EDUARDO DE PAULA MIRANDA

Avaliação dos biomarcadores urinários no controle do tratamento de estenose de junção ureteropélvica em adultos

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

Programa de Urologia
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Jordão Duarte

São Paulo
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada

Miranda, Eduardo de Paula
Avaliação dos biomarcadores urinários no controle do tratamento de estenose de junção ureteropélvica em adultos / Eduardo de Paula Miranda. -- São Paulo, 2016.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Urologia.
Orientador: Ricardo Jordão Duarte.

Descritores: 1.Marcadores biológicos 2.Obstrução ureteral 3.Hidronefrose 4.Adulto 5.Diagnóstico 6.Curva ROC 7.Molécula de injúria renal tipo 1 8.Lipocalinas 9.Antígeno CA-19-9 10.Microglobulina-2 beta

USP/FM/DBD-019/16

Dedicatória

Aos meus pais, Walter e Angela, pelo amor incondicional, apoio constante em todas as fases da minha educação e do meu irmão Samuel. Sei que vocês nunca pouparam esforços para que eu conseguisse alcançar todos os meus sonhos e que tivesse oportunidades que vocês jamais tiveram. A vocês, dedico esse tese, bem como tudo o que sou e que um dia virei a ser.

A minha esposa Janaína, pelo companheirismo, amor, paciência, dedicação e cumplicidade com os nossos objetivos de vida, e aos filhos que um dia conceberemos. Hoje sei que juntos conseguiremos concretizar todos os nossos planos, não importa a dificuldade.

A minha família como um todo, que sempre acreditou em mim.

A meu amigo Ariel, que um dia viu em mim a capacidade que eu nem mesmo sabia possuir e graças ao seu incentivo consegui desafiar o improvável.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Miguel Srougi, professor titular de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo seu inestimável exemplo pessoal e profissional que sempre me inspirou a buscar o melhor dentro de mim e das outras pessoas.

Ao Prof. Dr. Alberto Azoubel Antunes, responsável pelo Programa de Pós-Graduação, por permitir a realização deste trabalho e por sempre incentivar a todos com sua serenidade e eficiência.

Ao Prof. Dr. Ricardo Jordão Duarte, pela orientação na elaboração desta tese, pela confiança depositada na minha capacidade, pela oportunidade de compartilhar seu conhecimento e sobretudo pela amizade e grande apoio até nos momentos mais difíceis.

Ao Dr. José de Bessa Júnior, pela análise estatística, mas sobretudo pelo companheirismo e por ter compartilhado comigo sua visão diferenciada do mundo e da ciência; tenho uma imensa estima pela sua amizade.

Ao Dr. Roberto Iglesias Lopes, pelo incentivo constante e aconselhamento acadêmico, além da bela amizade que construímos nos últimos anos.

Aos meus colegas de residência, Bruno Nicolino Cezarino, Guilherme Philomeno Padovani, Paulo Renato Marcelo Moscardi, Rodrigo Freddi e Rubens Park, pela irmandade desenvolvida nos últimos anos e sem a qual não teria chegado aqui.

Aos assistentes do Grupo de Videolaparoscopia da Divisão de Urologia do HC-FMUSP que participaram das cirurgias durante a realização deste estudo: Anuar Ibrahim Mittre, Marco Antônio Arap, Victor Srougi e Hiury Silva Andrade.

Aos meus colegas de pós-graduação Rodolfo Bandeira e Alexandre Iscaife, com quem troquei experiências valiosas ao longo da realização deste trabalho.

Aos residentes que contribuíram na captação, tratamento cirúrgico e coleta de urina dos pacientes desta tese: Arnaldo José de Carvalho Fazoli, Carlos Alfredo Batagello, Davi Vischi Paluello, Fábio Pescarmona Gallucci, Paulo Afonso de Carvalho e Rafael Fagionato Locali.

A toda a equipe do Laboratório de Investigação Médica (LIM-55) de Urologia em especial a Profa. Dra. Kátia Ramos Moreira Leite, Sabrina Thalita dos Reis, Nayara Izabel Viana, Iran Amorim Silva, Vanessa Ribeiro Guimarães e Ruan César Aparecido Pimenta.

A toda equipe do Ambulatório da Divisão de Urologia do HC-FMUSP, pela disponibilidade e empenho em fornecer um serviço de excelência; sobretudo a Madalena Quintino, Maria José Pereira Calado, Gerson Morais Carneiro, Vilma Mendes Lopes e Elizabete Pereira; suas contribuições foram simplesmente inestimáveis.

A Sra. Elisa Cruz, pelo seu sempre atencioso e competente trabalho dentro de serviço de Pós-Graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio de pesquisa a este estudo e sem o qual o mesmo não poderia ter sido realizado.

Um agradecimento especial aos pacientes que participaram deste estudo.

“Algo só é impossível até que alguém duvide e resolva provar o contrário. ”

Albert Einstein

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da publicação:
Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço 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: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

Sumário

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas
Lista de figuras
Lista de tabelas
Resumo
Abstract
1 INTRODUÇÃO..... 1
1.1 Definição e epidemiologia..... 2
1.2 Quadro clínico..... 3
1.3 Fisiopatologia na obstrução na EJUP..... 4
1.4 Diagnóstico clínico e radiológico da EJUP..... 7
1.5 Tratamento cirúrgico da EJUP..... 12
1.6 Biomarcadores de obstrução do trato urinário..... 15
1.6.1 Molécula de injúria renal tipo 1..... 19
1.6.2 Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos humanos..... 21
1.6.3 Antígeno de carboidrato 19-9..... 23
1.6.4 ß2-microglobulina..... 25
1.7 Justificativa do estudo..... 26
2 OBJETIVOS..... 28
3 MÉTODOS..... 30
3.1 População do estudo..... 31
3.2 Grupo controle..... 32
3.3 Técnica cirúrgica..... 33
3.4 Desenho do estudo..... 34
3.4.1 Análise dos desfechos clínicos e radiológicos..... 35
3.4.2 Coleta e processamento das amostras de urina..... 36
3.5 Cálculo do tamanho amostral..... 40
3.6 Análise estatística..... 40
3.7 Considerações éticas e financiamento do estudo..... 42
4 RESULTADOS..... 43
5 DISCUSSÃO..... 61
6 CONCLUSÕES..... 76
7 ANEXOS..... 78
8 REFERÊNCIAS..... 85

APÊNDICES

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

=	igual
<	menor
>	maior
ANOVA	Análise de variância múltipla
AUC	Área sob a curva
CA19-9	Antígeno de carboidrato 19-9
CCR	Carcinoma de células renais
Cr	Creatinina
DMSA	Ácido dimercaptosuccínico
DTPA	Ácido dietilenotetraminopentaacético
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EJUP	Estenose de junção ureteropélvica
ELISA	*Enzyme linked immunosorbent assay*
FA	Fosfatase alcalina
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMUSP	Faculdade de Medicina da USP
FRD	Função renal diferencial
FSR	Fluxo sanguíneo renal
GGT	Gama-glutamil transferase
HC	Hospital das Clínicas
HN	Hidronefrose
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IP	Índice de probabilidade
IRA	Insuficiência renal aguda
JUP	Junção ureteropélvica ou ureteropiélica
kDa	kilodalton
KIM-1	Molécula de injúria renal tipo 1
LRA	Lesão renal aguda
MCP-1	Fator quimiotático para monócitos tipo 1
MEC	Matriz extracelular
mg	miligrama

ml	mililitro
NAG	N-acetyl-beta-D-glucosaminidase
NGAL	Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos
NOS	Óxido nítrico sintase
OUU	Obstrução ureteral unilateral
OR	Razão de chances
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
pg	picograma
RNM	Ressonância nuclear magnética
ROC	*Receiver operator characteristic*
ROS	Reactive oxygen species
SFU	Sociedade de Urologia Fetal
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TEM	Transição epitélio mesenquimal
TGFβ1	Fator de crescimento transformador beta 1
TNFα	Fator de necrose tumoral-α
TC	Tomografia computadorizada
TFG	Taxa de filtração glomerular
U	unidade
USG	Ultrassonografia
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
β2M	β2 – microglobulina
μg	micrograma

Lista de Figuras

Figura 1 - Esquema representando a fisiopatologia da lesão tubular secundária a obstrução urinária.....7

Figura 2 - Representação gráfica do cálculo do T1/2 utilizando uma curva de excreção do radiofármaco em um renograma com diurético..... 10

Figura 3 - Padrão de curvas de excreção do renograma proposto por Lee et al..... 11

Figura 4 - Modelo de exames de imagens solicitados na avaliação pré-operatória de EJUP.....12

Figura 5 - Representação dos biomarcadores de lesão renal de acordo com sítio de produção/liberação ao longo do néfron..... 18

Figura 6 - Imagens intraoperatórias da pieloplastia videolaparoscópica. **A:** incisão do sulco paracólico; **B**: Identificação ureteral; **C**: Segmento ureteral obstruído; **D**: Ressecção do ponto estenótico; **E**: Espatulação ureteral; **F**: Passagem de forma anterógrada do cateter duplo J..... 34

Figura 7 - Diagrama representando o cronograma de avaliação dos pacientes com EJUP submetidos a pieloplastia.....35

Figura 8 - Imagens representativas do Teste ELISA. A – Preparação das amostras com a solução; B – placa revestida no agitador para incubação; C - demonstração do produto da reação enzima-substrato que transforma a solução de amarelo para azul após adição de solução de parada..... 40

Figura 9 - Comparação entre os valores de KIM-1 pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles ($p < 0,0001$) 48

Figura 10 - Comparação entre os valores de NGAL pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles ($p = 0,0003$) 49

Figura 11 - Comparação entre os valores de CA19-9 pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles (p = 0,0005) 49

Figura 12 - Comparação entre os valores de β2M pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles (p = 0,06) 50

Figura 13 - Gráfico demonstrativo das concentrações de KIM-1 ao longo de 6 meses após a pieloplastia (p < 0,0001) 51

Figura 14 - Gráfico demonstrativo das concentrações de NGAL ao longo de 6 meses após a pieloplastia (p < 0,0001) 51

Figura 15 - Gráfico demonstrativo das concentrações de CA19-9 ao longo de 6 meses após a pieloplastia (p < 0,0001) 52

Figura 16 - Gráfico demonstrativo das concentrações de β2M ao longo de 6 meses após a pieloplastia (p = 0,13) 52

Figura 17 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do KIM-1 em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,79 (95% CI 0,70 a 0,89)..... 53

Figura 18 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do NGAL em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,71 (95% CI 0,61 a 0,83)..... 54

Figura 19 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do CA 19-9 em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,70 (95% CI 0,60 a 0,81)..... 54

Figura 20 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do β2M em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,61 (95% CI 0,50 a 0,73)..... 55

Figura 21 - Curva Kaplan-Meyer representando clareamento de 50% do valor pré-operatório dos biomarcadores urinários..... 58

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Painel evidenciando biomarcadores que serão estudados juntamente com local de produção e aplicação nos diferentes tipos de injúria renal..... 19

Tabela 2 - Características demográficas dos pacientes com EJUP submetidos a pieloplastia e do grupo controle.....45

Tabela 3 - Características clínicas da população de pacientes com EJUP submetidos a pieloplastia laparoscópica.....46

Tabela 4 - Valores médios da concentração de cada biomarcador em cada uma das amostras. Resultados são mostrados com médias ± erro padrão da média (EPM) 47

Tabela 5 - Medidas de sensibilidade e especificidade para os diferentes valores de corte empregados nos biomarcadores estudados.....56

Tabela 6 - Propriedades diagnósticas dos biomarcadores urinários KIM-1, NGAL e CA 19-9 geradas pelas diferentes possibilidades de análise combinada.....57

Tabela 7 - Análise univariada realizada na investigação de fatores preditores de sucesso na pieloplastia.....60

Resumo

Miranda EP. *Avaliação dos biomarcadores urinários no controle do tratamento de estenose de junção ureteropélvica em adultos* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO E OBJETIVO: A estenose de junção ureteropélvica (EJUP) é importante causa de obstrução do trato urinário e pode levar a deterioração progressiva da função renal. Há espaço para o aprimoramento de novos métodos diagnósticos capazes de discriminar hidronefrose e uropatia obstrutiva. Acredita-se que os biomarcadores urinários podem fornecer indícios de lesão renal precoce na obstrução urinária. Neste contexto, KIM-1 pode elevar-se na urina por lesão tubular proximal, NGAL por lesão no túbulo proximal, distal ou alça de Henle, CA19-9 por produção excessiva no túbulo obstruído e β2-microglobulina (β2M) por injúria ao glomérulo ou ao túbulo proximal. O objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades diagnósticas dos biomarcadores urinários citados em adultos com EJUP, sendo o primeiro estudo na literatura a avaliar tais moléculas nesta população. MÉTODOS: Foram estudados de modo prospectivo pacientes consecutivos acima de 18 anos com diagnóstico de EJUP submetidos a pieloplastia videolaparoscópica de dezembro de 2013 a fevereiro de 2015. Foram excluídos do estudo pacientes com EJUP bilateral, rim contralateral patológico, EJUP em rim único, antecedentes de tratamento cirúrgico para estenose de JUP ou taxa de filtração glomerular inferior a 60 ml/min/1,73m^2. Cada paciente forneceu quatro amostras de urina para medição de biomarcadores, uma no pré-operatório e outras com 1, 3 e 6 meses de seguimento pós-operatório. O grupo controle foi constituído por voluntários saudáveis sem hidronefrose à ultrassonografia. RESULTADOS: Foram incluídos 47 pacientes com idade média de 38,6 ± 12,7 anos (intervalo 19 a 64 anos), sendo 17 (36,2%) do sexo masculino e 30 (62,8%) do sexo feminino. O grupo controle foi composto por 40 indivíduos semelhantes ao grupo com EJUP no que concerne idade (p = 0,95) e sexo (p = 0,82). KIM-1 foi o marcador com melhores propriedades diagnósticas, apresentando área sob a curva (AUC) de 0,79 (95% CI 0,70 a 0,89). O NGAL, por sua vez, teve AUC de 0,71 (95% CI 0,61 a 0,83), CA19-9 teve AUC de 0,70 (95% CI 0,60 a 0,81) e β2M apresentou AUC de 0,61 (95% CI 0,50 a 0,73), sendo o único biomarcador com propriedades inadequadas neste cenário. O KIM-1 foi o marcador mais sensível com o ponto de corte 170,4 pg/mg de creatinina (sensibilidade 91,4%, especificidade 59,1%) e o CA 19-9 o mais específico para o ponto de corte de 51,3 U/mg de creatinina (sensibilidade 48,9%, especificidade 88,0%), enquanto o NGAL foi o que apresentou maior queda após desobstrução, com 90,0% dos pacientes apresentando clareamento superior a 50%. CONCLUSÕES: A avaliação dos biomarcadores urinários é útil no diagnóstico de obstrução em adultos com EJUP submetidos a pieloplastia videolaparoscópica. O KIM-1 foi o marcador mais sensível e o CA 19-9 o mais específico, enquanto o NGAL foi o que apresentou maior que com a desobstrução. Houve queda das concentrações dos marcadores após pieloplastia no período estudado. O papel exato dos biomarcadores urinários no cenário de obstrução em adultos deve ser mais amplamente investigado.

Descritores: Marcadores biológicos; Obstrução ureteral; Hidronefrose; Adulto; Diagnóstico; curva ROC; Molécula de lesão renal tipo 1; Lipocalinas; Antígeno CA-19-9; Microglobulina-2 beta.

Abstract

Miranda EP. *The role of urinary biomarkers in the assessment of ureteropelvic junction obstruction in adults* [thesis]. Sao Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

INTRODUCTION AND OBJECTIVE: Ureteropelvic junction obstruction (UPJO) is an important cause of urinary tract obstruction and can lead to progressive deterioration of renal function. Thus the development of novel non-invasive methods capable of discriminating obstruction and hydronephrosis may be useful. Elevation of urinary biomarkers may provide early evidence of kidney damage in urinary obstruction. In this scenario, urinary concentrations of KIM-1 may be elevated following proximal tubular injury, while NGAL may increase as result of injury to proximal or distal tubule as well as to loop of Henle, CA19-9 after overproduction in the obstructed tubule and β2 microglobulin (β2M) after injury to the glomerulus or the proximal tubule. The aim of this study was to evaluate the diagnostic properties of these urinary biomarkers in adults with UPJO. METHODS: We prospectively studied consecutive patients older than 18 years diagnosed with UPJO undergoing laparoscopic pyeloplasty from December 2013 to February 2015 in our institution. Exclusion criteria included patients with bilateral UPJO, unilateral UPJO with contralateral pathologic kidney, solitary kidney, history of previous surgical treatment for UPJO or glomerular filtration rate below 60 ml/min/1,73m^2. Each patient provided four voided urine samples for biomarker measurement, one at preoperative consultation and the others at 1, 3 and 6 months of postoperative follow-up. Healthy individuals with no hydronephrosis on ultrasound evaluation constituted our control group. RESULTS: We included 47 patients with a mean age of 38.6 ± 12.7 years (range 19-64 years), from which 17 (36.2%) were males and 30 (62.8%) were females. The control group consisted of 40 subjects with no statistical difference to the study group regarding age ($p = 0.95$) and gender ($p = 0.82$). KIM-1 had an area under the curve (AUC) of 0.79 (95% CI 0.70 to 0.89) and was the biomarker with the best diagnostic properties. CA19-9 had an AUC of 0.70 (95% CI 0.60 to 0.81), NGAL had an AUC of 0.71 (95% CI 0.61 to 0.83) and β2M had an AUC of 0.61 (95% CI 0.50 to 0.73). KIM-1 was the most sensitive marker with a cutoff of 170.4 pg/mg creatinine (sensitivity 91.4%, specificity 59.1%) whereas CA 19-9 as the most specific one, displaying a cutoff of 51.3 U/mg creatinine (sensitivity 48.9%, specificity 88.0%). NGAL showed the greatest decrease in urinary concentrations after pyeloplasty, in which 90.0% of patients had a clearance greater than 50% in comparison to preoperative values. CONCLUSIONS: The evaluation of urinary biomarkers is useful in the assessment of UPJO in adults undergoing laparoscopic pyeloplasty. Urinary concentrations of CA 19-9, NGAL and KIM-1 were elevated in patients with UPJO and significantly decreased after pyeloplasty. The exact role of those biomarkers in the setting of obstruction in adults should be further evaluated.

Descriptors: Biological, markers; Ureteral obstruction; Hydronephrosis; Adult; Diagnosis; ROC curve; Kidney injury molecule-1; Lipocalins; CA-19-9 antigen; Beta 2-microglobulin.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Definição e Epidemiologia

A presença de dilatação da pelve e dos cálices renais é conhecida como hidronefrose (HN) e é a anomalia mais comum detectada em estudos de ultrassonografia (USG) pré-natal, compreendendo cerca de 1-5% de todas as gestações[1, 2]. A prevalência varia de acordo com os critérios diagnósticos para definir dilatação significativa, chegando a 0,5% de todos os nascidos vivos, afetando mais os meninos e com aproximadamente 80% dos casos unilaterais[3].

Assim, HN é uma entidade anatômica que pode ser definida por uma dilatação na pelve e nos cálices renais causada por um aumento da pressão hidrostática[4], o que representa um vasto espectro de condições urológicas. Neste contexto sabe-se que a obstrução do trato urinário pode levar à perda permanente da função do rim afetado[5]. Ademais, o rim obstruído torna-se propenso à ruptura traumática, à formação de cálculos, à dor recorrente, a infecções do trato urinário e a sangramentos[6]. Dentre as principais causas de obstrução urinária, destaca-se a estenose de junção ureteropélvica (EJUP), que é uma das malformações congênitas mais comuns do trato urinário, correspondendo a cerca de 25 % de todos os casos de hidronefrose na infância[7-10]. A real prevalência da EJUP na população adulta permanece desconhecida, contudo estima-se que seja de 1:1500 indivíduos[11]. Acredita-se ainda que a maioria dos casos de EJUP nos adultos seja secundária e não uma EJUP congênita de diagnóstico tardio, no entanto há evidências controversas a respeito[11-13].

EJUP provoca perturbações de drenagem da urina da pelve renal para o ureter proximal, levando ao desenvolvimento de caliectasias e hidronefrose. EJUP não representa uma única entidade anatômica, mas sim um grupo de processos obstrutivos que resultam de

vários fatores etiológicos. Além disso, EJUP possui diferentes graus de gravidade pelos diferentes fatores causais, dentre eles: presença de segmento ureteral adinâmico na junção entre o ureter e a pelve renal, compressão extrínseca do ureter proximal pela presença de vaso acessório e, mais raramente, pode ser o resultado de uma implantação anormal do ureter[14].

EJUP pode ser diagnosticada a qualquer momento, desde a vida intrauterina até a velhice. Com o aumento do uso de USG pré-natal de rotina, houve um número de diagnóstico de HN antenatal. EJUP congênita afeta cerca de 1: 1.000-2.000 nascidos vivos, com um relação masculino/feminino de 1:1. Dois terços dos casos congênitos afetam o rim esquerdo, com 10-46% ocorrendo bilateralmente[11, 15]. No entanto, alguns pacientes podem não apresentar obstrução funcional até a idade adulta. Os adultos são mais propensos a apresentar EJUP secundária a causas adquiridas. EJUP secundária pode ocorrer por causa de trauma, litíase urinária, infecções do trato urinário (ITU) superior, refluxo vesicoureteral, lesões uroteliais e iatrogenia[14]. A taxa de hospitalização entre os adultos por EJUP foi de 0,5/100.000 habitantes nos Estados Unidos no ano 2000[13].

1.2. Quadro clínico

O sintoma mais comum é a dor no flanco ipsilateral. No entanto, por se tratar de uma obstrução crônica e parcial, a EJUP não costuma produzir cólica renal tão intensa como nos casos de obstrução aguda. Os pacientes podem se queixar de dor mal localizada, dor abdominal difusa, que é muitas vezes atribuída a causas não-urológicas[13]. É comum haver o desencadeamento da dor através da ingesta de grande quantidade de líquidos, o que

geraria uma sobrecarga de urina na pelve renal, que por sua vez levaria a uma distensão aguda do sistema coletor, causando cólica renal. Outros podem apresentar-se com hematúria, infecções do trato urinário, cálculos renais ou queixas gastrointestinais vagas[12]. A EJUP pode ainda ser assintomática e ser diagnosticada incidentalmente por meio de exames de rotina[11, 12].

Se não tratada, a EJUP pode causar um aumento na pressão sobre o parênquima renal por uma distensão progressiva da pelve e dos cálices renais, o que pode levar a fibrose intersticial, perda de néfrons e, em última análise, insuficiência renal. Assim, o manejo adequado da EJUP é essencial, o que requer a identificação precoce de sinais e sintomas, diagnóstico preciso e tratamento imediato[11]. As indicações para a intervenção cirúrgica incluem dor, deterioração da função renal e infecções recorrentes[14].

1.3. Fisiopatologia da obstrução na EJUP

A obstrução pode ser definida clinicamente como uma condição de drenagem urinária prejudicada que, não corrigida, poderá limitar a capacidade de reserva funcional renal[16]. Dilatação da pelve e dos cálices renais pode ser consequência de tal processo e a diferenciação entre uma dilatação com ou sem obstrução é muitas vezes um problema[17]. Do mesmo modo a obstrução pode ocorrer de forma intermitente, o que dificulta o seu diagnóstico[18].

A resposta renal a uma obstrução do trato urinário é complexa e apenas parcialmente elucidada. As alterações patológicas incluem a inflamação intersticial, apoptose tubular, e fibrose intersticial[19-21]. Há uma série de eventos celulares e

moleculares que são dependentes de células intersticiais, na qual estão envolvidas várias citocinas, que agem como mediadores intercelulares de comunicação parácrina[22]. As citocinas são pequenas proteínas ou péptidos que abrangem vários subgrupos, tais como interleucinas, factores de crescimento, interferons, entre outros[23]. Além de desempenhar um papel significativo no crescimento celular, morte, diferenciação e função do rim, também parecem estar envolvidas na patogênese da nefropatia obstrutiva[24].

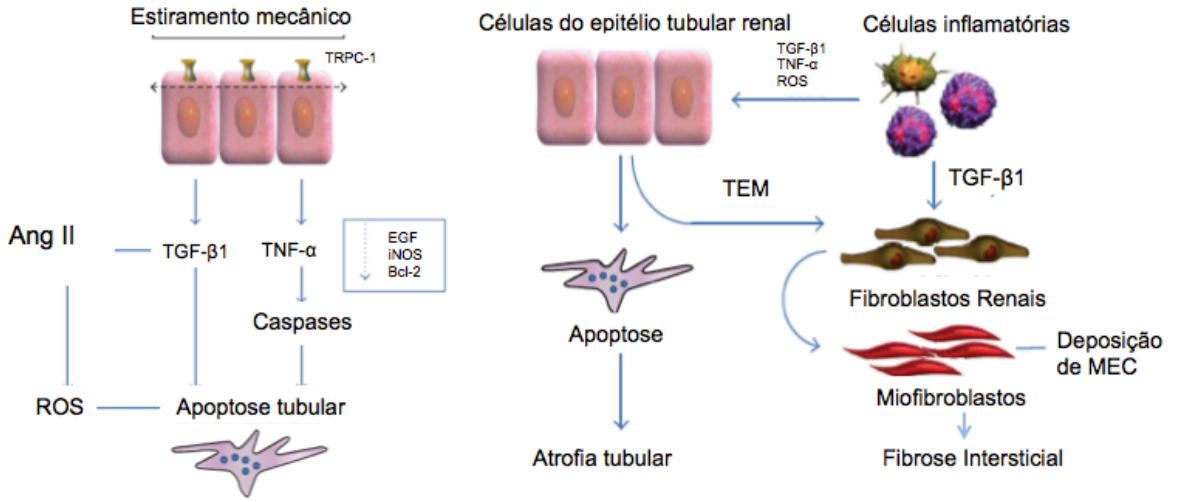
Já foi demonstrado que a lesão tubular renal é a consequência de estiramento mecânico das células tubulares. O aumento da pressão hidrostática reduz o fluxo sanguíneo tubular, resultando em hipóxia e liberação de radicais livres de oxigênio. Isso gera uma resposta inflamatória intersticial que é inicialmente caracterizada por infiltração de macrófagos, dilatação tubular e apoptose tubular renal, levando à atrofia tubular e fibrose intersticial com a perda de néfrons[20]. Os macrófagos participam na resposta inflamatória por meio da libertação de citocinas e fatores de crescimento, como o fator de necrose tumoral-α (TNF-α), fator de crescimento transformante-B1 (TGF-B1) e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)[25, 26]. Assim, o estiramento mecânico de células epiteliais induz a liberação de TGF-B1 e TNF-a, levando a apoptose celular em túbulos dilatados. Esta apoptose tubular é inibida por várias moléculas, por exemplo, iNOS, fator de crescimento epidérmico (EGF), e fator de crescimento insulina-like tipo 1 (IGF-1). Além disso, há deposição da matriz extracelular (MEC) como consequência do aumento da síntese e redução de sua degradação, juntamente com a transformação epitelial-mesenquimal (TEM), que é uma transformação de células tubulares renais para fibroblastos[27]. Concomitantemente há uma migração de células para o espaço intersticial, bem como uma outra transformação fenotípica dos fibroblastos para miofibroblastos[21]. Em

resumo, a ativação de todos estes processos tem, como a via final comum, o desenvolvimento de fibrose intersticial devido ao aumento da deposição de MEC, a infiltração celular, apoptose tubular, e a indução da TEM[28], como demonstrado na figura 1.

A capacidade de prever a recuperação da função renal após a desobstrução é de grande valor clínico para os urologistas e nefrologistas. Se uma melhoria da função renal parecer provável, o alívio cirúrgico pode ser indicado, mesmo que a perda inicial de função tenha sido considerável[29]. Estudos experimentais demonstraram que dentro das primeiras 2 horas de obstrução ureteral unilateral (OUU) completa, o impacto deletério do aumento da pressão no sistema coletor é compensada por um aumento no fluxo sanguíneo renal (FSR), mantendo assim a taxa de filtração glomerular (TFG). Três a quatro horas após o início da obstrução unilateral, FSR começa a diminuir resultando em um declínio na TFG. Destruição glomerular, atrofia tubular, fibrose intersticial começam dentro de 1 a 2 semanas de OUU e são irreversíveis após 6 a 8 semanas[27].

No entanto, obstrução urinária em humanos é frequentemente crônica e parcial, exceto na presença de cálculos ureterais ou quando há ligadura ureteral inadvertida. Muitas das mesmas alterações fisiológicas ocorrem após a OUU parcial, contudo eles tendem a ocorrer de forma mais gradual. A recuperação da função renal após resolução das OUU parcial foi avaliada por Leahy *et al* em um modelo canino, em que foi demonstrado que há recuperação completa se a obstrução parcial durou menos de 14 dias. Quando a obstrução durou 28 dias houve um retorno de 31% da função renal, e apenas uma recuperação de 8% foi observada quando a obstrução durou 60 dias[30]. Em geral, a função renal de base, o grau

de obstrução e o tempo são fatores determinantes na recuperação da função real após alívio da obstrução.



Adaptada de Lucarelli et al.

Figura 1 - Esquema representando a fisiopatologia da lesão tubular secundária a obstrução urinária[31].

1.4. Diagnóstico clínico e radiológico da EJUP

O diagnóstico de obstrução JUP baseia-se na combinação de manifestações clínicas e evidência cintilográfica de obstrução[12]. O impacto da USG pré-natal no diagnóstico EJUP tem aumentado ao longo das últimas décadas, em que houve a criação de um novo grupo de pacientes que são diagnosticados precocemente e, desse modo, uma população de recém-nascidos assintomáticos com graus variados de hidronefrose unilateral[3].

A Sociedade de Urologia Fetal (SFU) estabeleceu um sistema de classificação utilizado para EJUP utilizando o USG. Nesta classificação o grau 0 equivale a um exame normal, sem dilatação do sistema coletor; o grau 1 indica leve dilatação da pelve renal; grau

2 indica enchimento da pelve renal com extensão em alguns cálices; grau 3 quando há dilatação uniforme que se estende em todas os cálices com parênquima renal normal e grau 4 quando há grande dilatação com afilamento do parênquima[32]. Pode-se ainda dizer que os graus 1 e 2 equivalem a HN "leve", grau 3 HN "moderada" e grau 4 "grave". Não há no entanto sistema de classificação desenvolvido para a população adulta usando outro métodos diagnósticos, como a tomografia computadorizada (TC). Desta forma, outros trabalhos que tentam classificar a HN em adultos utilizam uma extrapolação do sistema citado.

A TC com contraste é o estudo radiológico ideal para avaliar a HN incidental em adultos. A fase sem contraste identifica cálculos urinários e calcificações. Realce tardio do rim afetado após a administração de contraste pode ser indicativo de um processo obstrutivo. Além disso, a presença de cruzamento de vasos anômalos pode ser detectada com uma sensibilidade e especificidade superior a 90% em pacientes com EJUP[33]. A Ressonância Nuclear Magnética (RNM) também fornece um estudo anatômico detalhado e pode ser utilizado em paciente com alergia a contraste iodado[13].

Embora USG, TC e RNM sejam capazes de fornecer algum grau de informação funcional, exames de medicina nuclear com radioisótopos, também conhecidos como renograma, são importantes para avaliar função renal e drenagem de urina através do sistema coletor. Como dilatação do sistema coletor nem sempre equivale a obstrução funcional significativa, o renograma é útil para avaliar o contexto da dilatação pélvica renal e constitui a investigação mais eficiente para quantificar o grau de obstrução e avaliar comprometimento da função renal[34, 35].

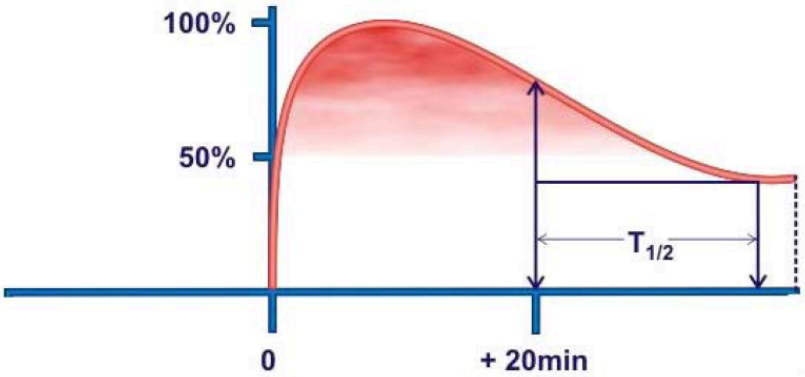
Assim sendo, o renograma com diurético é o principal estudo funcional utilizado

na avaliação de hidronefrose obstrutiva[36]. No nosso meio o principal radioisótopo utilizado é o ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA), que é filtrado livremente pelos glomérulos e que não é secretado nem reabsorvido pelos túbulos renais. Em contrapartida, outro radioisótopo utilizado é o ácido dimercaptosuccínico (DMSA). Diferentemente do renograma com DTPA, a cintilografia renal com DMSA é um exame estático em que este radiotraçador se concentra nos túbulos renais, fornecendo informações sobre a função tubular e a contribuição de cada unidade na função renal global[37].

Antes de se submeter a renograma com diurético, o doente deve ser bem hidratado e sua bexiga deve estar completamente vazia. Assim que a emissão radioativa é maximizada na pelve renal, um diurético, tal como furosemida, deve ser administrado, o que ocorre habitualmente com 20 minutos após a injeção do radiofármaco. Quando o resultado não for esclarecedor para determinação de obstrução, o que pode chegar a 15% dos casos, o renograma pode ser repetido com infusão de furosemida 15 minutos antes da administração do traçador, ou mesmo de forma concomitante. Turkolmez *et al* demonstraram que ambos os protocolos têm utilidade na avaliação de casos duvidosos[17], no entanto alguns casos ainda permanecem equívocos ao fim da investigação[38].

O tempo necessário para eliminar 50% do traçador é conhecido com T1/2 do sistema coletor e é um parâmetro amplamente utilizado na literatura para avaliar a presença de obstrução. A figura 2 demonstra a determinação do T1/2 a partir da curva fornecida pelo renograma. O T1/2 inferior a 10 minutos é considerado normal, superior a 20 minutos indica obstrução, e entre 10 e 20 minutos indica um resultado indeterminado ou obstrução equívoca. Resultados falso-positivos para obstrução podem ser vistos em unidades renais com grande dilatação do sistema coletor e / ou com baixa função renal na unidade estudada,

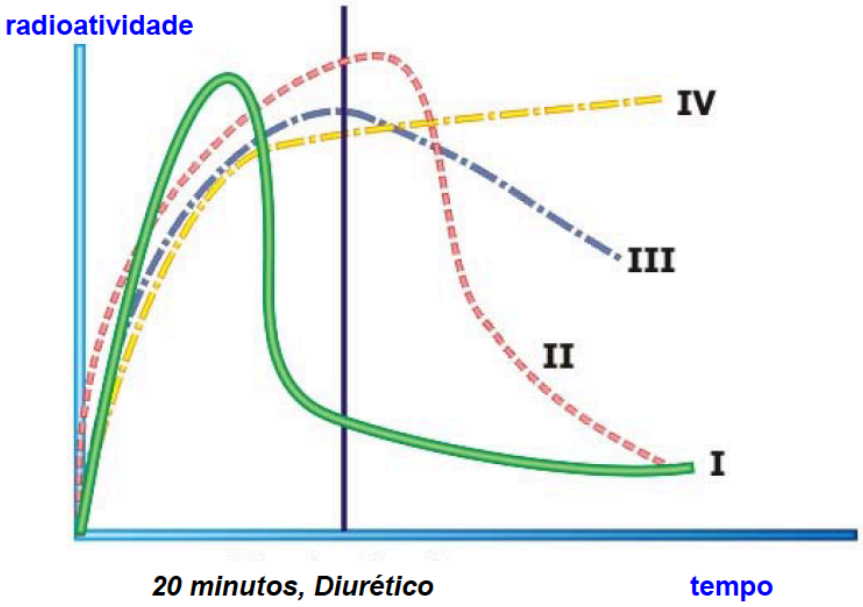
o que altera o tempo de excreção do radioisótopo sem necessariamente indicar obstrução[35].



Adaptado de O'Reilly et al.

Figura 2 - Representação gráfica do cálculo do T1/2 utilizando uma curva de excreção do radiofármaco em um renograma com diurético[35, 39].

Não apenas o tempo de excreção demonstrado pelo T1/2, mas também o formato das curvas geradas pelo renograma pode ser utilizado na determinação de obstrução do trato urinário. O padrão de curvas de excreção, bem como o tipo de resposta ao uso do diurético podem ser úteis na avaliação de EJUP. Para tanto podemos utilizar a classificação proposta por Lee *et al*[40], que corresponde a uma variação da classificação proposta por O'Reilly *et al*[41] e por Lupton *et al*[42]. Tal classificação divide as curvas em 4 grupos distintos como demonstrado na Figura 3: I – normal ou drenagem efetiva do radiofármaco antes do estímulo ao diurético; II – sem excreção inicial mas com rápida resposta ao estímulo diurético; III – sem excreção inicial e com resposta lenta ao diurético (padrão platô); IV- sem excreção na fase inicial e sem resposta ao diurético (padrão ascendente).



Adaptado de Lee et al.

Figura 3 - Padrão de curvas de excreção do renograma proposto por Lee *et al*[39, 40].

No Serviço de Videolaparoscopia da Divisão de Urologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) a avaliação pré-operatória rotineira de adultos com quadro de obstrução urinária é realizada por meio de tomografia computadorizada de abdome, juntamente com cintilografia renal com ácido dimercaptosuccínico (DMSA) e renograma de ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) com uso de diurético, como exemplificado na figura 4.

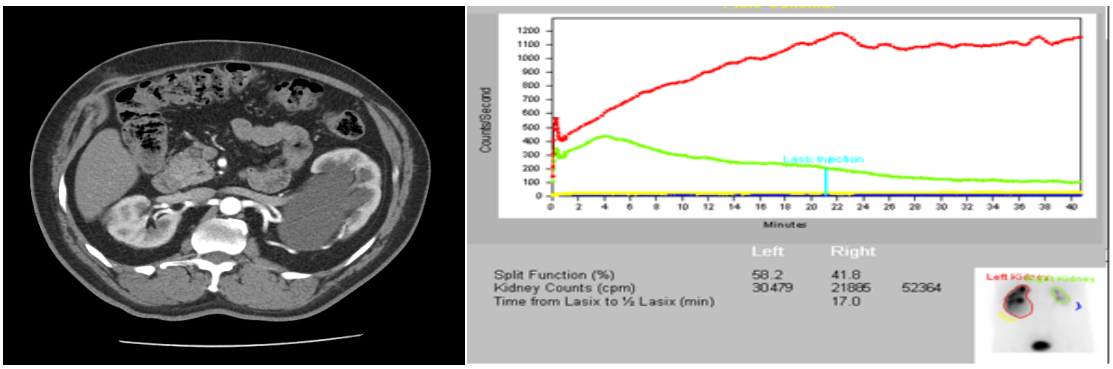


Figura 4 - Modelo de exames de imagens solicitados na avaliação pré-operatória de EJUP.

1.5. Tratamento cirúrgico da EJUP

EJUP impede o fluxo normal de urina da pelve renal para o ureter e se não tratada pode prejudicar significativamente a função renal. Desde a primeira tentativa por Trendelenburg em 1886, a pieloplastia tem se estabelecido com um procedimento com altos índices de sucesso[43]. No entanto, as técnicas de pieloplastia continuaram a evoluir, uma vez que cirurgias minimamente invasivas são agora consideradas alternativas viáveis com eficiência semelhante à cirurgia aberta[11, 44, 45]. Atualmente, a pieloplastia desmembrada por acesso videolaparoscópico pode ser considerada o padrão ouro de tratamento para a correção cirúrgica da estenose de JUP[46]. Apesar dos avanços contínuos em instrumentação e sistemas 3D, o procedimento continua a ser tecnicamente desafiador e é em grande parte realizada por cirurgiões laparoscópicos habilidosos em alguns centros médicos terciários. Estes desafios técnicos abriram o caminho para o desenvolvimento de pieloplastia assistida por robô[11].

As indicações para a intervenção cirúrgica em pacientes adultos com EJUP consistem em presença de rim hidronefrótico com deterioração da função renal estimada

por exames radioisotópicos, dor no flanco ipsilateral ou presença de infeções recorrentes do trato urinário[7, 46, 47].

Presença de cálculos renais e desenvolvimento de hipertensão também podem ser consideradas como indicações relativas de abordagem cirúrgica. O tratamento visa a melhorar a drenagem renal e consequentemente a função renal, além de garantir alívio dos sintomas clínicos. Na ausência destes, os paciente com diagnóstico de EJUP são acompanhados periodicamente com exames de imagem e funcionais até que a abordagem esteja indicada[11, 12, 48].

A fim de avaliar os resultados de longo prazo da pieloplastia, é importante definir primeiramente os critérios de sucesso do procedimento. Apesar de ser realizada desde 1886, a avaliação do resultado funcional de pieloplastia ainda é uma questão de debate, com resultados contraditórios[11]. Muitos pesquisadores e cirurgiões advogam que a melhora clínica deve ser o principal aspecto a ser considerado na avaliação dos resultados cirúrgicos da pieloplastia[14, 49]. Outros autores usam o T1/2, a função renal diferencial (FRD) e a comparação das curvas de drenagem entre o pré e o pós-operatório, todas variáveis fornecidas pelo renograma com DTPA, como indicadores de sucesso na pieloplastia no adulto[50]. No entanto, as unidades renais com função renal diferencial muito baixas têm muito pouca chance de melhora após pieloplastia[50, 51]. Desta forma, não há consenso se a FRD pré e pós-operatória pode avaliar de forma consistente o resultado funcional da pieloplastia[52].

Em contrapartida, Mikkelsen *et al*[53] e Arun *et al*[54] descreveram os conceitos de sucesso clínico e radiológico, em que o sucesso clínico é o alívio dos sintomas e sucesso radiológico é uma melhoria na drenagem observada na cintilografia renal. Neste sentido,

falha de procedimento é definida por meio da necessidade de uma repetição do procedimento cirúrgico devido à dor persistente ou piora da obstrução na avaliação dos exames de imagem[11]. Embora seja habitual usar FRD como preditor do resultado da pieloplastia, a informação fornecida pelo exame é sujeita a extrema variabilidade e os estudos disponíveis não suportam claramente tal fato[7, 52, 55]. Como não existe um consenso geral na literatura, a comparação dos resultados dos diferentes estudos deve ser feita com cautela.

Mesmo diante de tais controvérsias, até o presente momento, o renograma é amplamente utilizado para determinar o sucesso da cirurgia, avaliando o padrão de excreção renal e potencial recuperação da função renal diferencial (FRD) após a pieloplastia[56, 57]. No entanto os critérios cintilográficos e a periodicidade em que tais exames devem ser realizados no seguimento EJUP na população adulta permanecem controversos[14, 48].

Apesar da falta de consenso, a literatura relata taxas de sucesso superiores a 90% com a pieloplastia videolaparoscópica, semelhantes aos valores encontrados na técnica aberta[46]. Lopez-Pujals *et al*[58] reportaram melhoria na drenagem em 94% dos pacientes e melhora clínica em 95,7% ao longo de um período de acompanhamento médio de 19 meses. Maynes *et al*[59] observaram uma taxa de sucesso global de 92%, após um seguimento médio período de 13 meses.

A pieloplastia videolaparoscópica tem, em geral, uma baixa taxa de conversão (4%) e morbidade perioperatória; complicações intraoperatórias e pós-operatórias foram registrados em 11,5-12,7% dos pacientes, semelhantes às encontradas na cirurgia aberta. Fístula urinária e hemorragia foram as complicações mais comuns[60, 61]. Pieloplastia

videolaparoscópica também oferece um melhor resultado estético, menor tempo de recuperação pós-operatório e reduz a dor pós-operatória.

1.6. Biomarcadores de obstrução do trato urinário

Biomarcador é definido como uma molécula que é objetivamente medida e tem a capacidade de servir como um indicador de processos biológicos normais ou patológicos, ou ainda como preditor de resposta para uma intervenção terapêutica[62]. A maioria dos marcadores biológicos têm ampla gama de valores que se sobrepõem em indivíduos saudáveis, o que torna a identificação de um biomarcador ideal uma tarefa desafiadora, uma vez que o mesmo tem de ser altamente sensível, específico, e possuir um alto valor preditivo. Além disso, para ser implementado na prática clínica, o teste para o biomarcador deve ser de fácil acesso e estar amplamente disponível com baixo custo e facilidade de utilização, bem como apresentar resultados reprodutíveis[63].

Há uma necessidade de desenvolvimento de novos métodos de monitorização de pacientes com as mais diversas patologias. No campo da pesquisa os biomarcadores urinários têm se mostrado promissores para essa finalidade. Proteínas urinárias são capazes de fornecer informações da situação fisiológica e têm o potencial para ser utilizadas como ferramentas para a detecção precoce da doença, bem como para a escolha do tratamento e monitorização adequados[31].

Os biomarcadores urinários são propostos para o diagnóstico e tratamento de EJUP em crianças como uma avaliação complementar para auxiliar na tomada de decisão[64]. Dada a natureza multifatorial da EJUP, é improvável que um único biomarcador

urinário seja identificado de maneira a atender a todos os critérios descritos acima. O biomarcador urinário ideal em EJUP deve confirmar a presença de obstrução significativa e o comprometimento da função renal. Os biomarcadores urinários poderiam evidenciar estágios iniciais de lesão renal, apontando a necessidade de intervenção cirúrgica precoce[65]. Poderiam ainda servir como uma ferramenta de monitoramento, permitindo controle evolutivo[23].

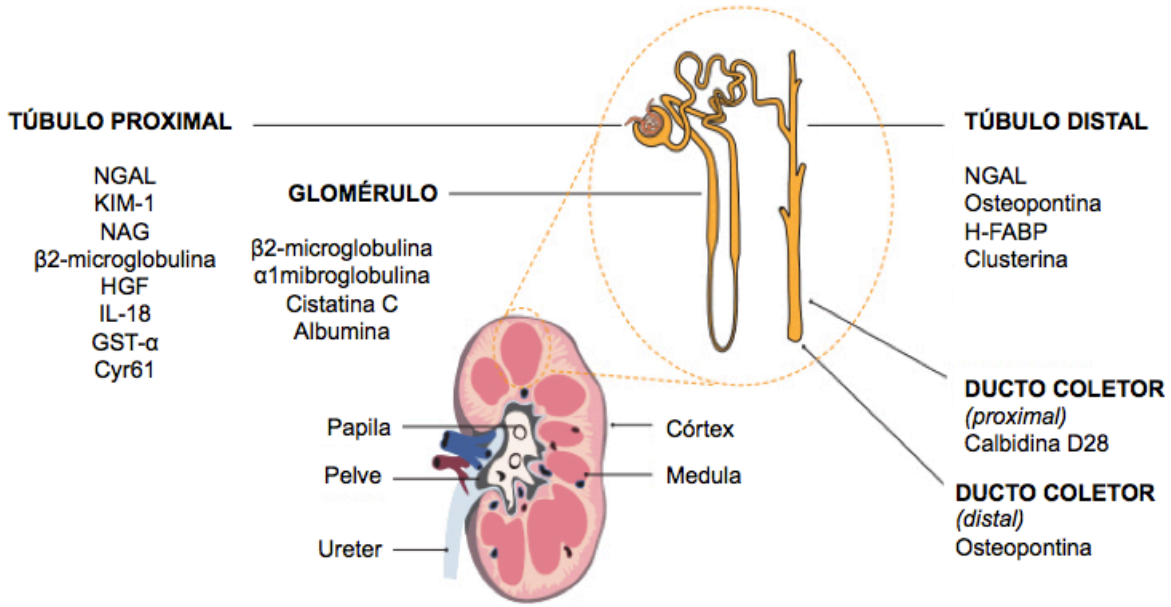
Diante de tais fatos, são feitas tentativas para usar biomarcadores urinários em obstrução da JUP. Se o marcador se correlaciona com a função renal, será um bom indicador da progressão da doença e pode ter o potencial para discriminar quais os pacientes necessitarão de cirurgia e quais poderão ser tratados conservadoramente. Existe a expectativa de identificar um painel de biomarcadores que gere a especificidade e a sensibilidade requeridas e que seja reprodutível com um elevado valor preditivo[63]. Até a presente data, os candidatos a biomarcadores mais conhecidos de EJUP incluem TGF-β1, EGF, endotelina-1, proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), dentre outras enzimas tubulares. Estes biomarcadores mostram diferentes graus de preenchimento dos critérios acima referidos.

TGF-β1 foi examinado em vários estudos clínicos[63, 66-68]. Taha *et al* sugeriram que os níveis urinários de TGF-β1 poderiam ser utilizado como uma ferramenta não-invasiva de seguimento de longo prazo de crianças com EJUP após pieloplastia[66]. Além disso, Almodhen *et al* mostraram que os níveis urinários elevados de TGF-β1 nos primeiros 3 meses de vida tiveram sensibilidade de 82% e especificidade de 86% em predizer a necessidade de cirurgia em recém-nascidos com hidronefrose antenatal grave[67].

Vários estudos mostraram que crianças com EJUP têm uma redução significativa da expressão tecidual renal do gene EGF[69, 70], porém estudos que examinaram os níveis urinários de EGF demonstraram resultados contraditórios. Grandaliano *et al* demonstraram diminuição das concentrações urinárias de EGF em crianças com EJUP[71], ao passo que Taha *et al*[66] e Carr *et al*[72] não demonstraram diferenças significativas entre as crianças com EJUP e controles. Da mesma forma, a MCP-1 e a endotelina-1 foram examinadas em estudos clínicos, nos quais foi evidenciado um aumento das concentrações urinárias em crianças com EJUP[70, 71, 73]. Taha *et al* analisaram também um painel de 3 enzimas (NAG, FA e GGT) e mostraram que a concentração urinária é aumentada em crianças com EJUP, sugerindo que uma combinação desses biomarcadores pode ser empregada no seguimento da crianças com EJUP, bem como na indicação de tratamento cirúrgico.

A identificação de potenciais biomarcadores para nefropatia obstrutiva requer uma compreensão profunda dos mecanismos biológicos envolvidos na patogênese desta doença. Uma possível abordagem na procura de biomarcadores seria investigar as moléculas acima citadas que já possuem um papel demonstrado em diferentes apresentações de EJUP em crianças ou ainda em outros tipos de nefropatia[23]. Existem diversos biomarcadores urinários estudados para lesão renal precoce liberados ao longo do néfron, como esquematizado na figura 5. Dentre estes, quatro têm demonstrado aplicabilidade clínica em cenários distintos: molécula de injúria renal – 1 (KIM-1), lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL), antígeno de carboidrato 19-9 (CA19-9) e β2-microglobulina (β2M)[23]. A tabela 1 demonstra o sítio específico de liberação dos biomarcadores citados, bem como as principais evidências científicas em hidronefrose de cada molécula. No entanto poucos estudos avaliaram a eficácia dos mesmo em casos de obstrução crônica

unilateral[14]. Após revisão cautelosa da literatura, não há até o presente momento nenhum estudo que contemple o uso de biomarcadores urinários de forma prospectiva na população adulta com diagnóstico de EJUP[23, 74].



Adaptado de Madsen et al.

Figura 5 - Representação dos biomarcadores de lesão renal de acordo com sítio de produção/liberação ao longo do néfron[23].

Tabela 1 - Painel evidenciando biomarcadores que serão estudados juntamente com local de produção e aplicação nos diferentes tipos de injúria renal.

Biomarcador	Localização	Mecanismo na uropatia obstrutiva	Evidencias atuais
KIM-1	Túbulo proximal	Liberado por células epiteliais lesadas pelo estiramento mecânico	- Elevação na concentração urinária em EJUP de crianças e queda após pieloplastia[75]. - Marcador precoce de LRA[76].
NGAL	Túbulo proximal, alça de Henle ascendente e túbulo distal	Isquemia & Inflamação	- Concentração aumentada em crianças com EJUP[64]. - Concentração elevada em criança com EJUP grave[75]. - Marcador sensível para lesão renal precoce em vários tipos de nefropatia[77].
CA19-9	Túbulos e mucosa da pelve renal	Produção pelo epitélio tubular obstruído e diminuição na reabsorção associado	- Elevação na concentração urinária em EJUP de crianças e queda após pieloplastia[78]. - Elevados em hidronefrose benigna em adultos[79].
β2M	Glomérulo e túbulo proximal	Aumento na filtração associado a prejuízo na reabsorção	- Queda nas concentrações urinárias após pieloplastia em crianças[70].

1.6.1. Molécula de injúria renal tipo 1

A molécula de injúria renal tipo 1 (KIM-1) consiste em uma glicoproteína transmembranar de células epiteliais tubulares proximais estruturalmente caracterizada por uma região N-terminal contendo um IgV-like e mucina[80]. Em humanos, KIM-1 não é detectável em indivíduos saudáveis, mas é fortemente expressa e liberada pelas células epiteliais tubulares proximais lesadas. Estas características, juntamente com a expressão

persistente em células tubulares até a recuperação de danos, bem como sua fácil detecção na urina, contribuem para tornar KIM-1 um interessante biomarcador de lesão tubular[81]. O KIM-1 tem mostrado potencial como um discriminador útil para lesões do túbulo renal proximal possibilitando o diagnóstico precoce de disfunções renais[23, 76].

Estudos clínicos têm demonstrado que a concentração urinária de KIM-1 é maior em pacientes com lesão renal isquêmica quando comparada a controles, também servindo como um preditor para o risco de desenvolver LRA[76, 82, 83]. Estudos adicionais têm documentado que KIM-1 é regulado positivamente em várias doenças renais, incluindo a nefropatia diabética, esclerose glomerular focal, glomerulonefrite membranoproliferativa e nefropatia por IgA[84]. KIM-1 urinária também prevê a perda do enxerto em receptores de transplante renal[85, 86] e esse papel preditivo tem um papel importante na era de doadores com critérios expandidos[87].

Nos últimos anos tem havido um crescente interesse em marcadores tumorais não só para fins de diagnóstico, mas também para melhorar o poder preditivo dos fatores clínicos e patológicos em modelos prognósticos[31]. Foi demonstrado que KIM-1 também pode ter um papel de diagnóstico no carcinoma de células renais (CCR). CCR é responsável por cerca de 3% de todas as malignidades em adultos e muitas proteínas têm sido investigadas como potenciais biomarcadores. Neste cenário, Han *et al* demonstraram a expressão de KIM-1 em amostras de tecido de CCR. Além disso, KIM-1 foi detectado na urina de doentes com RCC em concentrações elevadas, as quais reduziram de maneira significativa após a cirurgia[88].

Um estudo mais recente investigou o desempenho diagnóstico de KIM-1 urinária em 90 pacientes com LRA por nefropatia obstrutiva aguda[89]. As concentrações de KIM-1

foram maiores nos pacientes com LRA do que nos pacientes não-LRA, e o valor KIM-1, medido 72 horas após a cirurgia, foi um preditor independente de desfecho renal em pacientes com LRA.

Considerando as características de KIM-1 que contribuem para a sua utilidade como um biomarcador precoce e sensível para a lesão do rim, o seu papel foi recentemente analisado no contexto de obstrução urinária crônica. Em um estudo caso-controle prospectivo realizado em crianças com hidronefrose grave por EJUP, Wasilewska *et al* mostraram que as concentrações urinárias de KIM-1 foram significativamente maiores em crianças afetadas em comparação com os controles[75]. Além disso, três meses após a cirurgia, seus níveis diminuíram significativamente, contudo permaneceram em níveis superiores às concentrações encontradas em crianças com HN não obstrutivas. Houve ainda uma correlação negativa entre KIM-1 e a função renal diferencial (FRD). No entanto, um estudo piloto que avaliou a concentração urinária de KIM-1 em 12 crianças com EJUP não demonstrou diferença significativa quando comparada com indivíduos saudáveis[90].

1.6.2. Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos humanos

Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL) é uma proteína de 25 kDa da família das lipocalinas, ligada de forma covalente a gelatinase de neutrófilos. Não é uma proteína específica, sendo secretada por vários tecidos, incluindo os sistemas respiratório, gastrointestinal e urinário[31]. Hiperexpressão do NGAL foi descrita em diferentes condições patológicas tais como inflamação, sepse, isquemia, lesão renal aguda e

câncer. No rim, esta proteína é sintetizada na porção ascendente espessa da alça de Henle [91, 92], acumula-se no túbulo proximal após a lesão renal, de tal forma que NGAL urinária [93] é aumentada 100 vezes em pacientes com lesão renal aguda[74]. Embora NGAL seja sintetizada no néfron distal, tem sido sugerido que pode haver atuação do NGAL no néfron proximal por meio da sua absorção a partir da circulação dentro do epitélio tubular por meio de endocitose[92].

A expressão desta proteína é rapidamente induzida em resposta a uma lesão tubular renal, e aumento dos níveis séricos e urinários foram relatados no quadro de diferentes doenças renais, tais como lesão renal aguda (LRA), nefropatia diabética, síndrome nefrítica, doenças tubulointersticial, e nefropatia por IgA[77, 94-96].

A indução de NGAL serve para limitar a lesão tubular, mesmo para além das suas propriedades bacteriostáticas. NGAL exerce um espectro de atividades biológicas dependentes de ferro. A administração de NGAL atenua lesão renal em ratos, sugerindo que a consequência funcional da regulação positiva é renoproteção. Além disso, vários estudos demonstraram que os níveis séricos e urinários NGAL são elevados proporcionalmente ao grau de lesão renal na doença renal crônica, no entanto o comportamento das concentrações de NGAL urinários permanece desconhecido[77].

O papel da NGAL como biomarcador de LRA foi recentemente revisto por Haase-Fielitz *et al*[97] Em sua meta-análise, os autores encontraram que níveis NGAL urinários representam um valioso preditor precoce de dano renal e que concentrações elevadas tiveram um papel prognóstico na progressão para a terapia de substituição da função renal e mortalidade.

No contexto de obstrução renal, um recente caso-controle estudo prospectivo avaliou o papel de NGAL urinário em uma população de crianças com hidronefrose grave causada por EJUP[75]. Os resultados deste estudo mostraram que a concentração de NGAL urinário foi significativamente maior em pacientes com obstrução em comparação com indivíduos normais. Além disso, três meses após a cirurgia, os valores urinários de NGAL tinham diminuído e não diferiram significativamente do grupo de controle. Cost *et al* demonstraram em uma coorte de crianças com EJUP que os níveis de NGAL na pelve renal foram superiores aos níveis encontrados em urina da bexiga e que estes valores foram significativamente maiores em comparação com os níveis medidos em uma população de crianças sem HN. Além disso, o NGAL coletado da pelve foi inversamente correlacionados com a FRD pré-operatória, sugerindo a utilidade potencial deste biomarcador para a seleção de pacientes em risco de deterioração da função renal e os candidatos para a cirurgia reconstrutiva. Não entanto, esses dados não foram correlacionados com desfechos clínicos[64].

1.6.3. Antígeno de Carboidrato 19-9

O antígeno de carboidrato sérico 19-9 (CA 19-9) ou antígeno de Lewis é um glicolipídeo, que foi estabelecido a partir de linhagem celular de câncer de cólon[98, 99]. CA 19-9 é secretado a partir do epitélio glandular e é aplicado clinicamente como valioso marcador tumoral para o carcinoma do pâncreas e gastrointestinal. No entanto, o nível de CA 19-9 encontra-se elevado em algumas condições benignas[100].

Estudos imuno-histoquímicos demonstraram expressão do antígeno CA 19-9 em

diversos tecidos normais como pâncreas, vesícula biliar, estômago, cólon, árvore brônquica, endométrio, glândulas salivares e próstata. Raramente está aumentado em indivíduos saudáveis ou com doença benigna, encontrando-se alterada em cerca de 0,8% dos indivíduos assintomáticos. Está aumentado em condições como gravidez[101] e doenças benignas como endometriose[102].

Séries de relatos de caso demonstraram a elevação do CA 19-9 associada a hidronefrose, uropatia obstrutiva e tumores ureterais[103-107]. O mecanismo de elevação desse marcador nas hidronefroses ainda permanece sem explicação, contudo algumas hipóteses sugerem que esse aumento poderia ser decorrente da provável síntese excessiva por meio da mucosa da pelve renal e epitélio tubular, ou ainda pela diminuição do clearance devido à uropatia obstrutiva[108]. Lopes *et al* avaliaram os valores de CA 19-9 séricos e urinários bem como a expressão do CA 19-9 no citoplasma de células tubulares no cenário da uropatia obstrutiva em um modelo de obstrução ureteral parcial e completa em ratos[109]. Nesse trabalho, o CA 19-9 urinário correlacionou-se negativamente com o grau de obstrução ureteral e a análise imuno-histoquímica demonstrou a expressão do CA 19-9 no citoplasma das células epiteliais tubulares, sugerindo produção renal do marcador.

O primeiro estudo que correlacionou o CA 19-9 sérico com a presença de hidronefrose benigna foi um estudo do tipo caso-controle prospectivo. O CA 19-9 sérico apresentou média de 30,6 ± 32,2 (5-170 U/ml) no grupo de hidronefrose em relação à média de 12,6 ± 10,2 (5-52 U/ml) no grupo sem hidronefrose, com $p < 0,0001$. Nesse estudo, a elevação do CA 19-9 no grupo com hidronefrose foi correlacionada a fatores adicionais como bilateralidade, infecção urinária, proteinúria, aumento da ureia sérica e dilatação acentuada[79]. Outro estudo caso-controle comparou 54 pacientes com

hidronefrose benigna com 25 controles assintomáticos sem hidronefrose na ultrassonografia do trato urinário. Nesse estudo o CA 19-9 urinário e sérico foram mais elevados no grupo com hidronefrose em relação ao controle, com correlação linear positiva entre o CA 19-9 sérico e urinário [110].

For fim, avaliou-se o valor preditivo do CA 19-9 sérico e urinário no diagnóstico e seguimento de crianças com EJUP unilateral que necessitaram de pieloplastia desmembrada. Os valores do CA 19-9 sérico e urinário foram maiores no grupo com uropatia obstrutiva que no grupo controle e foi observado que o CA 19-9 urinário demonstrou queda significativa 3 meses após a desobstrução e atingiu níveis normais em 9 meses, demonstrando o papel do CA 19-9 como biomarcador de nefropatia obstrutiva congênita, já que se correlacionou positivamente com o diâmetro ântero-posterior da pelve e negativamente com a FRD[78].

1.6.4. ß2-microglobulina

β2-microglobulina (β2M) é uma proteína pequena (12 kDa) filtrada através do glomérulo e quase completamente reabsorvida pelas células tubulares proximais de modo que apenas 0,3% da β2-M filtrado são encontrados na urina[111]. Ela está presente em pequenas quantidades na urina de indivíduos saudáveis e em muito maior grau na urina de pacientes com proteinúria tubular, insuficiência renal e transplantados renais[112].

Disfunções glomerulares ou tubulares podem elevar a concentração urinária β2-M até várias centenas de vezes. Lesões glomerulares geram escape de proteínas de alto peso molecular, resultando em uma elevada carga de proteínas nos túbulos, que compete com a

absorção tubular do β2M e, por conseguinte, aumenta a sua excreção na urina. Lesões tubulares causadas por drogas ou doenças podem comprometer de forma direta a reabsorção tubular, igualmente causando elevação nas concentrações urinárias[113].

Bartoli *et al* demonstraram uma concentração urinária de β2M significativamente maior em crianças com EJUP comparada com a de controles saudáveis[70]. Dessa forma, β2M é considerado como um marcador confiável da função tubular proximal quando a sua produção e a filtração glomerular são normais e proteinúria está ausente ou limitada a valores mínimos.

Madsen *et al* avaliaram as propriedades diagnósticas dos biomarcadores urinários em um grupo de 24 crianças com EJUP e demonstraram que β2-M encontrava-se significativamente aumentada na urina desses pacientes no momento da cirurgia. Este aumento foi seguido por uma diminuição e estabilização para o mesmo nível que o dos controles no seguimento pós-operatório. Além disso, a idade foi negativamente correlacionada com concentrações urinárias pré-operatórios de β2M. Esse trabalho sugeriu a realização de novos estudos para avaliar o real impacto da idade nos valores de referência de β2M urinária[74].

1.7. Justificativa do estudo

Uma revisão sistemática recente avaliou o papel dos biomarcadores urinários no controle de tratamento de EJUP em crianças[114]. Tal estudo incluiu 14 artigos e demonstrou o potencial de diversas moléculas estudadas nos últimos anos. Frente aos mais modernos e promissores biomarcadores de nefropatia obstrutiva no contexto da EJUP, optamos por

avaliar a concentração urinária dos seguintes marcadores: KIM-1, NGAL, CA19-9 e β2M. Tais moléculas têm o potencial de ser úteis no diagnóstico de obstrução significativa, podendo atuar como coadjuvantes na indicação de pieloplastia.

Apesar de haver controvérsias na definição de sucesso do tratamento cirúrgico de EJUP, os biomarcadores urinários estudados poderão servir como uma variável a mais a ser considerada no seguimento pós-operatório desses pacientes e, no longo prazo, podem contribuir no diagnóstico de recidiva da obstrução. Se o marcador se correlacionar com a função renal diferencial, poderá ainda ser um bom indicador da progressão da doença, discriminando quais pacientes poderão ser tratados conservadoramente[23].

Todos os estudos prévios que avaliaram biomarcadores urinários de obstrução em EJUP foram realizados na população pediátrica. De tal forma, permanece desconhecido se os achados até então publicados são extrapoláveis para os adultos, uma vez que esta afecção parece ter um comportamento diferente nesta população. O presente trabalho se constitui o primeiro estudo a avaliar biomarcadores urinários em pacientes adultos com estenose de JUP, bem como o primeiro a tentar correlacionar os achados com desfechos clínicos.

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem os seguintes objetivos:

1. Avaliar as propriedades diagnósticas dos biomarcadores urinários no diagnóstico de obstrução em adultos com estenose de junção ureteropélvica submetidos a pieloplastia videolaparoscópica.

2. Estudar o comportamento dos biomarcadores urinários no seguimento pós-operatório de pieloplastia videolaparoscópica a fim de estimar sua importância na avaliação de resposta ao tratamento.

3. MÉTODOS

3.1. População do estudo

Foram estudados de modo prospectivo pacientes atendidos no ambulatório do Grupo de Videolaparoscopia da Divisão de Urologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), no período de dezembro de 2013 a fevereiro de 2015.

Foram elegíveis a participar do estudo pacientes com diagnóstico de EJUP unilateral confirmado por tomografia computadorizada demonstrando hidronefrose sem dilatação ureteral e renograma com DTPA evidenciando padrão obstrutivo. Foi ainda solicitada cintilografia com DMSA para averiguar a função tubular do rim obstruído e lateralização da FRD.

Os pacientes selecionados para pieloplastia foram convidados a participar da pesquisa livremente e receberam todas as orientações necessárias sobre o protocolo a ser seguido. Após esclarecidas todas as dúvidas a respeito do procedimento e da pesquisa, todos assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido autorizando a participação na pesquisa.

Foram submetidos a pieloplastia laparoscópica pacientes com as seguintes indicações cirúrgicas: 1) dor lombar ou no flanco ipsilateral, 2) rim hidronefrótico com prejuízo da FRD (<40%) estimada por exames de radioisotópicos ou 3) episódios prévios de pielonefrite.

Foram excluídos do estudo pacientes com EJUP bilateral, EJUP unilateral com patologia renal identificada em rim contralateral, EJUP em rim único, antecedentes de tratamento cirúrgico ou endoscópico para estenose de JUP, taxa de filtração glomerular inferior a 60 ml/min/1,73m^2.

Os pacientes que atenderam aos critérios acima foram submetidos a pieloplastia desmembrada pela técnica de Anderson-Hynes por via videolaparoscópica através do acesso transperitonial com colocação de cateter de duplo J no intraoperatório. Tais pacientes foram mantidos com este cateter por 4 semanas e avaliados com novos exames de imagem 6 meses após a cirurgia.

3.2. Grupo controle

Voluntários saudáveis com características semelhantes no que concerne a sexo e idade da população estudada foram convidados a participar de maneira a representar a população geral para determinação dos valores de referência dos biomarcadores urinários. Participantes do sexo masculino foram selecionados entre pacientes submetidos a postectomia e/ou vasectomia no ambulatório de Pequenas Cirurgias da Divisão de Urologia do HC-FMUSP. Indivíduos do sexo feminino foram selecionados entre as acompanhantes dos participantes do sexo masculino e funcionárias da Divisão de Urologia do HC-FMUSP que concordassem em participar. Foram considerados saudáveis os indivíduos assintomáticos, sem antecedentes de cirurgia urológica prévia e com exame de creatinina sérica dentro dos limite da normalidade. Para excluir a presença de obstrução renal assintomática foi solicitado exame de USG em que não foi evidenciado dilatação da pelve e dos cálices renais.

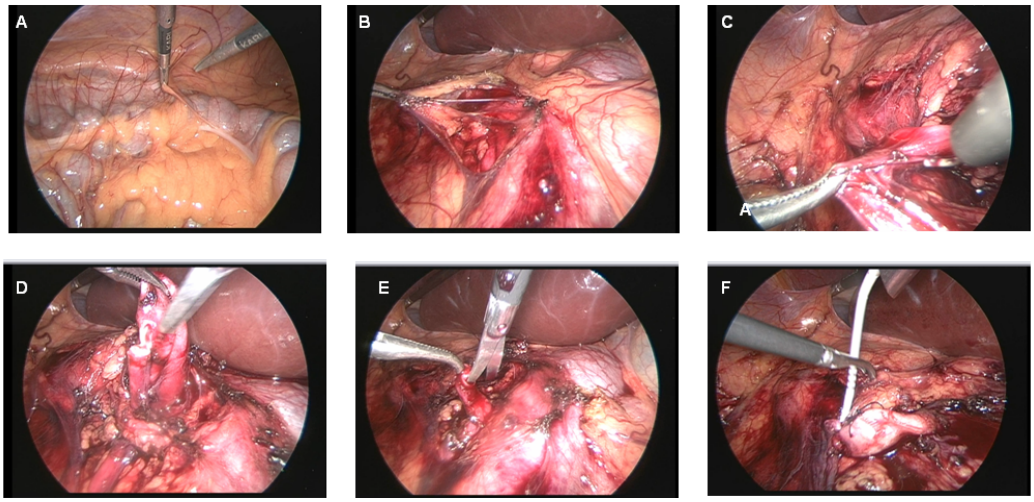
3.3. Técnica cirúrgica

Os pacientes foram internados na véspera da cirurgia às 12:00 horas com prescrição de dieta oral leve. O jejum se iniciou 8 horas antes da cirurgia, sendo então os pacientes encaminhados para a sala de cirurgia às 7:00 horas da manhã.

Todos os pacientes foram submetidos a pieloplastia videolaparoscópica pela técnica de Anderson-Hynes realizadas por médicos residentes em treinamento sob a orientação dos cirurgiões do Grupo de Videolaparoscopia da Divisão de Urologia do HC-FMUSP. Esse grupo é composto por 5 cirurgiões com experiência comprovada neste tipo de procedimento: Ricardo Jordão Duarte, Anuar Ibrahim Mittre, Marco Antônio Arap, Victor Srougi e Hiury Silva Andrade. Todos os pacientes foram operados sob anestesia geral e receberam antibioticoprofilaxia endovenosa com cefalotina 1 hora antes do procedimento, conforme protocolo intitucional. Um tubo orogástrico ou nasogástrico foi rotineiramente posicionado, bem como sonda vesical de Foley. Todas as cirurgias obedeceram rigorosamente à mesma técnica cirúrgica como demonstrado na Figura 6: paciente posicionado em decúbito lateral a 45º; confecção do pneumoperitônio com agulha de Veress; posicionamento de 1 trocarte laparoscópico de 10mm e 2 trocartes de 5 mm; abertura do sulco paracólico, sendo então o cólon deslocado medialmente; dissecção da gordura renal e do ureter separando-os do cólon; dissecção de pelve renal com identificação de estruturas do hilo, vasos anômalos e junção ureteropélvica (JUP); ressecção de JUP e confecção de anastomose desmembrada com sutura contínua posterior com 1 fio de poliglactina 4-0; passagem de cateter de 2J e sutura contínua em parede anterior com outro fio de poliglactina 4-0; revisão de hemostasia; síntese de portais de 10mm com fio

absorvível sob visão; síntese de pele com sutura intradérmica e drenagem de cavidade com dreno tubular 4.8mm.

Os pacientes permaneceram com sonda vesical de demora por 48 horas. Após retirada da sonda, observou-se débito do dreno tubular por um período de 6 horas. Quando não havia aumento do débito, o mesmo era retirado e o paciente recebia alta hospitalar.



Imagens fornecidas por Bandeira R.

Figura 6 - Imagens intraoperatórias da pieloplastia videolaparoscópica. **A:** incisão do sulco paracólico; **B**: Identificação ureteral; **C**: Segmento ureteral obstruído; **D**: Ressecção do ponto estenótico; **E**: Espatulação ureteral; **F**: Passagem de forma anterógrada do cateter duplo J.

3.4. Desenho do Estudo

Os pacientes foram conduzidos de acordo com o diagrama a seguir:

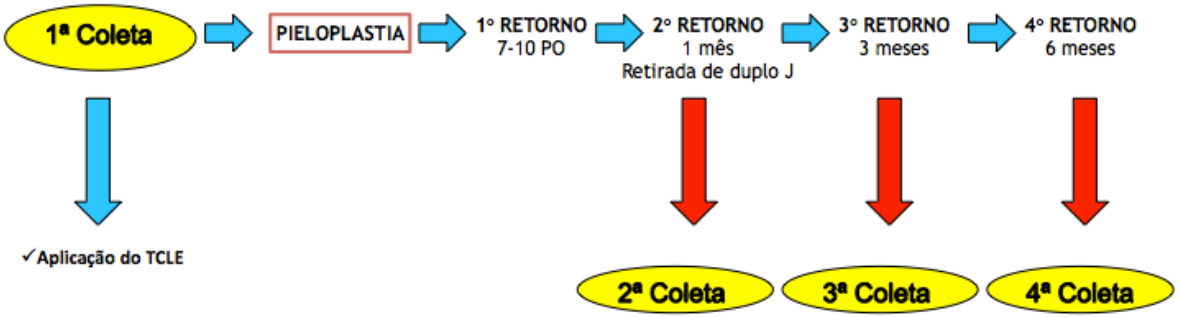


Figura 7 - Diagrama representando o cronograma de avaliação dos pacientes com EJUP submetidos a pieloplastia.

3.4.1. Análise dos desfechos clínicos e radiológicos

Nas consultas pré-operatórias, além de uma anamnese detalhada e exame físico completo, foram coletados os dados sociodemográficos dos pacientes. Os exames de imagem dos pacientes foram cautelosamente avaliados e classificados de acordo com parâmetros pré-estabelecidos.

Para fins de estratificação e análise de dados, o grau de hidronefrose foi avaliado pela TC, sendo graduado utilizando-se o sistema de classificação da Sociedade de Urologia Fetal (SFU): grau 1 é uma visualização da pelve renal; grau 2 é uma dilatação da pelve renal e alguns cálices visualizadas; grau 3 é uma dilatação da pelve renal com muitos cálices identificados; e grau 4 é uma aparência semelhante ao grau 3, mas o rim envolvido tem afilamento do parênquima quando comparado com o rim normal[32]. Esses conceitos foram extrapolados para TC de abdome de tal forma que os graus 1 e 2 foram agrupados

como portadores de hidronefrose leve, os graus 3 foram classificados como moderados e os graus 4 como graves.

Todos os pacientes foram submetidos a renograma com diurético e cintilografia renal com DMSA. Quanto ao sistema de drenagem os pacientes foram classificados de acordo com a curvas de Lee no renograma com DTPA. Os pacientes também foram divididos em categorias de acordo com o T1/2: < 10 min, entre 10 e 20 min e > 20 minutos. Para fins de classificação quanto à FRD, os valores < 40% no DMSA foram considerados com comprometimento significativo da função renal ipsilateral.

Todos os pacientes seguiram um programa de avaliação de acordo com a figura 7 mostrada acima. No seguimento pós-operatório os paciente foram acompanhados e foram questionados quanto à resolução dos sintomas pré-operatórios. Apesar de a definição de sucesso na pieloplastia laparoscópica em EJUP na população adulta ainda ser questão de debate, definimos sucesso como a resolução completa dos sintomas 6 meses após a cirurgia. Nova TC de abdome com contraste, renograma com diurético e cintilografia com DMSA foram repetidos com 6 meses de pós-operatório para análise comparativa com exames pré-operatórios. Foi considerado melhora da FRD um aumento em 10% em comparação com exame prévio. Melhora da drenagem urinária em curvas do renograma com DTPA foi definida como mudança de categoria de Lee e melhora absoluta ou relativa no T1/2.

3.4.2. Coleta e processamento das amostras de urina

Cada paciente foi submetido a quatro coletas de amostra de urina para medição de biomarcadores, uma na consulta pré-operatória e outra com 1, 3 e 6 meses de seguimento

pós-operatório. A coleta de 1 mês foi realizada após a retirada do cateter de duplo-J. Foram coletadas amostras de urina de jato médio, em que a primeira urina da manhã foi evitada para reduzir a possível degradação de marcadores ao permanecerem por períodos prolongados na bexiga urinária. Os pacientes incluídos eram seguidos de forma rigorosa, de tal forma que o agendamento das coletas era confirmado por contato telefônico prévio para evitar alterações significativas nas datas previstas no protocolo. Dois funcionários do ambulatório foram treinados para realizar a orientação dos pacientes e o acondicionamento das amostras de forma padronizada.

Em cada coleta foram obtidos aproximadamente 20 ml de urina que foram divididos em tubos Falcon de 15 ml e processados por centrifugação a uma rotação de 3.500 rpm durante 10 minutos.

As concentrações urinárias de creatinina, β2M e CA19-9 foram medidas com urina a fresco no dia das coletas por meio de *kits* disponíveis comercialmente de quimioluminescência e eletroquimioluminescência, respectivamente, realizadas pelo laboratório de análises clínicas do HC-FMUSP.

- Para o β2M: *Beta-2-Microglobulin Immunological Test System Class* II fabricado pela *Siemens Healthcare Diagnostics* (Tarrytown, NY, EUA); leitura no equipamento *IMMULITE 2000 Immunoassay System*.
- Para o CA 19-9: *Elecsys CA 19-9 Immunoassay* fabricado pela *Roche Diagnostics* (Indianápolis, EUA); leitura no equipamento *Cobas E 411 Immunoassay Analyzers.*

Para fins de avaliação do NGAL e do KIM-1, as amostras de urina após centrifugadas foram divididas em alíquotas individuais que foram estocadas em

refrigerador em *eppendorfs* individuais de 1,5 ml em triplicata, ou seja, 3 *eppendorfs* por coleta para posterior dosagem de NGAL e KIM-1. Tais amostras foram conservadas à temperatura de -80° C para posterior avaliação com os reagentes dos biomarcadores. Todos os *eppendorfs* foram colocados em pequenas caixas com grade interna, a fim de que tubos permanecessem na posição vertical e para facilitar identificação. Para armazenamento das amostras e realização dos experimentos utilizando *kits* de ELISA, foram utilizadas as instalações do Laboratório de Investigação Médica da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), LIM-55. Todas as análises foram realizadas em períodos não superiores a 2 meses entre si e sempre utilizando ensaios com o mesmo lote, a fim de limitar a variabilidade entre os *kits*. As amostras foram congeladas em triplicata para evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento da mesma amostra. As dosagens foram realizadas em um mesmo momento para evitar variações no método e otimização do uso dos *kits*. Cada amostra de urina foi submetida à dosagem de NGAL e KIM-1, utilizando-se os seguintes *kits*:

- Para o NGAL : *NGAL Rapid ELISA* Código KIT 037 fabricado pela BioPorto (Copenhagen, Dinamarca) fornecido pela firma *SciencePro* (São Paulo, SP, Brasil).
- Para o KIM-1: *KIM-1 (human) ELISA* Código ADI-900-226-0001 fabricado pela *Enzo Life Sciences* (Farmingdale, NY, USA) fornecido pela firma *SciencePro* (São Paulo, SP, Brasil).

Inicialmente, realiza-se a preparação dos reagentes. Todos os componentes do kit e das amostras são trazidos à temperatura ambiente (18-25°C) antes da utilização. Para cada *kit* há uma recomendação específica de acondicionamento das amostras e dos reagentes,

além do preparo da solução de lavagem. Também é variável o número de etapas e o período de incubação dos reagentes com as amostras em cada *kit*.

O princípio do ELISA aplica uma técnica chamada de *quantitative sandwich immunoassay*. A placa de microtitulação fornecida nesse *kit* contém poços revestidos para a medição quantitativa do marcador e utiliza um anticorpo específico e um anticorpo policlonal HRP conjugado. A amostra de ensaio e o tampão são incubados juntamente com HRP conjugado na placa pré-revestida. Após o período de incubação, os poços (*wells*) são decantados e lavados para serem incubados com substrato para enzima HRP. O produto da reação enzima-substrato forma um complexo de cor azul. Finalmente, uma solução de parada (*stop solution*) é adicionada para parar a reação, que transformará a solução em amarelo (Figura 8). A intensidade de cor é medida em espectrofotômetro a 450 nm em um leitor de microplacas. A concentração do biomarcador avaliado é determinada pela comparação da densidade óptica das amostras com a curva padrão. A intensidade da cor é inversamente proporcional à concentração do biomarcador das amostras, visto que o biomarcador presente nas amostras e o no HRP conjugado competem pelo anticorpo específico no sítio de ligação. A fim de medir a concentração do biomarcador na amostra, o kit inclui um conjunto de padrões para calibração. Os padrões de calibração utilizados são analisados ao mesmo tempo em que as amostras e permitem ao investigador produzir curva padrão de densidade óptica. Por fim, para avaliar os coeficientes de variabilidade entre os diferentes kits e dentro do mesmo kit, 5% das amostras foram repetidas aleatoriamente, em cada placa.

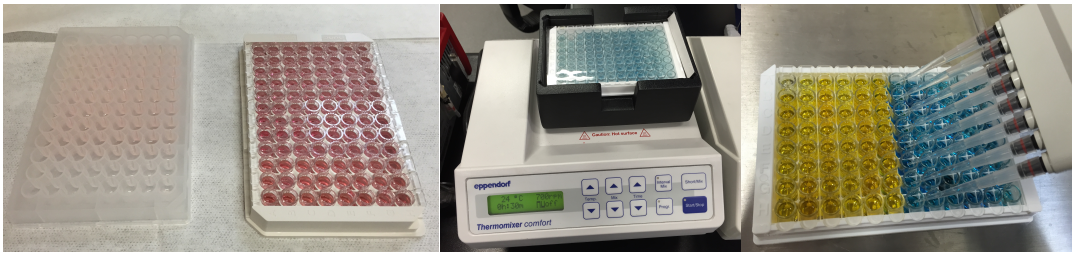


Figura 8 - Imagens representativas do Teste ELISA. A – Preparação das amostras com a solução; B – placa revestida no agitador para incubação; C - demonstração do produto da reação enzima-substrato que transforma a solução de amarelo para azul após adição de solução de parada.

3.5. Cálculo do tamanho amostral

Para determinar o tamanho da amostra, levamos em consideração estudos prévios que realizaram dosagem urinária de NGAL em EJUP na população pediátrica, uma vez que o desenho dos mesmos são mais comparáveis à metodologia empregada neste estudo. Estimando um desvio padrão de 60 ng/mg de creatinina e aceitando um erro máximo da estimativa da média em 20 ng/mg de creatinina, a amostra deve ser constituída por um número mínimo de 35 pacientes com nível de significância estatística de 5% e poder de 80%.

3.6. Análise estatística

As variáveis quantitativas, contínuas ou ordinais, foram descritas por suas medidas de tendência central (médias ou medianas) e pelas respectivas medidas de dispersão (desvio-padrão, variação interquartil ou valores mínimo e máximo). As variáveis nominais ou qualitativas foram descritas por seus valores absolutos, percentagens ou proporções.

Para a comparação das diferenças das variáveis contínuas, utilizamos o teste *t* de Student ou o teste de Mann-Whitney. Análise de Variância (ANOVA) com pós-teste de Bonferroni foi utilizada na comparação de mais de dois grupos. Para a comparação dos dados categóricos utilizamos o teste do qui-quadrado e suas variantes.

Foram desenhadas curvas de Kaplan-Meyer para avaliar o tempo de clareamento de cada um dos marcadores ao longo do período de 6 meses. Análise da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) foi utilizada para estimar a acurácia diagnóstica de cada biomarcador e para determinar os valores de corte dos biomarcadores que obtiveram a melhor sensibilidade e especificidade.

Para a avaliação de correlações entre variáveis ordinais ou contínuas, empregou-se o Teste de Spearman. Intervalos de confiança de 95% foram empregados como medida de precisão dos resultados.

Foi ainda realizada análise univariada de todos as variáveis clínicas e imaginológicas, bem como as dosagens absolutas e relativas dos biomarcadores urinários para identificar associação com desfechos clínicos e radiológicos pós-operatórios. A análise univariada consistiu na obtenção, para as variáveis independentes qualitativas, da frequência absoluta e percentual, e, para as quantitativas, da média e desvio-padrão. A análise bivariada foi realizada para obtenção do *odds ratio* (OR), com respectivo intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

Intervalos de confiança de 95% foram empregados como medida de precisão dos resultados. Valores de p menores que 0,05 ($p<0,05$) foram considerados significativos.

Na análise, empregou-se programa estatístico computacional (GraphPad Prism, versão 5.0.3, GraphPad Software, San Diego-CA, USA).

3.7. Considerações éticas e financiamento do estudo

Este estudo segue as recomendações da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde que regulamenta a pesquisa científica em humanos em nosso país. O mesmo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Protocolo N° 0882/09 - Anexo 10), previamente ao início da coleta de dados. O presente estudo foi ainda financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP Processo 2013/17113-2).

Os sujeitos da pesquisa do presente protocolo foram informados a respeito da pesquisa e do objetivo de utilização dos dados obtidos para fins científicos no momento em que foram convidados a participar do estudo. Por tratar-se de um estudo não intervencionista, realizado através de coletas de urina, o risco foi considerado mínimo. Os participantes receberam, por escrito, informações detalhadas sobre a natureza, métodos e objetivos do estudo. Após esclarecimento de todas as dúvidas, foi solicitada a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Foi garantida a confidencialidade das informações e das identidades dos participantes.

4. RESULTADOS

Foram incluídos em nosso estudo 47 pacientes com idade média de 38,6 ± 12,7 anos (intervalo 19 a 64 anos), sendo 17 (36%) do sexo masculino e 30 (64%) do sexo feminino. O grupo de pacientes não obstruídos para determinação dos valores de referência foi composto por 40 indivíduos com idade 38,3 ± 13,0, dos quais 13 (33%) eram homens e 27 (67%) eram mulheres. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos no que concerne a idade (p = 0,95) e sexo (p = 0,82), como demonstrado na tabela 2. Apenas 12 pacientes (25%) referiram presença de comorbidades com necessidade de uso contínuo de medicações, dentro os quais 9 tinham o diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica. No grupo controle 7 indivíduos (17%) referiram comorbidades leves controladas com o uso de medicações. O clearance médio de creatinina pré-operatório calculado pela fórmula CKD-Epi foi 99,7 ± 18.8 ml/min. As características clínicas do grupo de pacientes submetidos a pieloplastia está demonstrada na tabela 3.

Todos os pacientes queixavam-se de dor, exceto por 1 (2%) paciente em que a indicação cirúrgica foi a presença de pielonefrites de repetição. No entanto, na avaliação pré-operatória esse paciente não apresentava nenhum sinal de infecção ou colonização bacteriana, uma vez que marcadores inflamatórios séricos e cultura de urina estavam negativos. Apesar de queixas frequentes de dor na nossa população de pacientes com EJUP, não foi identificado uso abusivo de anti-inflamatórios não-hormonais em nenhum paciente. Nenhum paciente em nossa amostra foi operado por diminuição da FRD incidental em paciente assintomático. O tempo médio dos sintomas foi 68,8 ± 85,2 meses. Foi identificada a presença de vaso anômalo no intraoperatório em 17 (36%) dos casos.

Tabela 2 - Características demográficas dos pacientes com EJUP submetidos a pieloplastia e do grupo controle.

	EJUP	**Controles**	***p***
IDADE [média ± DP)	38,6 ± 12,7	38,3 ± 13,0	0,95
SEXO n (%)			0,82
Masculino	17 (36)	13 (33)	-
Feminino	30 (64)	27 (67)	-
Comorbidades n (%)	12 (25)	7 (17)	0,25
LATERALIDADE n (%)			
Direito	26 (55)	-	-
Esquerdo	21 (44)	-	-

No seguimento pós-operatório houve resolução completa dos sintomas e, portanto, sucesso do procedimento em 40 (85%) pacientes. Foi identificada melhora na curva de drenagem no DTPA segundo os critérios de Lee em 36 (76%) pacientes e redução do T1/2 em 33 (70%), dos quais em 29 (62%) essa queda foi igual ou superior a 50%. No entanto apenas 11 (23%) pacientes apresentaram melhora da FRD superior a 10% medida pelo DMSA. O clearance de creatinina médio calculado pela fórmula de CKD-Epi foi de 97,2 ± 15,7 ml/min, sem diferença estatística dos valores pré-operatórios (p = 0,18).

Tabela 3 - Características clínicas da população de pacientes com EJUP submetidos a pieloplastia laparoscópica**.**

	n (%)
GRAU DE HIDRONEFROSE (TC)	
Leve	18 (38)
Moderado	18 (38)
Grave	11 (24)
T1/2	
10 min < T < 20 min	6 (13)
> 20 min	41 (87)
FRD (DMSA)	
< 40%	23 (49)
> 40%	24 (51)
CURVA DE LEE	
II	10 (21)
III	14 (30)
IV	23 (49)

Os valores médios absolutos dos biomarcadores urinários obtidos em cada uma das quatro amostras dos pacientes submetidos a pieloplastia, bem como os valores medidos no grupo controle composto por pacientes sem hidronefrose, são demonstrados na tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios absolutos da concentração de cada biomarcador em cada uma das amostras. Resultados são mostrados com médias ± erro padrão da média (EPM).

	Biomarcadores			
	KIM-1 (pg/ml)	**NGAL** (ng/ml)	**CA19-9** (U/ml)	**β2M** (µg/ml)
CASOS				
Amostra 1 **(T0 – pré-op)**	427,23 ± 25,95	5,88 ± 0,80	214,24 ± 96,56	0,19 ± 0,07
Amostra 2 **(T1- 1 mês PO)**	444,48 ± 27,52	2,95 ± 0,83	173,28 ± 30,89	0,15 ± 0,06
Amostra 3 **(T2- 3 meses PO)**	282,53 ± 23,15	2,34 ± 0,85	112,98 ± 28,36	0,12 ± 0,04
Amostra 4 **(T3 – 6 meses PO)**	192,78 ± 16,36	1,32 ± 0,26	83,14 ± 20,12	0,12 ± 0,05
CONTROLES	185,41 ± 23,80	2,88 ± 0,60	34,95 ± 7,69	0,06 ± 0,01
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,12

Nota-se que nos pacientes com obstrução a concentração média dos biomarcadores não ajustada pela creatinina urinária é significativamente maior para o KIM-1, NGAL e CA19-9 em comparação com os controles. O β2M foi o único biomarcador que não demonstrou diferença estatisticamente significativa pelo teste de ANOVA (p = 0,12).

O ajuste das concentrações dos biomarcadores pela creatinina urinária é amplamente empregado na literatura no intuito de padronizar as comparações e limitar o impacto do estado de hidratação em usas medidas. No entanto, no presente estudo houve uma excelente correlação entre os valores absolutos e ajustados dos biomarcadores

urinários (KIM-1 r = 0,57, NGAL r = 0,68, CA19-9 r = 0,98, β2M r = 0,85). Além disso, não houve diferença estatística entre as análises feitas com concentrações absolutas ou ajustadas dos biomarcadores. Foi então optado por centrar toda nossa análise em comparações utilizando os valores ajustados.

Comparações entre as concentrações medianas pré-operatórias ajustadas dos pacientes com EJUP e do grupo controle estão demonstradas nas figuras 9 -12. Novamente β2M foi o único biomarcador que não demonstrou diferença estatisticamente significativa pelo teste de Mann-Whitney (p = 0,06).

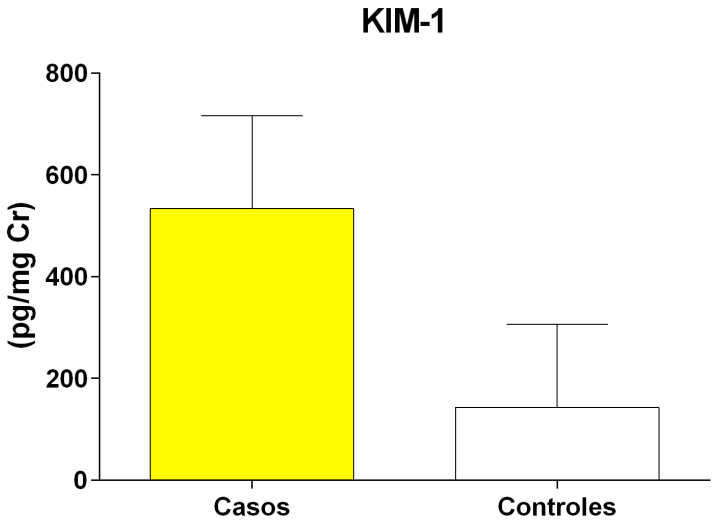


Figura 9 - Comparação entre os valores de KIM-1 pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles (p < 0,0001).

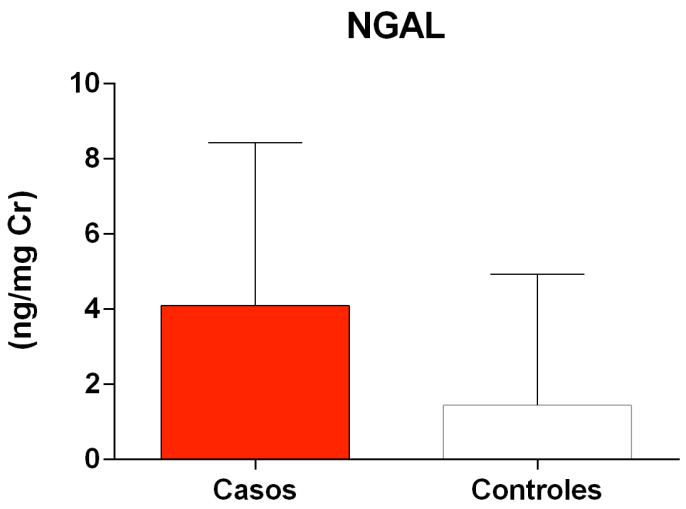


Figura 10 - Comparação entre os valores de NGAL pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles (p = 0,0003).

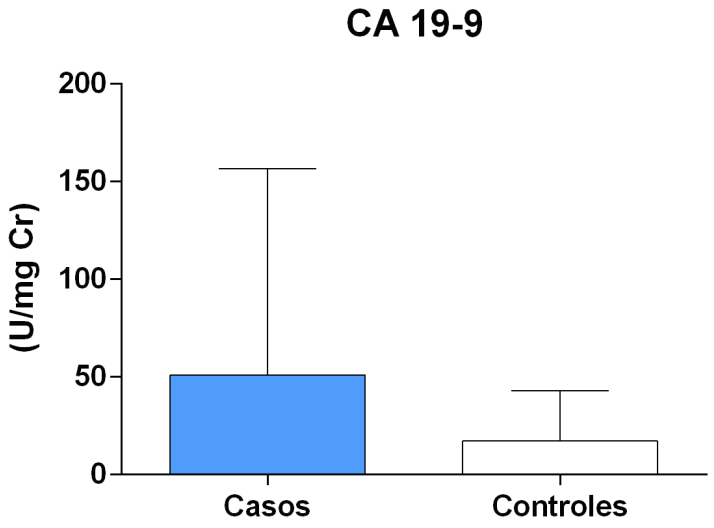


Figura 11 - Comparação entre os valores de CA19-9 pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles (p = 0,0005).

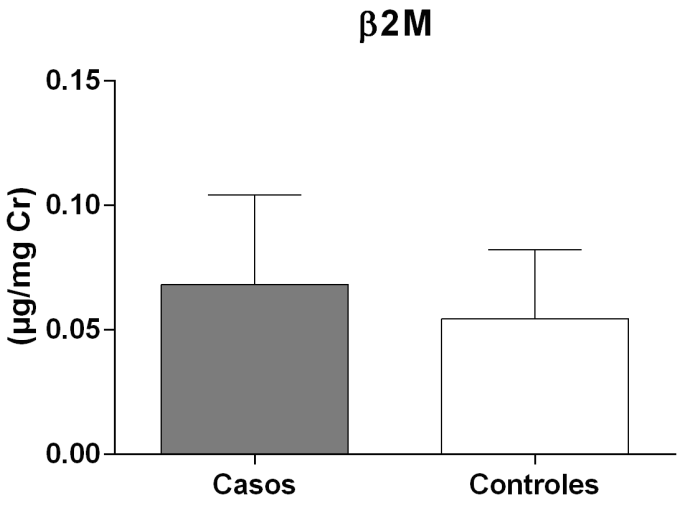


Figura 12 - Comparação entre os valores de β2M pré-operatórios de pacientes com EJUP vs. controles (p = 0,06).

O comportamento das concentrações dos biomarcadores durante o pré-operatórios e os primeiros 6 meses de pós-operatório após a retirada de duplo J está demonstrado nas figuras 13 - 16. Análise de variância (ANOVA) realizada entre as dosagens seriadas de cada um dos marcadores mostrou que houve mudanças estatisticamente significantes entre os valores de cada uma das coletas em comparação aos controles, exceto para o β2M (p = 0,13).

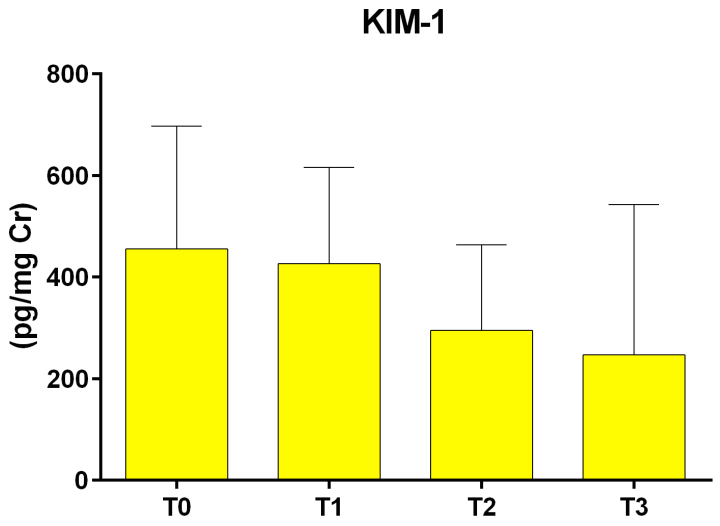


Figura 13 - Gráfico demonstrativo das concentrações de KIM-1 ao longo de 6 meses após a pieloplastia ($p < 0,0001$).

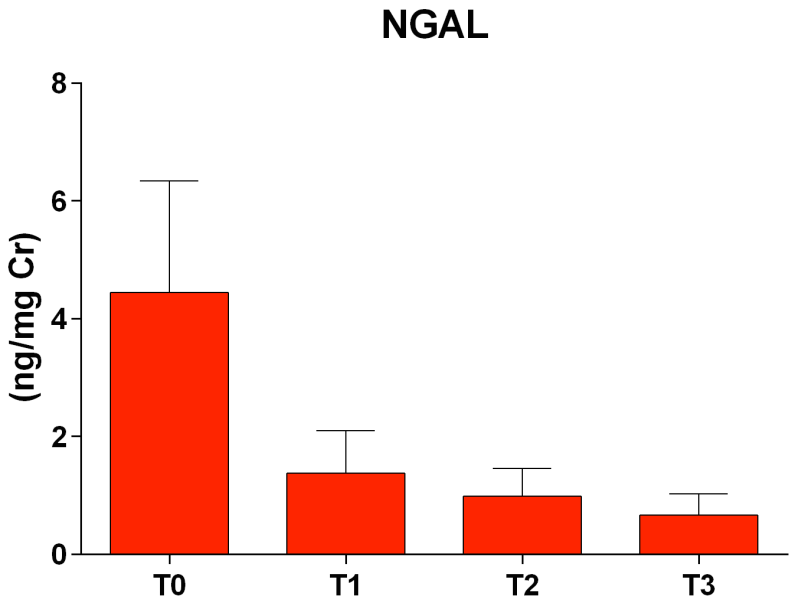


Figura 14 - Gráfico demonstrativo das concentrações de NGAL ao longo de 6 meses após a pieloplastia ($p < 0,0001$).

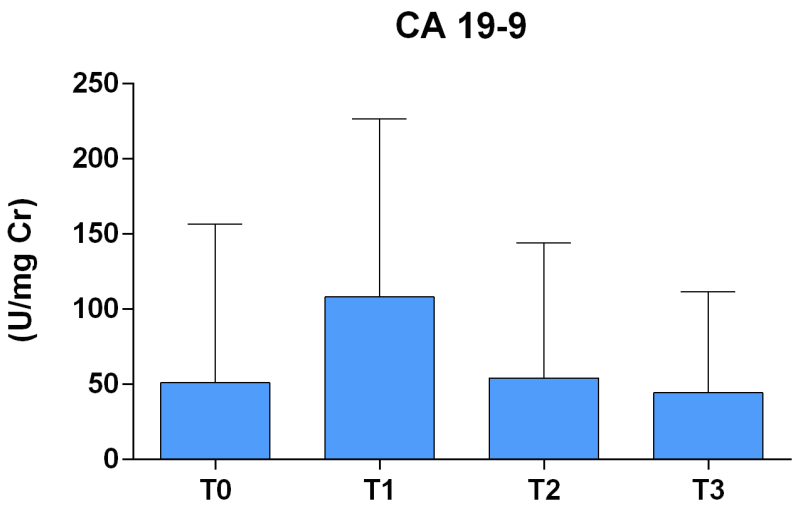


Figura 15 - Gráfico demonstrativo das concentrações de CA 19-9 ao longo de 6 meses após a pieloplastia ($p < 0,0001$).

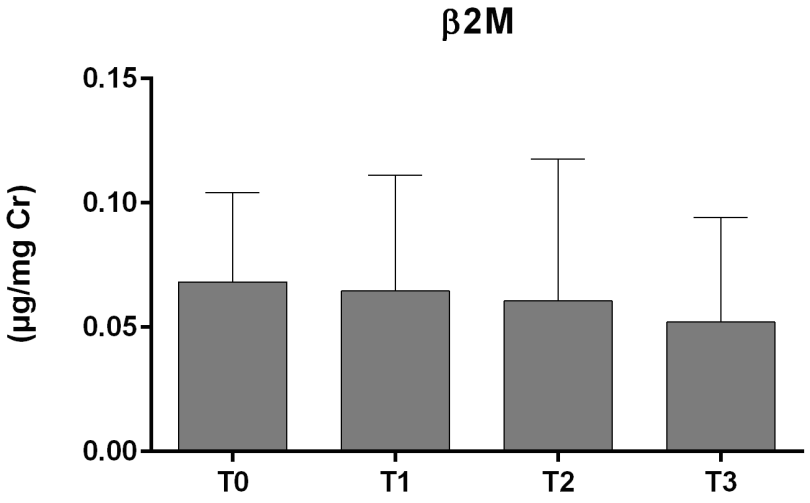


Figura 16 - Gráfico demonstrativo das concentrações de β2M ao longo de 6 meses após a pieloplastia ($p = 0,13$).

Com o intuito de avaliar as propriedades diagnósticas dos valores pré-operatórios de cada um dos biomarcadores urinários para predizer a presença de obstrução, curvas ROC foram desenhadas e suas performances foram avaliadas. O KIM-1 apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,79 (95% CI 0,70 a 0,89), sendo o biomarcador que apresentou a melhor acurácia dentre os biomarcadores estudados na discriminação de obstrução. O NGAL, por sua vez, teve uma AUC de 0,71 (95% CI 0,61 a 0,83), o CA 19-9 de 0,70 (95% CI 0,60 a 0,81) e o β2M de 0,61 (95% CI 0,50 a 0,73). Assim, o β2M foi o único biomarcador com propriedades inadequadas neste cenário. O poder discriminatório dos testes pode ser mais bem dimensionado nas figuras 17 a 20.

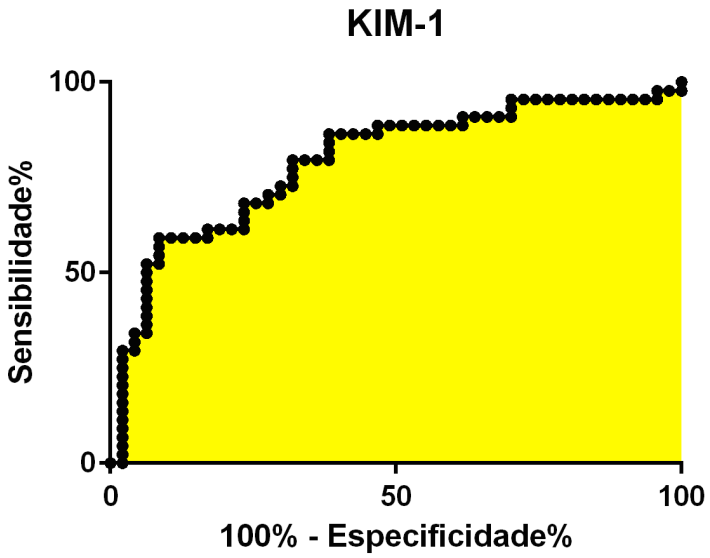


Figura 17 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do KIM-1 em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,79 (95% CI 0,70 a 0,89).

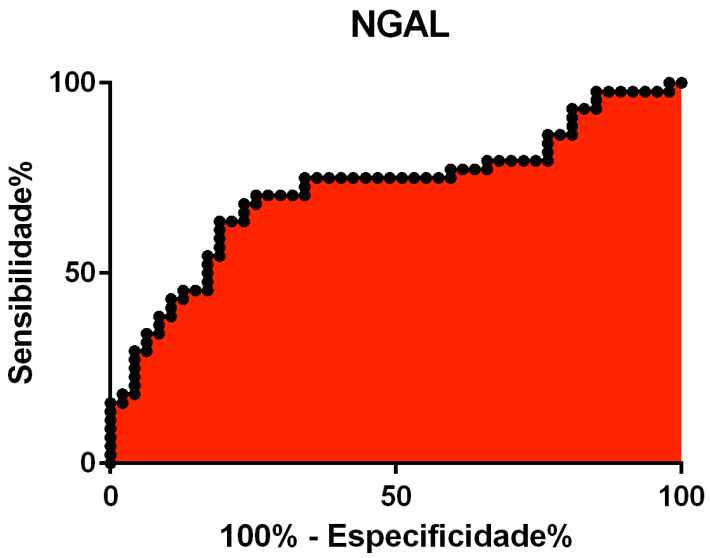


Figura 18 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do NGAL em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,71 (95% CI 0,61 a 0,83).

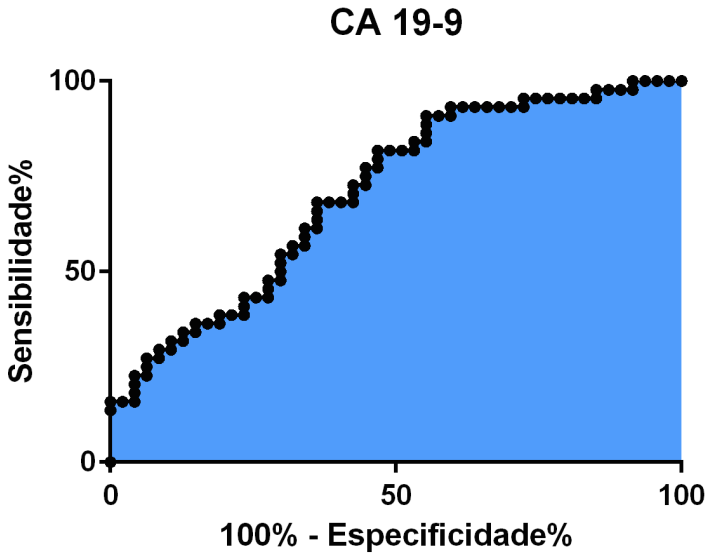


Figura 19 - Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do CA 19-9 em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,70 (95% CI 0,60 a 0,81).

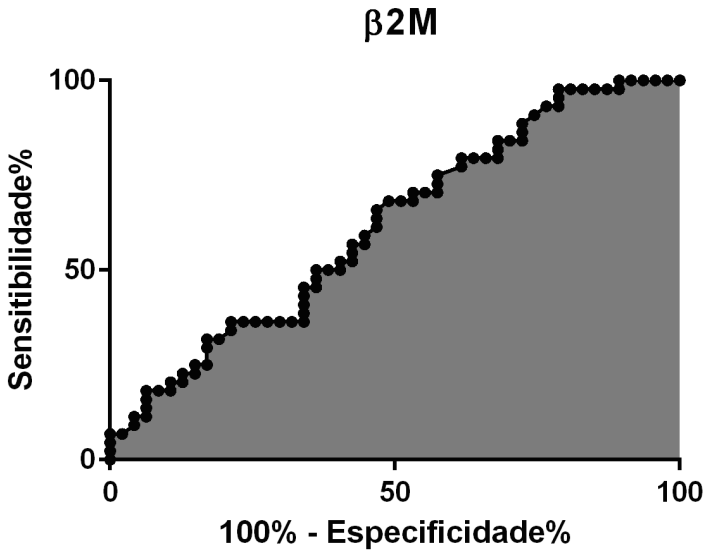


Figura 20 - Curva ROC demonstrando a limitada acurácia diagnóstica do β2M em predizer obstrução. Área sob a curva (AUC) foi de 0,61 (95% CI 0,50 a 0,73).

As medidas de acurácia diagnóstica, sensibilidade e especificidade dos quatro biomarcadores para os pontos de corte empregados estão detalhados na Tabela 5.

Tabela 5 - Medidas de sensibilidade e especificidade para os diferentes valores de corte nos biomarcadores estudados

Corte	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
	KIM-1 (pg/mg Cr)	
59,02	97,87	27,27
170,4	**91,49**	**59,09**
353.8	61,7	81,82
582,5	38,3	90,91
	NGAL (ng/mg Cr)	
1.041	89,36	38,64
2,432	**76,6**	**68,18**
3,012	65,96	75
13,72	19,15	90,91
	CA19-9 (U/mg Cr)	
18,14	70,21	54,55
46,95	53,19	81,82
51,33	**48,94**	**88**
59,11	44,68	90,91

Com o intuito de maximizar as propriedades diagnósticas dos biomarcadores urinários, foi realizada uma análise combinada dos mesmos. Sabe-se que a associação de testes diagnósticos eleva a acurácia, melhorando a qualidade do diagnóstico, uma vez que diminui o número de resultados incorretos. A análise combinada dos biomarcadores

urinários levando em consideração os pontos de corte acima demonstrados são apresentados na tabela 6.

Tabela 6 – Propriedades diagnósticas dos biomarcadores urinários KIM-1, NGAL e CA 19-9 geradas pelas diferentes possibilidades de análise combinada.

Combinação em Série					
	Sensibilidade %	Especificidade %	VPP %	VPN%	IP +
CA19.9 e NGAL	44,7	95,4	91,3	61,7	9,8
CA19.9 e KIM-1	44,7	90,9	84,0	60,6	4,9
NGAL e KIM-1	72,3	70,4	72,3	70,4	2,4
CA19.9 e NGAL e KIM-1	38,3	95,4	90,0	59,1	8,4
Combinação em Paralelo					
	Sensibilidade %	Especificidade %	VPP %	VPN%	IP -
NGAL ou KIM-1	95,7	45,4	65,2	90,9	10,6
CA19.9 ou NGAL	83,0	54,5	66,1	75,0	3,2
CA19.9 ou KIM-1	95,7	45,4	65,2	90,9	10,6
CA19.9 ou NGAL ou KIM-1	95,7	40,9	63,4	90,0	9,5

No seguimento pós-operatório, observou-se que após a pieloplastia houve redução significativa dos valores que estavam elevados na avaliação pré-operatória para valores semelhantes ou até mesmo inferiores ao controle, indicando que após a desobstrução há um

clareamento dos marcadores urinários. Desta forma, foi também avaliada a incidência do clareamento relativo correspondente a 50% do valor inicial do biomarcador. Uma curva de Kaplan-Meyer foi então estruturada para demonstrar o comportamento do clareamento de cada um dos biomarcadores, como demonstrado na figura 21.

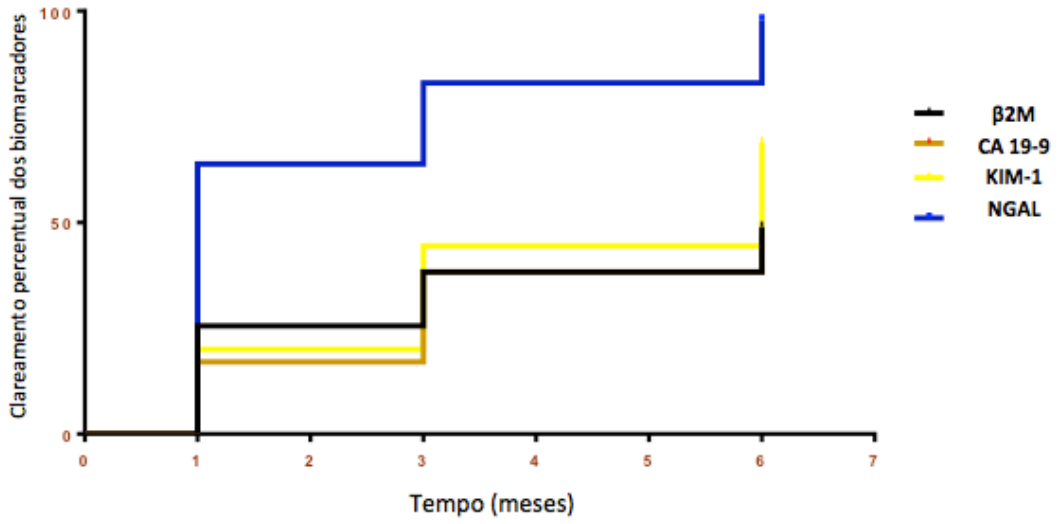


Figura 21 - Curva Kaplan-Meyer representando clareamento de 50% do valor pré-operatório dos biomarcadores urinários

Neste contexto houve um clareamento de 50% do NGAL em 90% dos pacientes até o sexto mês pós-pieloplastia. O KIM-1 teve clareamento em 67% dos pacientes, enquanto ao CA19-9 teve em 50% e o β2M em 48% dos pacientes. Isso também demonstra o comportamento dos marcadores após a desobstrução. O NGAL mostrou rápido clareamento, em que 55% dos pacientes apresentaram clareamento logo no primeiro mês de pós-operatório, enquanto nos outros marcadores houve um clareamento mais gradual ao longo dos 6 meses.

Para avaliação de fatores prognósticos capazes de predizer sucesso da pieloplastia, foi realizada uma análise univariada que incluiu dados clínicos pré e pós-operatórios dos pacientes além de dosagem pré-operatória e clareamento dos biomarcadores, como demonstrado na Tabela 7. Não foi identificada associação estatisticamente significante em nenhuma variável estudada.

Tabela 7 - Análise univariada realizada na investigação de fatores preditores de sucesso na pieloplastia.

Análise univariada			
	Sucesso	Falha	p
Idade (a)	35[26-47]	40[39-50]	0,2228
Sintomas (n)	40	7	1,000
Tempo Sintomas (m)	24[10-69]	48[36-240]	0,075
Lateralidade D (n)	21	5	0,605
DMSA	40[21,75-47]	42[30-48]	0,866
Hidronefrose grave (n)	8	4	0,173
T1/2	99[45-99]	99[38-99]	0,825
Curva Lee (DTPA)	3[2-4]	3[2-4]	0,948
$KIM\text{-}1_{pré}$	455[335-573]	333[196-545]	0,272
$NGAL_{pré}$	3,79[2,35-5,96]	4,15[2,02-13,4]	0,572
$CA19\text{-}9_{pré}$	61[12,6-141,5]	37[2,4-299]	0,921
$\beta 2M_{pré}$	0,06[0,04-0,1]	0,03[0,02-0,1]	0,142
Clareamento 50% (n)	39	6	0,278

5. DISCUSSÃO

Apesar de vários estudos prévios terem investigado o papel dos biomarcadores urinários de obstrução em EJUP na população pediátrica, este trabalho é o primeiro na literatura a fazer essa avaliação na população adulta. Por ser uma condição de considerável expressão nos adultos, a EJUP e suas implicações merecem ser mais profundamente entendidas neste grupo etário.

Diferentemente das crianças, a real incidência de EJUP na população adulta não está bem definida, apesar das estimativas em 1:1500 indivíduos[11]. Apesar de relatos demonstrarem um proporção 1:1 entre sexos com uma maior tendência à população masculina, a amostra do presente estudo apresentou uma maior proporção de mulheres (63% vs. 37%). Há ainda relatos de que dois terços dos casos acorrem à esquerda, enquanto na nossa população houve uma leve predominância de acometimento do rim direito (55% vs. 45%).

Diferentemente da população pediátrica, em que os exames são realizados de rotina no pré-natal, nos adultos a grande maioria dos casos de EJUP apresenta-se com dor lombar[2]. A dor geralmente é incaracterística e está frequentemente associada a ingesta hídrica excessiva ou uso de diuréticos. Apenas raramente a EJUP é encontrada em exames de rotina em pacientes assintomáticos. Dessa forma a maioria dos pacientes é submetida a cirurgia, com apenas alguns casos tratados de forma conservadora nessa população[11].

Em crianças o USG é o padrão ouro na avaliação diagnóstica e as diversas classificações se baseiam nesse método para abordagem diagnóstica e terapêutica[115]. A classificação da SFU é a mais amplamente utilizada na prática clínica e em trabalhos científicos[32, 116]. Nos adultos a TC é utlizada de rotina na avaliação das hidronefroses, haja vista a maior gama de diagnósticos diferencias de dor lombar nessa população[11]. Contudo,

não existe uma classificação voltada para esse método na população estudada. Acreditamos, no entanto, que por consistir em uma classificação com parâmetros anatômicos bem definidos, a extrapolação da classificação da SFU, bem como sua categorização em leve, moderada e grave pode ser feita sem prejuízos.

Os pacientes estudados nessa pesquisa foram submetidos a um procedimento cirúrgico, enquanto os indivíduos alocados no grupo controle não. É bem conhecido que o estresse cirúrgico gera alterações endócrinas e imunológicas específicas nos diferentes órgãos[117]. Em comparação com a cirurgia aberta, o estresse cirúrgico decorrente de um procedimento videolaparoscópico é sabidamente inferior, no entanto não é isento de impacto nos diferentes órgão e sistemas. O estabelecimento de pneumoperitônio por si tem impacto em certas funções fisiológicas. O aumento da pressão abdominal afeta os rins por meio da diminuição do fluxo sanguíneo renal, da filtração glomerular e do débito urinário[118]. O trauma cirúrgico inicia respostas imunológicas e inflamatórias e proteínas de fase aguda são produzidos em resposta à lesão do tecido. Estudos revelaram uma liberação significativamente menor de citocinas pró-inflamatórias dentro do ambiente de hipercarbia gerado pelo gás carbônico em um procedimento laparoscópico em comparação à cirurgia aberta[118, 119]. No entanto essa é uma limitação universal dos estudos cirúrgicos em humanos. Por esse motivo foi optado por iniciar as coletas pós-operatórias apenas após 1 mês, para que a influência do trauma cirúrgico fosse minimizada.

A maioria dos estudos utilizam a FRD gerada pelo renograma com DTPA para indicação cirúrgica.[47, 57, 61, 120, 121]. Como o DTPA é filtrado e muitas vezes há um comprometimento da TFG em pacientes com nefropatia obstrutiva secundária a EJUP, optamos por utilizar o FRD medido pela cintilografia com DMSA para fins de análise no

presente estudo. Em nossa amostra, houve uma prevalência de 49% de comprometimento da função renal <40% do rim afetado, que foi semelhante ao padrão encontrado em outras séries[14, 122], no entanto superior ao encontrado em trabalhos com crianças[123, 124]. Talvez isso seja novamente explicada em parte pelo longo período de obstrução antes do tratamento cirúrgico, já que o tempo médio de evolução dos sintomas antes da cirurgia foi superior a 5 anos em nossa amostra (68,8 ± 85,2 meses).

No que concerne às análises dos biomarcadores usando *kits* de ELISA, todas foram realizadas entre dezembro de 2014 e agosto de 2015 para limitar a variação entre os *kits* utilizando ensaios com o mesmo número de lote. Ao fazê-lo, as amostras foram mantidas a -80°C por um período inferior a 1 ano. Madsen *et al* compararam as análises das mesmas amostras com 0,5, 1 e 3,5 anos de armazenamento em crianças com EJUP e não foram identificadas diferenças significativas nas concentrações entre os diferentes pontos no tempo[3].

O tempo final definido para avaliação foi de 6 meses de pós-operatório. Outros estudos utilizaram diferentes pontos no tempo, dentro os quais o período de 1 ano foi o mais longo já realizado. Contudo em amostras seriadas foi demonstrado que as concentrações de 6 meses tinham excelente correlação com as de 1 ano, muitas vezes sem diferença estatística[66, 74]. Além disso, os exames de imagem de controle no pós-operatório eram realizados entre 3 e 6 meses nas mais diversas séries[14, 48, 67, 121]. Ademais, há inúmeras dificuldades no acompanhamento de longo prazo de pacientes em grandes centros urbanos. Muitas vezes os pacientes possuem entraves financeiros para comparecer às coletas e às consultas de seguimento. Há ainda um grande incremento nos custos do projeto quando se deseja estender o período de seguimento Desta forma, optamos por utilizar o

período que pudesse correlacionar as concentrações urinárias com os achados nos exames de imagem de controle pós-operatório, necessitando de um seguimento mais curto de tempo sem prejuízo aos achados do estudo.

Alguns estudos utilizaram urina coletada da pelve renal afetada e tal abordagem melhorou o perfil diagnóstico dos marcadores[74, 77, 125]. No entanto essa coleta foi feita no intraoperatório e não agrega valor na avaliação pré-operatória propriamente dita. Em outro cenário, não seria aconselhável a obtenção de urina por técnicas percutâneas para obtenção de urina da pelve dilatada, devido aos riscos inerentes ao procedimento. Em outras palavras, apesar de a avaliação da urina na pelve renal agregar na acurácia diagnóstica dos biomarcadores urinários, optamos por não incluí-la na nossa análise, uma vez que a utilidade dos valores de corte obtidos na urina da pelve hidronefrótica é limitada e não são reprodutíveis na prática clínica.

Outra questão que deve ser levantada é sobre a necessidade do ajuste dos biomarcadores pela creatinina urinária. A maioria dos estudos com biomarcadores urinários utiliza a concentração ajustada pelos valores de creatinina urinária em sua análise para diminuir a variabilidade dos marcadores em função do estado de concentração de urina. Bartoli *et al* avaliaram o papel da concentração urinária de β2M, EGF e MCP-1 em crianças com EJUP e, como não houve diferença estatística entre ambos, os autores preferiram reportar seus resultados com valores ajustados[70]. Em nossa análise observamos que o ajuste pela creatinina urinária diminuiu a acurácia diagnóstica de todos os biomarcadores, exceto o CA 19-9. Sem os ajustes os respectivos valores de AUC da análise na curva ROC para KIM-1, NGAL, CA 19-9 e β2M seriam 0,85, 0,75, 0,67 e 0,62, bem como o valor dos pontos de corte para definição de obstrução seriam inferiores. No entanto

essa variação não foi estatisticamente significativa. Talvez, diferentemente da população pediátrica, o estado de hidratação tenha um menor impacto na concentração dos biomarcadores urinários em adultos e, por isso, o ajuste possa ser dispensado. No entanto, optamos por manter o ajuste pela creatinina em nossas análises para estar em conformidade com a literatura atual e servir como base de comparação com os estudos que utilizaram os mesmo marcadores.

As comparações entre as concentrações de biomarcadores urinários na urina proveniente da bexiga a partir de paciente com EJUP unilateral e o grupo controle do nosso estudo mostraram uma maior excreção de KIM-1, NGAL e CA19-9 nas amostras pré-operatórias. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de β2M. Curiosamente, estudos na população pediátrica demonstraram que as concentrações pré-operatórias de β2M foram negativamente correlacionados com a idade. Estudos que examinaram biomarcadores urinários em EJUP relataram limites diferentes para lactentes e crianças[66, 126], o que enfatiza ainda mais a importância de se avaliar potenciais biomarcadores urinários em diferentes grupos etários para determinar valores de corte ajustadas por idade. Esta correlação negativa entre a idade e dosagem de biomarcadores urinários foi discutida previamente em diversos estudos, e tem sido sugerido que os níveis urinários inferiores em crianças mais velhas com EJUP pode refletir uma menor produção de citocinas inflamatórias em obstruções de longa data[127]. Assim tal hipótese pode constituir a principal explicação na diferença entre as concentrações urinárias de biomarcadores na população adulta em relação às crianças. Ainda em acordância com tal fato, durante avaliação das concentrações de biomarcadores urinários no grupo controle para determinação dos valores de referência em adultos, excetuando-se pelo CA19-9, foi

observado uma concentração inferior aos valores reportados na literatura em crianças e lactentes saudáveis[74, 78].

Análises da curva ROC foram realizadas para definir o perfil de diagnóstico dos biomarcadores urinários no pré-operatório. Os perfis de diagnósticos do KIM-1, NGAL, CA19-9 e β2M geraram AUC's de 0,79 (95% CI 0,70 a 0,89), 0,71 (95% CI 0,61 a 0,83), 0,70 (95% CI 0,60 a 0,81) e 0,61 (95% CI 0,50 a 0,73), respectivamente. Os perfis de diagnósticos de KIM-1, NGAL e CA 19-9 foram satisfatórios pois obtiveram um AUC superior a 0,70.

Os valores de corte para cada marcador foram demonstrados na Tabela 5. Análises dos valores de corte de β2M não foram realizadas, uma vez que não foram encontrados como sendo significativamente diferentes dos controles. Os valores em negrito correspondem aos pontos de melhor desempenho combinado de sensibilidade e especificidade. Neste aspecto, o KIM-1 destacou-se como o mais sensível e o CA 19-9 como o mais específico. Diferentemente de outros estudos em que as concentrações urinárias de NGAL não foram aumentados nas amostras de urina no pré-operatório de crianças com EJUP em comparação com os controles[74], o presente estudo demonstrou que as concentrações urinárias de NGAL foram aumentadas no pré-operatório com boa capacidade de predizer obstrução, o que foi semelhante aos resultados de Wasilewska *et al*[75].

Foi ainda realizada uma análise combinada dos marcadores no intuito de aumentar a acurácia diagnóstica no uso dos biomarcadores urinários em obstrução. Em um cenário em que a detecção de hidronefrose é altamente sensível para a detecção de uropatia obstrutiva, haja vista que obstrução crônica sem dilatação do trato urinário é extremamente

raro, acredita-se que o papel dos biomarcadores seja gerar um ganho em especificidade, ou seja, em poder confirmatório de obstrução. Assim em um cenário de recursos limitados o CA 19-9 destaca-se por ser o biomarcador isoladamente mais específico e que mais pode agregar na avaliação pré-operatória de adultos com EJUP. No entanto, um painel de biomarcadores que inclui CA 19-9, KIM-1 e NGAL pode gerar uma especificidade de 95% com valor preditivo positivo de 90% e índice de probabilidade positivo de 8,4. Da mesma forma, quando os 3 marcadores citados estiverem negativos haverá um valor preditivo negativo de 90% com um índice de probabilidade negativo de 9,5, praticamente excluindo obstrução. Nesse sentido, a utilização de um painel de biomarcadores urinários ao invés do uso isolado mostra-se vantajosa no contexto da avaliação pré-operatória de pacientes adultos com EJUP.

O presente estudo demonstrou que houve uma queda progressiva dos biomarcadores de uma maneira geral no pós-operatório. Houve , no entanto, diferentes padrões de queda dos marcadores. O CA19-9 apresentou uma elevação no primeiro mês de coleta seguido de um descenso progressivo. O KIM-1 apresentou manutenção de níveis altos na primeira coleta com descenso mais lento nas coletas seguintes. Já o NGAL mostrou um padrão queda rápida já observada na primeira coleta com valores finais inferiores aos dos controle normais. Isso se traduz na velocidade e padrão de clareamento dos biomarcadores no pós-operatório como demonstrado na figura 21. O NGAL se mostrou como o marcador que teve maior queda após a desobstrução, com a quase totalidade dos pacientes apresentando um clareamento superior a 50% do seu valor pré-operatório até o sexto mês, dos quais 55,7% clarearam já no fim do primeiro mês. Tal conceito é inédito e não foi descrito na literatura até o presente momento.

Sabe-se que a elevação dos biomarcadores urinários está relacionada a processos inflamatórios instaurados na fisiopatologia da uropatia obstrutiva. Desta forma, a queda dos biomarcadores após o procedimento cirúrgico é um indicativo de que o processo inflamatório foi, pelo menos em parte, controlado. No longo prazo isso pode ter um impacto positivo na diminuição da incidência de tumores uroteliais do trato alto, bem como de outras neoplasias relacionadas ao processo inflamatório crônico.

Pieloplastia é o padrão ouro de tratamento cirúrgico para EJUP[7, 46]. Renograma com diurético fornece a avaliação do estado de drenagem pós-operatória e potencial mudança de FRD, sendo amplamente aceito e frequentemente usado para determinar o resultado em adultos que foram submetidos a pieloplastia. No entanto, esse exame envolve radiações ionizantes e pode ser difícil de interpretar na presença de hidronefrose[124, 128]. Além disso, a frequência ideal da avaliação com renograma após pieloplastia ainda permanece indeterminada, uma vez que a maioria dos estudos disponíveis na literatura sobre o seguimento dos pacientes após pieloplastia para EJUP foram realizadas na população pediátrica e não no população adulta[14]. Neste contexto, foi nosso intuito avaliar o papel dos biomarcadores na avaliação de sucesso clínico da pieloplastia, bem como seu potencial de predizer melhora na FRD.

Foi sugerido que uma melhora na FRD no renograma fosse utilizado rotineiramente para avaliar sucesso funcional da pieloplastia, no entanto tal critério segue indefinido. Atualmente, não existe uma definição de uma redução significativa em FRD. Em analogia, diminuições variáveis na FRD de > 5%, 10%, ou > 10%, também têm sido utilizadas como indicação de degradação de FRD em vários estudos, sem nenhum consenso[29, 129]. Como variações de até 10% foram relatadas em adultos saudáveis

decorrentes de nível de hidratação, doença do parênquima renal coexistente e posicionamento[129], optamos por definir 10% como o valor para predizer melhora ou piora em comparação com exames prévios. Ortapamuk *et al* mostraram também que em 80% dos pacientes com um FRD pré-operatória de <30% e em 50% dos pacientes com um DRF> 30%, nenhuma melhoria na FRD foi observada no pós-operatório, mesmo que o T1/2 ou a curva no renograma demonstrasse padrão não obstruído[50]. Além disso, foi demonstrado que a função renal pode permanecer prejudicada apesar da pieloplastia bem sucedida[56, 130]; portanto, a presença ou ausência de obstrução parece ser um indicador mais confiável do que a evolução da FRD no pós-operatório.

Em nossa série, 7 (14%) pacientes permaneceram com algum grau de dor semelhante à queixa pré-operatória 6 meses após a pieloplastia e, por isso, foram considerados como falha terapêutica. Desses, apenas 2 (28%) tiveram persistência da obstrução no renograma com diurético. Curiosamente, mesmo permanecendo com padrão obstrutivo, um desses pacientes teve uma melhora no DMSA superior a 10% e o outro teve melhora absoluta do valor de T1/2. A razão para tal fenômeno não é clara, pois outros pacientes com padrões semelhantes apresentaram resolução completa da dor.

Na análise univariada nenhum dos fatores clínicos ou de imagem foi capaz de predizer o sucesso clínico ou melhora radiológica na nossa coorte de pacientes operados. Os resultados não foram afetados por sexo, idade, grau de hidronefrose e nem pelas variáveis fornecidas pelo renograma. As concentrações dos biomarcadores urinários, bem como a taxa de clareamento não foram capazes de discriminar entre os casos que falharam ao procedimento cirúrgico.

Alguns estudos conseguiram demonstrar uma correlação negativa entre FRD e a

concentração perioperatória de biomarcadores urinários em crianças com EJUP[75, 131]. Grandaliano *et al* demonstraram que a concentração de MCP-1 na urina a partir do rim obstruído foi correlacionada inversamente com o FRD[71]. Wasilewska *et al*, por sua vez, demonstraram correlação linear significativa dos biomarcadores urinários com FRD em um estudo prospectivo caso-controle que incluiu um grupo de 20 crianças com EJUP grave submetidos a cirurgia e 2 grupos controles, que consistiram em 20 crianças com hidronefrose leve não-obstrutiva e 25 crianças saudáveis. Eles observaram uma correlação negativa entre os níveis pré-operatórios de NGAL e KIM-1 com a FRD, mas nenhuma correlação significativa com a creatinina sérica ou TFG[75]. Alguns estudos não reproduziram os resultados no que diz respeito à correlação negativa e em suas discussões muitos autores sugeriram que o baixo número de indivíduos com FRD < 40% analisados pode explicar tais achados[74]. Outros trabalhos demonstraram uma fraca correlação com a concentração urinária de CA 19-9[78] ou apenas uma tendência estatisticamente não significante em direção a uma correlação negativa entre FRD e dosagens urinárias do biomarcador EGF[131]. Uma correlação com FRD é muito valiosa, visto que o poder do biomarcador para detectar a progressão da doença melhora quando existe uma correlação com a função renal. No entanto, na população adulta, nenhum dos biomarcadores estudados foi capaz de se correlacionar com FRD. Ademais, nenhuma outra variável clínica ou radiológica teve associação com os desfechos clínicos.

Estudos anteriores na população pediátrica têm mostrado que a existência de um renograma precoce de padrão não obstrutivo consiste em um bom preditor de resultado a longo prazo. Um estudo realizado por Psooy *et al* envolvendo 123 pacientes pediátricos mostrou recorrência tardia da obstrução em apenas um paciente (0,8%) quando o

renograma pós-operatório inicial estava desobstruído[132]. Pohl *et al* mostraram que nenhuma deterioração na drenagem foi observada se um padrão não obstruído foi demonstrado no renograma com 3 meses de pós-operatório[133]. Dessa forma há evidência de que resultados de pieloplastia têm demonstrado ser duradouros[134].

Embora a grande maioria das falhas ocorram dentro de 1 ano após pieloplastia, 4,16% das falhas ocorreram depois de 2 anos em pieloplastia de pacientes com sintomas persistentes[135]. Acompanhamento clínico com renogramas seriados neste grupo de pacientes pode ajudar a tranquilizar o paciente e o cirurgião, uma vez que muito dos sintomas em curso não são devidos à persistência ou recorrência da EJUP. Lam *et al* demonstraram que nenhum dos pacientes com dor persistente após pieloplastia e presença de obstrução equívoca ou drenagem desobstruída no renograma desenvolveram obstrução significativa ou deterioração da FRD em seguimento de longo prazo. Foi ainda sugerido que pacientes adultos que permaneceram sintomáticos com dor após pieloplastia devem ser reavaliados antes de uma reintervenção, pois foi evidenciado que a maioria desse grupo de pacientes obtém melhora ou resolução da dor com o tempo[14]. Desta forma, um novo renograma com 12 meses de pós-operatório foi programado para os pacientes que permaneceram sintomáticos em nosso estudo para avaliar a necessidade de intervenção cirúrgica ou endoscópica.

Provavelmente os mecanismos envolvidos na gênese da dor na EJUP do adulto são multifatoriais e não são completamente elucidados até o presente momento. Por se tratar de um critério subjetivo, a avaliação sistemática da dor como critério de sucesso da pieloplastia ainda levanta questionamentos. Possivelmente alguns desses pacientes experimentaram edema prolongado da anastomose pieloureteral e acreditamos que tais

pacientes eventualmente vão apresentar melhora no seguimento.

Em resumo, KIM-1, NGAL e CA19-9 são interessantes no diagnóstico de obstrução uma vez que suas concentrações estavam aumentadas na urina nas amostras pré-operatórias. Esses marcadores foram também bons preditores de reposta ao tratamento cirúrgico, uma vez que houve queda das concentrações urinárias dos mesmos para valores similares aos dos controles. Pelo perfil de clareamento, o NGAL urinário pode servir como medida de seguimento de longo prazo dos pacientes como preditor de recorrência, no entanto mais estudos são necessários para confirmar tais aplicações. No entanto, os biomarcadores urinários não foram úteis na avaliação prognóstica de adultos com EJUP submetidos a pieloplastia videolaparoscópica. Até o momento não há bons preditores de sucesso da pieloplastia laparoscópica, com resultados conflituantes na literatura. Como as taxas de sucesso são geralmente em torno de 90%, um seguimento de mais longo prazo é necessário para avaliar possíveis associações com os desfechos clínicos, que fogem ao escopo deste trabalho. Apesar de tal achado limitar as implicações prognósticas dos biomarcadores no curto prazo, isso pode ser decorrente do número insuficiente de pacientes para avaliação prognóstica dadas as altas taxas de sucesso do procedimento dentro de um período de seguimento relativamente curto.

Vários potenciais novos biomarcadores urinários para a obstrução em hidronefrose foram introduzidos durante a década passada, mas nenhum deles foi ainda implementado na prática clínica diária, devido às suas limitações e por causa da necessidade de uma maior validação em estudos clínicos. Uma questão importante é a falta de padronização coerente dos vários estudos, por exemplo, critérios de definição diferentes para EJUP, diferentes critérios de inclusão, os procedimentos diferentes para a coleta da amostra, entre outros[23].

Ademais, nenhum estudo contemplou a população adulta com EJUP, o que limita a sua ampla utilização na população geral e nesse aspecto o presente estudo constitui uma contribuição científica nesse sentido. A própria definição de obstrução em si permanece controversa, uma vez que o fato de se submeter a pieloplastia em si não é uma prova de obstrução[78, 136]. Como já mencionado, dificilmente uma única molécula será capaz de reunir todos os atributos necessários para ser utilizada como biomarcador urinário de obstrução, contexto em que um painel de marcadores parece mais promissor. Os valores de referência são também um desafio, uma vez que existe uma alta variação nos valores medidos dependendo dos métodos de análise e da variação biológica entre as diferentes pessoas e, provavelmente, também da idade dos indivíduos.

Diferentemente da população pediátrica em que há um número considerável de indivíduos com EJUP com hidronefrose não-obstrutiva, na população adulta a quase totalidade dos casos encontrados na prática clínica são sintomáticos, como já discutido anteriormente. Desta forma, na avaliação de métodos diagnósticos capazes de predizer obstrução, faz-se necessária a comparação contra grupo controle sem hidronefrose. Essa comparação gera uma magnificação dos achados, diferentemente do que ocorre quando a mesma é realizada entre casos com diferentes graus de obstrução. No entanto tal fato não anula a validade do estudo e explicita a necessidade de avaliação dos biomarcadores urinários em outros contextos de obstrução crônica. Talvez o maior desafio seja identificar uma população de pacientes com hidronefrose assintomática para comparar com os casos de EJUP sintomáticos, para avaliar a acurácia diagnóstica desses marcadores em discriminar obstrução nesse contexto.

O painel dos biomarcadores urinários aqui apresentados é útil no diagnóstico de

obstrução urinária em pacientes com EJUP. Apesar da tentativa ambiciosa de correlacionar a FRD e as taxas de sucesso da pieloplastia videolaparoscópica, sua utilidade nesse aspecto não foi evidenciada no presente estudo.

É possível que tais marcadores venham a ter utilidade na prática clínica em um futuro próximo, contudo novos estudos devem ser realizados para sedimentar os achados do presente trabalho. Da mesma forma, sugerimos a realização de estudos usando os mesmos marcadores em cenários clínicos distintos e com uma avaliação clínica complementar em um prazo mais longo. Assim, será possível avaliar de forma definitiva o valor diagnóstico e prognóstico de KIM-1, NGAL, CA19-9 e β2M, o que extrapola o objetivo primário do presente trabalho. No entanto, diante dos atuais achados é possível vislumbrar um cenário em que os biomarcadores urinários sejam dosados rotineiramente em paciente assintomáticos com hidronefrose diagnosticada incidentalmente, o que indicaria a presença de lesão tubular renal e, desta forma, serviria como coadjuvante decisivo na indicação cirúrgica nesses casos. Ou ainda em casos sintomáticos em que a pieloplastia já estaria indicada, pois poderiam ser úteis no seguimento, uma vez seriam capazes de indicar que a lesão renal por estiramento mecânico foi controlada, bem como que eventual retratamento seja necessário caso suas concentrações voltassem a se elevar, sobretudo no contexto em que o renograma com diurético seja incapaz de determinar persistência da obstrução.

6. CONCLUSÕES

1. Os biomarcadores urinários demonstraram ser úteis no diagnóstico de obstrução em adultos com estenose de junção ureteropélvica, possuindo concentrações mais elevados quando comparados com o grupo controle. O KIM-1 foi o marcador mais sensível e o CA 19-9 o mais específico, enquanto o NGAL foi o que apresentou maior queda após desobstrução.

2. Houve queda estatisticamente significante dos biomarcadores urinários KIM-1, NGAL e CA 19-9 no seguimento pós-operatório de pieloplastia videolaparoscópica em adultos, demonstrando um papel importante na avaliação de resposta ao tratamento cirúrgico.

7. ANEXOS

7.1 Carta de Aprovação no Comitê de Ética Institucional

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: AVALIAÇÃO DOS BIOMARCADORES URINÁRIOS NO CONTROLE DO TRATAMENTO DE ESTENOSE DE JUNÇÃO URETEROPÉLVICA EM ADULTOS
Pesquisador Responsável: Ricardo Jordão Duarte **Versão: 2**
Pesquisador Executante: Eduardo de Paula Miranda **CAAE:** 21408713.0.0000.0068
Co-autores: Sabrina Thalita dos Reis, Kátia Ramos Moreira Leite, Miguel Srougi
Finalidade Acadêmica Doutorado
Orientador: Ricardo Jordão Duarte
Instituição: HCFMUSP
Departamento: CIRURGIA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 11314
Número do Parecer: 469.873
Data da Relatoria: 27/11/2013
Apresentação do Projeto: Trata-se de projeto de pesquisa original que analisará a utilidade de biomarcadores urinários no cuidado de pacientes com estenose da junção uretero-pélvica (JUP) submetidos a tratamento cirúrgico
Objetivo da Pesquisa: Objetivo primário: Avaliar o papel dos biomarcadores urinários no acompanhamento após pieloplastia em pacientes com estenose de JUP.
Objetivos secundários: Estabelecer valores de referência para dosagem urinária de biomarcadores para população adulta em nosso meio. Correlacionar biomarcadores urinários com recuperação da função renal após desobstrução em pacientes com estenose de JUP, em comparação com métodos convencionais (DMSA, DTPA)
Avaliação dos Riscos e Benefícios: Risco mínimo pois não altera o tratamento. Apenas realizará coleta de urina em três períodos determinados para os pacientes e em um período para os indivíduos controles
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: O estudo é original e de grande interesse prático, pois caso os marcadores sejam úteis, poderão substituir exames mais complexos utilizados atualmente, com menos riscos para os indivíduos
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Adequados e muito bem redigidos. Apenas o prefixo do telefone da Cappesq nos TCLEs não foi atualizado para 2661
Recomendações: Corrigir o prefixo do telefone de contato da Cappesq no TCLE
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Considerações atendidas
Situação do Parecer: Aprovado
Necessita Apreciação da CONEP: Não
Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: **a)** desenvolver o projeto conforme delineado; **b)** elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **c)**apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; **d)** manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; **e)** encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; **f)** justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 28 de Novembro de 2013

Prof. Dr. Luiz Eugênio Garcez Leme
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa-CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
CEP 05403-010 - São Paulo - SP.tnb
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

7.2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1.NOME:.:.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M □ F □
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO:.....CIDADE .....
CEP:.....TELEFONE: DDD(.....).....

2.RESPONSÁVEL LEGAL .....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M □ F □
DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
ENDEREÇO:.....Nº.....
BAIRRO:.....CIDADE:.....
CEP:.....TELEFONE:DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

"Avaliação Biomarcadores Urinários no Controle do Tratamento de Estenose de Junção Ureteropélvica em Adultos"

PESQUISADOR: Ricardo Jordão Duarte

CARGO/FUNÇÃO: Prof. Livre Docente e Médico Assistente da Clínica Urológica do HC-FMUSP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 47864
UNIDADE DO HC-FMUSP: Departamento de Cirurgia, Clínica urológica
PESQUISADOR COLABORADOR: Eduardo de Paula Miranda

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO x RISCO MÉDIO □
RISCO BAIXO □ RISCO MAIOR □

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador_____

O (a) senhor (a) está sendo convidado a participar de um estudo clínico para avaliar uma doença que afeta os rins, chamada Estenose de Junção Ureteropélvica. Essa doença consiste em um estreitamento na saída de urina do rim, o que causa dilatação do sistema coletor de urina. Esse é um problema geralmente adquirido durante o desenvolvimento das crianças dentro do útero das mães de tal forma que a maioria das pessoas portadoras já nascem com tal doença, embora muitas vezes só venham a desenvolver sintomas na vida adulta. Esse entupimento para a saída de urina pode machucar e destruir o rim se não tratada.

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária nesta pesquisa, que visa estudar componentes na urina de pacientes com entupimento nas vias urinárias para descobrir se tais elementos podem ajudar a determinar o grau de sofrimento nos rins e ainda avaliar resposta a cirurgia. Para a realização do projeto é necessário coletar e armazenar urina do (a) senhor (a) para que a mesma seja estudada e tais elementos, chamados biomarcadores, sejam dosados.

Caso o (a) senhor (a) ou o representante legal concorde em participar do estudo, dados da sua história clínica e alguns resultados de exames laboratoriais serão coletados do prontuário médico. Após ter sido indicado sua cirurgia para correção do estreitamento da junção ureteropélvica, serão colhidas 3 amostras de urina ao longo do seu tratamento, todas em consultas agendadas realizadas no ambulatório de Urologia do Instituto Central do HC-FMUSP. A primeira coleta será realizada na consulta em que serão solicitados os exames

pré-operatórios para agendamento da cirurgia. A segunda coleta será obtida 10 dias após a cirurgia, na primeira consulta de retorno. A terceira e última será feita em média 3 meses após a cirurgia. Essas coletas serão feitas no ambulatório e serão avaliadas em nossos laboratórios.

Tais coletas não irão interferir no seu tratamento, que será realizado por meio de uma cirurgia que é conhecida como pieloplastia, que consiste na desentupimento da saída de urina pelo rim. Antes da realização da cirurgia serão colhidos exames colhidos exames de sangue por punção de veia do antebraço, será realizada tomografia computadorizada de abdome e cintilografia renal. O senhor será ainda avaliado pela equipe da anestesia para identificação de riscos que possam compro

As coletas adicionais de urina não oferecem nenhum risco e nem acarretará nenhum prejuízo a sua saúde. Além disso, essa pesquisa não mudará em nada o seu tratamento ou os resultados da cirurgia, pois não será testado nenhum medicamento e nenhum tratamento novo.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador_____

Não há benefício direto para o participante do estudo. O (a) senhor (a) estará contribuindo para a pesquisa e para melhor entendimento de uma doença que pode levar a lesões irreversíveis aos rins de muitas pessoas.

Não há despesas pessoais para o (a) senhor (a) em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com a outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. E o (a) senhor (a) têm o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas e poderá ver o resultado dos mesmos a qualquer momento. O pesquisador e sua equipe estão comprometidos a utilizar

os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Antes de concordar em participar, é importante que o (a) senhor (a) leia e entenda todas as explicações que estão a seguir sobre os procedimentos, os benefícios potenciais e os riscos envolvidos na participação na pesquisa. Por favor, peça para qualquer pessoa da equipe do estudo que explique qualquer palavra ou informação que não seja entendida de maneira bem clara. Não assine este termo de consentimento a não ser que o (a) senhor (a) tenha tido a oportunidade de fazer perguntas e de receber respostas que esclareçam todas as suas dúvidas. Se escolher assinar e participar, você assinará duas cópias deste documento e uma delas será entregue a você.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dr. Ricardo Jordão Duarte que pode ser encontrado no endereço Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 455 – Pinheiros, São Paulo-SP. CEP 05.403-000. Telefone(s): 2661-7990, 980377023

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador_____

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim descrevendo o estudo **"Avaliação Biomarcadores Urinários no Controle do Tratamento de Estenose de Junção Ureteropélvica em Adultos".**

Eu discuti com o Dr. Ricardo Jordão Duarte sobre a minha decisão em participar neste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Data ___/___/___

Assinatura do paciente/representante legal

Data ___/___/___

Assinatura da testemunha
(pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data ___/___/___

Assinatura do responsável pelo estudo.

8. REFERÊNCIAS

1. Nguyen HT, Herndon CD, Cooper C, Gatti J, Kirsch A, Kokorowski P, et al. The Society for Fetal Urology consensus statement on the evaluation and management of antenatal hydronephrosis. J Pediatr Urol. 2010;6(3):212-31.

2. Mesrobian H-GO, Mirza SP. Hydronephrosis: A View from the Inside. Pediatric Clinics of North America. 2012;59(4):839-51.

3. Madsen MG. Urinary biomarkers in hydronephrosis. Danish medical journal. 2013;60(2):B4582.

4. Tripp BM, Homsy YL. Neonatal hydronephrosis--the controversy and the management. Pediatr Nephrol. 1995;9(4):503-9.

5. Elder JS, Stansbrey R, Dahms BB, Selzman AA. Renal histological changes secondary to ureteropelvic junction obstruction 1995.

6. Suárez ER, Siwy J, Zürbig P, Mischak H. Urine as a source for clinical proteome analysis: From discovery to clinical application. Biochim Biophys Acta. 2013;

7. Tapia J, Gonzalez R. Pyeloplasty improves renal function and somatic growth in children with ureteropelvic junction obstruction. The Journal of urology. 1995;154(1):218-22.

8. Gill B, Levitt S, Kogan S, Reda E, Weiner S, Donner K. The dilated urinary tract in children. Prospective analysis with correlation of radiological, isotope, pressure perfusion and surgical findings. British journal of urology. 1988;61(5):413-9.

9. Anderson PJ, Rangarajan V, Gordon I. Assessment of drainage in PUJ dilatation: pelvic excretion efficiency as an index of renal function. Nucl Med Commun. 1997;18(9):823-6.

10. Chertin B, Rolle U, Farkas A, Puri P. Does delaying pyeloplasty affect renal function in children with a prenatal diagnosis of pelvi-ureteric junction obstruction? BJU international. 2002;90(1):72-5.

11. Khan F, Ahmed K, Lee N, Challacombe B, Khan MS, Dasgupta P. Management of ureteropelvic junction obstruction in adults. Nature reviews Urology. 2014;11(11):629-38.

12. Kausik S, Segura JW. Surgical management of ureteropelvic junction obstruction in adults. International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology. 2003;29(1):3-10.

13. Lam JS, Breda A, Schulam PG. Ureteropelvic junction obstruction. The Journal of urology. 2007;177(5):1652-8.

14. Lam W, Fernando A, Issa R, Heenan S, Sandhu S, Le Roux P, et al. Is routine postoperative diuresis renography indicated in all adult patients after pyeloplasty for ureteropelvic junction obstruction? Urology. 2015;85(1):246-51.

15. Cohen B, Goldman SM, Kopilnick M, Khurana AV, Salik JO. Ureteropelvic junction obstruction: its occurrence in 3 members of a single family. The Journal of urology. 1978;120(3):361-4.

16. Peters CA. Urinary tract obstruction in children. The Journal of urology. 1995;154(5):1874-83; discussion 83-4.

17. Decramer S, Bascands JL, Schanstra JP. Non-invasive markers of ureteropelvic junction obstruction. World journal of urology. 2007;25(5):457-65.

18. Park JM, Bloom DA. The pathophysiology of UPJ obstruction. Current concepts. The Urologic clinics of North America. 1998;25(2):161-9.

19. Misseri R, Rink RC, Meldrum DR, Meldrum KK. Inflammatory mediators and growth factors in obstructive renal injury. The Journal of surgical research. 2004;119(2):149-59.

20. Chevalier RL. Obstructive nephropathy: towards biomarker discovery and gene therapy. Nature clinical practice Nephrology. 2006;2(3):157-68.

21. Chevalier RL. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy. Current opinion in pediatrics. 2006;18(2):153-60.

22. Josephson S. Experimental obstructive hydronephrosis in newborn rats. III. Long-term effects on renal function. The Journal of urology. 1983;129(2):396-400.

23. Madsen MG, Nørregaard R, Frøkiær J, Jørgensen TM. Urinary biomarkers in prenatally diagnosed unilateral hydronephrosis. J Pediatr Urol. 2011;7(2):105-12.

24. Misseri R, Meldrum KK. Mediators of fibrosis and apoptosis in obstructive uropathies. Current urology reports. 2005;6(2):140-5.

25. Misseri R, Meldrum DR, Dinarello CA, Dagher P, Hile KL, Rink RC, et al. TNF-alpha mediates obstruction-induced renal tubular cell apoptosis and proapoptotic signaling. American journal of physiology Renal physiology. 2005;288(2):F406-11.

26. Diamond JR, Levinson M, Kreisberg R, Ricardo SD. Increased expression of decorin in experimental hydronephrosis. Kidney international. 1997;51(4):1133-9.

27. Cachat F, Lange-Sperandio B, Chang AY, Kiley SC, Thornhill BA, Forbes MS, et al. Ureteral obstruction in neonatal mice elicits segment-specific tubular cell responses leading to nephron loss. Kidney international. 2003;63(2):564-75.

28. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2004;15(1):1-12.

29. Khalaf IM, Shokeir AA, El-Gyoushi FI, Amr HS, Amin MM. Recoverability of renal function after treatment of adult patients with unilateral obstructive uropathy and normal contralateral kidney: a prospective study. Urology. 2004;64(4):664-8.

30. Leahy AL, Ryan PC, McEntee GM, Nelson AC, Fitzpatrick JM. Renal injury and recovery in partial ureteric obstruction. The Journal of urology. 1989;142(1):199-203.

31. Lucarelli G, Mancini V, Galleggiante V, Rutigliano M, Vavallo A, Battaglia M, et al. Emerging urinary markers of renal injury in obstructive nephropathy. BioMed research international. 2014;2014:303298.

32. Fernbach SK, Maizels M, Conway JJ. Ultrasound grading of hydronephrosis: introduction to the system used by the Society for Fetal Urology. Pediatric radiology. 1993;23(6):478-80.

33. El-Nahas AR, Abou-El-Ghar M, Shoma AM, Eraky I, El-Kenawy MR, El-Kappany H. Role of multiphasic helical computed tomography in planning surgical treatment for pelvi-ureteric junction obstruction. BJU international. 2004;94(4):582-7.

34. Roarke MC, Sandler CM. Provocative imaging. Diuretic renography. The Urologic clinics of North America. 1998;25(2):227-49.

35. O'Reilly PH, Lawson RS, Shields RA, Testa HJ. Idiopathic hydronephrosis--the diuresis renogram: a new non-invasive method of assessing equivocal pelvioureteral junction obstruction. The Journal of urology. 1979;121(2):153-5.

36. Vlajkovic M, Ilic S, Rajic M, Petronijevic V, Bubanj T, Artiko V. Diuresis renal scintigraphy "F-0" in diagnosing of upper urinary tract obstruction in children: the clinical significance. Nuclear medicine review Central & Eastern Europe. 2005;8(1):21-7.

37. Bratt CG, Aurell M, Nilsson S. Renal function in patients with hydronephrosis. British journal of urology. 1977;49(4):249-55.

38. Ozayar A, Friedlander JI, Shakir NA, Gahan JC, Cadeddu JA, Morgan MS. Equivocal ureteropelvic junction obstruction on diuretic renogram--should minimally invasive pyeloplasty be offered to symptomatic patients? The Journal of urology. 2015;193(4):1278-82.

39. de Bessa J, Jr. Acurácia diagnóstica do estudo dos jatos ureterais a ultra-sonografia com Doppler Colorido no diagnóstico das hidronefroses: Universidade de São Paulo; 2007.

40. Lee HJI, S.A.; Lim, G.Y.; Chum, H.J.; Byoun, J.Y. Usefulness of 99mTc-MAG3 Diuretic Renography and Correlation with Ultrasound and Clinical Outcome in the Children under the Age of One Year. RSNA-Annual Meeting Program2005. p. 275.

41. O'Reilly PH, Testa HJ, Lawson RS, Farrar DJ, Edwards EC. Diuresis renography in equivocal urinary tract obstruction. British journal of urology. 1978;50(2):76-80.

42. Lupton EW, Testa HJ. The obstructive diuresis renogram: an appraisal of the significance. The Journal of urology. 1992;147(4):981-3.

43. Poulakis V, Witzsch U, Schultheiss D, Rathert P, Becht E. [History of ureteropelvic junction obstruction repair (pyeloplasty). From Trendelenburg (1886) to the present]. Der Urologe Ausg A. 2004;43(12):1544-59.

44. Arap MA, Torricelli FC, Mitre AI, Chambo JL, Duarte RJ, Srougi M. Lessons from 90 consecutive laparoscopic dismembered pyeloplasties in a residency program. Scandinavian journal of urology. 2013;47(4):323-7.

45. Mitre AI, Brito AH, Srougi M. Laparoscopic dismembered pyeloplasty in 47 cases. Clinics. 2008;63(5):631-6.

46. Knoedler J, Han L, Granberg C, Kramer S, Chow G, Gettman M, et al. Population-based comparison of laparoscopic and open pyeloplasty in paediatric pelvi-ureretic junction obstruction. BJU international. 2013;111(7):1141-7.

47. Eden CG, Cahill D, Allen JD. Laparoscopic dismembered pyeloplasty: 50 consecutive cases. BJU international. 2001;88(6):526-31.

48. Kinn AC. Ureteropelvic junction obstruction: long-term followup of adults with and without surgical treatment. The Journal of urology. 2000;164(3 Pt 1):652-6.

49. Eskild-Jensen A, Gordon I, Piepsz A, Frokiaer J. Interpretation of the renogram: problems and pitfalls in hydronephrosis in children. BJU international. 2004;94(6):887-92.

50. Ortapamuk H, Naldoken S, Tekdogan UY, Aslan Y, Atan A. Differential renal function in the prediction of recovery in adult obstructed kidneys after pyeloplasty. Annals of nuclear medicine. 2003;17(8):663-8.

51. Stock JA, Krous HF, Heffernan J, Packer M, Kaplan GW. Correlation of renal biopsy and radionuclide renal scan differential function in patients with unilateral ureteropelvic junction obstruction. The Journal of urology. 1995;154(2 Pt 2):716-8.

52. Bhat GS, Maregowda S, Jayaram S, Siddappa S. Is renal biopsy a better predictor of the outcome of pyeloplasty in adult ureteropelvic junction obstruction? Urology. 2012;79(2):321-5.

53. Mikkelsen SS, Rasmussen BS, Jensen TM, Hanghoj-Petersen W, Christensen PO. Long-term follow-up of patients with hydronephrosis treated by Anderson-Hynes pyeloplasty. British journal of urology. 1992;70(2):121-4.

54. Arun N, Kekre NS, Nath V, Gopalakrishnan G. Is open pyeloplasty still justified? British journal of urology. 1997;80(3):379-81.

55. Pickard R. Which surgery is 'best' for patients with PUJ obstruction in a poorly functioning kidney? Indian J Urol. 2007;23(1):12-3.

56. Castagnetti M, Novara G, Beniamin F, Vezzú B, Rigamonti W, Artibani W. Scintigraphic renal function after unilateral pyeloplasty in children: a systematic review. BJU international. 2008;102(7):862-8.

57. Almodhen F, Jednak R, Capolicchio JP, Eassa W, Brzezinski A, El-Sherbiny M. Is routine renography required after pyeloplasty? The Journal of urology. 2010;184(3):1128-33.

58. Lopez-Pujals A, Leveillee RJ, Wong C. Application of strict radiologic criteria to define success in laparoscopic pyeloplasty. Journal of endourology / Endourological Society. 2004;18(8):756-60.

59. Maynes LJ, Levin BM, Webster TM, Baldwin D, Herrell SD. Measuring the true success of laparoscopic pyeloplasty. Journal of endourology / Endourological Society. 2008;22(6):1193-8.

60. Soulie M, Thoulouzan M, Seguin P, Mouly P, Vazzoler N, Pontonnier F, et al. Retroperitoneal laparoscopic versus open pyeloplasty with a minimal incision: comparison of two surgical approaches. Urology. 2001;57(3):443-7.

61. Jarrett TW, Chan DY, Charambura TC, Fugita O, Kavoussi LR. Laparoscopic pyeloplasty: the first 100 cases. The Journal of urology. 2002;167(3):1253-6.

62. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clinical pharmacology and therapeutics. 2001;69(3):89-95.

63. Chevalier RL. Biomarkers of congenital obstructive nephropathy: past, present and future. The Journal of urology. 2004;172(3):852-7.

64. Cost NG, Noh PH, Devarajan P, Ivancic V, Reddy PP, Minevich E, et al. Urinary NGAL Levels Correlate with Differential Renal Function in Patients with Ureteropelvic Junction Obstruction Undergoing Pyeloplasty. The Journal of urology. 2013;

65. Caubet C, Lacroix C, Decramer S, Drube J, Ehrich JH, Mischak H, et al. Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery in pediatric renal disease. Pediatr Nephrol. 2010;25(1):27-35.

66. Taha MA, Shokeir AA, Osman HG, Abd El-Aziz Ael A, Farahat SE. Pelvi-ureteric junction obstruction in children: the role of urinary transforming growth factor-beta and epidermal growth factor. BJU international. 2007;99(4):899-903.

67. Almodhen F, Loutochin O, Capolicchio JP, Jednak R, El-Sherbiny M. The role of bladder urine transforming growth factor-beta1 concentrations in diagnosis and management of unilateral prenatal hydronephrosis. The Journal of urology. 2009;182(1):292-8; discussion 8.

68. Palmer LS, Maizels M, Kaplan WE, Firlit CF, Cheng EY. Urine levels of transforming growth factor-beta 1 in children with ureteropelvic junction obstruction. Urology. 1997;50(5):769-73.

69. Yang Y, Zhou X, Gao H, Ji SJ, Wang C. The expression of epidermal growth factor and transforming growth factor-beta1 in the stenotic tissue of congenital pelvi-ureteric junction obstruction in children. J Pediatr Surg. 2003;38(11):1656-60.

70. Bartoli F, Penza R, Aceto G, Niglio F, D'Addato O, Pastore V, et al. Urinary epidermal growth factor, monocyte chemotactic protein-1, and β2-microglobulin in children with ureteropelvic junction obstruction. J Pediatr Surg. 2011;46(3):530-6.

71. Grandaliano G, Gesualdo L, Bartoli F, Ranieri E, Monno R, Leggio A, et al. MCP-1 and EGF renal expression and urine excretion in human congenital obstructive nephropathy. Kidney international. 2000;58(1):182-92.

72. Carr MC, Peters CA, Retik AB, Mandell J. Urinary levels of the renal tubular enzyme N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in unilateral obstructive uropathy. The Journal of urology. 1994;151(2):442-5.

73. Taha MA, Shokeir AA, Osman HG, Abd El-Aziz Ael A, Farahat SE. Obstructed versus dilated nonobstructed kidneys in children with congenital ureteropelvic junction narrowing: role of urinary tubular enzymes. The Journal of urology. 2007;178(2):640-6.

74. Madsen MG, Nørregaard R, Palmfeldt J, Olsen LH, Frøkiær J, Jørgensen TM. Urinary NGAL, cystatin C, β2-microglobulin, and osteopontin significance in hydronephrotic children. Pediatr Nephrol. 2012;27(11):2099-106.

75. Wasilewska A, Taranta-Janusz K, Debek W, Zoch-Zwierz W, Kuroczycka-Saniutycz E. KIM-1 and NGAL: new markers of obstructive nephropathy. Pediatr Nephrol. 2011;26(4):579-86.

76. 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 international. 2002;62(1):237-44.

77. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. Kidney international. 2009;75(3):285-94.

78. Kajbafzadeh AM, Elmi A, Talab SS, Emami H, Esfahani SA, Saeedi P. Urinary and serum carbohydrate antigen 19-9 as a biomarker in ureteropelvic junction obstruction in children. The Journal of urology. 2010;183(6):2353-60.

79. Suzuki K, Muraishi O, Tokue A. The correlation of serum carbohydrate antigen 19-9 with benign hydronephrosis. The Journal of urology. 2002;167(1):16-20.

80. Endre ZH, Westhuyzen J. Early detection of acute kidney injury: emerging new biomarkers. Nephrology (Carlton, Vic). 2008;13(2):91-8.

81. Lim AI, Tang SC, Lai KN, Leung JC. Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells? Journal of cellular physiology. 2013;228(5):917-24.

82. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S, Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN. 2009;4(5):873-82.

83. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2007;18(3):904-12.

84. 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. The Journal of pathology. 2007;212(2):209-17.

85. Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, Blasick TM, Potdar S, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. Kidney international. 2008;73(5):608-14.

86. Szeto CC, Kwan BC, Lai KB, Lai FM, Chow KM, Wang G, et al. Urinary expression of kidney injury markers in renal transplant recipients. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN. 2010;5(12):2329-37.

87. Lucarelli G, Bettocchi C, Battaglia M, Impedovo SV, Vavallo A, Grandaliano G, et al. Extended criteria donor kidney transplantation: comparative outcome analysis between single versus double kidney transplantation at 5 years. Transplantation proceedings. 2010;42(4):1104-7.

88. Han WK, Alinani A, Wu CL, Michaelson D, Loda M, McGovern FJ, et al. Human kidney injury molecule-1 is a tissue and urinary tumor marker of renal cell carcinoma. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2005;16(4):1126-34.

89. Xue W, Xie Y, Wang Q, Xu W, Mou S, Ni Z. Diagnostic performance of urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury in an obstructive nephropathy patient. Nephrology (Carlton, Vic). 2014;19(4):186-94.

90. Gerber C, Harel M, Lynch ML, Herbst KW, Ferrer FA, Shapiro LH. Proximal tubule proteins are significantly elevated in bladder urine of patients with ureteropelvic junction obstruction and may represent novel biomarkers: A pilot study. J Pediatr Urol. 2015;

91. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2003;14(10):2534-43.

92. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, et al. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2007;18(2):407-13.

93. Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. The Biochemical journal. 1996;318 (Pt 1):1-14.

94. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. Annals of internal medicine. 2008;148(11):810-9.

95. Ding H, He Y, Li K, Yang J, Li X, Lu R, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. Clinical immunology (Orlando, Fla). 2007;123(2):227-34.

96. Noto A, Cibecchini F, Fanos V, Mussap M. NGAL and metabolomics: the single biomarker to reveal the metabolome alterations in kidney injury. BioMed research international. 2013;2013:612032.

97. Haase-Fielitz A, Haase M, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. Annals of clinical biochemistry. 2014;51(Pt 3):335-51.

98. Kawai S, Suzuki K, Nishio K, Ishida Y, Okada R, Goto Y, et al. Smoking and serum CA19-9 levels according to Lewis and secretor genotypes. International journal of cancer Journal international du cancer. 2008;123(12):2880-4.

99. La'ulu SL, Roberts WL. Performance characteristics of five automated CA 19-9 assays. American journal of clinical pathology. 2007;127(3):436-40.

100. Akgul T, Nuhoglu B, Ayyildiz A, Balci U, Ayyildiz SN, Germiyanoglu C. Do hydronephrosis and extracorporeal shock wave lithotripsy affect carbohydrate antigens? Int Urol Nephrol. 2007;39(4):1001-4.

101. Ercan S, Kaymaz O, Yucel N, Orcun A. Serum concentrations of CA 125, CA 15-3, CA 19-9 and CEA in normal pregnancy: a longitudinal study. Archives of gynecology and obstetrics. 2012;285(3):579-84.

102. Kurdoglu Z, Gursoy R, Kurdoglu M, Erdem M, Erdem O, Erdem A. Comparison of the clinical value of CA 19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis. Fertility and sterility. 2009;92(5):1761-3.

103. Ito S, Nishikawa K, Goto T, Tsujita M, Takegaki Y, Kishimoto T. [A case of hydronephrosis caused by renal stones with elevated serum levels of CA-19-9 and CA-125]. Hinyokika kiyo Acta urologica Japonica. 1994;40(10):885-8.

104. Iwaki H, Wakabayashi Y, Kushima R, Okada Y, Tomoyoshi T. Primary adenocarcinoma of the ureter producing carbohydrate antigen 19-9. The Journal of urology. 1996;156(4):1437.

105. Kondoh K, Noguchi S, Shuin T, Masuda M, Kubota Y, Hosaka M. [A case of hydronephrosis with high level of serum Span-1 antigen and CA19-9]. Hinyokika kiyo Acta urologica Japonica. 1996;42(1):51-3.

106. Inamoto T, Itoh S, Azuma H, Katsuoka Y, Takasaki N. Giant hydronephrosis with increased carbohydrate antigen 19-9 both in serum and fluid. Hinyokika kiyo Acta urologica Japonica. 2004;50(7):485-8.

107. Aoki D, Nomata K, Kanda S, Sawase K, Kanetake H, Saito Y, et al. [A case of pyonephrosis caused by ureteral stones with elevated serum levels of CA19-9]. Hinyokika kiyo Acta urologica Japonica. 1999;45(9):629-32.

108. Meyer A, Kausch I, Kruger S, Fetscher S, Bohle A, Jocham D. Elevation of CA 19-9 in giant hydronephrosis induced by a renal calculus. Urology. 2004;63(2):381-2.

109. Lopes RI, Denes FT, Bartolamei MG, Reis S, Sanches TR, Leite KR, et al. Serum and Urinary Values of CA 19-9 and TGFss1 in a Rat Model of Partial or Complete Ureteral Obstruction. European journal of pediatric surgery : official journal of Austrian Association of Pediatric Surgery [et al] = Zeitschrift fur Kinderchirurgie. 2015;

110. Aybek H, Aybek Z, Sinik Z, Demir S, Sancak B, Tuncay L. Elevation of serum and urinary carbohydrate antigen 19-9 in benign hydronephrosis. International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association. 2006;13(11):1380-4.

111. Bartoli F, Gesualdo L, Paradies G, Caldarulo E, Infante B, Grandaliano G, et al. Renal expression of monocyte chemotactic protein-1 and epidermal growth factor in children with obstructive hydronephrosis. J Pediatr Surg. 2000;35(4):569-72.

112. Miyata T, Jadoul M, Kurokawa K, Van Ypersele de Strihou C. Beta-2 microglobulin in renal disease. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 1998;9(9):1723-35.

113. 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. Nature biotechnology. 2010;28(5):463-9.

114. Papachristou F, Pavlaki A, Printza N. Urinary and serum biomarkers in ureteropelvic junction obstruction: a systematic review. Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals. 2014;19(7):531-40.

115. Chevalier RL, Thornhill BA, Forbes MS, Kiley SC. Mechanisms of renal injury and progression of renal disease in congenital obstructive nephropathy. Pediatr Nephrol. 2010;25(4):687-97.

116. Onen A. An alternative grading system to refine the criteria for severity of hydronephrosis and optimal treatment guidelines in neonates with primary UPJ-type hydronephrosis. J Pediatr Urol. 2007;3(3):200-5.

117. Ure BM, Suempelmann R, Metzelder MM, Kuebler J. Physiological responses to endoscopic surgery in children. Seminars in pediatric surgery. 2007;16(4):217-23.

118. Grabowski JE, Talamini MA. Physiological effects of pneumoperitoneum. Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract. 2009;13(5):1009-16.

119. Vittimberga FJ, Jr., Foley DP, Meyers WC, Callery MP. Laparoscopic surgery and the systemic immune response. Annals of surgery. 1998;227(3):326-34.

120. Alberti C. Congenital ureteropelvic junction obstruction: physiopathology, decoupling of tout court pelvic dilatation-obstruction semantic connection, biomarkers to predict renal damage evolution. European review for medical and pharmacological sciences. 2012;16(2):213-9.

121. Boubaker A, Prior JO, Meyrat B, Bischof Delaloye A, McAleer IM, Frey P. Unilateral ureteropelvic junction obstruction in children: long-term followup after unilateral pyeloplasty. The Journal of urology. 2003;170(2 Pt 1):575-9; discussion 9.

122. Ben-Meir D, Hutson JM, Donath S, Chiang D, Cook DJ. The prognostic value of relative renal function greater than 51% in the pelvi-ureteric junction-obstructed kidney on 99mtechnetium mercaptoacetyltriglycine study. J Pediatr Urol. 2007;3(3):184-8.

123. Baek M, Park K, Choi H. Long-term outcomes of dismembered pyeloplasty for midline-crossing giant hydronephrosis caused by ureteropelvic junction obstruction in children. Urology. 2010;76(6):1463-7.

124. Castagnetti M, Novara G, Beniamin F, Vezzu B, Rigamonti W, Artibani W. Scintigraphic renal function after unilateral pyeloplasty in children: a systematic review. BJU international. 2008;102(7):862-8.

125. Seremetis GM, Maizels M. TGF-beta mRNA expression in the renal pelvis after experimental and clinical ureteropelvic junction obstruction. The Journal of urology. 1996;156(1):261-6.

126. Taha MA, Shokeir AA, Osman HG, Abd el-Aziz Ael A, Farahat SE. Diagnosis of ureteropelvic junction obstruction in children: role of endothelin-1 in voided urine. Urology. 2007;69(3):560-4; discussion 4-5.

127. El-Sherbiny MT, Mousa OM, Shokeir AA, Ghoneim MA. Role of urinary transforming growth factor-beta1 concentration in the diagnosis of upper urinary tract obstruction in children. The Journal of urology. 2002;168(4 Pt 2):1798-800.

128. Piepsz A, Sixt R, Gordon I. Performing renography in children with antenatally detected pelvi-ureteric junction stenosis: errors, pitfalls, controversies. The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging : official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN) [and] the International Association of Radiopharmacology (IAR), [and] Section of the So. 2010;54(4):350-62.

129. Piepsz A, Tondeur M, Ham H. Relative 99mTc-MAG3 renal uptake: reproducibility and accuracy. Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine. 1999;40(6):972-6.

130. Shokeir AA, Provoost AP, Nijman RJ. Recoverability of renal function after relief of chronic partial upper urinary tract obstruction. BJU international. 1999;83(1):11-7.

131. Madsen MG, Nørregaard R, Palmfeldt J, Olsen LH, Frøkiær J, Jørgensen TM. Epidermal growth factor and monocyte chemotactic peptide-1: Potential biomarkers of urinary tract obstruction in children with hydronephrosis. J Pediatr Urol. 2012;

132. Psooy K, Pike JG, Leonard MP. Long-term followup of pediatric dismembered pyeloplasty: how long is long enough? The Journal of urology. 2003;169(5):1809-12; discussion 12; author reply 12.

133. Pohl HG, Rushton HG, Park JS, Belman AB, Majd M. Early diuresis renogram findings predict success following pyeloplasty. The Journal of urology. 2001;165(6 Pt 2):2311-5.

134. O'Reilly PH, Brooman PJ, Mak S, Jones M, Pickup C, Atkinson C, et al. The long-term results of Anderson-Hynes pyeloplasty. BJU international. 2001;87(4):287-9.

135. Madi R, Roberts WW, Wolf JS, Jr. Late failures after laparoscopic pyeloplasty. Urology. 2008;71(4):677-80; discussion 80-1.

136. Peters CA. Editorial comment. The Journal of urology. 2010;183(6):2359.

APÊNDICES

Resumos aprovados para apresentação em congressos:

Diagnostic accuracy of urinary β2-microglobulin, CA19-9, NGAL and KIM-1 in ureteropelvic junction obstruction in adults

- Apresentação oral no Congresso Anual da *American Urological Association* (AUA) que será realizado em San Diego, Califórnia de 6 a 10 de maio de 2016.
- Apresentação de pôster no 31º Congresso Anual da *European Association of Urology* (EAU) que será realizado em Munique de 11 a 15 de março de 2016.

Artigo científico submetido para publicação:

Journal of Urology

The role of urinary KIM-1, NGAL, CA19-9 and β2-microglobulin in the assessment of ureteropelvic junction obstruction in adults. Miranda EP, Duarte RJ, Bessa Jr J, Lopes RI, Sougi V, Andrade HS, Bandeira RAST, Arap MA, Mittre AI, Viana NI, Reis ST, Leite KRM, Sougi.

Dear Prof. Dr. Duarte,

Congratulations, your abstract has been accepted for presentation during the 31st Annual Congress of the European Association of Urology

Your presentation is scheduled in the following session:

Session title:	**Benign problems in the upper urinary tract: 'Not cancer but not easy'**
Session type:	**Poster Session 11**
Presentation type:	**Standard presentation**
Date:	**Saturday, 12 March 2016 from 14:15 to 15:45**
Room:	**Room Paris**

Please check the abstract title and the order of the authors below very carefully. This is the way your abstract will be printed in all further publications. If you have any changes please e-mail to: abstracts@congressconsultants.com.

Note: All accepted abstracts have been re-numbered. The abstract number below is the new number. From now on please use this new number on posters and/or slides.

Abstract ID Number:	**AM16-4096**
New Number:	**126**
Abstract Title:	**Diagnostic accuracy of urinary β2-microglobulin, CA19-9, NGAL and KIM-1 in the setting of ureteropelvic junction obstruction in adults**
Authors:	**E. Miranda [1], J. De Bessa Jr [1], R. Lopes [1], R. Bandeira [1], V. Srougi [1], H. Andrade [1], M. Arap [1], A. Mittre [1], S. Dos Reis [1], N. Viana [1], K. Leite [1], M. Srougi [1], R. Duarte [1]** **(1) University of Sao Paulo School of Medicine, Dept. of Urology, Sao Paulo, Brazil**

Body:

Introduction & Objectives

Ureteropelvic junction obstruction (UPJO) is an important cause of urinary tract obstruction and can lead to progressive deterioration of renal function. Currently, pyeloplasty is the gold standard treatment for UPJO. In this context the development

AUA 2016
MAY 6–10 san diego

64 Annual Meeting

TECH SUPPORT

Questions or Problems with making your online submission:
AUA2016@mirasmart.com
Be sure to include your submission Number

PLEASE NOTE: for the Paper Abstract deadline tonight. There will be email support until 11:59pm tonight. If you have any question or difficulties, please email

You may also call our Tech Support line at (866) 343-8689 between the hours of 8:00 am and 5:00 pm, Central Time (14:00 to 23:00 GMT), Monday through Friday. This is a US number.

Author Abstract Invitation

Click here for Podium Presenter Instructions

Abstract Information

Abstract ID: 16-5105

Abstract Title: Diagnostic accuracy of urinary β(beta)2-microglobulin, CA19-9, NGAL and KIM-1 in ureteropelvic junction obstruction in adults

Session Details

Type: Podium - PD40

Title: Trauma/Reconstruction/Diversion: Ureter (including Pyeloplasty) and Bladder Reconstruction (including Fistula), Augmentation, Substitution, Diversion II

Date: Monday, May 9, 2016

Time: 10:30 AM - 12:30 PM

Building: San Diego Convention Center

Room: Room 29 AB

mira