induces endothelin-1, VEGF, and angiotensin II, aggravating glomerular injury (Dwivedi & Sikarwar, 2021). Hemodynamic factors such as activation of the renin–angiotensin–aldosterone system amplify oxidative stress, intraglomerular hypertension, and proteinuria, whereas SGLT2-mediated hyperfiltration contributes to mitochondrial dysfunction and decline in GFR (Bouça et al., 2021).

Low-grade inflammation constitutes another key axis of DN, characterized by elevated cytokines such as IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , and IL-18 (Matoba et al., 2019; Samsu, 2021), and also by the participation of IL-1, IL-33, and IFN- $\gamma$  (Araújo et al., 2016). Macrophage recruitment mediated by ICAM-1 and VCAM-1 exacerbates glomerular and tubular injury, further

promoting the release of profibrotic mediators such as TGF- $\beta$  and IL-1 $\beta$  (Lin et al., 2018; Agarwal, 2021; Chen et al., 2022). Complement activation and renal hypoxia intensify inflammation and fibrosis (Lin et al., 2018; Agarwal, 2021), whereas the JAK–STAT pathway plays a central role in mediating inflammatory and fibrogenic processes driven by hyperglycemia and AGEs (Samsu, 2021; Dwivedi & Sikarwar, 2021).

Within this multifaceted inflammatory landscape, the NLRP3 inflammasome emerges as a key driver of sterile inflammation in DN. Triggered by reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial dysfunction, NLRP3 activates caspase-1 and promotes the maturation of the pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 (Komada & Muruve, 2019; Tang & Yiu, 2020). NLRP3 activation correlates strongly with glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis (Xiong et al., 2021), and its inhibition has been associated with reduced progression of DN (Shahzad et al., 2022).

The cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18, both processed through inflammasome-dependent signaling, are closely associated with the characteristic glomerular lesions of DN. IL-1 $\beta$  exacerbates inflammation, disrupts glomerular structures, and promotes fibrogenic responses (Rayego-Mateos et al., 2020), making it an attractive therapeutic target (Kovalik et al., 2024). IL-18 plays a central role in regulating adhesion molecules, increasing ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin expression in endothelial cells, promoting leukocyte recruitment, and contributing to renal fibrosis during DN development (Yaribeygi et al., 2018).

Given this context, integrated evaluation of NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 expression may elucidate key inflammatory mechanisms underlying DN progression. Therefore, the present study quantified the expression of these inflammatory markers in renal biopsies from adult patients with DN, aiming to deepen the understanding of their role in the processes contributing to disease severity and progression.

## **METHODS**

### ***Patients***

A total of 80 renal biopsies from adult patients ( $\geq 18$  years) with a histopathological diagnosis of diabetic nephropathy were analyzed. All samples were obtained from the database of the Kidney Research Center of the Federal University of Triângulo Mineiro (CePRim/UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brazil, collected between 2006 and 2024. All patients with confirmed diabetes mellitus and diabetic nephropathy were included, provided they had no overlapping glomerular diseases, systemic nephritides, active infections, or any condition that could interfere with the renal inflammatory profile.

The control group consisted of 22 renal samples obtained from autopsies of adult individuals ( $\geq 18$  years) whose cause of death was unrelated to renal, inflammatory, or infectious diseases. These samples were provided by the Department of Pathology of the University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brazil. Only specimens with preserved tissue integrity and no significant autolysis were included. The study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee of the Federal University of Triângulo Mineiro (approval number 3.001.006).

### ***Immunohistochemistry***

Immunohistochemistry was manually performed on reserve slides containing 2- $\mu\text{m}$ -thick paraffin-embedded renal sections. Slides were deparaffinized, rehydrated, and subjected to antigen retrieval using Trilogy solution (1:20) in a Pascal pressure chamber for 30 minutes. After washing in PBS, endogenous peroxidase activity was blocked with Peroxidase Block (Novolink) for 30 minutes in a dark, humid chamber, followed by two additional PBS washes (5 minutes each). A protein block (Protein Block, Novolink) was then applied for 25 minutes.

Slides were incubated overnight at 4 °C with primary antibodies diluted in PBS containing 2% BSA, following manufacturer specifications summarized in Table 1. The next morning, slides were washed in PBS (3  $\times$  5 minutes) and incubated with the Post Primary reagent (Novolink) for 30 minutes, followed by two additional PBS washes (2  $\times$  5 minutes). The polymer detection system (Polymer, Novolink) was applied for 30 minutes and washed again (2  $\times$  5 minutes).

Chromogenic development was performed using DAB (Liquid DAB, Dako) for 2 minutes, followed by rinsing in running water. Slides were counterstained with Harris hematoxylin for 1 minute, dehydrated in graded ethanol (70%–95%), cleared in xylene (I–III), and mounted with permanent medium and coverslips.

### ***Semi-quantitative analysis of in situ immunostaining***

All available tissue area on each slide was assessed by an experienced pathologist blinded to the clinical diagnosis. Positive immunostaining was defined as cytoplasmic brown coloration in mesangial cells, podocytes, glomerular endothelial cells, or interstitial compartment cells.

The percentage of immunopositive cells was estimated in at least ten representative fields per slide at 400 $\times$  magnification. Immunostaining intensity was categorized according to a semi-quantitative scale adapted from Ferro (2014) and Kim et al. (2016), ranging from 0% to

89%. No samples exhibited staining between 90% and 100% (Table 2).

### ***Statistical analysis***

Data were organized using Microsoft Excel®, and statistical analyses and graph construction were performed using GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software®). Normality of variables was assessed using the Kolmogorov–Smirnov test. Results are expressed as median and minimum–maximum values. Comparisons between two groups were performed using the Mann–Whitney test. Correlations were analyzed using Spearman’s rank correlation coefficient (rS). Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

## **RESULTS**

A total of 80 patients diagnosed with diabetic nephropathy (DN) were included in the study. Of these, 43 were male (53.7%) and 37 female (46.2%), with a mean age of  $52.8 \pm 11.9$  years. Regarding diabetes type, 36 patients (45%) had type 2 diabetes mellitus (DM), 9 (11.2%) had type 1 DM, and 35 (43.7%) had no recorded information. Disease duration exceeded 10 years in 45 patients (56.2%), ranged from 1 to 10 years in 21 patients (26.2%), and was unknown in 14 cases (17.5%).

Systemic arterial hypertension was the most frequent comorbidity, affecting 61 patients (76.2%), while 10 (12.5%) had no hypertension and 9 (11.2%) lacked recorded information. Mean laboratory parameters included proteinuria of  $5.34 \pm 4.45$  g/24 h, serum creatinine of  $3.03 \pm 3.86$  mg/dL, estimated glomerular filtration rate (eGFR) of  $37.9 \pm 26.7$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, and serum glucose of  $163 \pm 85.2$  mg/dL. Histopathological classification of DN, based on Tervaert et al. (2010), is presented in Table 3.

Analysis of NLRP3 expression revealed a marked increase in the proportion of immunopositive cells in DN cases compared with controls. This increase was evident across glomerular compartments, including mesangial cells (Figure 1A;  $p < 0.0001$ ), podocytes (Figure 1B;  $p < 0.0001$ ), and glomerular endothelial cells (Figure 1C;  $p = 0.0052$ ). Histological images showed discrete NLRP3 expression in control glomeruli, whereas DN biopsies exhibited intense staining in mesangial cells and podocytes (Figure 1D).

A similar pattern was observed in the interstitial compartment, where NLRP3 expression was significantly higher in DN samples (Figure 2A;  $p < 0.0001$ ), with micrographs demonstrating weak or absent staining in controls and strong labeling in inflammatory and tubulointerstitial epithelial cells in DN (Figure 2B). These findings highlight a consistent and robust upregulation of NLRP3 throughout glomerular and interstitial regions.

IL-1 $\beta$  expression followed a similar trend, with significantly increased immunostaining in all renal compartments of DN patients. Within glomeruli, higher proportions of IL-1 $\beta$ -positive cells were observed in mesangial cells (Figure 3A;  $p < 0.0001$ ), podocytes (Figure 3B;  $p = 0.0003$ ), and endothelial cells (Figure 3C;  $p < 0.0001$ ). Representative images depict minimal or absent IL-1 $\beta$  staining in control glomeruli, in contrast to strong labeling in DN samples (Figure 3D).

In the interstitium, IL-1 $\beta$  expression was also markedly elevated (Figure 4A;  $p < 0.0001$ ), with histological sections showing negligible staining in controls and intense immunoreactivity in inflammatory and tubulointerstitial epithelial cells in DN (Figure 4B). Together, these data indicate that IL-1 $\beta$  is broadly and consistently upregulated in DN, supporting its role as a key inflammatory mediator in renal injury.

IL-18 expression was likewise significantly increased in DN biopsies. In glomeruli, elevated proportions of IL-18-positive cells were detected in mesangial cells (Figure 5A;  $p = 0.0181$ ), podocytes (Figure 5B;  $p = 0.0046$ ), and endothelial cells (Figure 5C;  $p < 0.0001$ ). Histological images show weak or absent IL-18 labeling in control tissue, whereas DN glomeruli exhibited strong staining in multiple cell types (Figure 5D).

Interstitial IL-18 expression was also significantly higher in DN cases (Figure 6A;  $p < 0.0001$ ), with representative images illustrating the contrast between minimal staining in controls and marked immunoreactivity in inflammatory and epithelial cells in DN (Figure 6B). These findings reinforce the contribution of IL-18 to both glomerular and interstitial inflammation in DN, consistent with inflammasome-dependent cytokine activation.

Given the upregulation of NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18, we next examined their relationships within renal compartments. A significant positive correlation was observed between IL-1 $\beta$  and NLRP3 expression in endothelial cells (Figure 7A;  $p < 0.0001$ ;  $rS = 0.4720$ ) and in the interstitium (Figure 7B;  $p = 0.0230$ ;  $rS = 0.2540$ ).

IL-18 expression correlated positively with NLRP3 in podocytes (Figure 8A;  $p = 0.0055$ ;  $rS = 0.3074$ ), and a trend toward correlation was observed in the interstitial compartment (Figure 8B;  $p = 0.0560$ ;  $rS = 0.2145$ ). These patterns suggest cooperative interactions across multiple cell types in mediating renal inflammation in DN.

Finally, correlations with clinical renal function revealed a trend toward a positive association between NLRP3 expression in mesangial cells and serum creatinine levels (Figure 9A;  $p = 0.0745$ ;  $rS = 0.2130$ ). In the interstitial compartment, both NLRP3 (Figure 9B;  $p = 0.0015$ ;  $rS = 0.3708$ ) and IL-1 $\beta$  (Figure 9C;  $p = 0.0029$ ;  $rS = 0.3480$ ) exhibited significant positive correlations with serum creatinine, indicating that inflammasome-related inflammation

is closely linked to renal dysfunction in DN.

## DISCUSSION

Diabetic nephropathy is one of the most relevant and devastating complications of diabetes mellitus, and the understanding of its pathophysiological mechanisms has advanced substantially over recent decades. Although traditionally described as a consequence of chronic hyperglycemia-induced metabolic and hemodynamic alterations, emerging evidence demonstrates that sterile inflammation and innate immunity play central roles in the initiation and progression of renal injury. The findings of this study reinforce this concept by demonstrating a significant increase in the expression of NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 across multiple renal compartments, indicating both systemic and compartmentalized activation of the inflammasome in DN.

The strong immunostaining observed in mesangial cells, podocytes, endothelial cells, and the interstitial compartment suggests that inflammasome activation is not restricted to a single cell type or disease stage. Instead, our data point to a sustained inflammatory axis permeating distinct phases of DN pathophysiology. Mesangial cells, for instance, respond robustly to inflammatory stimuli derived from AGEs, oxidative stress, and mechanical changes induced by hyperfiltration, promoting NLRP3 activation and contributing to mesangial expansion, extracellular matrix deposition, and glomerulosclerosis. This response aligns with studies showing heightened mesangial sensitivity to angiotensin II, ROS, and NF- $\kappa$ B under hyperglycemic conditions, all of which are potential inducers of the NLRP3 pathway (Williams et al., 2022).

The pronounced expression of NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 in podocytes is particularly noteworthy given the essential role of these cells in maintaining the glomerular filtration barrier. Podocyte dysfunction is considered one of the earliest structural events in DN, and inflammatory mechanisms have a decisive impact on podocyte integrity and survival. Experimental studies demonstrate that inflammasome activation in podocytes leads to cytoskeletal rearrangement, slit diaphragm dysfunction, release of pro-inflammatory mediators, and, in advanced stages, pyroptosis, a caspase-1-dependent inflammatory form of cell death (Shahzad et al., 2022).

The intense immunostaining observed in podocytes in our DN samples reinforces the direct contribution of inflammasome pathways to glomerular deterioration and highlights the dual role of the podocyte as both a target and amplifier of local inflammation.

Increased expression in glomerular endothelial cells further supports the involvement of

inflammasome-mediated injury in the microvascular component of DN. Interactions between AGEs and RAGE, enhanced ROS generation, and upregulation of adhesion molecules such as ICAM-1 and VCAM-1 create a pro-inflammatory endothelial environment conducive to NLRP3 activation. Endothelial activation, in turn, facilitates leukocyte recruitment, amplifies glomerular injury, and increases vascular permeability, reinforcing the centrality of endothelial dysfunction in DN.

The marked interstitial expression of NLRP3 and IL-1 $\beta$  and their correlation with serum creatinine levels highlight the importance of interstitial inflammation in progressive renal functional decline. Although DN has historically been approached as a glomerular disease, accumulating evidence indicates that the extent of interstitial inflammation and fibrosis is a stronger predictor of GFR decline than glomerular injury alone (Chen et al., 2022). The correlations observed in this study not only support the relevance of the interstitial compartment in DN pathophysiology but also suggest that inflammasome activation in this region may be particularly detrimental to renal function.

The behavior of IL-18 warrants additional consideration. Although, like IL-1 $\beta$ , it is a direct product of caspase-1 activation, IL-18 showed a more heterogeneous pattern, with prominent expression in podocytes and a trend toward increased interstitial expression. This variability may reflect intrinsic differences in cytokine regulation or microenvironmental characteristics within the kidney. IL-18 is known to promote endothelial adhesion molecule expression, enhance leukocyte recruitment, and stimulate fibrogenic processes, particularly in intermediate and advanced stages of DN (Yaribeygi et al., 2018). Its high expression in podocytes may indicate earlier activation of glomerular inflammatory pathways, whereas its variable interstitial expression may reflect differing degrees of tissue remodeling among patients.

Another important aspect involves integrating immunohistochemical findings with clinical characteristics. Most patients in this study had long-standing diabetes, a high prevalence of systemic hypertension, and marked proteinuria—factors well known to exacerbate renal inflammation. The predominance of class III and IV cases according to Tervaert et al. (2010) further indicates that many patients were in advanced stages of DN, supporting the interpretation that inflammasome activation may be involved not only in early disease mechanisms but also in its progression and worsening of renal dysfunction. Contemporary studies suggest that inflammasome activity is modulated by hyperglycemia severity, mitochondrial dysfunction, and concomitant hypertension (Meier et al., 2024; Li et al., 2024).

These findings raise the possibility that NLRP3, IL-1 $\beta$ , and IL-18 may serve as more

robust markers of inflammatory activity and tissue damage than traditional clinical parameters alone, potentially enabling risk stratification, early identification of accelerated progression, and patient selection for targeted anti-inflammatory therapies. The NLRP3/IL-1 $\beta$  axis, in particular, has been increasingly explored as a promising therapeutic target in both type 2 diabetes and inflammatory renal diseases.

NLRP3 inhibitors such as MCC950 and related compounds, as well as IL-1 $\beta$  blockers, have shown experimental benefits and may eventually form part of therapeutic strategies for DN (Meier et al., 2024). The present findings reinforce the biological and clinical rationale for such approaches, suggesting that patients with higher activation of this pathway may derive the greatest benefit.

Although certain limitations should be acknowledged, including the use of autopsy tissue as controls, the semiquantitative nature of immunohistochemical evaluation, and incomplete availability of some clinical variables, these aspects do not compromise the solidity of the findings. Samples were carefully selected to minimize pre-analytical variability, analyses were performed in a blinded manner following standardized protocols, and the large number of biopsies evaluated provides robust support for the conclusions. As such, this study stands out for integrating one of the largest national DN biopsy cohorts with systematic assessment of inflammasome-related mediators across multiple renal compartments, providing consistent evidence that the NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 axis plays a central role in both glomerular inflammation and interstitial injury associated with progressive renal dysfunction.

These findings underscore the potential of these mediators as biomarkers of inflammatory activity and promising therapeutic targets in the management of diabetic nephropathy.

## CONCLUSION

The findings of this study demonstrate that diabetic nephropathy is characterized by broad and compartmentalized activation of the NLRP3 inflammasome, accompanied by increased expression of the pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 in glomerular cells and within the interstitial compartment. The presence of these mediators across multiple renal structures, together with their correlation with serum creatinine levels, reinforces the notion that sterile inflammation mediated by the NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 axis plays a decisive role in the progression of renal injury. These observations indicate that inflammasome activation is not merely a byproduct of tissue damage but a potential key mechanism integrating metabolic, immunological, and structural stimuli that drive worsening renal dysfunction. In this context,

the NLRP3/IL-1 $\beta$ /IL-18 axis emerges as both a promising biomarker of inflammatory activity and a potential therapeutic target, offering new perspectives for prognostic stratification and the development of targeted intervention strategies in diabetic nephropathy.

## REFERENCES

AGARWAL, R. Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. **Chronic Kidney Disease and Type 2 Diabetes. Arlington (VA): American Diabetes Association**, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db20211-2>.

ARAÚJO, L. S.; TORQUATO, B. G. S.; DA SILVA, C. A.; MONTEIRO, M. L. G. R.; MARTINS, A. L. .M .S.; SILVA, M. V. *et al.* Renal expression of cytokines and chemokines in diabetic nephropathy. **BMC Nephrology**, v. 21, ed. 308, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12882-020-01960-0>.

BESSA, F. X. M. Perfil epidemiológico dos pacientes com Diabetes Mellitus, submetidos a biópsia renal em um hospital terciário. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 12, p. 6983, dez. 2024. Disponível em: <https://ojs.revistacontemporanea.com/ojs/index.php/home/article/view/6983>.

BOUÇA, B.; BOGALHO, A. P.; AGAPITO, A. Nefropatia Diabética. **Revista Portuguesa de Diabetes**, v. 16, ed. 2, p. 80-89, jan. 2021. Disponível em: [https://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2021/07/RPD\\_Junho\\_2021\\_ARTIGO-DE-REVISAO\\_80-89.pdf](https://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2021/07/RPD_Junho_2021_ARTIGO-DE-REVISAO_80-89.pdf).

CAVIEDES-CLEVES, M. A.; ARIAS, L. F.; OSPINA-OSPINA, S. Achados histopatológicos em biópsia renal de pacientes com COVID-19 e envolvimento renal. **Medicina e Laboratório**, v. 26, ed. 3, p. 261-271, abr. 2022. Disponível em: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/v7ksj>.

CHANDRAGIRI, S.; RAJU, S. B.; MANDARAPU, S. B.; GOLI, R.; NIMMAGADDA, S. *et al.* A Clinicopathological Study of 267 Patients with Diabetic Kidney Disease Based on the Renal Pathology Society – 2010 Classification System. **Indiaan Journal of Nephrology**, v. 20, ed. 2, p. 104-109, fev. 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.4103/ijn.IJN\\_424\\_17](https://doi.org/10.4103/ijn.IJN_424_17).

CHEN, J.; LIU, Q.; HE, J.; LI, Y. Immune responses in diabetic nephropathy: Pathogenic mechanisms and therapeutic target. **Frontiers in Immunology**, v. 13, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.958790>.

DWIVEDI, S.; SIKARWAR, M. S. Diabetic Nephropathy: Pathogenesis, Mechanisms, and Therapeutic Strategies. **Hormone and Metabolic Research**, v. 57, ed. 1, p. 7-17, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-2435-8264>.

FERRO, A. B. Controle de qualidade. *In* : **IMUNO-HISTOQUÍMICA**. Portugal: 2014. cap. 12, p. 99-100. ISBN 978-989-20-5416-2. Disponível em: <https://repositorio.ipl.pt/entities/publication/3c461218-22c6-4942-9f7b-25160f1328b7>.

JIANGYUAN, J.; MIANZHI, Z. Exploring the role of NLRP3 inflammasome in diabetic nephropathy and the advancements in herbal therapeutics. **Frontiers in Endocrinology**, v. 15, jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1397301>.

KIM, S.W.; ROH, J.; PARK, C. S. Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. **Journal of Pathology and Translational Medicine**, v. 50, p. 411-418, ago. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4132/jptm.2016.08.08>.

KOMADA, T.; MURUVE, D. A. The role of Inflammasomes in Kidney Disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 15, p. 501–520, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0158-z>.

KOVALIK, M. E.; DACANAY, M. A.; CROWLEY, S. D.; HALL, G. Swollen Feet: Considering the Paradoxical Roles of Interleukins in Nephrotic Syndrome. **Biomedicines**, v. 12, ed. 4, mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12040738>.

LI, X.; LIU, S.; HUANGFU, J.; LAI, N.; SHANG, Y. Clinical significance of NLRP3 Inflammasome and related cell molecules in early diabetic kidney disease in elderly population. **Journal of Medical Biochemistry**, v. 43, ed. 6, p. 828-834, nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.5937/jomb0-45950>.

LIN, Y. C.; CHANG, Y. H.; YANG, S. Y.; WU, K. D.; CHU, T. S. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 117, p. 662-675, fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.02.007>.

MATOBA, K.; TAKEDA, Y.; NAGIA, Y.; KAWANAMI, D.; UTSUNOMIYA, K.; NISHIMURA, R. Unraveling the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Diabetic Kidney Disease. **Internacional Journal of Molecular Sciences**, v. 20, ed. 14, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20143393>.

MEIER, D.T.; DE PAULA SOUZA, J.; DONATH, M.Y. Targeting the NLRP3 inflammasome–IL-1 $\beta$  pathway in type 2 diabetes and obesity. **Diabetologia**, v. 68, p. 3-16, nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-024-06306-1>.

RAYEGO-MATEOS, S.; MORGADO-PASCAL, J. L.; OPAZO-RÍOZ, L.; GUERRERO-HUE, M.; GARCÍA-CABALLERO, C.; CARBALLO-VÁZQUEZ, C. *et al.* Pathogenic Pathways and Therapeutic Approaches Targeting Inflammation in Diabetic Nephropathy. **Internacional Journal of Molecular Sciences**, v. 21, ed. 11, maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21113798>.

SÁ, J. R.; CANANI, L. H.; RANGEL, E. B.; BAUER, A. C.; ZELMANOVITZ, T. *et al.* Manejo da Doença Renal do Diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2025)**, DOI: 10.29327/5660187.2025-2, ISBN: 978-65-5941-367-6. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/manejo-da-doenca-renal-do-diabetes/>.

SAGOO, M. K.; GNUDI, L. Nefropatia Diabética: Uma Visão Geral. **Nefropatia Diabética. Métodos em Biologia Molecular**, v. 2067. 2020 Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9841-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9841-8_1).

SAMSU, N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1–17, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/1497449>.

SHAHZAD, K.; FATIMA, S.; KHAWAJA, H.; ELWAKIEL, A.; GADI, I.; AMBREEN, S. *et al.* Podocyte-specific Nlrp3 inflammasome activation promotes diabetic kidney disease. **Kidney International**, v. 102, p.766-779, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2022.06.010>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Dados epidemiológicos SBD: com T1D index. São Paulo: SBD, 2023. 39 p. Disponível em: [https://profissional.diabetes.org.br/wp-content/uploads/2023/06/Dados-Epidemiologicos-SBD\\_comT1Dindex.pdf](https://profissional.diabetes.org.br/wp-content/uploads/2023/06/Dados-Epidemiologicos-SBD_comT1Dindex.pdf).

TANG, S. C. W.; YIU, W. H. Innate immunity in diabetic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, p. 206-222, jan. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0234-4>.

TERVAERT, T. W.; MOOYAART, A. L.; AMANN, K.; COHEN, A. H.; HIGANO, S. T.; FIERS, T. Pathologic classification of diabetic nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**, p. 556–563, abr. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1681/ASN.2010010010>.

THIPSAWAT, S. Early detection of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus: A review of the literature. **Diabetes & Vascular Disease Research**, v. 18, p. 6, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/14791641211058856>.

WILLIAMS, B. M.; CLIFF, C. L.; LEE, K.; SQUIRES, P. E.; HILLS, C. E. The role of the NLRP3 inflammasome in mediating glomerular and tubular injury in diabetic nephropathy. **Frontiers in Physiology**, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.907504>.

WU, T.; DING, L.; ANDOH, V.; ZHANG, J.; CHEN, L. The Mechanism of Hyperglycemia-Induced Renal Cell Injury in Diabetic Nephropathy Disease: An Update. **Life**, v.13, ed. 2, p. 539, fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life13020539>.

XIONG, W.; MENG, X. F.; ZHANG, C. NLRP3 Inflammasome in Metabolic-Associated Kidney Diseases: An Update. **Frontiers in Immunology**, v. 12, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.714340>.

YARIBEYGI, H.; ATKIN, S. L.; SAHEBKAR, A. Interleukin-18 and diabetic nephropathy: A review. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, ed. 5, p. 5674-5682, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcp.27427>.

### List of Tables

Primary Antibody	Supplier	Clone or Catalog Number	Dilution
Polyclonal anti-NLRP3 antibody	Thermo Fisher	PA5-79740	1:500
Monoclonal anti-IL-1 $\beta$ antibody	Bio SB	PI3706	1:100
Monoclonal anti-IL-18 antibody	Thermo Fisher	MA5-47203	1:500

Table 1. Technical specifications of the immunohistochemistry assays.

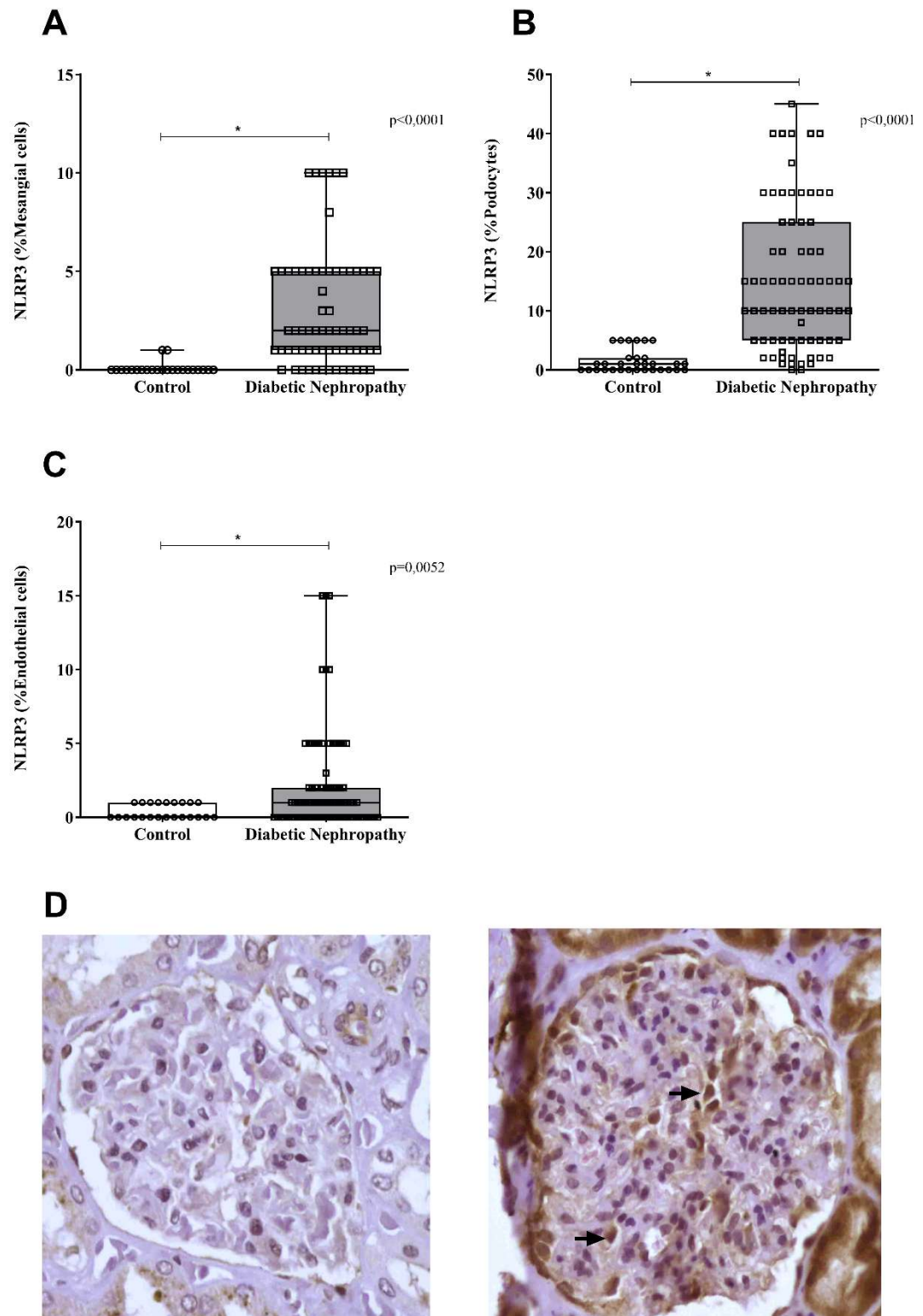
Percentage	Percentage
0 – 1%	Absent staining
2 – 10%	Discrete staining
11 – 49%	Moderate staining
50 – 89%	Strong staining
90 – 100%	Very strong staining

Table 2. Immunostaining intensity categories.

Class (n)	Patients with diabetic nephropathy (n = 80)
I	1
IIa	6
IIb	3
III	43
IV	27

Table 3. Distribution of diabetic nephropathy classes based on the Tervaert classification.

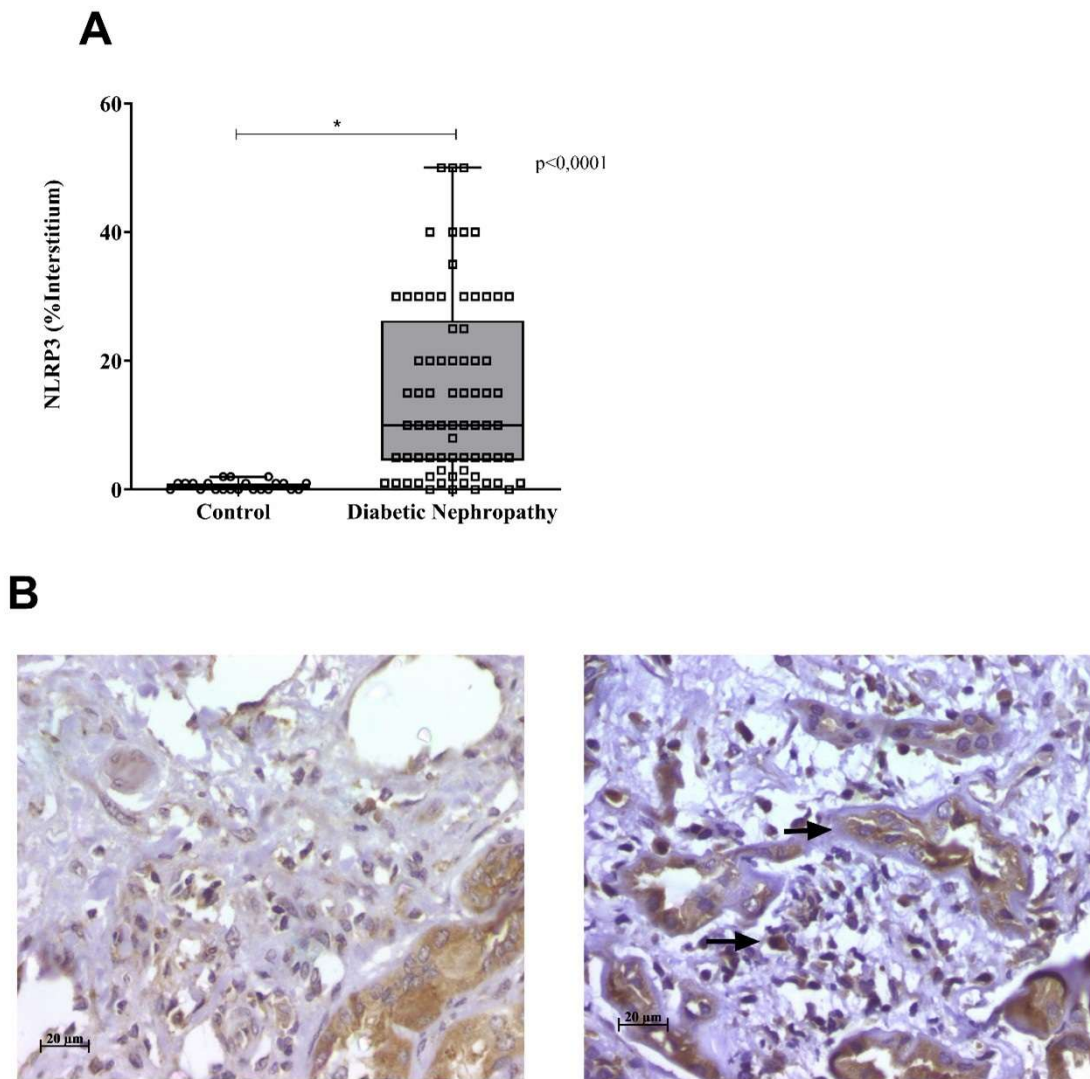
## List of Figures



**Figure 1. Expression of NLRP3 in glomerular compartments of control kidneys and diabetic nephropathy.**

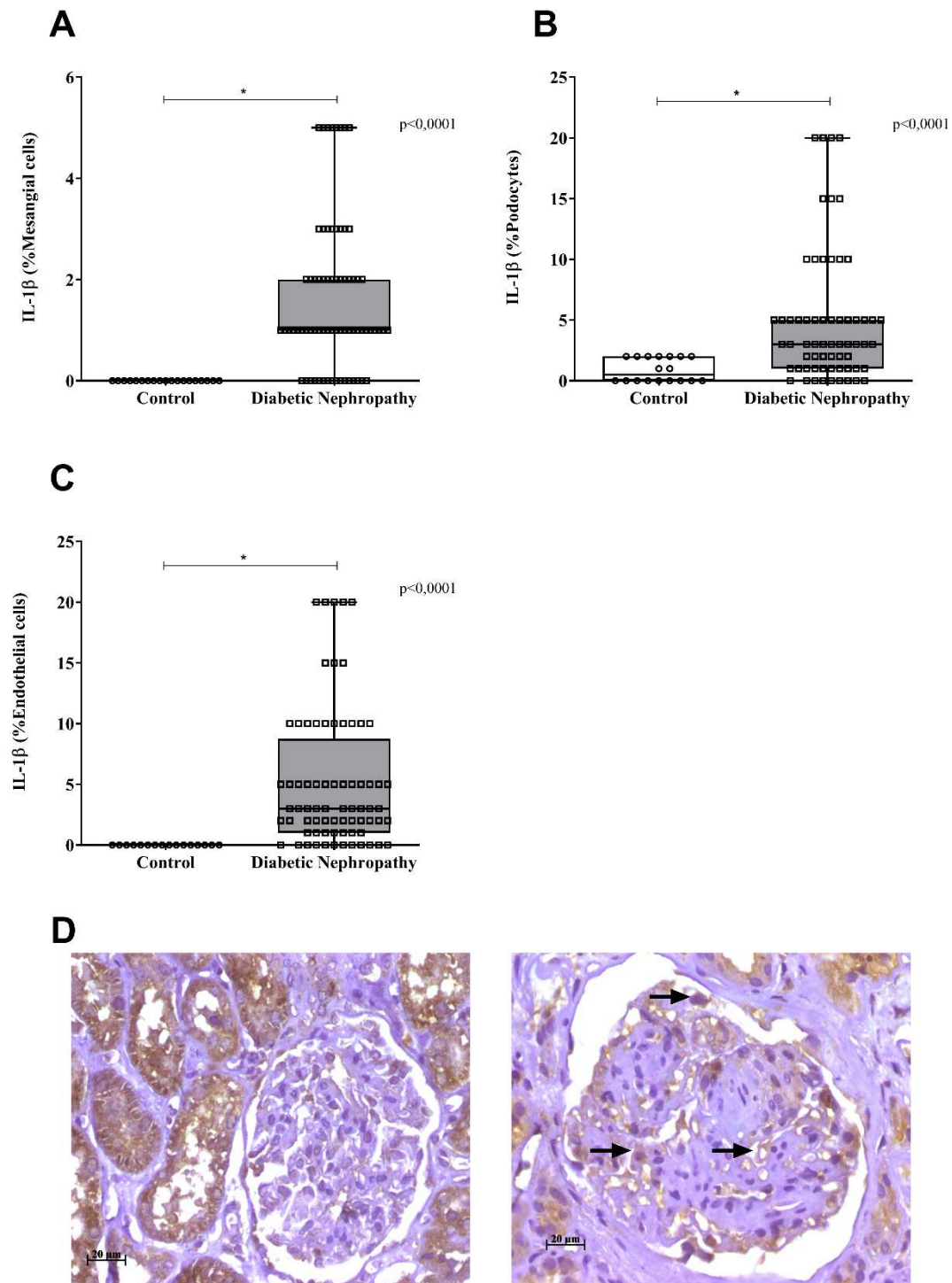
(A) Mesangial cells; (B) Podocytes; (C) Endothelial cells. Boxplots represent median,

interquartile range (25–75%), and 10–90 percentiles. Mann–Whitney test; \* $p < 0.05$ . (D) Representative micrographs showing discrete NLRP3 staining in control glomeruli (left) and strong immunostaining in mesangial cells and podocytes in diabetic nephropathy (right), indicated by arrows.



**Figure 2. Expression of NLRP3 in the renal interstitium of control kidneys and diabetic nephropathy.**

(A) Percentage of NLRP3-positive interstitial cells. Boxplots represent median, interquartile range (25–75%), and 10–90 percentiles. Mann–Whitney test; \* $p < 0.05$ . (B) Representative micrographs showing absent or minimal NLRP3 staining in control interstitium (left) and intense staining in inflammatory and tubular cells in diabetic nephropathy (right), indicated by arrows.

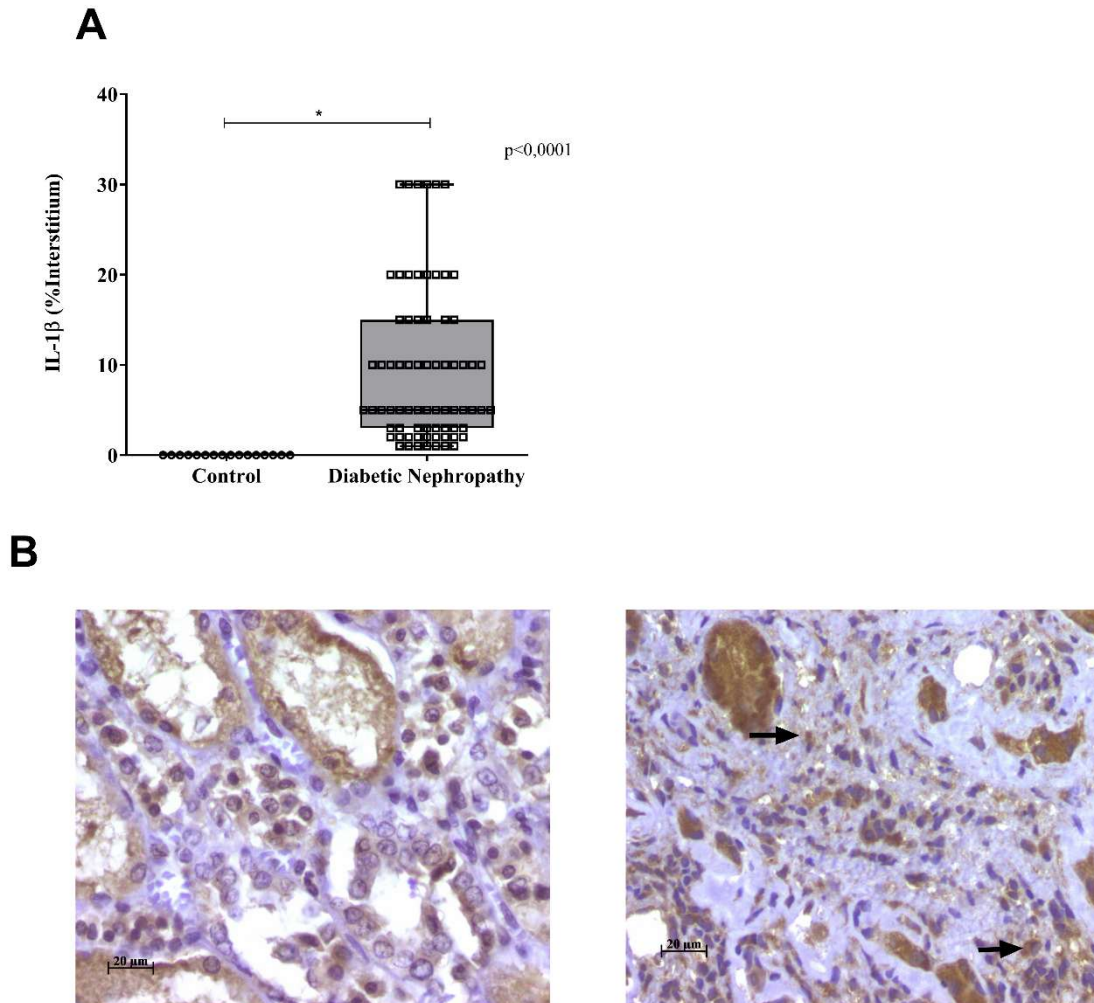


**Figure 3. Expression of IL-1 $\beta$  in glomerular compartments of control kidneys and diabetic nephropathy.**

(A) Mesangial cells; (B) Podocytes; (C) Endothelial cells. Boxplots represent median, interquartile range (25–75%), and 10–90 percentiles. Mann–Whitney test; \* $p < 0.05$ . (D) Representative micrographs showing weak or absent IL-1 $\beta$  staining in control glomeruli (left) and strong immunostaining in mesangial cells, podocytes, and endothelial cells in diabetic

nephropathy (right), indicated by arrows.

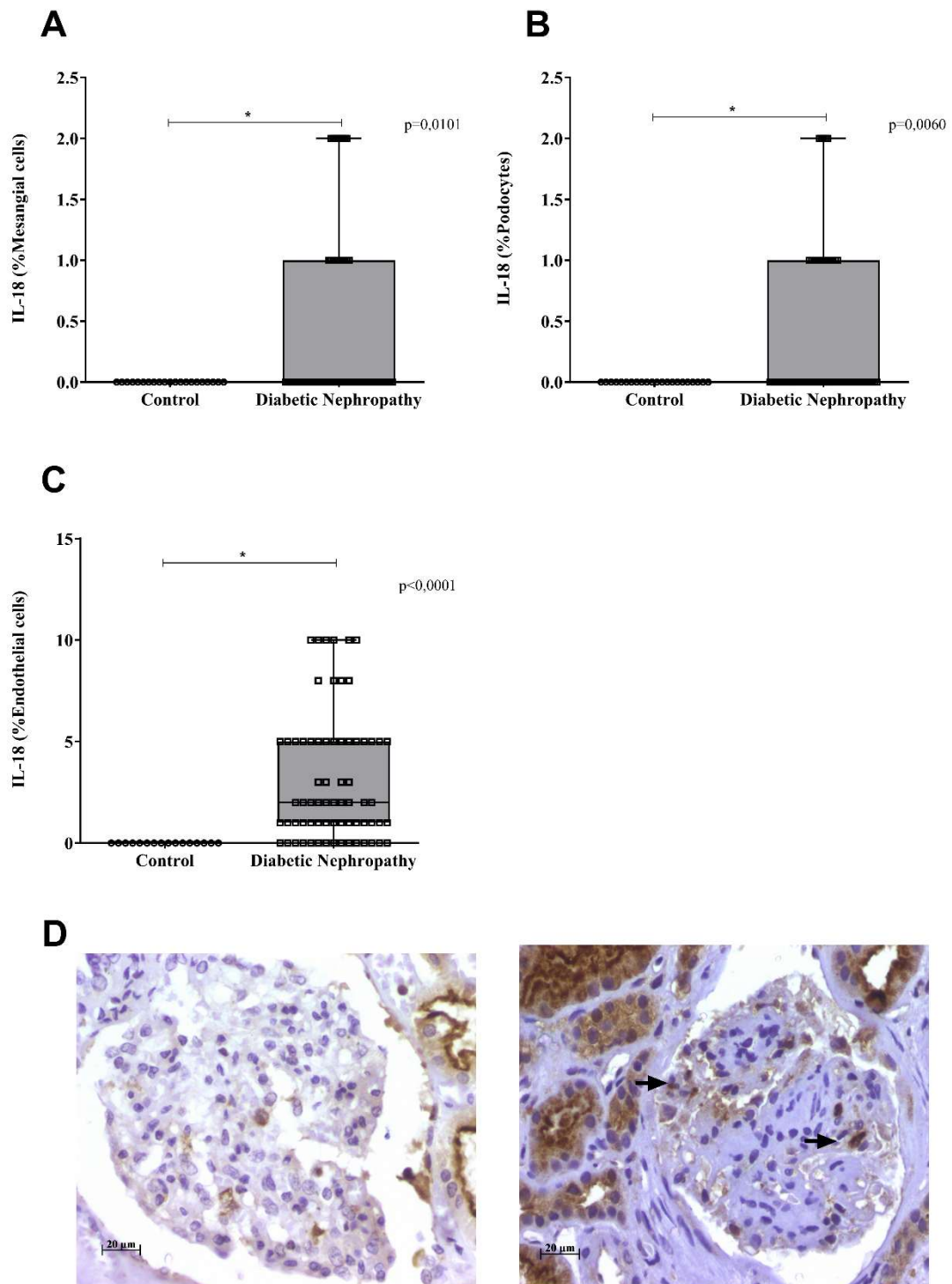
1



**Figure 4. Expression of IL-1 $\beta$  in the renal interstitium of control kidneys and diabetic nephropathy.**

(A) Percentage of IL-1 $\beta$ -positive interstitial cells. Boxplots represent median, interquartile range (25–75%), and 10–90 percentiles. Mann–Whitney test; \* $p < 0.05$ .

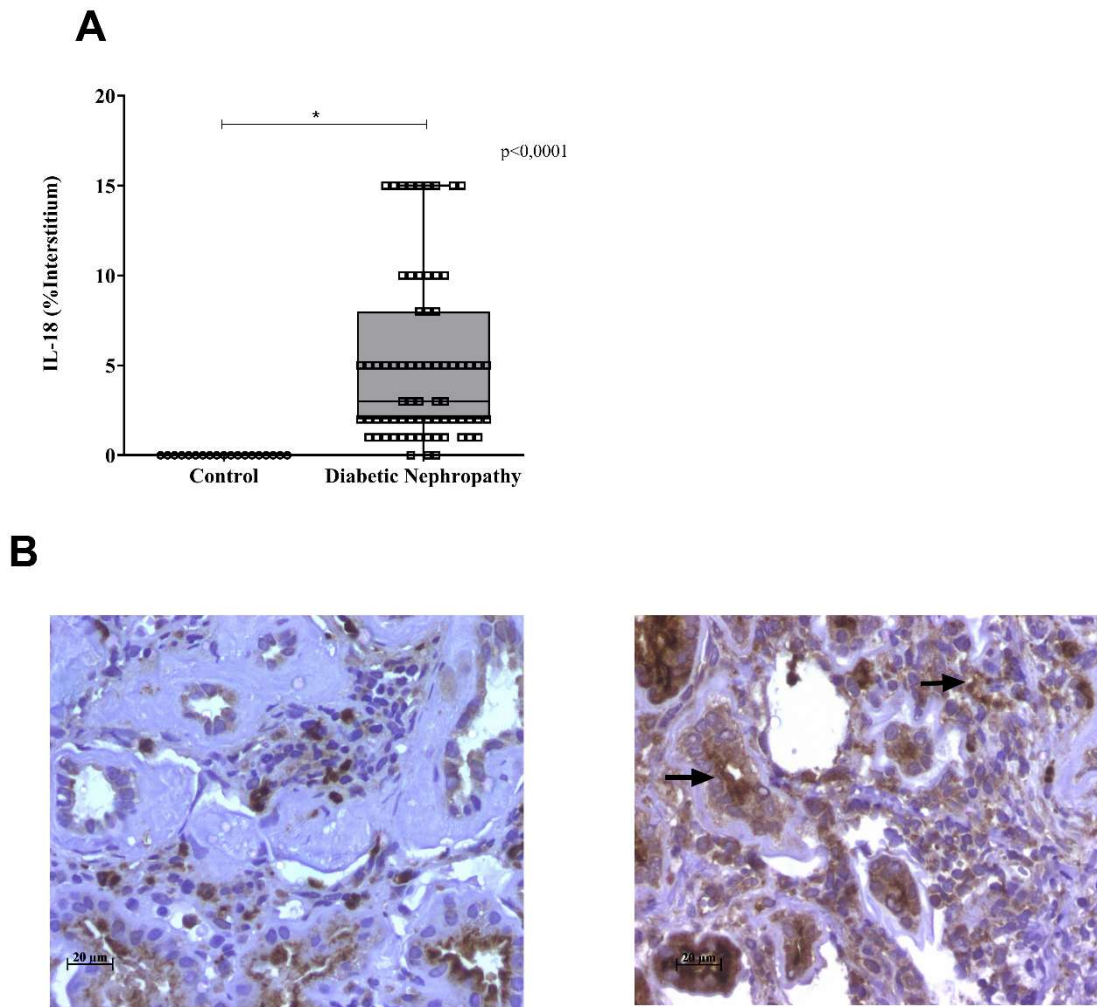
(B) Representative micrographs showing minimal or absent IL-1 $\beta$  staining in control interstitium (left) and intense immunostaining in inflammatory and tubular cells in diabetic nephropathy (right), indicated by arrows.



**Figure 5. Expression of IL-18 in glomerular compartments of control kidneys and diabetic nephropathy.**

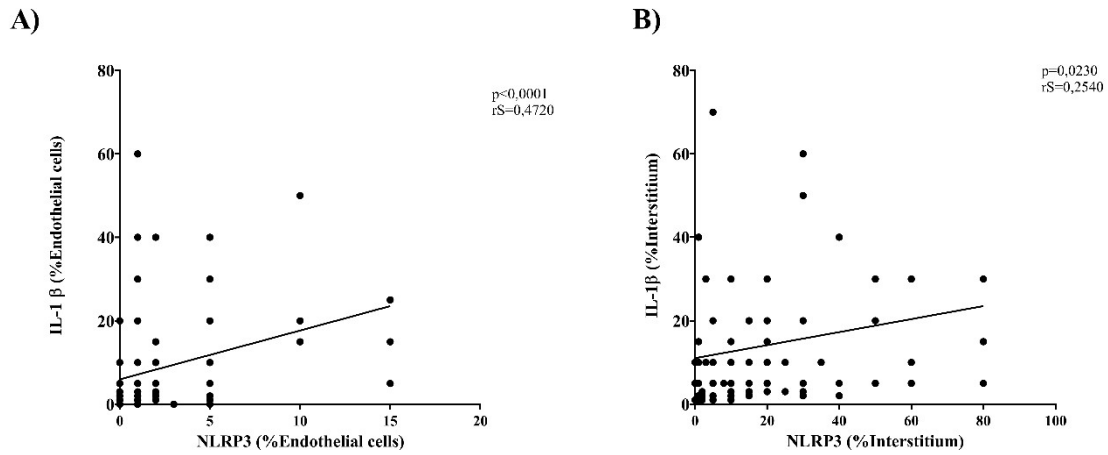
(A) Mesangial cells; (B) Podocytes; (C) Endothelial cells. Boxplots represent median, interquartile range (25–75%), and 10–90 percentiles. Mann–Whitney test; \* $p < 0.05$ . (D) Representative micrographs showing weak or absent IL-18 staining in control glomeruli (left) and strong immunostaining in podocytes, mesangial cells, and endothelial cells in diabetic

nephropathy (right), indicated by arrows.

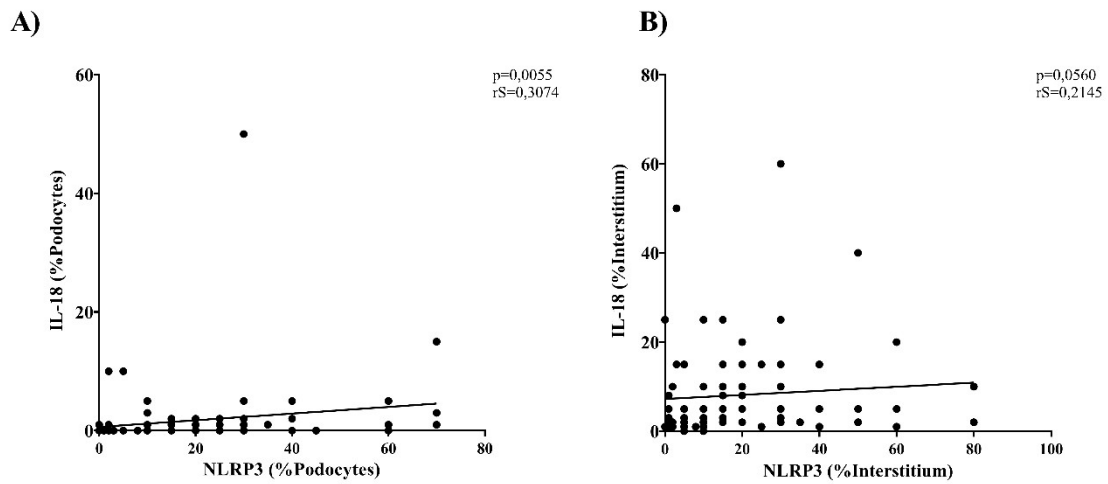


**Figure 6. Expression of IL-18 in the renal interstitium of control kidneys and diabetic nephropathy.**

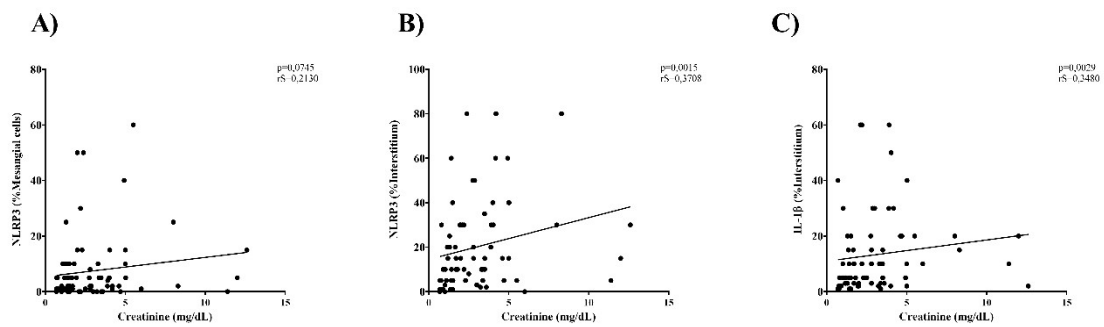
(A) Percentage of IL-18-positive interstitial cells. Boxplots represent median, interquartile range (25–75%), and 10–90 percentiles. Mann–Whitney test; \* $p < 0.05$ . (B) Representative micrographs showing minimal or absent IL-18 staining in control interstitium (left) and intense immunostaining in inflammatory and tubular epithelial cells in diabetic nephropathy (right), indicated by arrows.



**Figure 7.** Spearman's rank correlation between IL-1 $\beta$  and NLRP3 expression in renal compartments. (A) Endothelial cells; (B) Interstitium.



**Figure 8.** Spearman's rank correlation between IL-18 and NLRP3 expression in renal compartments. (A) Endothelial cells; (B) Interstitium.



**Figure 9.** Spearman's rank correlation between inflammatory markers and serum creatinine levels. (A) Correlation between IL-1 $\beta$  expression and serum creatinine. (B) Correlation between NLRP3 expression and serum creatinine. (C) Correlation between IL-18 expression and serum creatinine.