Lia Junqueira Marçal

Potencial preditivo de biomarcadores urinários para o diagnóstico precoce de injúria renal aguda em grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa de Patologia

Orientadora: Profa. Dra. Leila Antonangelo

SÃO PAULO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Marçal, Lia Junqueira
Potencial preditivo de biomarcadores urinários para o diagnóstico precoce de injúria renal aguda em grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares / Lia Junqueira Marçal. -- São Paulo, 2019.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Patologia.
Orientadora: Leila Antonangelo.

Descritores: 1.Lesão renal aguda 2.Creatinina 3.Biomarcadores 4.Complicações pós-operatórias 5.Cirurgia

USP/FM/DBD-264/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises Especiais (LAE) vinculado ao LIM 03 – Patologia Clínica / Medicina Laboratorial do Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da FMUSP. Recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) auxílio projeto temático 2014/19286-4, tendo sido concedida a bolsa de doutorado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) projeto PROEX01478856 (03/2015 – 04/2017) e posterior bolsa FAPESP número 2017/06332-6 (05/2017 – 02/2019).

Dedicatória

Aos meus queridos pais, Manoel e Marize, por serem meu alicerce, fontes de inspiração e coragem e por serem meus apoiadores e incentivadores incondicionais.

Ao meu amado noivo, Raul, pelo carinho, compreensão, apoio, incentivo, dedicação e por sempre estar ao meu lado.

Aos meus irmãos, Caio e Gil, por serem meus exemplos de inteligência e admiração.

À minha família, pelo incentivo e torcida.

AGRADECIMENTOS

À orientadora Profa. Dra. Leila Antonangelo, por me receber como aluna, pela confiança, respeito, compreensão e competência.

Ao coorientador Prof. Dr. Emmanuel Burdmann, pelos ensinamentos, conselhos e incentivo, pelo exemplo de competência e paciência, fundamentais no percorrer destes anos de doutorado.

À amiga e companheira de doutorado, Graziela Ramos de Souza, exemplo de dedicação e responsabilidade, por disponibilizar as amostras necessárias para realização desta tese e pela grande ajuda e paciência.

Ao Prof. Dr. Luis Yu e Prof. Dra. Dirce Zanetta, pelas valiosas ideias para o aprimoramento desta pesquisa e pelo apoio de sempre.

Às colegas e funcionárias dos laboratórios LIM-03, LIM-37 e LIM-12, em especial a Caroline Faria, Alcione Sanches e Cinthia Lanchotte pelo grande apoio e disponibilidade.

Aos amigos feitos durante o doutorado, especialmente à Dra. Verônica Torres e Dra. Flávia Azevedo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto temático em que esta tese esteve inserida e pela concessão de bolsa de nos dois últimos anos do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos nos primeiros dois anos do doutorado.

SUMÁRIO

Lista de siglas e abreviaturas
Lista de símbolos
Lista de tabelas
Lista de gráficos
Resumo
Abstract

1 INTRODUÇÃO 1
1.1 Lesão e regeneração tubular 4
1.2 Filtração glomerular e integridade dos capilares glomerulares 7
1.3 Ciclo celular 8
2 OBJETIVO 16
3 MÉTODOS 17
3.1 Casuística 17
3.2 Métodos 19
3.3 Estatística 22
4 RESULTADOS 23
4.1 Resultados das comparações entre BMs de pacientes IRA- e com IRA 24
4.2 Curvas ROC e área sob a curva (AUC) 32
4.3 BMs e desfechos 37
5 DISCUSSÃO 38
6 CONCLUSÃO 46
7 REFERÊNCIAS 47
APÊNDICE

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

IRA	injúria renal aguda
UTI	unidade de terapia intensiva
DRC	doença renal crônica
TGF	taxa de filtração glomerular
VU	volume urinário
ADQI	*acute dialysis quality initiative*
RIFLE	*risk- injury- failure- loss- end stage of renal disease*
AKIN	*acute kidney injury network*
KDIGO	*Kidney Disease Improving Global Outcomes*
GTS-π	pi-glutationa transferase-S
IL-18	interleucina -18
IFN-γ	interferon gamma
KIM-1	molécula de injúria renal 1
MCP-1	proteína quimiotática de monócitos 1
B2M	beta-2-microglobulina
CC	cistatina C
NGAL	lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos
TFF-3	fator trifólio três
TIMP-2	inibidor tecidual de metaloproteinase-2
IGFBP-7	proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina
ELISA	ensaio de imunoabsorção enzimática
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ROC	*receiver operating characteristics*
AUC	área sob a curva
VPP	valor preditivo positivo
VPN	valor preditivo negativo
FDA	*Federal Drug Admistration*

MSU	microscopia do sedimento urinário
NGALp	lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos plasmático
NGALu	lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos urinário
DNA	ácido desoxirribonucleico
h-FABP	proteína ligadora de ácidos graxos- cardíaca
l-FABP	proteína ligadora de ácidos graxos- hepática
GTS-α	alfa-glutationa transferase-S
GDP-15	fator de diferenciação 15
BM(s)	biomarcador(es)
CrS	creatinina sérica
CrU	creatinina urinária
Clus	clusterina
Cal	calbindina
µAlb	microalbumina
OPN	osteopontina
IRA-	pacientes que não desenvolveram IRA
KDIGO I	pacientes IRA estágio I pelos critérios KDIGO
KDIGO II	pacientes IRA estágio II pelos critérios KDIGO
KDIGO III	pacientes IRA estágio III pelos critérios KDIGO
KDIGO II/III	pacientes IRA estágio II ou IIII pelos critérios KDIGO
vs	versus
BM/CrU	biomarcador normatizado pela creatinina urinária
BM+	biomarcador positivo
BM-	biomarcador negativo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
kDa	quilodalton
ng	nanogramas
pg	picogramas
µg	microgramas
mL	mililitros
dL	decilitros
kg	quilogramas
h	hora
±	mais ou menos
>	maior
<	menor
≥	maior ou igual
≤	menor ou igual
=	igual

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios do KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) para IRA.....3

Tabela 2. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs normatizados pela CrU coletados no tempo pré-cirurgia de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO 25

Tabela 3. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs coletados após a admissão na UTI de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO 27

Tabela 4. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs coletados 12 horas após admissão na UTI de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO 29

Tabela 5. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs coletados 24 horas após admissão na UTI de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO 31

Tabela 6. Valores de AUC e intervalo de confiança de 95% de BMs e BM/CrU isolados ou em combinações nas coletas pré e pós-cirurgicas 32

Tabela 7. Acurária dos valores sugeridos como de limite para BMs (MCP-1 x KIM-1).....36

Tabela 8. Acurária dos valores sugeridos como de limite para BMs (KIM-1 x NGAL x TIMP-2)/1000.....36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curvas ROC de BMs e combinações nos quatro períodos de coleta avaliados 34

Gráfico 2. Evolução temporal dos BMs apresentada pelos do 3º quartil nos quatro momentos avaliados 58

RESUMO

Marçal LJ. *Potencial preditivo de biomarcadores urinários para o diagnóstico precoce de injúria renal aguda em grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares* [Tese]. São Paulo. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 2019

INTRODUÇÃO: A incidência de injúria renal aguda (IRA) tem aumentado significativamente nos últimos anos, fazendo com que seja considerada um problema de saúde pública mundial. IRA está associada com morbidade e mortalidade elevadas (precoce e tardia), aumento do tempo e dos custos de internação e desenvolvimento posterior de doença renal crônica. O diagnóstico precoce de IRA é extremamente importante para a instituição de medidas protetoras visando evitar a instalação ou minimizar a gravidade da IRA. Os pacientes submetidos a grandes cirurgias apresentam alta incidência de IRA, associada a eventos adversos em longo prazo. Há grande interesse em estudar a IRA pós-operatória desta população, pela possibilidade de estimativa do dano peri-operatório e potencial intervenção. Neste contexto, o uso de biomarcadores (BMs) para identificar pacientes de alto risco para IRA é relevante. A maioria dos estudos com BMs em pacientes cirúrgicos analisou cirurgias torácicas; existem poucos dados sobre o papel dos BMs urinários de lesão estrutural renal na predição da IRA em pacientes submetidos a grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares. Este estudo tem como objetivo analisar a acurácia de BMs urinários de lesão estrutural renal na predição de IRA após grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares. MÉTODOS: Um total de 298 pacientes submetidos a cirurgias abdominais eletivas não vasculares foram avaliados prospectivamente, no pré e peri-operatório, desde a admissão na UTI até sete dias ou alta da UTI. A creatinina sérica (CrS) foi avaliada antes da cirurgia e uma vez por dia até sete dias ou alta da UTI. A IRA foi diagnosticada e classificada usando o critério da CrS de acordo com as definições do *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO). Amostras de urina foram coletadas na internação hospitalar, na internação na UTI, 12 e 24h após a admissão na UTI. Os BMs urinários clusterina, calbindina, pi-glutationa transferase-S; interleucina 18 (IL-18), molécula de injúria renal 1 (KIM-1), proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1); microalbumina, beta-2-microglobulina, cistatina C, lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos (NGAL), osteopontina (OPN), fator trifólio três, inibidor tecidual de metaloproteinase -2 (TIMP-2), e proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina (IGFBP-7) foram avaliados pelo método Luminex x-MAP. Os dados foram testados para normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e são apresentados como mediana (primeiro e terceiro quartis), média ± desvio padrão ou frequência, como adequado. A acurácia das curvas ROC foi obtida de pacientes sem IRA e IRA KDIGO I como controles e pacientes IRA KDIGO II e III como resultado positivo para IRA moderada ou grave. Os BM foram avaliados isoladamente e em combinações a fim de se encontrar a melhor acurácia diagnóstica. Considerada significância estatística para $p < 0,05$. RESULTADOS: A idade média dos pacientes foi de 56 ± 15 anos, 59% do sexo

feminino; o tempo médio de internação foi de 17,7 ±16,2 dias, o tempo médio de internação na UTI foi de 3,1 ± 2,9 dias e mortalidade em 90 dias foi de 6,4%. Um total de 71 pacientes (24%) desenvolveu IRA. Os BMs MCP-1, IL-18, KIM-1, OPN, NGAL, TIMP-2 e IGFBP-7 foram significativamente mais elevados no grupo IRA em todos os períodos analisados. O produto da multiplicação dos BMs MCP-1 e KIM-1 na coleta pré-operatória demonstrou boa acurácia em predizer IRA moderada e grave (AUC de 0,79; intervalo de confiança 0,69-0,88). O melhor momento para predição de IRA foi após 12 horas da admissão da UTI, usando o produto da multiplicação dos BMs NGAL, KIM-1 e TIMP-2 (AUC de 0,86; intervalo de confiança 0,79-0,94). Estas duas combinações apresentaram melhor acurácia do que qualquer BM isoladamente ou em outras combinações para predizer IRA moderada ou grave e se associaram a tempo de internação mais longos e maior mortalidade 90 dias após cirurgia. CONCLUSÕES: A maioria dos pacientes que desenvolveu IRA moderada ou grave apresentou BMs elevados à internação (pré-operatório) e o produto dos BMs MCP-1 e KIM-1 demonstrou boa acurácia para prever IRA. O melhor desempenho para diagnosticar IRA moderada e grave foi o produto de KIM-1, NGAL e TIMP-2, 12h após admissão na UTI. As duas combinações de BMs descritas acima apresentaram acurácia maior do que qualquer BM isoladamente.

Descritores: Lesão renal aguda; Creatinina; Biomarcadores; Complicações pós-operatórias; Cirurgia

ABSTRACT

Marçal LJ. *Predictive potential of urinary biomarkers for early diagnosis of acute kidney injury in major elective abdominal non-vascular surgeries* [Thesis]. São Paulo. "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 2019

BACKGROUND: Acute kidney injury (AKI) incidence has increased significantly in the last years, and AKI has emerged as a worldwide health public problem. AKI has been associated with higher morbidity and early and late mortality, higher hospital length of stay and development of chronic kidney disease. AKI early diagnosis is extremely important to institute protective measures in order to prevent and/or minimize AKI development. Major surgeries patients have a high incidence of AKI associated with long-term adverse events. There is great interest on the study of postoperative AKI in this population, due to the possibility of estimating perioperative damage and establishing potential interventions. In this context, the use of biomarkers (BMs) to identify AKI high risk patients is extremely relevant. Most of the studies with BMs in surgical patients had assessed thoracic surgeries; there are few data on the role of urinary BMs of kidney structural injury in predicting AKI from patients submitted to major elective non-vascular abdominal surgeries. The present study aimed to assess the accuracy of urinary BMs for AKI prediction after major elective non-vascular abdominal surgeries. METHODS: A total of 298 patients submitted to major elective abdominal non-vascular surgeries were prospectively assessed. They were evaluated pre, peri-operatively and from the ICU admission up to seven days. Serum creatinine (sCr) was evaluated before surgery and once a day up to seven days or until ICU discharge. AKI was diagnosed and staged using sCr according to Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) definitions. Urine samples were collected at hospital admission (before surgery), at ICU admission, 12 and 24h after ICU admission. Urinary biomarkers clusterin, calbindin, pi-glutathione S-transferase; interleucin 18 (IL-18), kidney injury molecule 1 (KIM-1), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1); microalbumin, beta-2-microglobulin, cistatin C, neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), osteopontin (OPN), trefoil factor 3, tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2), and insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP-7) were assessed by Luminex x-MAP method. Data were tested for normality by Kolmogorov-Smirnov test, and are presented as median (first and third quartiles), mean ± standard deviation or frequency. The accuracy of ROC curves was assessed using non-AKI and AKI KDIGO I as control and AKI KDIGO II and III as positive result. We tested the biomarkers isolated and in different combinations to find the better accuracy. Statistical significance was $p<0.05$. RESULTS: Patients' median age was 56 ± 15 years, and 59% were female; hospital length of stay was 17.7 ± 16.2 days, ICU length of stay was 3.1 ± 2.9 days and 90 days mortality rate was 6.4%. A total of 71 patients (24%) developed AKI by KDIGO SCr criteria. The biomarkers MCP-1, IL-18, KIM-1, OPN, NGAL, TIMP-2 and IGFBP-7 were significantly higher for the AKI group on all time points analyzed. The product of MCP-1 and KIM-1 in the preoperative period

achieved a good accuracy (AUC = 0.79; confidence interval 95% 0.69 – 0.88). The better time for AKI prediction was 12 hours after of ICU admission using the product of KIM-1, NGAL and TIMP-2 (AUC = 0.86; confidence interval 95% 0.79 – 0.94). These two biomarkers combinations presented higher accuracy than any of the biomarkers alone or in other combinations, and were associated to longer length of stay and 90 days mortality. CONCLUSIONS: Most of patients who developed moderate or severe AKI presented high levels of BM at hospitalization (before surgery) and the product of MCP-1 and KIM-1 showed good prediction accuracy for AKI. The best prediction accuracy for moderate or severe AKI was the product of KIM-1, NGAL and TIMP-2, 12 hours after ICU admission. Any of the two BMs combinations presented higher accuracy than the BM tested alone.

Descriptors: Acute kidney injury; Creatinine; Biomarkers; Postoperative complication; Surgery.

1 INTRODUÇÃO

A injúria renal aguda (IRA), síndrome caracterizada por perda abrupta da função renal, apresenta incidência que vem aumentando progressivamente a nível mundial. Aproximadamente 20% de todos os pacientes hospitalizados e 45% dos pacientes admitidos nas unidades de terapia intensiva (UTI) desenvolvem IRA. A taxa de mortalidade desses pacientes é muitas vezes maior do que daqueles que não a desenvolvem; mesmo pequenas variações na creatinina sérica (CrS) estão associadas a aumento de mortalidade precoce e tardia, maior tempo de internação, maior custo hospitalar e subsequente desenvolvimento de doença renal crônica (DRC) (1-3).

Nos países em desenvolvimento, principalmente nas regiões interioranas e de baixa renda, observa-se crescente aumento na incidência de IRA que poderia ser prevenida através de ações preventivas com o indivíduo, com a comunidade e com os hospitais. Estas formas de IRA geralmente acometem indivíduos previamente saudáveis e os principais fatores que a desencadeiam são doenças infectocontagiosas, aborto séptico, acidentes por animais peçonhentos e uso de medicações naturais. Estes fatores estão intimamente ligados à higiene sanitária, grau de instrução e problemas com a falta de assistência médica e investimentos na área da saúde (4, 5).

Em países desenvolvidos e em centros urbanos modernos de países em desenvolvimento, a IRA acomete usualmente indivíduos idosos portadores de doenças crônicas pré-existentes e/ou pacientes hospitalizados, principalmente em UTIs. Nestes casos, a etiopatogenia mais comum é a isquemia renal por sepse e/ou o uso de drogas nefrotóxicas (4, 6).

O grande número de definições de IRA utilizado pelos investigadores dificultou as comparações entre estudos e o melhor entendimento da epidemiologia desta síndrome. Em 2004, o grupo *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI) publicou a classificação RIFLE *(Risk- Injury- Failure- Loss- End stage of renal disease*) visando uniformizar o diagnóstico de IRA. O critério RIFLE definiu IRA como o aumento de 50% da CrS em relação à CrS basal, ou queda da taxa de filtração glomerular (TGF) > 25% em relação à basal, ocorrendo no intervalo de sete dias ou, queda da diurese para menos de 0,5 mL/Kg/h no intervalo de pelo menos seis horas. Baseado em variações da CrS, da TFG e do fluxo urinário definiu-se classes crescentes de gravidade da IRA: *Risk* – risco, *Injury* – lesão, e *Failure* – falência (7).

A classificação RIFLE foi revisada por um novo grupo denominado *Acute Kidney Injury Network* (AKIN) em 2007. Nesta classificação (AKIN), IRA foi definida como aumento da CrS ≥ 0,3 mg/dL ou ≥ 50% no período de 48 horas ou, queda da diurese para menos de 0,5 mL/Kg/h por 6 horas. Manteve-se o conceito de níveis crescentes de gravidade, denominados estágios 1, 2 e 3, que substituíram os termos risco, lesão e falência, respectivamente (8).

No entanto, as classificações RIFLE e AKIN ainda apresentavam problemas e limitações. Em 2012, uma nova diretriz sobre IRA da associação *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) foi proposta. Esta nova diretriz unificou os critérios RIFLE e AKIN e propôs um novo estadiamento (Tabela 1) e definiu IRA como:

- Aumento ≥ 0,3 mg/dL na creatinina em 48 horas ou
- Aumento ≥ 1,5 vezes na creatinina em sete dias ou
- Volume urinário < 0,5 mL/kg/h por seis horas (9).

Tabela 1. Critérios do KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) para IRA (9)

Estágio	Creatinina sérica (CrS)	Volume urinário (VU)
1	1,5 –1,9 vezes a basal ou ≥ 0.3 mg/dL	< 0,5 mL/kg/h por 6-12 horas
2	2 - 2,9 vezes basal	< 0.5 mL/kg/h por ≥12 horas
3	≥ 3 vezes a basal ou elevação para ≥4.0 mg/dL ou início de terapia renal substitutiva	< 0.3mL/kg/h por ≥ 24 horas ou anúria por ≥ 12 horas

O diagnóstico precoce de IRA é essencial para a instalação de medidas protetoras visando abortar os mecanismos de lesão ou, pelo menos, minimizá-los. Todas as definições citadas usaram a CrS como único marcador laboratorial para diagnóstico (9). No entanto, a creatinina não é um biomarcador (BM) ideal, pois sua alteração ocorre temporalmente dissociada da alteração da TGF, existindo intervalo de horas ou dias entre a queda da filtração e a elevação da creatinina. Ademais a creatinina é influenciada por diversos fatores não renais, como idade, massa e metabolismo muscular, uso de medicações, estado de hidratação, estado nutricional, secreção tubular de creatinina e gênero dos pacientes. Também deve-se considerar que a reserva funcional renal faz com que perdas de função de até 50% possam ocorrer sem correspondente aumento da CrS (10).

As limitações da cinética de elevação da CrS como marcador diagnóstico de IRA têm levado à pesquisa e desenvolvimento de novos BMs, mais sensíveis, específicos e precoces, portanto, fundamentais para intervenções terapêuticas precoces e minimização da intensidade da injúria (11, 12).

A análise de proteômica permitiu a identificação de diferentes proteínas com potencial de BM para diagnóstico de IRA. Estes BMs estão associados à fase inicial ou funcional das lesões renais isquêmicas ou nefrotóxicas e podem ser úteis para prever o curso da doença e possivelmente seu prognóstico a curto e longo prazo. Ademais, há a

possibilidade de sua aplicação no momento de decidir o início da terapia de substituição renal em pacientes com IRA (11, 12).

Os BMs mais promissores e/ou estudados serão citados e categorizados por função:

1.1 Lesão e regeneração tubular

Lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos (NGAL)

O NGAL, também conhecido como Lipocalina 2, é uma pequena proteína com peso molecular de 25 KDa que possui função bacteriostática encontrada nos neutrófilos e também em alguns epitélios, como nos túbulos renais que o produz em quantidades baixas (13, 14). O NGAL produzido em tecidos diferentes dos rins é filtrado pelos glomérulos e reabsorvido pelos túbulos proximais. Sua expressão aumenta no sangue ou urina, na injúria renal por isquemia ou nefrotoxicidade (15, 16).

O papel fisiológico do NGAL é pouco conhecido, mas dados experimentais sugerem sua participação na regeneração tubular. Na urina, é secretado pela porção espessa da alça de Henle e pelos ductos coletores (17). Em pacientes de risco, vários estudos foram desenvolvidos com a finalidade de avaliar a capacidade do NGAL em prever o desenvolvimento de IRA (18-22). Observou-se associação positiva entre o nível de NGAL urinário e a ocorrência de IRA diagnosticada pela CrS. Entretanto, ele também é produzido por outras células epiteliais, neutrófilos e macrófagos e se eleva em outras condições clínicas como DRC, diabetes e infecção (21, 23).

Molécula de injúria renal 1 (KIM-1)

O KIM-1 é uma glicoproteína transmembrana do tipo 1 com peso molecular de 38,7 kDa, localizada na membrana apical de túbulos renais, sendo detectada na urina ou no tecido a partir de lesão tubular aguda ou crônica (24). Acredita-se que o KIM-1 desempenhe papel de proteção e que sua liberação aconteça nos processos de regeneração após lesão epitelial, pois sua expressão está muito elevada em células epiteliais do túbulo proximal em rins de humanos e de roedores após lesão isquêmica ou tóxica (25-29).

Interleucina 18 (IL-18)

A IL-18, com peso molecular de 24 kDa, é uma citocina pró-inflamatória da família das citocinas IL-1, que controla a imunidade inata e adaptativa e induz a produção de interferon gamma (IFN-γ) pelos linfócitos T e linfócitos "natural killers" (30). É expressa em numerosos tecidos e células, incluindo monócitos, células de Kupffer, queratinócitos, osteoblastos, células do córtex supra-renal, células epiteliais intestinais, células microgliais, fibroblastos sinoviais, células epiteliais tubulares proximais e células intercaladas dos ductos coletores (31). Níveis aumentados de IL-18 geralmente ocorrem durante processos inflamatórios endógenos, como sepse (32).

Após IRA, a IL-18 é induzida e clivada nos túbulos proximais e distais e é considerada BM precoce para distinguir necrose tubular aguda de outros tipos de doença renal aguda (22, 31). Também distingue IRA de DRC, identifica lesão renal por quimioterápicos nefrotóxicos e injúria da isquemia e reperfusão renal. A IL-18 pode ser preditora de mortalidade e piores prognósticos em pacientes (30, 33-37).

Calbindina (Cal)

A Calbindina é uma proteína vitamina D dependente, ligante de cálcio, que apresenta peso molecular de 28 kDA e que pertence a superfamília da troponina C. É encontrada predominantemente em subpopulações de neurônios do sistema nervoso central e periférico, células epiteliais envolvidas no transporte de cálcio, como as células tubulares distais e túbulos corticais coletores dos rins e células entéricas neuroendócrinas (38). A concentração urinária de calbindina aumenta rapidamente após a lesão renal em modelos animais sépticos e nefrotóxicos e retorna aos níveis basais 24 horas após o insulto. Existem poucos estudos avaliando clinicamente a calbindina, mas seus níveis aumentaram oito vezes, três dias após a infusão de cisplatina em pacientes com tumores sólidos. Seu aumento sugere lesão do túbulo renal distal (38-41).

Pi-glutationa transferase-S (GTS-π)

A superfamília de glutationa transferase-S compreende isoenzimas citosólicas diméricas com peso molecular de 45-55 kDA. A GTS-π está localizada nos túbulos distais e é importante na conjugação de substâncias eletrofílicas, como drogas citotóxicas. Sua concentração na urina aumenta em danos tubulares (isquemia, toxicidade por cisplatina e gentamicina), rejeição de transplante renal, infecção renal, diabetes e DRC (38, 42-44).

Proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1)

O MCP-1, também denominada CCL2, é uma pequena quimiocina com peso molecular de 11 kDa que pertence à classe de quimiocinas CC, que atua no recrutamento de monócitos, células T de memória e células dendríticas para os sítios de inflamação produzidos por injúria tecidual ou por infecção. Sua elevação na urina é

associada com lúpus ou com inflamação renal. Costuma-se observar associação entre albuminúria, MCP-1 e infiltração intersticial por macrófagos na progressão da injúria renal (45-48).

1.2 Filtração glomerular e integridade dos capilares glomerulares

Microalbumina (µAlb)

A albumina, proteína de peso molecular de 67.000 kDA, é a proteína presente em maior concentração no soro. Na urina, está aumentada quando ocorrem danos renais e pode ser relacionada à etiologia da doença renal. Aproximadamente 99% da albumina é reabsorvida no túbulo proximal. Doenças que alteram a permeabilidade da parede glomerular ou o metabolismo das células tubulares renais podem aumentar a sua excreção urinária. O termo microalbuminúria é utilizado para designar a excreção urinária de albumina anormal, porém sub-clínica, ou seja, aquela que não é detectável pelos métodos bioquímicos usuais, mas apenas por técnicas, como radioimunoensaio, nefelometria ou imunoturbidimetria (49-51).

Cistatina C (CC)

A CC é considerada como promissora alternativa à dosagem de CrS para avaliação da TGF. Ela é uma proteína não glicosilada com peso molecular de 13 kDa secretada por todas as células nucleadas. A CC tem sido bastante estudada como um novo marcador para a avaliação da TGF, uma vez que é filtrada livremente pelo glomérulo e, reabsorvida e metabolizada nos túbulos proximais, de maneira que sua concentração sanguínea depende quase que exclusivamente da TGF. A CC urinária tem

sido descrita como BM precoce de dano tubular renal e de alterações glomerulares desencadeadas por drogas nefrotóxicas (52-55).

Beta dois microglobulina (B_2M)

A B_2M é uma proteína com peso molecular de 12 kDa, sintetizada por todas as células do corpo humano. Semelhante à CC, é filtrada nos glomérulos e completamente reabsorvida e catabolizada nos túbulos; apenas 0,3% da B_2M filtrada é normalmente encontrada na urina. Sua concentração se eleva consideravelmente quando há dano às células tubulares e/ou alterações glomerulares (52, 53, 56).

1.3 Ciclo celular

Proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina (IGFBP-7)

IGFBP-7 é uma glicoproteína de 29 kDa com função de ligar-se a fatores de crescimento insulínicos. Neste caso, é expressa nos túbulos e glomérulos. Após injúria, a proteína p53 estimula a expressão de IGFBP-7, que age no controle da expressão de fatores de crescimento de insulina e de adesão e reparo celular. A IGFBP-7 desempenha um papel fundamental na parada do ciclo celular em G1 (57). As células tubulares renais podem entrar em um curto período de parada do ciclo celular G1 após lesão de sepse experimental ou isquemia e este processo impede que as células se dividam quando o DNA é danificado e pode representar uma resposta precoce à lesão renal. Ela é induzida após isquemia em microvasculaturas e está ligada a senescência celular (58-62).

Inibidor tecidual de metaloproteinase -2 (TIMP-2)

TIMP-2 é uma proteína de 21 kDa e como sugerido pelo nome, tem como atividade primária inibir a ação das metaloproteinases. Outras funções independentes como: controle do crescimento celular, migração, diferenciação e apoptose são descritas. A TIMP-2 ao ligar-se a receptores de superfície celular ativa-se e inicia mecanismos de sinalização celular. Estudos sugerem que preventivamente após injuria, as células param de se dividir havendo parada do ciclo celular em G1. Acredita-se que isso impede que as células se dividam caso o DNA esteja danificado (57). A interrupção do processo de divisão celular ocorre até que o dano seja reparado e não resulte na morte ou senescência celular (59, 61, 63-66).

Clusterina (Clus)

A Clusterina é uma proteína glicosilada com o peso molecular de 76 a 80 kDa, que pode sofrer extensivas modificações pós-translacionais como glicosilação, quebras e dimerização. No contexto de injúria renal, sugere-se que ela apresente papel anti-apoptótico e, portanto, esteja envolvida na proteção celular, reciclagem lipídica e agregação celular. A Clus é sintetizada em vários tecidos e é encontrada fisiologicamente em vários fluidos como plasma, sêmen e líquor. Observou-se aumento da expressão da Clus nos glomérulos, túbulos e papilas em estudos experimentais com modelos animais de nefrotoxicidade, após cirurgias, após isquemia renal e associado a doenças renais. É produzida em diversos tecidos, porém o seu tamanho não permite que seja eliminada por filtração glomerular, ou seja, o seu aumento urinário é totalmente relacionado à injúria renal tubular (53, 67-69).

Osteopontina (OPN)

A OPN é uma citocina pró-inflamatória com peso molecular de 32 kDa, que é secretada por vários tecidos após injúria. A OPN está envolvida em vários processos fisiológicos e patológicos como adesão, proliferação, migração ou infiltração celular, inflamação, inibição da apoptose, cicatrização e reconstituição da matriz extracelular. A OPN também estimula a proliferação de células T e induz as células T e macrófagos a expressar outras citocinas Th1 durante a inflamação. Nos processos inflamatórios renais, é uma citocina regulada por células que mediam a imunidade celular (70-72).

Fator trifólio três (TFF-3)

O TFF3 é um pequeno hormônio peptídico com peso molecular de 13,1 kDa secretado por células produtoras da mucosa, células epiteliais e múltiplos tecidos e está ligado ao processo de reparação de lesões. Membros da família TFF desempenham um papel fundamental na proteção e reparação de células epiteliais e mucosas, principalmente dentro do sistema gastrointestinal (73). Em humanos, os TFFs são produzidos em todo o trato urinário e TFF-3 predomina nas células dos túbulos proximal e distal e ductos coletores. Na lesão renal, tem função essencial na manutenção e restituição de células da mucosa ao inibir a apoptose e promover a migração e sobrevida de células epiteliais (74). O TFF-3 também induz a diferenciação epitelial. Estudos indicam que sua excreção urinária pode estar reduzida em IRA e altas concentrações podem indicar reparo renal contínuo e aumento do risco para DRC (73, 75, 76).

Poucos estudos clínicos compararam os diversos BMs disponíveis, isoladamente ou em associações, para a predição de IRA diagnosticada pelo aumento da creatinina ou pelos critérios KDIGO. Os estudos existentes comparam número limitado de BMs, não analisam ou comparam diferentes situações de risco ou não incluem grande número de

pacientes (77-80). Adicionalmente, os estudos demonstram lacunas no reconhecimento precoce e no acompanhamento de pacientes com IRA, fato que corrobora a necessidade premente de estratégias práticas para detecção e abordagem efetiva, visando promover melhores desfechos clínicos aos portadores dessa doença (59, 81).

As situações de risco para desenvolvimento de IRA são variadas. Entre as clinicamente relevantes, destacamos internações em emergências clínicas, traumas moderados ou graves, cirurgias de grande porte e uso de drogas nefrotóxicas, como cisplatina. Em algumas destas situações, como trauma e emergências clínicas, a chegada do paciente ao hospital ocorre em tempo indeterminado. Nestas condições, a utilidade do BM para identificação de IRA seria à admissão do paciente (82-85). Em situações como cirurgias eletivas e administração de drogas nefrotóxicas, o desenvolvimento de IRA é monitorado, e a análise dos BMs pode ser realizada em diferentes intervalos de tempo, permitindo a identificação do melhor momento de dosagem com finalidade diagnóstica (84, 85).

Nos últimos anos, oncologistas têm usado painéis de marcadores genéticos para melhor entender o comportamento biológico de determinado câncer e assim, conceber um plano de tratamento alvo-específico, resultando em melhora significativa na sobrevida destes pacientes. De maneira análoga, os marcadores de avaliação funcional e de injúria renal já existentes e os que estão em estudo, poderiam ser utilizados com o mesmo racional, ou seja, o marcador ou o conjunto de marcadores refletiria um ou mais mecanismos envolvidos na injúria e/ou na recuperação renal. A combinação de informações poderia gerar uma categorização do processo de injúria, permitindo a abordagem específica e individualizada no ciclo da doença (81). Muitos BMs têm sido estudados com esta finalidade; entretanto, até o presente, raros foram incorporados à prática clínica, quer seja pela falta de ensaios padronizados, quer seja pela dificuldade em se identificar os melhores

BMs para cada condição específica. Os BMs ideais deveriam ser sensíveis e específicos para serem usados em três situações distintas: diagnóstico, avaliação prognóstica e recuperação, contribuindo para o entendimento fisiopatológico da doença e para o direcionamento da melhor abordagem terapêutica (86). De acordo com pesquisadores da área, o BM ideal deveria possuir as seguintes características:

- Especificidade pela síndrome, ou seja, detectar IRA e não ser detectado na DRC;
- Especificidade no mecanismo da doença, podendo ser utilizado em diagnóstico diferencial (distinção entre IRA por injúria tubular, glomerular e doença intersticial);
- Ser adequadamente sensível à injúria para situações clinicamente relevantes, ou seja, não ser tão sensível ao ponto de identificar injúria renal sem repercussão clinica significante;
- Auxiliar na estimativa da extensão do dano;
- Detectar precocemente a progressão da IRA, e com isso, poder ser usado para identificação de pacientes que podem se beneficiar de intervenções preventivas ou precoces;
- Apresentar valores decrescentes com a regressão da injúria;
- Ser capaz de predizer prognóstico relacionado à IRA a curto e longo prazo para utilização de terapia renal de reposição e análise de qualidade de vida;
- Apresentar tempo de resposta curto, especialmente na detecção precoce de IRA: testes rápidos com pequenos coeficientes de variação seriam ideais;
- Ser de fácil medição e validação laboratorial e de preço acessível;

- Estratificar risco, ou seja, identificar pacientes que necessitam de monitoramento mais rigoroso e em quais pacientes deve-se considerar opções de tratamentos mais onerosos, porém mais seguros (81, 87).

Dificilmente apenas um BM conseguirá preencher todos estes requisitos, porém, o BM pode ser utilizado para um propósito específico (81, 86).

Os BMs mais promissores e/ou estudados até o momento incluem NGAL, KIM-1, TIMP-2, IGFBP-7 e CC. Todavia, existem estudos ainda não consensuais com outros biomarcadores como IL-18, µAlb, B_2M, Clus, Cal, GTS-π, MCP-1, OPN e TFF-3 como possíveis preditores de IRA (12, 44, 48, 88).

O TIMP-2 e o IGFBP-7 têm sido descritos como promissores por serem ligados à parada do ciclo celular em G1 durante o início da fase de injúria celular (58-60, 62, 89, 90). Foi demonstrado recentemente que células tubulares renais entram em um pequeno período de controle do ciclo celular em G1, acompanhada de injúria após sepse ou isquemia experimental. Estes BMs indicam que após a lesão, o epitélio renal sofre estresse e para de exercer algumas funções, porém, com capacidade de recuperação sem injúria permanente ao órgão (64, 67, 91-93).

Vários estudos já foram realizados validando estes dois BMs, o maior deles até o momento, o multicêntrico *Sapphire*, que validou os BMs TIMP-2 e IGFBP-7 em pacientes críticos, após a admissão em UTI. Notou-se aumento considerável nos seus níveis, mais estáveis após 12 horas de internação, especialmente em pacientes com IRA moderada e grave. Observou-se também que o desempenho diagnóstico era melhor quando havia relação entre os dois. A partir desta constatação, foi desenvolvido um ensaio de teste rápido composto por ambos os BMs, com leitura em aparelho específico e que foi denominado NephroCheck® (58, 59).

As metodologias para dosagens de biomarcadores são diversas. O método de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) é a de mais fácil acesso, porém técnicas como turbidimetria, nefelometria e Luminex xMAP podem ser utilizadas. Atualmente não há recomendação formal e padronização metodológica para as dosagens, embora se reconheça a dificuldade na padronização de curvas de calibração na técnica de ELISA, o que pode acarretar aumento no coeficiente de variação intra e inter-ensaios e por consequência, gerar dúvidas se resultados diferentes do mesmo paciente fazem parte da variação do método ou, de alteração patológica, com necessidade de intervenção (94).

As técnicas de turbidimetria e nefelometria, também automatizadas, requerem equipamentos e padronizações específicas. Até o momento, apenas kits comerciais para os BMs NGAL, CC, TIMP-2 e IGFBP-7 estão disponibilizados comercialmente no mercado. A tecnologia Luminex xMAP, que é um combinado de ELISA sanduíche (anticorpo de captura – BM de interesse – anticorpo de detecção) com citômetro de fluxo, possui diversas vantagens sobre as demais técnicas: permite a dosagem simultânea de diversos BMs (economia de tempo e custo); utiliza pequena quantidade de amostra; minimiza a ocorrência de erros de pipetagem e geralmente apresenta limites de detecção inferiores, resultando em maior sensibilidade analítica. Há poucos estudos clínicos para diagnóstico de IRA utilizando a metodologia xMAP Luminex para serem comparados com os resultados de estudos já realizados e que utilizaram a metodologia ELISA convencional (94, 95).

IRA após grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares e BMs

Grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares apresentam incidência elevada de IRA, variando de 7 a 27% (96-99), em função de tempo cirúrgico extenso, grande perda de fluidos, alterações hemodinâmicas e inflamação sistêmica (100).

O desenvolvimento de IRA nestes pacientes está associado a desfechos desfavoráveis e maior mortalidade. A IRA pós-operatória tem também sido associada a eventos adversos de longo prazo, como desenvolvimento de DRC e mortalidade tardia, mesmo quando há aparente recuperação de função renal na alta hospitalar (101, 102). O uso e validação de BMs nestes pacientes seria extremamente importante para detectar pacientes de alto risco para desenvolver IRA e implementar medidas de prevenção para evitar ou atenuar o seu desenvolvimento. No entanto, poucos estudos avaliaram a eficácia e acurácia destes BMs no contexto destas cirurgias (96, 103, 104).

2 OBJETIVO

Avaliar o potencial preditivo de BMs urinários de lesão estrutural renal para o diagnóstico de injúria renal aguda pela definição KDIGO em grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares.

3 MÉTODOS

Esta tese de doutorado é um dos subprojetos ligados ao projeto temático "Indivíduos com alto risco para desenvolvimento de injúria renal aguda em contextos clínicos relevantes: estudo prospectivo sobre aspectos epidemiológicos, diagnósticos e prognósticos" aprovado pelo Comitê de Ética Institucional sob o número 387/14 e com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sob número 2014/19286-4 e bolsa de doutorado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) projeto PROEX01478856 e posterior apoio FAPESP bolsa número 2017/06332-6.

As amostras utilizadas nesta pesquisa são provenientes de pacientes alocados no subprojeto relacionados ao projeto temático do qual esta tese de doutorado faz parte: “Eficácia de biomarcadores de injúria tubular renal, associados ou não ao diagnóstico de injúria renal aguda, na avaliação da morbidade e mortalidade de pacientes submetidos a grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares”. Os pacientes incluídos concordaram em participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) específico do subprojeto.

3.1 Casuística

Os pacientes são provenientes de duas unidades de terapia intensiva (UTI) cirúrgicas de adultos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade

de São Paulo (FMUSP) que contabilizam um total de 30 leitos. Foram incluídos 298 pacientes até março de 2019.

i. Critérios de inclusão e seleção dos pacientes

Foram incluídos pacientes com idade ≥ 18 anos, submetidos a grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares.

ii. Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes com diagnóstico prévio de DRC nos estágios IV e V, transplantados renais, pacientes que estivessem em uso ou que tivessem usado medicamentos nefrotóxicos antes ou durante a internação na UTI (aminoglicosídeos; vancomicina; polimixina B; anfotericina; anti-inflamatórios não hormonais; contraste iodado; gadolíneo; antiretrovirais - lamivudina, tenofovir, indinavir e ritonavir; ciclosporina e tacrolimus), pacientes que permaneceram menos de 48 horas na UTI ou que apresentaram diagnóstico de sepse durante a internação.

iii. Dosagens

As dosagens dos BMs e CrU foram realizadas em quatro tempos: na internação hospitalar, e no pós-operatório, na admissão da UTI e 12 e 24 horas após a admissão na UTI. As CrS foram coletadas antes da cirurgia e diariamente até uma semana após a cirurgia ou até alta da UTI.

iv. Definição de IRA

Foi definida usando os critérios de CrS pelo KDIGO (Tabela 1), incluindo as divisões em três estágios.

v. Definição de grandes cirurgias abdominais eletivas

Definiu-se grande cirurgia abdominal eletiva, a cirurgia abdominal não vascular, de caráter não emergencial com incisão abdominal e tempo anestésico e cirúrgico total $\geq$ 180 minutos.

3.2 Métodos

Para a dosagem dos BMs urinários, a urina foi coletada em frasco coletor universal. Após a coleta, uma alíquota foi transferida para um tubo falcon de 15mL e centrifugada a 500g por 5 minutos; do material sobrenadante foram feitas alíquotas em microtubos de 1,5mL que foram armazenadas em freezer à -70ºC até as dosagens.

Para as dosagens de CrS e CrU foram coletadas, respectivamente, amostra de sangue venoso em tubo sem adição de anticoagulante, com gel separador e amostra de urina em coletor universal. As amostras foram imediatamente encaminhadas ao laboratório para realização de centrifugação, dosagens, aliquotagem e armazenamento em freezer à -70ºC.

3.2.1 Dosagem dos BMs urinários

A dosagem dos BMs urinários foi realizada através da tecnologia LUMINEX-xMAP com leitura em aparelho MagPix (MerckMillipore, Austin, Texas, USA), utilizando três kits:

- *Bio-Plex Pro RBM human kidney toxicity PANEL 1* (Bio-Rad Laboratories, Berkeley, Califórnia, USA): Cal, Clus, GST-π, IL-18, KIM-1, MCP-1;

- *Bio-Plex Pro RBM human kidney toxicity PANEL 2* (Bio-Rad Laboratories, Berkeley, Califórnia, USA): µAlb, B_2M, CC, NGAL, OPN e TFF3;
- *MILLIPLEX® MAP Custom Human 2-plex Magnetic Bead Panel* (EMD MerckMillipore, Saint Louis, Missouri, USA): TIMP-2 e IGFBP-7.

A técnica LUMINEX-xMAP possui princípio similar ao ELISA sanduíche: micro-esferas coloridas fluorescentes (também chamadas de "beads") ligam-se de forma covalente aos anticorpos de captura. Os anticorpos de captura são colocados diretamente contra o BM desejado. Após uma série de lavagens para remover as proteínas não ligadas, anticorpos de detecção são adicionados para criar o complexo sanduíche. A detecção final do complexo é formada com a adição do conjugado de estreptavidina-ficoeritrina. As micro-esferas possuem cores e comprimentos de onda distintos, permitindo a quantificação simultânea dos diversos BMs; a estreptavidina-ficoeritrina serve como indicador fluorescente para determinação da concentração. Quando expostas a dois feixes consecutivos de laser, com comprimentos de onda específicos, as "beads" são identificadas e os biomarcadores conjugados, quantificados.

Amostras de urina de 06 pacientes foram repetidas em quintuplicata para avaliação da reprodutibilidade dos ensaios. O coeficiente de variação intra e inter-ensaio obtido foi de 15% e 20%, respectivamente.

3.2.2 Dosagem da CrS e CrU

As dosagens de CrS e CrU foram realizadas com o kit CREJ2 (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha) pela metodologia de Jaffé no aparelho Cobas 8000 modular ou Cobas C111 (Roche Instrument Center, Rotkreuz, Suiça).

3.2.3 NephroCheck®

O kit NephroCheck® foi desenvolvido através de um estudo multicêntrico denominado Sapphire (59). Este kit é um teste rápido no qual se dosa a concentração do BM TIMP-2, multiplica-se pelo valor do BM IGFBP-7 e divide-se o resultado por 1000. As concentrações acima de 0,3 $(ng/mL)^2/1000$ são consideradas positivas para o teste.

Além das dosagens das concentrações dos BMs, analisamos, também, o desempenho dos marcadores que compõem o kit NephroCheck® e sua relação.

3.2.4 Normatização dos BMs urinários pela CrU

Em situações estáveis, como no caso na coleta prévia à cirurgia, considera-se que a excreção da CrU é constante ao longo do tempo e a excreção dos BMs tem relação linear com a excreção de CrU; nesta condição, a normatização do BM pela CrU deve ser feita. Por outro lado, após situações em que ocorre agressão renal aguda, como no caso das coletas após a cirurgia, a excreção de creatinina urinária não é estável e, portanto, a normatização não deve ser realizada (105, 106). Assim, os valores dos BMs na coleta prévia à cirurgia foram normatizados pela CrU e nos períodos subsequentes à cirurgia não houve a normatização.

3.3 Estatística

A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Média e desvio-padrão foram usados para descrição das variáveis quantitativas com distribuição normal. As variáveis quantitativas que não apresentaram distribuição normal são descritas como medianas e quartis. As variáveis qualitativas são apresentadas como número absoluto e porcentagens.

Foram comparados os resultados dos grupos não IRA (IRA-) vs. IRA KDIGO I (KDIGO I), IRA- vs. IRA KDIGO II e III (KDIGO II/III) e KDIGO I vs. KDIGO II/ III.

Foram também comparados os grupos IRA- vs. IRA em cada tempo de coleta (pré cirurgia, tempo 0, 12 e 24) e a variação temporal de cada BM de acordo com a classificação de IRA- ou IRA.

Para as variáveis qualitativas, os grupos foram comparados pelo teste do Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, como apropriado. Variáveis quantitativas de distribuição normal foram comparadas usando o teste t de Student pareado ou não pareado, ou análise de variância (ANOVA), como apropriado. As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis. A variação temporal do BM foi analisada pelo teste Friedman (ANOVA para amostras pareadas). O nível de significância foi de $p < 0,05$.

A avaliação preditora do BM foi realizada através de *Receiver Operator Characteristic Curves* (curvas ROC), estimando os valores de corte que apresentem melhor sensibilidade, especificidade e acurácia diagnósticas. Os marcadores foram avaliados individualmente e em combinação, a fim de verificar potenciais aumentos de acurácia quando conjugados. O padrão ouro a ser utilizado na comparação será a definição de IRA proposta pelo critério KDIGO.

4 RESULTADOS

Entre setembro de 2015 e fevereiro de 2019, 298 pacientes submetidos a cirurgias abdominais eletivas não vasculares foram avaliados prospectivamente, no peri-operatório e na admissão na UTI até o sétimo dia de internação ou alta. A idade média dos pacientes foi de 56 ±15 anos, 59,1% dos pacientes eram mulheres, o tempo médio de internação foi de 17,7 ±16,2 dias, tempo de internação na UTI foi de 3,1 ± 2,9 dias e a mortalidade após 90 dias foi de 6,4%. As cirurgias mais frequentemente realizadas foram: 30,9% cirurgia gástrica (15,4% de gastroplastia, 14,1% de gastrectomia e 1,3% de gastrostomia); 26,5% hepatectomia; 13,1% colecistectomia; 6,4% colectomia; 6,0% hernioplastia; 5,7% gastroduodenopancreatectomia; 4,0% esofagectomia; 1,7% esplenectomia; 17,4% outras cirurgias. Devemos ressaltar que em diversos casos mais de um tipo cirúrgico foi realizado no paciente.

Um total de 71 pacientes (23,8%) desenvolveu IRA pelos critérios KDIGO de CrS. Entre estes pacientes, 46 (64,8%) desenvolveram IRA KDIGO I, 15 (21,1%) desenvolveram IRA KDIGO II e 10 (14,1%) desenvolveram IRA KDIGO III.

Em função do número relativamente pequeno de pacientes nos grupos KDIGO II e III, optamos por estudá-los em conjunto. Portanto, inicialmente comparamos três grupos distintos: sem IRA (IRA-), IRA KDIGO I e IRA KDIGO II/III.

4.1 Resultados das comparações entre BMs de pacientes IRA- e com IRA

4.1.1 Coleta pré-cirurgia (basal)

Ao analisarmos os valores das medianas dos BMs normatizados pela CrU encontramos os seguintes resultados (Tabela 2):

- Clus e TIMP-2 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III comparado com os grupos IRA- e KDIGO I.
- MCP-1, GTS-π, KIM-1, OPN, µAlb, NGAL, TFF-3 e IGFBP-7 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III quando comparado com grupo IRA-;
- IL-18, Cal, B_2M e CC: resultados obtidos não evidenciaram diferenciação entre os grupos analisados.

Tabela 2. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs normatizados pela CrU coletados no tempo pré-cirurgia de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO

	IRA- (n=227)	KDIGO I (n=46)	KDIGO II/III (n=25)
Clus (ng/mg)	3,95 (1,51 - 11,85) **	3,93 (1,32 - 19,97) #	15,52 (6,61 - 41,41)
MCP-1 (ng/mg)	0,1 (0,05 - 0,24) ***	0,16 (0,09 - 0,43)	0,40 (0,19 - 0,77)
IL-18 (pg/mg)	18,50 (8,71 - 45,17)	14,88 (8,60 - 42,27)	30,65 (11,11 - 90,43)
GTS-π (ng/mg)	1,21 (0,29 - 4,32) **	2,12 (0,42 - 4,77)	5,85 (1,61 - 14,62)
KIM-1 (ng/mg)	0,19 (0,08 - 0,46) ***	0,31 (0,11 - 0,62)	0,91 (0,27 - 1,58)
Cal (ng/mg)	15,24 (2,54 - 50,38)	14,94 (2,10 - 52,80)	29,55 (2,22 - 94,87)
OPN (µg/mg)	0,87 (0,46 - 1,71) *	1,00 (0,61 - 1,91)	1,94 (0,79 - 3,85)
B_2M (µg/mg)	0,05 (0,02 - 0,11)	0,05 (0,01 - 0,18)	0,15 (0,01 - 0,64)
µAlb (µg/mg)	5,67 (1,82 - 13,99) **	8,28 (3,74 - 24,07)	16,02 (7,32 - 65,8)
NGAL (ng/mg)	25,23 (12,52 - 61,04) *	30,91 (12,88 - 92,39)	58,15 (25,00 - 122,50)
CC (ng/mg)	10,68 (4,39 - 24,56)	13,09 (5,23 - 30,93)	18,43 (7,38 - 52,38)
TFF-3 (µg/mg)	0,41 (0,23 - 1,00) **	0,64 (0,29 - 1,83)	0,90 (0,38 - 2,86)
TIMP-2 (ng/mg)	7,43 (2,76 - 14,31) *	7,64 (3,14 - 10,33) #	13,38 (7,51 - 21,85)
IGFBP-7 (ng/mg)	66,28 (20,53 - 187,60) *	72,1 (33,80 - 143,90)	144,60 (95,26 - 288,30)

IRA-: pacientes que não desenvolveram injúria renal aguda (IRA); KDIGO I: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar de grau leve (estágio I); KDIGO II/III: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar grau moderado (estágio II) ou grave (estágio III); Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π: pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal 1; Cal: calbindina; OPN: osteopontina; B_2M: beta dois microglobulina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; CC: cistatina C; TFF-3: fator trifólio três; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina; KDIGO II/III comparado com IRA-: $^{*}p<0,05$; $^{**}p<0,01$; $^{***}p<0,001$; KDIGO II/III comparado com KDIGO I: $^{\#}p<0,05$.

4.1.2 Coleta na admissão na UTI

Ao analisarmos os valores das medianas dos BMs encontramos os seguintes resultados (Tabela 3):

- KIM-1, OPN, µAlb, NGAL, TIMP-2 e IGFBP-7 apresentaram valores significativamente maiores nos grupos KDIGO I e KDIGO II/III comparado com grupo IRA-;
- Clus e MCP-1 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III comparado com grupo IRA-;
- TFF-3 apresentou valores significativamente maiores no grupo KDIGO I comparado com grupo IRA-;
- IL-18, GTS-π, Cal, B_2M e CC: resultados obtidos não evidenciaram diferenciação entre os grupos analisados.

Tabela 3. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs coletados após a admissão na UTI de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO

	IRA- (n=227)	**KDIGO I (n=46)**	**KDIGO II/III (n=25)**
Clus (ng/mL)	8,04 (2,19 - 22,98) *	9,69 (2,92 - 61,53)	30,65 (6,41 - 74,42)
MCP-1 (ng/mL)	0,42 (0,15 - 1,02) **	0,83 (0,36 - 1,47)	1,61 (0,34 - 2,78)
IL-18 (pg/mL)	15,68 (9,38 - 61,13)	18,83 (10,46 - 70,29)	25,60 (10,85 - 187,60)
GTS-π (ng/mL)	4,42 (1,21 - 12,16)	4,04 (1,94 - 20,01)	10,07 (1,40 - 21,01)
KIM-1 (ng/mL)	0,34 (0,13 - 0,80) **/&	0,53 (0,23 - 1,21)	0,83 (0,39 - 2,04)
Cal (ng/mL)	61,80 (7,29 - 225,50)	59,76 (4,35 - 255,50)	55,09 (2,04 - 122,00)
OPN (µg/mL)	1,44 (0,85 - 2,80) **/&&	2,58 (1,45 - 4,80)	3,29 (1,77 - 8,09)
B_2M (µg/mL)	0,13 (0,02 - 0,49)	0,18 (0,02 - 0,94)	0,14 (0,03 - 0,76)
µAlb (µg/mL)	22,86 (6,97 - 55,97) ***/&&	41,52 (28,56 - 61,54)	44,30 (29,61 - 62,22)
NGAL (ng/mL)	23,77 (13,59 - 53,96) ***/&&&	58,03 (30,30 - 202,70)	100,20 (43,23 - 224,80)
CC (ng/mL)	21,63 (8,72 - 41,93)	28,66 (8,64 - 65,03)	25,89 (10,98 - 63,74)
TFF-3 (µg/mL)	1,44 (0,71 - 2,97) &&	2,74 (1,67 - 4,26)	2,38 (1,43 - 4,89)
TIMP-2 (ng/mL)	8,81 (3,93 - 19,64) **	15,36 (5,11 - 23,51)	23,13 (8,71 - 51,96)
IGFBP-7 (ng/mL)	159,90 (85,65 - 295,20) *	244,10 (122,40 - 534,80)	386,00 (146,00 - 704,50)

IRA-: pacientes que não desenvolveram injúria renal aguda (IRA); KDIGO I: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar de grau leve (estágio I); KDIGO II/III: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar grau moderado (estágio II) ou grave (estágio III); Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π: pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal 1; Cal: calbindina; OPN: osteopontina; B_2M: beta dois microglobulina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; CC: cistatina C; TFF-3: fator trifólio três; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina; KDIGO II/III comparado com IRA-: * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; KDIGO I comparado com IRA-: & $p<0,05$; && $p<0,01$; &&& $p<0,001$.

4.1.3 Coleta 12 horas após admissão na UTI

Ao analisarmos os valores das medianas dos BMs encontramos os seguintes resultados (Tabela 4):

- MCP-1, IL-18, KIM-1, OPN e TIMP-2 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III comparado com grupos IRA- e KDIGO I;
- µAlb e IGFBP-7 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III comparado com grupo IRA-;
- NGAL apresentou valores significativamente maiores no grupo KDIGO I comparado com o grupo IRA- e no grupo KDIGO II/III comparado com grupos IRA- e KDIGO I;
- Clus, GTS-π, Cal, B_2M, CC e TFF3: resultados obtidos não evidenciaram diferenciação entre os grupos analisados.

Tabela 4. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs coletados 12 horas após admissão na UTI de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO

	IRA- (n=227)	KDIGO I (n=46)	KDIGO II/III (n=25)
Clus (ng/mL)	12,2 (4,06 - 31,24)	7,24 (1,91 - 28,60)	16,07 (5,53 - 53,83)
MCP-1 (ng/mL)	0,81 (0,28 -1,79) ****	0,71 (0,44 - 1,61) $^{###}$	3,39 (1,44 - 5,02)
IL-18 (pg/mL)	24,42 (11,39 - 96,43) **	22,70 (11,63 - 131,30) $^{\#}$	66,46 (31,19 - 147,50)
GTS-π (ng/mL)	5,64 (2,25 - 11,14)	3,25 (1,48 - 11,19)	7,76 (2,43 - 23,86)
KIM-1 (ng/mL)	0,88 (0,29 - 1,83) ****	1,27 (0,28 - 1,93) $^{\#\#}$	2,85 (1,37 - 4,03)
Cal (ng/mL)	67,06 (10,57 - 228,10)	37,52 (6,10 - 96,01)	18,96 (7,85 - 75,79)
OPN (µg/mL)	2,09 (1,02 - 4,46) ****	2,85 (1,67 - 4,37) $^{\#}$	6,01 (3,03 - 14,37)
B_2M (µg/mL)	0,12 (0,03 - 0,38)	0,03 (0,01 - 0,64)	0,03 (0,02 - 0,17)
µAlb (µg/mL)	20,56 (8,35 - 37,45) **	31,95 (10,11 - 46,65)	32,54 (23,68 - 61,36)
NGAL (ng/mL)	28,27 (14,41 - 59,97) $^{****/\&\&}$	53,53 (26,27 - 162,00) $^{\#}$	197,30 (99,67 - 793,30)
CC (ng/mL)	21,12 (7,70 - 46,10)	24,83 (9,88 - 52,80)	21,07 (9,55 - 94,03)
TFF-3 (µg/mL)	1,89 (0,90 - 3,29)	2,11 (1,06 - 3,66)	2,08 (1,59 - 3,94)
TIMP-2 (ng/mL)	8,33 (3,44 - 16,37) ****	13,98 (5,32 - 20,89) $^{\#}$	25,71 (13,24 - 96,38)
IGFBP-7 (ng/mL)	178,90 (75,34 - 411,80) **	229,10 (109,10 - 554,80)	474,00 (236,30 - 1672,00)

IRA-: pacientes que não desenvolveram injúria renal aguda (IRA); KDIGO I: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar de grau leve (estágio I); KDIGO II/III: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar grau moderado (estágio II) ou grave (estágio III); Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π: pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal 1; Cal: calbindina; OPN: osteopontina; B_2M: beta dois microglobulina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; CC: cistatina C; TFF-3: fator trifólio três; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina; KDIGO II/III comparado com IRA-: $^{**}p<0,01$; $^{****}p<0,0001$; KDIGO II/III comparado com KDIGO I: $^{\#}p<0,05$; $^{\#\#}p<0,01$; $^{\#\#\#}p<0,001$; KDIGO I comparado com IRA-: $^{\&\&}p<0,01$.

4.1.4 Coleta 24 horas após admissão na UTI

Ao analisarmos os valores das medianas dos BMs encontramos os seguintes resultados (Tabela 5):

- MCP-1, IL-18, OPN e TIMP-2 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III comparado com grupos IRA- e KDIGO I;
- KIM-1, NGAL e IGFBP-7 apresentaram valores significativamente maiores no grupo KDIGO II/III comparado com grupo IRA-;
- Clus, GTS-π, Cal, μAlb, B_2M, CC e TFF-3: resultados obtidos não evidenciaram diferenciação entre os grupos analisados.

Tabela 5. Valores de Mediana (1º e 3º quartis) de BMs coletados 24 horas após admissão na UTI de pacientes IRA- e pacientes estratificados pelos critérios KDIGO

	IRA- (n=227)	KDIGO I (n=46)	KDIGO II/III (n=25)
Clus (ng/mL)	14,88 (3,29 - 41,86)	6,02 (1,86 - 28,10)	11,75 (4,73 - 27,93)
MCP-1 (ng/mL)	0,71 (0,27 - 1,70) **	0,82 (0,26 - 1,46) ##	1,88 (0,92 - 4,07)
IL-18 (pg/mL)	24,03 (10,74 - 82,28) *	18,84 (11,60 - 61,75) #	52,52 (29,33 - 171,30)
GTS-π (ng/mL)	5,52 (2,47 - 11,27)	2,72 (0,81 - 7,96)	8,18 (2,91 - 14,13)
KIM-1 (ng/mL)	0,88 (0,36 - 2,18) **	1,77 (0,48 - 2,58)	1,94 (1,17 - 6,08)
Cal (ng/mL)	55,12 (6,71 - 192,70)	19,38 (2,73 - 136,00)	16,93 (8,52 - 62,84)
OPN (µg/mL)	2,09 (1,02 - 3,79) ****	3,56 (1,22 - 6,14) #	9,16 (3,12 - 15,99)
B_2M (µg/mL)	0,13(0,02 - 0,48)	0,03 (0,02 - 0,68)	0,03 (0,02 - 0,08)
µAlb (µg/mL)	22,04 (8,50 - 48,30)	23,90 (10,06 - 51,91)	47,93 (11,21 - 58,96)
NGAL (ng/mL)	44,22 (17,89 - 104,10) ****	72,89 (26,74 - 254,30)	191,70 (70,30 - 990,00)
CC (ng/mL)	24,33 (8,88 - 58,32)	22,18 (8,47 - 90,01)	12,56 (8,33 - 33,24)
TFF-3 (µg/mL)	1,96 (0,83 - 3,79)	2,52 (1,28 - 4,24)	2,92 (1,64 - 4,21)
TIMP-2 (ng/mL)	9,92 (4,61 - 20,63) ****	13,62 (4,35 - 22,92) ##	27,05 (14,54 - 55,98)
IGFBP-7 (ng/mL)	170,70 (84,60 - 377,60) *	283,30 (117,20 - 386,50)	386,10 (163,40 - 774,30)

IRA-: pacientes que não desenvolveram injúria renal aguda (IRA); KDIGO I: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar de grau leve (estágio I); KDIGO II/III: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar grau moderado (estágio II) ou grave (estágio III); Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π: pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal 1; Cal: calbindina; OPN: osteopontina; B_2M: beta dois microglobulina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; CC: cistatina C; TFF-3: fator trifólio três; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina; KDIGO II/III comparado com IRA-: * $p<0,05$; ** $p<0,01$; **** $p<0,0001$; KDIGO II/III comparado com KDIGO I: # $p<0,05$; ## $p<0,01$.

4.2 Curvas ROC e área sob a curva (AUC)

Analisamos a evolução temporal dos BMs ou conjunto de BMs com curvas ROC e AUC. Como os valores de BMs dos pacientes IRA- e KDIGO I são semelhantes, exceto na coleta após admissão na UTI para KIM-1, OPN, µAlb, NGAL e TFF-3, e NGAL após 12 horas da admissão na UTI, optamos por agrupar os pacientes IRA- e KDIGO I como controles e comparar com os pacientes KDIGO II/III (IRA moderada à grave). Os resultados estão apresentados na tabela (Tabela 6) e gráfico (Gráfico 1) abaixo.

Tabela 6. Valores de AUC e intervalo de confiança de 95% de BMs e BM/CrU isolados ou em combinações nas coletas pré e pós-cirurgicas

AUC	Pré-cirurgia (BM/CrU)	Admissão UTI (BM)	12h UTI (BM)	24h UTI (BM)
CLUS	0,70 (0,59 - 0,81)	0,65 (0,54 - 0,77)	0,59 (0,46 - 0,71)	0,50^{ns} (0,40 - 0,61)
MCP-1	0,73 (0,62 - 0,84)	0,70 (0,58 - 0,83)	0,78 (0,69 - 0,87)	0,71 (0,60 - 0,83)
IL-18	0,61 (0,49 - 0,73)	0,63 (0,51 - 0,75)	0,71 (0,62 - 0,79)	0,67 (0,56 - 0,78)
GTS-π	0,71 (0,59 - 0,82)	0,60 (0,48 - 0,73)	0,57 (0,44 - 0,69)	0,58 (0,45 - 0,70)
KIM-1	0,73 0,61 - 0,85)	0,71 (0,61 - 0,81)	0,77 (0,68 - 0,86)	0,69 (0,57 - 0,80)
OPN	0,66 (0,53 - 0,79)	0,69 (0,58 - 0,81)	0,77 (0,68 - 0,86)	0,75 (0,64 - 0,86)
ALB	0,67 (0,55 - 0,80)	0,67 (0,55 - 0,79)	0,71 (0,62 - 0,81)	0,64 (0,51 - 0,76)
NGAL	0,66 (0,54 - 0,77)	0,71 (0,60 - 0,82)	0,82 (0,74 - 0,90)	0,76 (0,65 - 0,87)
TFF-3	0,68 (0,56 - 0,79)	0,61 (0,48 - 0,73)	0,6 (0,49 - 0,70)	0,60^{ns} (0,49 - 0,71)
TIMP-2	0,67 (0,56 - 0,79)	0,70 (0,58 - 0,83)	0,78 (0,68 - 0,89)	0,77 (0,68 - 0,87)
IGFBP-7	0,66 (0,55 - 0,77)	0,66 (0,56 - 0,76)	0,71 (0,59 - 0,83)	0,65 (0,53 - 0,77)
TIMP-2 x IGFBP-7	0,65 (0,54 - 0,76) *	0,69 (0,58 - 0,80)	0,78 (0,66 - 0,89)	0,73 (0,62 - 0,83)

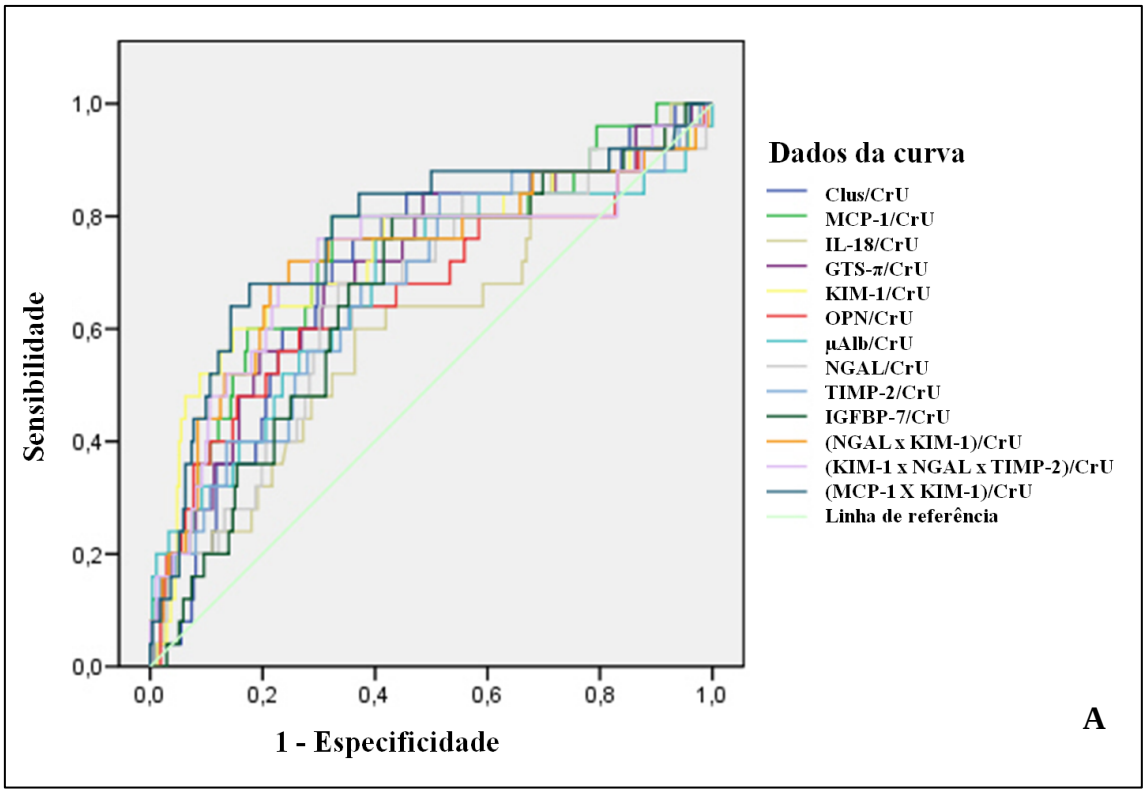
Continua...

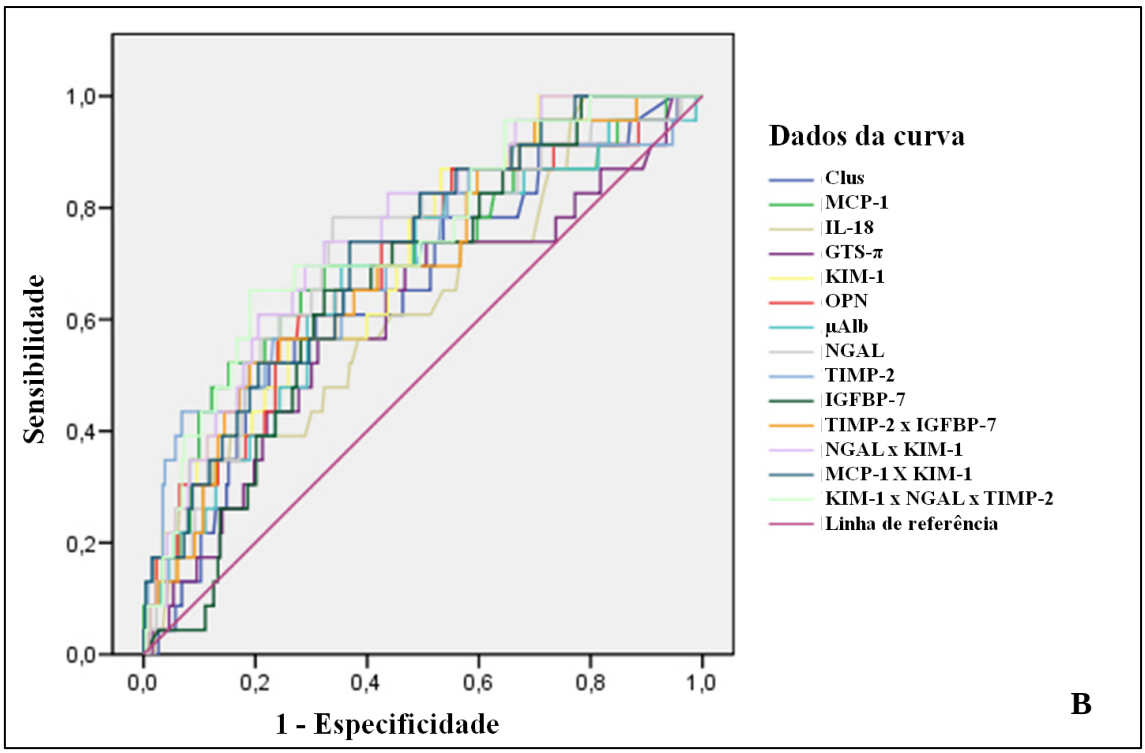
Tabela 6 (Conclusão). Valores de AUC e intervalo de confiança de 95% de BMs e BM/CrU isolados ou em combinações nas coletas pré e pós-cirurgicas

AUC	Pré-cirurgia (BM/CrU)	Admissão UTI (BM)	12h UTI (BM)	24h UTI (BM)
MCP-1 x KIM-1	0,79 (0,69 - 0,88)	0,72 (0,62 - 0,82)	0,80 (0,72 - 0,89)	0,75 (0,65 - 0,85)
NGAL x KIM-1	0,72 (0,60 - 0,85)	0,75 (0,66 - 0,85)	0.85 (0,78 - 0,92)	0,78 (0,67 - 0,89)
NGAL x MCP-1	0,72 (0,60 - 0,85)	0,74 (0,63 - 0,84)	0,84 (0,75 - 0,93)	0,76 (0,65 - 0,87)
NGAL x TIMP-2	0,68 (0,57 - 0,80)	0,72 0,60 - 0,84)	0,85 (0,77 - 0,92)	0,80 (0,70 - 0,90)
NGAL x OPN	0,68 (0,56 - 0,81)	0,73 (0,62 - 0,84)	0,84 0,75 - 0,93)	0,79 (0,69 - 0,90)
TIMP-2 x MCP-1	0,74 (0,62 - 0,85)	0,72 (0,60 - 0,83)	0,83 (0,74 - 0,92)	0,77 (0,66 - 0,87)
TIMP-2 x KIM-1	0,73 (0,61 - 0,85)	0,74 (0,63 - 0,84)	0,82 0,75 - 0,90)	0,76 (0,66 - 0,86)
TIMP-2 x OPN	0,70 (0,57 - 0,82)	0,72 (0,60 - 0,84)	0,81 (0,72 - 0,90)	0,80 (0,70 - 0,90)
TIMP-2 x NGAL x KIM-1	0,72 (0,59 - 0,85)	0,74 (0,64 - 0,85)	0,86 (0,79 - 0,94)	0,80 (0,70 - 0,90)
TIMP-2 x NGAL x MCP-1	0,73 (0,61 - 0,85)	0,73 (0,62 - 0,85)	0,85 (0,77 - 0,94)	0,79 (0,68 - 0,89)
TIMP-2 x NGAL x OPN	0,70 (0,57 - 0,82)	0,73 (0,61 - 0,85)	0,84 (0,76 - 0,93)	0,81 (0,71 - 0,91)
TIMP-2 x NGAL x KIM-1 x MCP-1	0,74 (0,62 - 0,87)	0,75 (0,64 - 0,85)	0,86 (0,79 - 0,94)	0,79 (0,69 - 0,90)
NGAL x MCP-1 x KIM-1	0,75 (0,63 - 0,87)	0,74 (0,64 - 0,84)	0,85 (0,77 - 0,93)	0,77 (0,67 - 0,88)
TIMP-2 x MCP-1 x KIM-1	0,75 (0,64 - 0,87)	0,73 (0,62 - 0,84)	0,84 (0,76 - 0,92)	0,76 (0,66 - 0,87)
TIMP-2 x IGFBP-7 x KIM x NGAL	0,69 (0,58 - 0,90)	0,74 (0,64 - 0,84)	0,84 (0,76 - 0,93)	0,78 (0,68 - 0,88)
NGAL x KIM-1 x IGFBP-7	0,71 (0,59 - 0,83)	0,75 (0,65 - 0,84)	0,84 (0,76 - 0,92)	0,76 (0,66 - 0,87)
NGAL x TIMP-2 x IGFBP-7	0,67 (0,58 - 0,80) *	0,71 (0,60 - 0,83)	0,83 (0,74 - 0,93)	0,78 (0,67 - 0,87)

AUC: área sob a curva; BM: biomarcador; BM/CrU: biomarcador normatizado pela creatinina urinária; Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π: pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal 1; OPN: osteopontina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; TFF-3: fator trifólio três.; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina; ns: sem significância estatística; * similar ao NephroCheck®, sem normatização pela creatinina urinária.

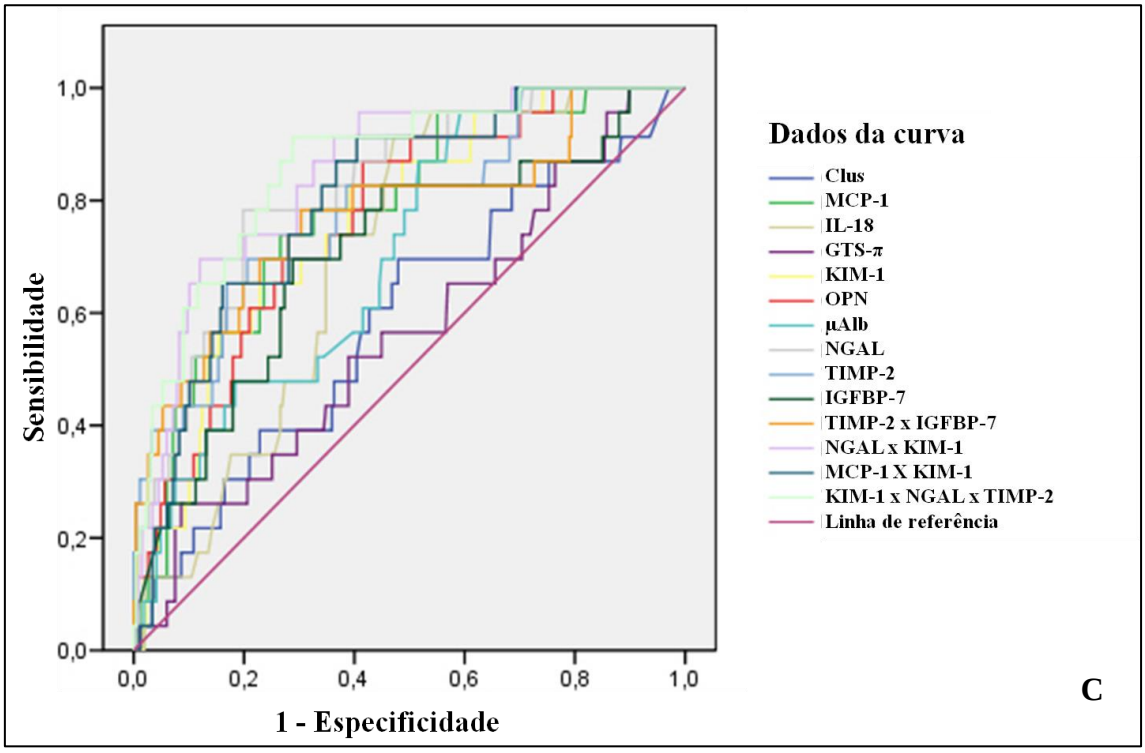
Gráfico 1. Curvas ROC de BMs e combinações nos quatro períodos de coleta avaliados

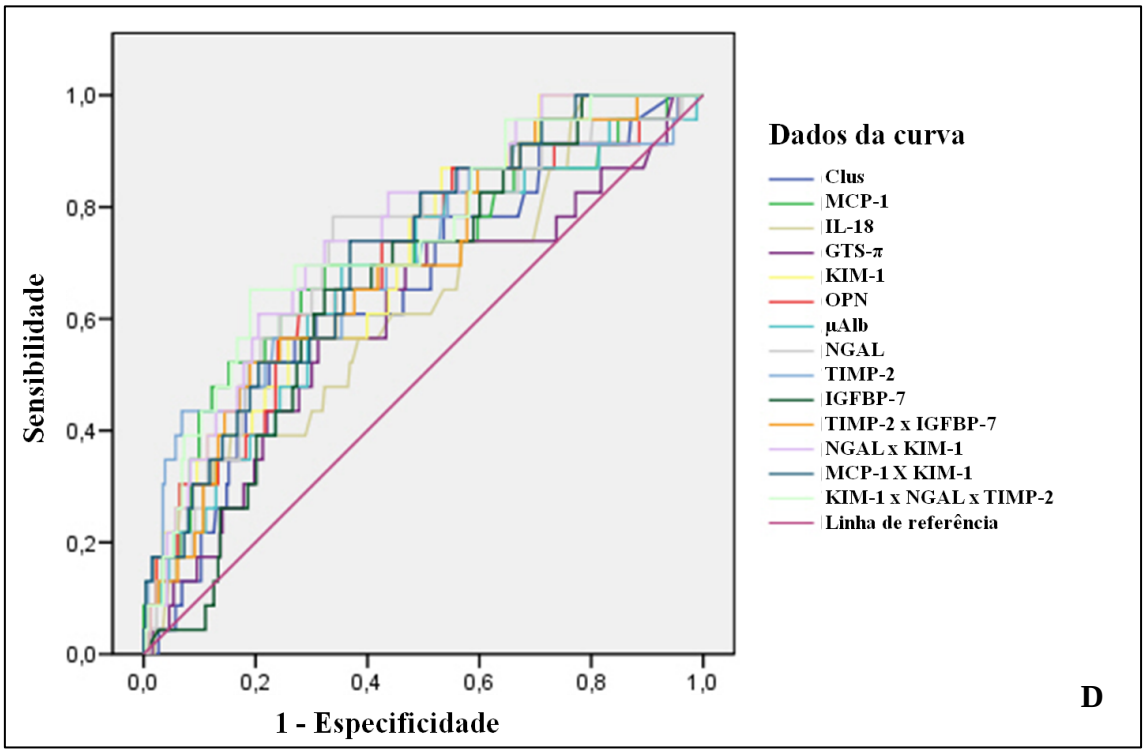




Continua...

Gráfico 1 (conclusão). Curvas ROC de BMs e combinações nos quatro períodos de coleta avaliados





A: coleta realizada na internação hospitalar; B: coleta realizada na admissão da UTI; C: coleta realizada após 12 horas da admisão na UTI; D: coleta realizada após 24 horas da admisão na UTI; BM/CrU: biomarcador normatizado pela creatinina urinária; Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π - pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal I; OPN: osteopontina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina.

O produto KIM-1 e MCP-1 (normatizados pela CrU) no tempo pré cirurgia foi o identificador de maior acurácia para prever IRA KDIGO II/III (Tabela 7). Selecionamos os valores deste produto com melhor relação sensibilidade e especificidade para serem sugeridos como positivos (BM+). Os detalhes da acurácia destes valores estão na tabela abaixo.

Tabela 7. Acurária dos valores sugeridos como de limite para BMs (MCP-1 x KIM-1)

Valor do BM+	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Razão de verossimilhança
>0,02 (ng/mg)^2	88,0%	46,9%,	13,2%	97,7%	1,77
>0,26 (ng/mg)^2	56,0%	87,1%	35.9%,	95,6%	4,58

BM+: biomarcador positivo; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

Nas coletas após cirurgia, o produto dos BMs KIM-1, NGAL e TIMP-2 dividido por 1000 na coleta de urina 12 horas após admissão na UTI apresentou a maior acurácia para predição de IRA KDIGO II/III (Tabela 8). Selecionamos os valores deste produto com melhor relação sensibilidade e especificidade para serem sugeridos como positivos. Os detalhes da acurácia destes valores estão na tabela abaixo.

Tabela 8. Acurária dos valores sugeridos como de limite para BMs (KIM-1 x NGAL x TIMP-2)/1000

Valor do BM+	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Razão de verossimilhança
> 1,18 (ng/mL)^3/1000	91,3%	73,5%,	23,6%	99,0%	3,23
> 7,50 (ng/mL)^3/1000	65,2%	87,2%	30,6%	96,7%	5,76

BM+: biomarcador positivo; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

4.3 BMs e desfechos

Os BMs com melhor acurácia na coleta prévia à cirurgia (KIM-1 x MCP-1) foram relacionados com maior tempo de internação hospitalar e maior mortalidade. Os pacientes com BM+ (> 0,02ng/mg2) possuem maior tempo de internação, 15 (9-25) dias versus 11 (7-16) dias em pacientes com biomarcador negativo (BM-), p<0,0001. Pacientes BM+ também possuem maior taxa de mortalidade em até 90 dias da cirurgia (10,2% vs. 1,5%; p=0,002).

Na coleta após 12 horas da admissão na UTI, analisamos o conjunto de BMs com melhor acurácia (KIM-1 x NGAL x TIMP-2) para os mesmos desfechos citados acima. Os pacientes com BM+ (>1,18ng/mL3) apresentaram maior tempo de internação, 16,5 (11-27) dias versus 11 (7-16,75) dias em pacientes com BM-, p<0,0001. Além disto, pacientes que possuem BM+ apresentaram maior mortalidade em até 90 dias da cirurgia (11,2% vs. 2,1%; p=0,001).

5 DISCUSSÃO

Observou-se alta incidência de IRA, nos pacientes avaliados (23,8%), majoritariamente de grau leve (KDIGO I). Todos os pacientes estudados, exceto dois, apresentavam CrS normal no momento da admissão. Na literatura, não existem estudos semelhantes, com coletas seriadas e com primeira amostra coletada previamente à cirurgia, que tenham sido desenhados ou planejados para estudar especificamente esta população de pacientes cirúrgicos e o papel dos BMs no diagnóstico de IRA para que possamos comparar os resultados. Um estudo analisou grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares com o objetivo de determinar a incidência de IRA por AKIN, encontrando uma taxa de 12% (107). Quatro estudos analisaram prospectivamente grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares específicas, como nefrectomia, hepatectomia e gastrectomia, encontrando incidências de IRA (usando RIFLE e AKIN) que variaram de 7,0% a 27% (96-99).

A procura de novos BMs decorre da necessidade de identificar precocemente os pacientes com risco de desenvolver IRA, pacientes com necessidade de diálise ou risco de progressão para DRC. A identificação de pacientes com BMs positivos, possibilitaria intervenções mais rápidas e minimizaria desfechos desfavoráveis (108). A utilização e acurácia dos BMs varia dependendo da finalidade desejada (avaliação de risco, diagnóstico, determinação de causa para diagnóstico diferencial e prognóstico), e os limiares de positividade podem ser diferentes em cada cenário, incluindo o momento avaliado em relação à exposição ou agressão renal.

Os BMs urinários podem ser reportados normatizados pela concentração da CrU para correção das variações da concentração na urina. Para tanto, infere-se que a excreção da CrU seja constante ao longo do tempo e que a excreção dos BMs tem relação linear com a excreção de CrU (106). Por outro lado, em situações em que a excreção de CrU oscila, como por exemplo, após situações em que ocorre agressão renal aguda, esta normatização deixa de ser precisa, e sugere-se que não seja realizada (105). No presente trabalho, de forma consistente com o exposto acima, observamos melhor acurácia dos BMs no pré-operatório usando-os normatizados pela CrU e no pós-operatório utilizando o valor sem esta normatização.

Nos pacientes que desenvolveram IRA moderada ou grave, os BMs MCP-1, KIM-1, OPN, NGAL, TIMP-2 e IGFBP-7 apresentaram valores urinários significativamente mais elevados em todos os tempos de coleta, incluindo à internação. Esses achados são consistentes com a literatura relacionada aos BMs NGAL, TIMP-2 e IGFBP-7; trabalhos realizados com pacientes após cirurgias cardíacas, portadores de insuficiência cardíaca descompensada, em choque séptico, em situações de emergências clínicas, pacientes críticos cirúrgicos e admitidos em UTI sugerem que estes BMs são preditores mais acurados para detecção de IRA moderada ou grave (58, 61, 109-117).

Existem apenas três trabalhos publicados que analisam o papel de BMs estruturais em cirurgias abdominais eletivas. Cho *et al.* (2014) (96) realizaram estudo prospectivo observacional com 131 pacientes submetidos à cirurgia hepatobiliar eletiva e um dos objetivos foi analisar a acurácia do NGAL sérico e urinário para detecção precoce de IRA. A dosagem do BM na urina foi realizada no pré-operatório, 6, 12 e 24 horas após cirurgia; a dosagem sérica foi analisada no pré-operatório e 24 horas após a cirurgia. Dez pacientes desenvolveram IRA (diagnosticada por AKIN, utilizando elevação de CrS e queda de VU) e os valores de NGAL urinário destes pacientes

estavam significativamente elevados 12 horas após a cirurgia (AUC de 0,88) quando comparados ao grupo sem IRA. Puckett *et al.* (2017) (103) realizaram estudo randomizado controlado para avaliar o efeito de terapia protocolizada na incidência de IRA (diagnosticada por AKIN, usando somente a elevação da CrS) em 109 pacientes submetidos à colectomia. O NGAL urinário e a µAlb foram colhidos no pré-operatório, no pós-operatório imediato, 8 e 24 h após a cirurgia. Apenas valores de µAlb elevados no pré-operatório se associaram ao desenvolvimento posterior de IRA (AUC 0,73). Hunsicker *et al*. (2017) (104) realizaram estudo post-hoc com 48 pacientes que participaram de estudo randomizado controlado de terapia protocolizada de infusão de fluidos em cirurgia de câncer de ovário, visando analisar o valor diagnóstico do NGAL sérico no momento da admissão na UTI e da diurese intra-operatória para predição de IRA (KDIGO, usando critério da CrS). O NGAL previu a ocorrência de IRA seis horas após a cirurgia (AUC de 0,83), ou em qualquer momento após a cirurgia (AUC de 0,71). Estes estudos diferem do trabalho proposto, pelo tamanho menor da amostra, heterogeneidade de critérios para definir IRA, pelo número e tipos de BMs analisados e por não ter estudado combinações de BMs.

Um achado importante e original do presente estudo é que 88% dos pacientes que desenvolveram IRA moderada ou grave já apresentavam elevação de vários BMs previamente à cirurgia, na internação hospitalar (Clus, MCP-1, KIM-1, GTS-π, µAlb, OPN, NGAL, TFF-3, TIMP-2 e IGFBP-7). Este achado poderia ser explicado pelo fato de que estes indivíduos apresentavam patologias de base que poderiam estar afetando o tecido renal, via inflamação sistêmica, ou, por interferência cruzada entre o órgão abdominal afetado e outros órgãos (118); ressalta-se que mesmo pacientes com função renal normal avaliada pelo sCr poderiam ter uma lesão renal subclínica (119-121).

Alguns poucos estudos em doentes críticos e após cirurgia cardíaca encontraram acurácia melhor para prever IRA quando utilizaram combinações de BMs. Kokkoris *et al.* (2012) (79) em estudo prospectivo observacional com 100 pacientes admitidos na UTI, avaliaram NGAL urinário (NGALu) e plasmático (NGALp), e CC plasmática até 12 horas da internação na UTI. A incidência de IRA foi de 36% (RIFLE, critério CrS). Os três BMs isoladamente tiveram acurácia preditiva para IRA moderada. As combinações mais eficientes foram com NGALu vezes CrS e NGALp vezes NGALu vezes CrS (AUC de 0,86). Todas as combinações obtiveram melhores AUC e VPP quando comparadas com os BMs isolados. No entanto, é questionável o uso da CrS associada ao BM como preditor, já que ela é usada para o diagnóstico de IRA. Prowle *et al.* (2015) (80) realizaram estudo prospectivo observacional incluindo 93 pacientes que fizeram cirurgia de "by-pass" cardiopulmonar e avaliaram a acurácia dos BMs urinários GTS-π, GTS-α, NGAL, proteína ligadora de ácidos graxos -hepática (l-FABP), hepcidina e da CC sérica antes, logo após a admissão na UTI e 24 horas depois da admissão. A incidência de IRA foi de 27% (RIFLE, critério CrS). Nenhum BM dosado previamente à cirurgia se associou com o desenvolvimento de IRA; porém, na coleta após a admissão na UTI, GTS-π apresentou acurácia moderada (AUC de 0,75) na predição de IRA e 24 horas após a admissão, NGAL, NGAL/CrU e CC sérica apresentaram AUC de 0,65; 0,70 e 0,72 em predizer IRA. As associações de BM apresentaram melhores acurácias diagnósticas. Os produtos de NGAL/CrU na admissão da UTI vezes hepcidina/Cr 24 horas após admissão apresentou AUC de 0,84; GTS-π na admissão da UTI vezes hepcidina/Cr 24 horas após admissão teve AUC de 0,86 e GTS-π na admissão da UTI vezes CC sérica 24 horas após admissão teve AUC de 0,83. Neste estudo, além do tamanho da amostra ser pequeno, os investigadores usaram diferentes tempos de coleta para fazer as associações. Elmedany *et al.* (2017) (122) realizaram estudo prospectivo observacional

em 45 adultos submetidos à cirurgia cardíaca aberta e avaliaram a microscopia do sedimento urinário (MSU) e os valores de KIM-1 e NGAL urinários imediatamente após a indução da anestesia, 2, 6, 12 e 24 horas após a cirurgia. A incidência de IRA foi de 24,4% (AKIN, critério CrS) e observou-se que os pacientes que desenvolveram IRA tinham MSU alterado a partir de 2 horas e que permaneceram alterados até o final do segundo dia (AUC média de 0,86). O BM NGAL estava mais elevado após 2 e 6 horas da cirurgia (AUC de 0,71 e 0,70, respectivamente) e o KIM-1, após 12 e 24 horas (AUC de 0,72 e 0,70, respectivamente). A combinação de 2h-NGAL, 12h-KIM-1 e 24h-MSU demonstrou ótima acurácia na predição de IRA (AUC de 0,91). Entretanto, de maneira similar ao estudo anterior, o tamanho da amostra foi pequeno e diferentes tempos de coleta foram usados para calcular as associações.

O único ensaio de BMs combinados - o NephroCheck®, aprovado pelo *Federal Drug Admistration* (FDA) norte-americano para uso clínico, utiliza o produto de dois BMs urinários (TIMP-2 e IGFBP-7) e foi definido em estudo que avaliou 340 BMs diferentes em amostra de 728 pacientes admitidos em UTI (59). Este estudo determinou dois pontos de corte com sensibilidades e especificidades diferentes; com o ponto de corte em 0,3 $(ng/mL)^2/1000$ a sensibilidade era de 89% e especificidade 50%; no valor de 2,0 $(ng/mL)^2/1000$, a sensibilidade era de 42% e especificidade 95%. Nesta situação, o que se busca é melhor sensibilidade diagnóstica (58).

No presente estudo, testamos os BMs isoladamente e em diferentes combinações para avaliar qual deles ou qual combinação teria a melhor acurácia para diagnóstico de IRA nos pacientes submetidos a grandes cirurgias abdominais eletivas não vasculares. De maneira geral, as combinações, incluindo aquela usada no ensaio NephroCheck®, foram melhores do que os BMs isolados.

No momento da internação, a combinação com maior acurácia para predição de IRA foi o produto de MCP-1 pelo KIM-1 (AUC de 0,79), enquanto que a AUC do produto TIMP-2 x IGFBP-7 (similar ao Nephrocheck®) foi de 0,65. Este resultado é original, não tendo sido demonstrado previamente. O MCP-1 é uma quimiocina que atua no recrutamento de monócitos, células T de memória e células dendríticas para os sítios de inflamação produzida por injúria tecidual ou por infecção, inclusive nas inflamações renais (45-48). O KIM-1 é uma proteína transmembrana do tipo I, com expressão induzida em células tubulares renais após injúria. Acredita-se que o KIM-1 desempenhe papel de proteção e que sua liberação aconteça nos processos de regeneração após lesão epitelial. Por se tratar de uma proteína apenas liberada após injúria, sua expressão em pacientes saudáveis é inexpressiva (24-29). O produto de MCP-1 pelo KIM-1 sinaliza a provável ocorrência simultânea de inflamação e lesão tubular proximal. Este resultado precisa ser validado em estudos posteriores; se confirmado, permitirá reconhecer precocemente doentes de alto risco para IRA, previamente à exposição cirúrgica, com óbvios benefícios para os pacientes. Este grupo poderá se beneficiar com plano de cuidados renais específicos para evitar ou minimizar a ocorrência de IRA. É possível teorizar que poderia se propor o adiamento de cirurgias eletivas até a normalização dos valores destes BMs.

Existem poucos trabalhos que avaliam se a dosagem de BMs no momento pré-operatório pode predizer IRA. Oezkur *et al.* (2014) (123) realizaram estudo prospectivo observacional em 70 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca e descreveram que os níveis séricos pré-operatórios (no momento da indução anestésica) da proteína ligadora de ácidos graxos- cardíaca (h-FABP) eram mais altos nos pacientes que desenvolveram IRA (AKIN, critério CrS) comparados aos que não desenvolveram (2,9 vs. 1,7 ng/mL, respectivamente, p=0,04). Guenancia, *et al.* (2015) (124) realizaram estudo prospectivo

observacional em 134 pacientes que realizam cirurgia cardíaca com “by-pass” e demonstraram que os níveis plasmáticos pré-operatórios do fator de diferenciação 15 (GDP-15) eram maiores durante a indução anestésica (AUC de 0,83) em pacientes que desenvolvem IRA (KDIGO, critério CrS). Heringlake *et al.* (2016) (125) realizaram estudo prospectivo observacional com 1.176 pacientes que realizaram cirurgia cardíaca e observaram que níveis plasmáticos pré-operatórios (no momento da indução anestésica) mais elevados de GFP-15 estavam associados ao desenvolvimento de IRA (KDIGO, critério da CrS), com *odds ratio* de 1.31.

No tempo de 12 horas após a admissão na UTI, a combinação de BMs foi mais acurada na predição de IRA, possivelmente porque foi realizada após a exposição deflagradora da injúria renal, potencializando a vulnerabilidade detectada internação. Obtivemos AUC de 0,86 para TIMP-2 x NGAL x KIM-1, enquanto a AUC do produto TIMP-2 x IGFBP-7 foi de 0,78. A maior acurácia desta combinação se deve, provavelmente, ao mecanismo de ação dos BM e ao tipo ou local de lesão renal. O NGAL é uma proteína com função bacteriostática encontrada nos neutrófilos, mas também produzido em pequenas quantidades nos túbulos renais proximais e distais (13, 14). A produção em tecidos diferentes dos rins é filtrada pelo glomérulo e reabsorvida pelos túbulos proximais e sua expressão aumenta substancialmente na injúria renal por isquemia ou nefrotoxicidade. Dados experimentais sugerem participação na regeneração tubular (15, 16, 19). O TIMP-2 é uma proteína com funções de controle do crescimento celular, migração, diferenciação e apoptose. Após injúria renal, esta proteína liga-se a receptores da membrana celular, é ativada e inicializa mecanismos de sinalização celular, com parada do ciclo celular na fase G1; as células param de se dividir e o DNA danificado não é replicado após lesão de sepse ou isquemia (59, 62-64, 66). Desta maneira, o produto destes BMs indica que após a

cirurgia ocorreu provavelmente lesão estrutural renal mais grave do que a encontrada à internação, que inclusive causou a parada do ciclo celular na fase G1.

Como no ensaio NephroCheck®, sugerimos dois pontos de corte nas associações dos BMs propostos; um com maior sensibilidade diagnóstica (próxima de 90% para ambas as associações) e alto VPN e outro, com maior especificidade e maior VPP. Assim, é possível descartar aqueles pacientes em que há pouco risco de desenvolvimento de IRA moderada ou grave no pós-operatório e também, estratificar os pacientes com maior risco.

As duas associações que mostraram maior acurácia na predição de IRA, MCP-1 x KIM-1 na coleta pré-operatória e KIM-1 x NGAL x TIMP-2 após 12 horas da admissão na UTI, se associaram com maior tempo de internação e mortalidade intra-hospitalar e maior taxa de mortalidade até 90 dias após a cirurgia. Há estudos publicados na literatura médica que mostram a associação de NephroCheck® positivo e de KIM-1, IL-18 e NGAL elevados com piores desfechos (16), (37, 78), (80, 126-131).

O presente estudo tem limitações. É unicêntrico, avaliou somente pacientes considerados de maior risco e que, portanto, fizeram o pós-operatório na UTI. Os limites sugeridos para positividade dos BMs devem ser validados em estudos posteriores.

6 CONCLUSÃO

Os BMs urinários estavam elevados no momento da internação hospitalar em 88% dos pacientes que desenvolveram IRA moderada ou grave. A associação MCP-1 x KIM-1 apresentou boa acurácia (88% de sensibilidade e 47% de especificidade) para predição de IRA na internação hospitalar e a associação KIM-1 x NGAL x TIMP-2 apresentou ótima acurácia para predição de IRA 12 horas após a internação na UTI (91,3% de sensibilidade e 73,5% de especificidade). Quando elevados, estes biomarcadores se associaram a piores desfechos na população estudada.

7 REFERÊNCIAS

1. Kam Tao Li P, Burdmann EA, Mehta RL, 2013 WKDSC. Acute kidney injury: Global health alert. J Nephropathol. 2013;2(2):90-7.

2. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. J Am Soc Nephrol. 2005;16(11):3365-70.

3. Srisawat N, Kellum JA. Acute kidney injury: definition, epidemiology, and outcome. Curr Opin Crit Care. 2011;17(6):548-55.

4. Cerdá J, Bagga A, Kher V, Chakravarthi RM. The contrasting characteristics of acute kidney injury in developed and developing countries. Nat Clin Pract Nephrol. 2008;4(3):138-53.

5. Lombardi R, Yu L, Younes-Ibrahim M, Schor N, Burdmann EA. Epidemiology of acute kidney injury in Latin America. Semin Nephrol. 2008;28(4):320-9.

6. Santos WJ, Zanetta DM, Pires AC, Lobo SM, Lima EQ, Burdmann EA. Patients with ischaemic, mixed and nephrotoxic acute tubular necrosis in the intensive care unit--a homogeneous population? Crit Care. 2006;10(2):R68.

7. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, workgroup ADQI. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. Crit Care. 2004;8(4):R204-12.

8. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. Crit Care. 2007;11(2):R31.

9. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury.: Kidney Int Suppl; 2012.

10. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. Intensive Care Med. 2004;30(1):33-7.

11. Lassnigg A, Schmid ER, Hiesmayr M, Falk C, Druml W, Bauer P, et al. Impact of minimal increases in serum creatinine on outcome in patients after cardiothoracic surgery: do we have to revise current definitions of acute renal failure? Crit Care Med. 2008;36(4):1129-37.

12. Han WK, Bonventre JV. Biologic markers for the early detection of acute kidney injury. Curr Opin Crit Care. 2004;10(6):476-82.

13. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. Mol Cell. 2002;10(5):1033-43.

14. Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestrating iron. Nature. 2004;432(7019):917-21.

15. Charlton JR, Portilla D, Okusa MD. A basic science view of acute kidney injury biomarkers. Nephrol Dial Transplant. 2014.

16. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A, Group NM-aI. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. Am J Kidney Dis. 2009;54(6):1012-24.

17. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, et al. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. J Am Soc Nephrol. 2007;18(2):407-13.

18. Ghatanatti R, Teli A, Tirkey SS, Bhattacharya S, Sengupta G, Mondal A. Role of renal biomarkers as predictors of acute kidney injury in cardiac surgery. Asian Cardiovasc Thorac Ann. 2014;22(2):234-41.

19. Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery. Am J Kidney Dis. 2008;52(3):425-33.

20. de Geus HR, Bakker J, Lesaffre EM, le Noble JL. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin at ICU admission predicts for acute kidney injury in adult patients. Am J Respir Crit Care Med. 2011;183(7):907-14.

21. Ronco C, Legrand M, Goldstein SL, Hur M, Tran N, Howell EC, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: Ready for Routine Clinical Use? An International Perspective. Blood Purif. 2014;37(4):271-85.

22. de Geus HR, Fortrie G, Betjes MG, van Schaik RH, Groeneveld AB. Time of injury affects urinary biomarker predictive values for acute kidney injury in critically ill, non-septic patients. BMC Nephrol. 2013;14:273.

23. Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. Clin Chem Lab Med. 2012;50(9):1505-17.

24. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. J Biol Chem. 1998;273(7):4135-42.

25. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. Kidney Int. 2002;62(1):237-44.

26. van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, van Goor H, Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. J Pathol. 2007;212(2):209-17.

27. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. Am J Physiol Renal Physiol. 2004;286(3):F552-63.

28. Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 2008;241:78-83.

29. Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, Gunaratnam L, Duffield JS, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. J Clin Invest. 2008;118(5):1657-68.

30. Novick D, Kim S, Kaplanski G, Dinarello CA. Interleukin-18, more than a Th1 cytokine. Semin Immunol. 2013;25(6):439-48.

31. Gauer S, Sichler O, Obermüller N, Holzmann Y, Kiss E, Sobkowiak E, et al. IL-18 is expressed in the intercalated cell of human kidney. Kidney Int. 2007;72(9):1081-7.

32. Feng M, Sun T, Zhao Y, Zhang H. Detection of Serum Interleukin-6/10/18 Levels in Sepsis and Its Clinical Significance. J Clin Lab Anal. 2016;30(6):1037-43.

33. Moon SJ, Park HB, Yoon SY, Lee SC. Urinary biomarkers for early detection of recovery in patients with acute kidney injury. J Korean Med Sci. 2013;28(8):1181-6.

34. Ling W, Zhaohui N, Ben H, Leyi G, Jianping L, Huili D, et al. Urinary IL-18 and NGAL as early predictive biomarkers in contrast-induced nephropathy after coronary angiography. Nephron Clin Pract. 2008;108(3):c176-81.

35. Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C, et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. Kidney Int. 2006;70(1):199-203.

36. Eidt MV, Nunes FB, Pedrazza L, Caeran G, Pellegrin G, Melo DA, et al. Biochemical and inflammatory aspects in patients with severe sepsis and septic shock: The predictive role of IL-18 in mortality. Clin Chim Acta. 2016;453:100-6.

37. Siew ED, Ikizler TA, Gebretsadik T, Shintani A, Wickersham N, Bossert F, et al. Elevated urinary IL-18 levels at the time of ICU admission predict adverse clinical outcomes. Clin J Am Soc Nephrol. 2010;5(8):1497-505.

38. Hoffmann D, Fuchs TC, Henzler T, Matheis KA, Herget T, Dekant W, et al. Evaluation of a urinary kidney biomarker panel in rat models of acute and subchronic nephrotoxicity. Toxicology. 2010;277(1-3):49-58.

39. Kojetin DJ, Venters RA, Kordys DR, Thompson RJ, Kumar R, Cavanagh J. Structure, binding interface and hydrophobic transitions of Ca2+-loaded calbindin-D(28K). Nat Struct Mol Biol. 2006;13(7):641-7.

40. Hsiao HW, Tsai KL, Wang LF, Chen YH, Chiang PC, Chuang SM, et al. The decline of autophagy contributes to proximal tubular dysfunction during sepsis. Shock. 2012;37(3):289-96.

41. Palviainen M, Raekallio M, Rajamäki MM, Linden J, Vainio O. Kidney-derived proteins in urine as biomarkers of induced acute kidney injury in sheep. Vet J. 2012;193(1):287-9.

42. Harrison DJ, Kharbanda R, Cunningham DS, McLellan LI, Hayes JD. Distribution of glutathione S-transferase isoenzymes in human kidney: basis for possible markers of renal injury. J Clin Pathol. 1989;42(6):624-8.

43. Sundberg AG, Appelkvist EL, Bäckman L, Dallner G. Urinary pi-class glutathione transferase as an indicator of tubular damage in the human kidney. Nephron. 1994;67(3):308-16.

44. Brott DA, Adler SH, Arani R, Lovick SC, Pinches M, Furlong ST. Characterization of renal biomarkers for use in clinical trials: biomarker evaluation in healthy volunteers. Drug Des Devel Ther. 2014;8:227-37.

45. Stahl RA, Thaiss F, Disser M, Helmchen U, Hora K, Schlöndorff D. Increased expression of monocyte chemoattractant protein-1 in anti-thymocyte antibody-induced glomerulonephritis. Kidney Int. 1993;44(5):1036-47.

46. Carr MW, Roth SJ, Luther E, Rose SS, Springer TA. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91(9):3652-6.

47. Lloyd CM, Minto AW, Dorf ME, Proudfoot A, Wells TN, Salant DJ, et al. RANTES and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) play an important role in the inflammatory phase of crescentic nephritis, but only MCP-1 is involved in crescent formation and interstitial fibrosis. J Exp Med. 1997;185(7):1371-80.

48. Urbschat A, Obermüller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. Biomarkers. 2011;16 Suppl 1:S22-30.

49. Grams ME, Astor BC, Bash LD, Matsushita K, Wang Y, Coresh J. Albuminuria and estimated glomerular filtration rate independently associate with acute kidney injury. J Am Soc Nephrol. 2010;21(10):1757-64.

50. McDuffie JE, Ma JY, Sablad M, Sonee M, Varacallo L, Louden C, et al. Time course of renal proximal tubule injury, reversal, and related biomarker changes in rats following cisplatin administration. Int J Toxicol. 2013;32(4):251-60.

51. Cullen MR, Jhanji S, Pearse RM, Fitzgibbon MC. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and albuminuria as predictors of acute kidney injury in patients treated with goal-directed haemodynamic therapy after major abdominal surgery. Ann Clin Biochem. 2014;51(Pt 3):392-9.

52. Herrero-Morín JD, Málaga S, Fernández N, Rey C, Diéguez MA, Solís G, et al. Cystatin C and beta2-microglobulin: markers of glomerular filtration in critically ill children. Crit Care. 2007;11(3):R59.

53. Dieterle F, Perentes E, Cordier A, Roth DR, Verdes P, Grenet O, et al. Urinary clusterin, cystatin C, beta2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury. Nat Biotechnol. 2010;28(5):463-9.

54. Zhang Z, Lu B, Sheng X, Jin N. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis. Am J Kidney Dis. 2011;58(3):356-65.

55. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. N Engl J Med. 2012;367(1):20-9.

56. Peterson PA, Evrin PE, Berggård I. Differentiation of glomerular, tubular, and normal proteinuria: determinations of urinary excretion of beta-2-macroglobulin, albumin, and total protein. J Clin Invest. 1969;48(7):1189-98.

57. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. J Am Soc Nephrol. 2006;17(6):1503-20.

58. Hoste EA, McCullough PA, Kashani K, Chawla LS, Joannidis M, Shaw AD, et al. Derivation and validation of cutoffs for clinical use of cell cycle arrest biomarkers. Nephrol Dial Transplant. 2014;29(11):2054-61.

59. Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, Artigas A, Bagshaw SM, Bell M, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. Crit Care. 2013;17(1):R25.

60. Bell M, Larsson A, Venge P, Bellomo R, Mårtensson J. Assessment of cell-cycle arrest biomarkers to predict early and delayed acute kidney injury. Dis Markers. 2015;2015:158658.

61. Gunnerson KJ, Shaw AD, Chawla LS, Bihorac A, Al-Khafaji A, Kashani K, et al. TIMP2•IGFBP7 biomarker panel accurately predicts acute kidney injury in high-risk surgical patients. J Trauma Acute Care Surg. 2016;80(2):243-9.

62. Daubin D, Cristol JP, Dupuy AM, Kuster N, Besnard N, Platon L, et al. Urinary Biomarkers IGFBP7 and TIMP-2 for the Diagnostic Assessment of Transient and Persistent Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients. PLoS One. 2017;12(1):e0169674.

63. Seo DW, Li H, Qu CK, Oh J, Kim YS, Diaz T, et al. Shp-1 mediates the antiproliferative activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human microvascular endothelial cells. J Biol Chem. 2006;281(6):3711-21.

64. Seo DW, Li H, Guedez L, Wingfield PT, Diaz T, Salloum R, et al. TIMP-2 mediated inhibition of angiogenesis: an MMP-independent mechanism. Cell. 2003;114(2):171-80.

65. Dusse F, Edayadiyil-Dudásova M, Thielmann M, Wendt D, Kahlert P, Demircioglu E, et al. Early prediction of acute kidney injury after transapical and transaortic aortic valve implantation with urinary G1 cell cycle arrest biomarkers. BMC Anesthesiol. 2016;16:76.

66. Masciantonio MG, Lee CKS, Arpino V, Mehta S, Gill SE. The Balance Between Metalloproteinases and TIMPs: Critical Regulator of Microvascular Endothelial Cell Function in Health and Disease. Prog Mol Biol Transl Sci. 2017;147:101-31.

67. Witzgall R, Brown D, Schwarz C, Bonventre JV. Localization of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos, and clusterin in the postischemic kidney. Evidence for a heterogenous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and dedifferentiated cells. J Clin Invest. 1994;93(5):2175-88.

68. Hidaka S, Kränzlin B, Gretz N, Witzgall R. Urinary clusterin levels in the rat correlate with the severity of tubular damage and may help to differentiate between glomerular and tubular injuries. Cell Tissue Res. 2002;310(3):289-96.

69. Guo J, Guan Q, Liu X, Wang H, Gleave ME, Nguan CY, et al. Relationship of clusterin with renal inflammation and fibrosis after the recovery phase of ischemia-reperfusion injury. BMC Nephrol. 2016;17(1):133.

70. Jin ZK, Tian PX, Wang XZ, Xue WJ, Ding XM, Zheng J, et al. Kidney injury molecule-1 and osteopontin: new markers for prediction of early kidney transplant rejection. Mol Immunol. 2013;54(3-4):457-64.

71. Wang J, Tang Q, Qiu Y, Xu M, Rong R, Zhu T. Osteopontin level correlates with acute cellular renal allograft rejection. J Surg Res. 2013;182(1):161-5.

72. Zuo L, Du Y, Lu M, Gao J, Hu R, Zhang S, et al. Atorvastatin inhibits hyperglycemia-induced expression of osteopontin in the diabetic rat kidney via the p38 MAPK pathway. Mol Biol Rep. 2014;41(4):2551-8.

73. Yu Y, Jin H, Holder D, Ozer JS, Villarreal S, Shughrue P, et al. Urinary biomarkers trefoil factor 3 and albumin enable early detection of kidney tubular injury. Nat Biotechnol. 2010;28(5):470-7.

74. Astor BC, Köttgen A, Hwang SJ, Bhavsar N, Fox CS, Coresh J. Trefoil factor 3 predicts incident chronic kidney disease: a case-control study nested within the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Am J Nephrol. 2011;34(4):291-7.

75. Du TY, Luo HM, Qin HC, Wang F, Wang Q, Xiang Y, et al. Circulating serum trefoil factor 3 (TFF3) is dramatically increased in chronic kidney disease. PLoS One. 2013;8(11):e80271.

76. Endre ZH. Recovery from acute kidney injury: the role of biomarkers. Nephron Clin Pract. 2014;127(1-4):101-5.

77. Endre ZH, Pickering JW, Walker RJ, Devarajan P, Edelstein CL, Bonventre JV, et al. Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function. Kidney Int. 2011;79(10):1119-30.

78. Nickolas TL, Schmidt-Ott KM, Canetta P, Forster C, Singer E, Sise M, et al. Diagnostic and prognostic stratification in the emergency department using urinary biomarkers of nephron damage: a multicenter prospective cohort study. J Am Coll Cardiol. 2012;59(3):246-55.

79. Kokkoris S, Parisi M, Ioannidou S, Douka E, Pipili C, Kyprianou T, et al. Combination of renal biomarkers predicts acute kidney injury in critically ill adults. Ren Fail. 2012;34(9):1100-8.

80. Prowle JR, Calzavacca P, Licari E, Ligabo EV, Echeverri JE, Bagshaw SM, et al. Combination of biomarkers for diagnosis of acute kidney injury after cardiopulmonary bypass. Ren Fail. 2015;37(3):408-16.

81. Lieske JC, Chawla L, Kashani K, Kellum JA, Koyner JL, Mehta RL. Biomarkers for acute kidney injury: where are we today? Where should we go? Clin Chem. 2014;60(2):294-300.

82. Joslin J, Ostermann M. Care of the critically ill emergency department patient with acute kidney injury. Emerg Med Int. 2012;2012:760623.

83. Bagshaw SM, George C, Dinu I, Bellomo R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. Nephrol Dial Transplant. 2008;23(4):1203-10.

84. Ostermann M, Chang RW. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. Crit Care Med. 2007;35(8):1837-43; quiz 52.

85. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. Semin Nephrol. 2003;23(5):460-4.

86. Ronco C, Ricci Z. The concept of risk and the value of novel markers of acute kidney injury. Crit Care. 2013;17(1):117.

87. Siew ED, Ware LB, Ikizler TA. Biological markers of acute kidney injury. J Am Soc Nephrol. 2011;22(5):810-20.

88. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury. Expert Opin Med Diagn. 2008;2(4):387-98.

89. Canaud G, Bonventre JV. Cell cycle arrest and the evolution of chronic kidney disease from acute kidney injury. Nephrol Dial Transplant. 2014.

90. Pianta TJ, Peake PW, Pickering JW, Kelleher M, Buckley NA, Endre ZH. Evaluation of biomarkers of cell cycle arrest and inflammation in prediction of dialysis or recovery after kidney transplantation. Transpl Int. 2015;28(12):1392-404.

91. Boonstra J, Post JA. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. Gene. 2004;337:1-13.

92. Yang QH, Liu DW, Long Y, Liu HZ, Chai WZ, Wang XT. Acute renal failure during sepsis: potential role of cell cycle regulation. J Infect. 2009;58(6):459-64.

93. Zuo S, Liu C, Wang J, Wang F, Xu W, Cui S, et al. IGFBP-rP1 induces p21 expression through a p53-independent pathway, leading to cellular senescence of MCF-7 breast cancer cells. J Cancer Res Clin Oncol. 2012;138(6):1045-55.

94. Parikh CR, Butrymowicz I, Yu A, Chinchilli VM, Park M, Hsu CY, et al. Urine stability studies for novel biomarkers of acute kidney injury. Am J Kidney Dis. 2014;63(4):567-72.

95. Iannone MA, Consler TG, Pearce KH, Stimmel JB, Parks DJ, Gray JG. Multiplexed molecular interactions of nuclear receptors using fluorescent microspheres. Cytometry. 2001;44(4):326-37.

96. Cho E, Kim SC, Kim MG, Jo SK, Cho WY, Kim HK. The incidence and risk factors of acute kidney injury after hepatobiliary surgery: a prospective observational study. BMC Nephrol. 2014;15:169.

97. Zhang J, Feng G, Yang Y, Zhang P, Pu C, Zhao G. Acute kidney injury after radical gastrectomy: a single center study. Int Urol Nephrol. 2014;46(5):973-7.

98. Fantin JPP, de Carvalho Neiva R, Gatti M, de Arruda PF, de Arruda JGF, Antoniassi T, et al. Risk factors for acute renal failure in nephrectomized patients treated in a university hospital. Transl Androl Urol. 2017;6(2):277-81.

99. Slankamenac K, Breitenstein S, Held U, Beck-Schimmer B, Puhan MA, Clavien PA. Development and validation of a prediction score for postoperative acute renal failure following liver resection. Ann Surg. 2009;250(5):720-8.

100. Gameiro J, Neves JB, Rodrigues N, Bekerman C, Melo MJ, Pereira M, et al. Acute kidney injury, long-term renal function and mortality in patients undergoing major abdominal surgery: a cohort analysis. Clin Kidney J. 2016;9(2):192-200.

101. Mizota T, Dong L, Takeda C, Shiraki A, Matsukawa S, Shimizu S, et al. Transient acute kidney injury after major abdominal surgery increases chronic kidney disease risk and 1-year mortality. J Crit Care. 2019;50:17-22.

102. O'Connor ME, Kirwan CJ, Pearse RM, Prowle JR. Incidence and associations of acute kidney injury after major abdominal surgery. Intensive Care Med. 2016;42(4):521-30.

103. Puckett JR, Pickering JW, Palmer SC, McCall JL, Kluger MT, De Zoysa J, et al. Low Versus Standard Urine Output Targets in Patients Undergoing Major Abdominal Surgery: A Randomized Noninferiority Trial. Ann Surg. 2017;265(5):874-81.

104. Hunsicker O, Feldheiser A, Weimann A, Liehre D, Sehouli J, Wernecke KD, et al. Diagnostic value of plasma NGAL and intraoperative diuresis for AKI after major gynecological surgery in patients treated within an intraoperative goal-directed hemodynamic algorithm: A substudy of a randomized controlled trial. Medicine (Baltimore). 2017;96(28):e7357.

105. Waikar SS, Sabbisetti VS, Bonventre JV. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. Kidney Int. 2010;78(5):486-94.

106. Ralib AM, Pickering JW, Shaw GM, Devarajan P, Edelstein CL, Bonventre JV, et al. Test characteristics of urinary biomarkers depend on quantitation method in acute kidney injury. J Am Soc Nephrol. 2012;23(2):322-33.

107. Romagnoli S, Zagli G, Tuccinardi G, Tofani L, Chelazzi C, Villa G, et al. Postoperative acute kidney injury in high-risk patients undergoing major abdominal surgery. J Crit Care. 2016;35:120-5.

108. Ronco C, Rizo-Topete L, Serrano-Soto M, Kashani K. Pro: Prevention of acute kidney injury: time for teamwork and new biomarkers. Nephrol Dial Transplant. 2017;32(3):408-13.

109. Pilarczyk K, Edayadiyil-Dudasova M, Wendt D, Demircioglu E, Benedik J, Dohle DS, et al. Urinary [TIMP-2]*[IGFBP7] for early prediction of acute kidney injury after coronary artery bypass surgery. Ann Intensive Care. 2015;5(1):50.

110. Kimmel M, Shi J, Latus J, Wasser C, Kitterer D, Braun N, et al. Association of Renal Stress/Damage and Filtration Biomarkers with Subsequent AKI during Hospitalization among Patients Presenting to the Emergency Department. Clin J Am Soc Nephrol. 2016;11(6):938-46.

111. Schanz M, Shi J, Wasser C, Alscher MD, Kimmel M. Urinary [TIMP-2] × [IGFBP7] for risk prediction of acute kidney injury in decompensated heart failure. Clin Cardiol. 2017;40(7):485-91.

112. Tecson KM, Erhardtsen E, Eriksen PM, Gaber AO, Germain M, Golestaneh L, et al. Optimal cut points of plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of acute kidney injury among critically ill adults: retrospective determination and clinical validation of a prospective multicentre study. BMJ Open. 2017;7(7):e016028.

113. Schanz M, Wasser C, Allgaeuer S, Schricker S, Dippon J, Alscher MD, et al. Urinary [TIMP-2]·[IGFBP7]-guided randomized controlled intervention trial to prevent acute kidney injury in the emergency department. Nephrol Dial Transplant. 2018.

114. Cummings JJ, Shaw AD, Shi J, Lopez MG, O'Neal JB, Billings FT. Intraoperative prediction of cardiac surgery-associated acute kidney injury using urinary biomarkers of cell cycle arrest. J Thorac Cardiovasc Surg. 2019;157(4):1545-53.e5.

115. Maizel J, Daubin D, Vong LV, Titeca-Beauport D, Wetzstein M, Kontar L, et al. Urinary TIMP2 and IGFBP7 Identifies High Risk Patients of Short-Term Progression from Mild and Moderate to Severe Acute Kidney Injury during Septic Shock: A Prospective Cohort Study. Dis Markers. 2019;2019:3471215.

116. Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. Crit Care. 2006;10(3):R73.

117. Bihorac A, Chawla LS, Shaw AD, Al-Khafaji A, Davison DL, Demuth GE, et al. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication. Am J Respir Crit Care Med. 2014;189(8):932-9.

118. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. Kidney Int. 2016;89(3):555-64.

119. Haase M, Kellum JA, Ronco C. Subclinical AKI--an emerging syndrome with important consequences. Nat Rev Nephrol. 2012;8(12):735-9.

120. Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Cruz DN, Wagener G, et al. The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies. J Am Coll Cardiol. 2011;57(17):1752-61.

121. Murray PT, Mehta RL, Shaw A, Ronco C, Endre Z, Kellum JA, et al. Potential use of biomarkers in acute kidney injury: report and summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative consensus conference. Kidney Int. 2014;85(3):513-21.

122. Elmedany SM, Naga SS, Elsharkawy R, Mahrous RS, Elnaggar AI. Novel urinary biomarkers and the early detection of acute kidney injury after open cardiac surgeries. J Crit Care. 2017;40:171-7.

123. Oezkur M, Gorski A, Peltz J, Wagner M, Lazariotou M, Schimmer C, et al. Preoperative serum h-FABP concentration is associated with postoperative incidence of acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery. BMC Cardiovasc Disord. 2014;14:117.

124. Guenancia C, Kahli A, Laurent G, Hachet O, Malapert G, Grosjean S, et al. Pre-operative growth differentiation factor 15 as a novel biomarker of acute kidney injury after cardiac bypass surgery. Int J Cardiol. 2015;197:66-71.

125. Heringlake M, Charitos EI, Erber K, Berggreen AE, Heinze H, Paarmann H. Preoperative plasma growth-differentiation factor-15 for prediction of acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery. Crit Care. 2016;20(1):317.

126. Koyner JL, Shaw AD, Chawla LS, Hoste EA, Bihorac A, Kashani K, et al. Tissue Inhibitor Metalloproteinase-2 (TIMP-2)·IGF-Binding Protein-7 (IGFBP7) Levels Are Associated with Adverse Long-Term Outcomes in Patients with AKI. J Am Soc Nephrol. 2015;26(7):1747-54.

127. Nisula S, Yang R, Poukkanen M, Vaara ST, Kaukonen KM, Tallgren M, et al. Predictive value of urine interleukin-18 in the evolution and outcome of acute kidney injury in critically ill adult patients. Br J Anaesth. 2015;114(3):460-8.

128. Hall IE, Coca SG, Perazella MA, Eko UU, Luciano RL, Peter PR, et al. Risk of poor outcomes with novel and traditional biomarkers at clinical AKI diagnosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2011;6(12):2740-9.

129. Xie Y, Wang Q, Wang C, Qi C, Ni Z, Mou S. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 predicts adverse outcomes in acute kidney injury: a case control study. Crit Care. 2016;20:286.

130. Parikh CR, Coca SG, Thiessen-Philbrook H, Shlipak MG, Koyner JL, Wang Z, et al. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery. J Am Soc Nephrol. 2011;22(9):1748-57.

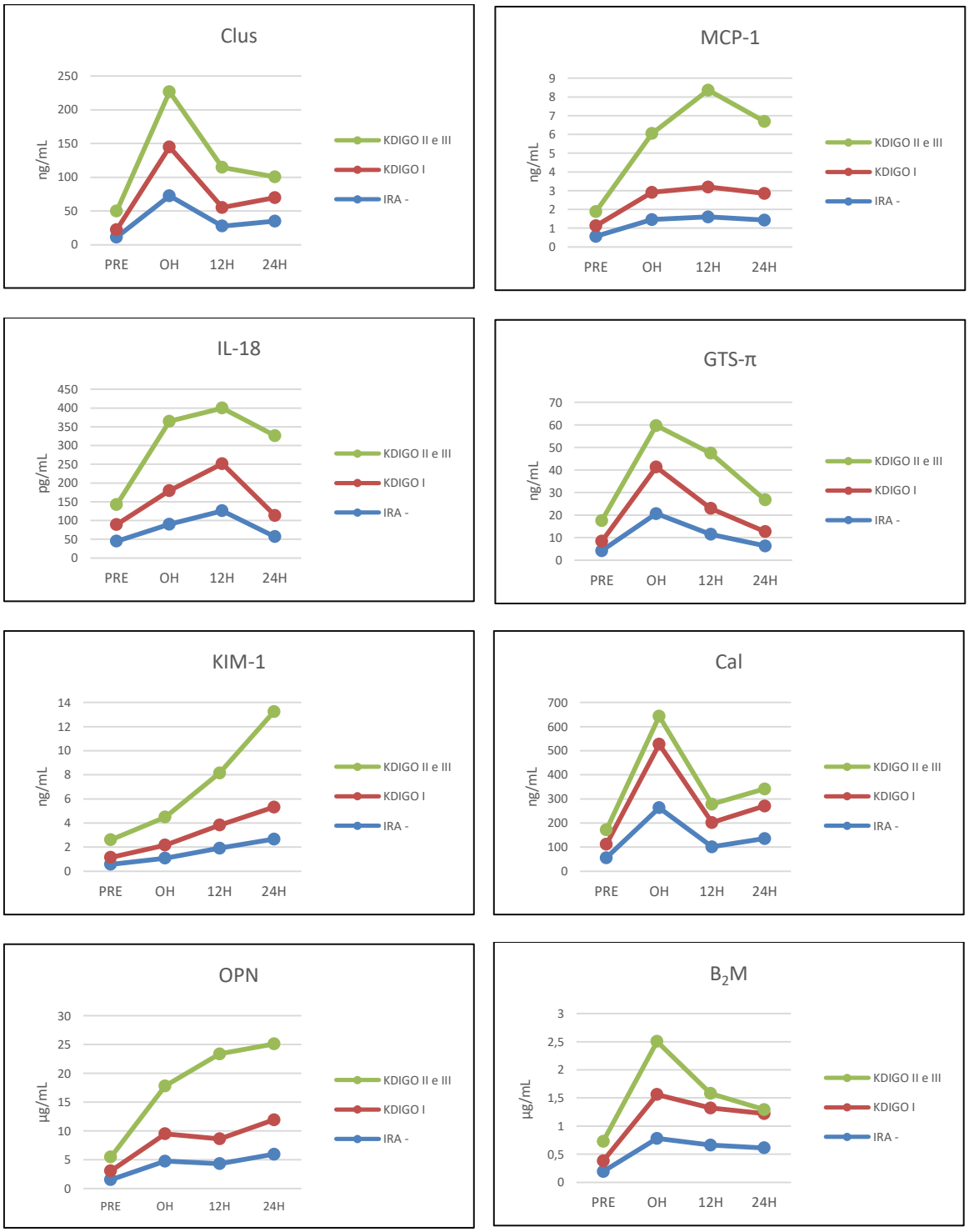
131. Doi K, Negishi K, Ishizu T, Katagiri D, Fujita T, Matsubara T, et al. Evaluation of new acute kidney injury biomarkers in a mixed intensive care unit. Crit Care Med. 2011;39(11):2464-9.

APÊNDICE

Avaliação temporal dos BMs

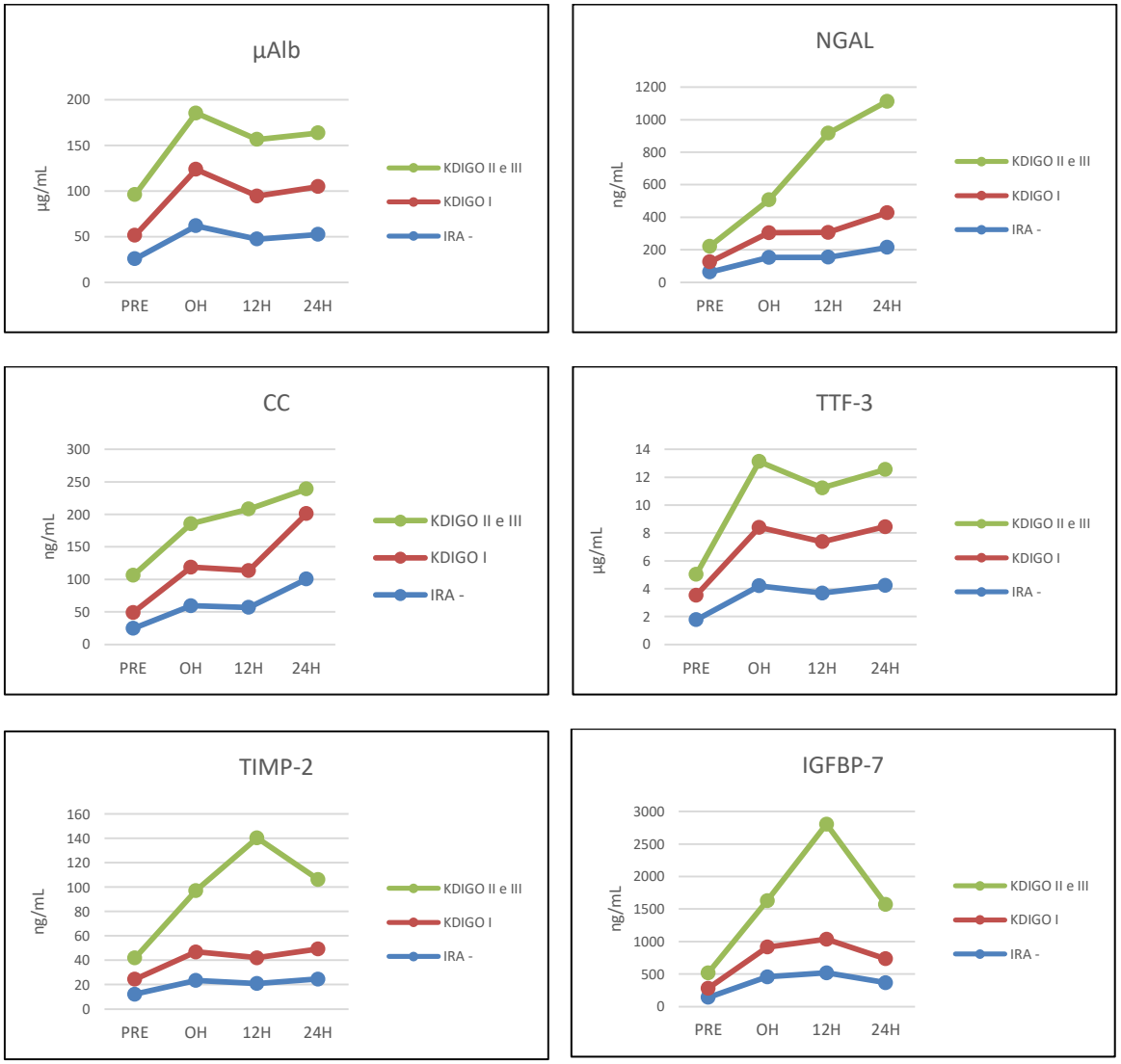
A análise da evolução temporal dos BM nos grupos IRA-, KDIGO I, KDIGO II/III pode ser vista nos gráficos abaixo (Gráfico 2), no qual estão apresentados como terceiro quartil de cada grupo. Ao observamos a cinética dos BMs MCP-1, IL-18, KIM-1, OPN, NGAL, IGFBP-7 e TIMP-2, percebemos que os pacientes KDIGO II/III possuem valores mais altos em todos os tempos ao compararmos com pacientes que não desenvolveram IRA, ou desenvolveram KDIGO I. Ademais, observa-se que estes BMs que diferenciam o grupo IRA KDIGO II/III dos outros pacientes, tem aumento exponencial a partir de 12 horas da admissão na UTI.

Gráfico 2. Evolução temporal dos BMs apresentada pelos do 3º quartil nos quatro momentos avaliados



Continua...

Gráfico 2 (conclusão). Evolução temporal dos BMs apresentada pelos do 3º quartil nos quatro momentos avaliados



IRA-: pacientes que não desenvolveram insuficiência renal aguda (IRA); KDIGO I: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar de grau leve (estágio I); KDIGO II e III: pacientes que desenvolveram IRA hospitalar grau moderado e grave (estágio II e III); PRÉ: coleta realizada na internação hospitalar; 0H: coleta realizada na admissão da UTI; 12H: coleta realizada após 12 horas da admisão na UTI; 24H: coleta realizada após 24 horas da admisão na UTI; Clus: clusterina; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos 1; IL-18: interleucina 18; GTS-π: pi-glutationa transferase-S; KIM-1: molécula de injúria renal I; Cal: calbindina; OPN: osteopontina; B_2M: beta dois microglobulina; µAlb: microalbumina; NGAL: lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos; CC: cistatina C; TFF3: fator trifólio três; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase -2; IGFBP-7: proteína ligadora-7 do fator de crescimento de insulina.