

U. PORTO

 INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA
ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA



Novos Marcadores de Lesão Renal Aguda



HELENA FILIPA MARINHO NASCIMENTO

ORIENTADORA: IDALINA MARIA ALMEIDA BRANDÃO DE MELO BEIRÃO

PORTO, 2011/2012

HELENA FILIPA MARINHO NASCIMENTO

Novos Marcadores de Lesão Renal Aguda

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Ano letivo 2011/2012

ORIENTADORA: Professora Doutora Idalina Maria Almeida Brandão de Melo Beirão

Categoria: Especialista em Nefrologia, Assistente Hospitalar de Nefrologia no CHP/HSA, Professora auxiliar convidada e Regente de Semiologia Médica e Cirúrgica I e II do ICBAS/CHP

AFILIAÇÃO: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto

ÍNDICE

RESUMO	8
ABSTRACT	9
PREÂMBULO	10
CAPÍTULO 1. LESÃO RENAL AGUDA	11
1.1 DEFINIÇÃO	11
CRITÉRIOS RIFLE	13
CRITÉRIOS AKIN	14
CRITERIOS RIFLE VS CRITERIOS AKIN.....	15
1.2 EPIDEMIOLOGIA	16
1.3 FISIOPATOLOGIA	18
LRA PRÉ-RENAL.....	18
LRA INTRÍNSECA	19
LRA PÓS-RENAL.....	22
CAPÍTULO 2. BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA	23
2.1 BIOMARCADORES TRADICIONAIS	24
CREATININA	25
UREIA	26
2.2 NOVOS BIOMARCADORES	27
2.2.1 PROTEÍNAS DE BAIXO PESO MOLECULAR	28
CISTATINA C	28
α 1-MICROGLOBULINA	30
β ₂ -MICROGLOBULINA	32
PROTEÍNA DE LIGAÇÃO AO RETINOL	32
2.2.2 ENZIMAS TUBULARES	33
ISOENZIMAS GLUTATIÃO-S-TRANSFERASE.....	33
N-ACETIL-B-(D)-GLUCOSAMINIDASE.....	34
ALANINA AMINOPEPTIDASE, FOSFATASE ALCALINA E GAMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASE	35
2.2.3 BIOMARCADORES INDUZÍVEIS	36
GELATINASE NEUTROFÍLICA ASSOCIADA À LIPOCALINA.....	36
NETRINA-1	39
MOLÉCULA DE LESÃO RENAL-1.....	41

2.2.4 CITOQUINAS INFLAMATÓRIAS: IL-18	43
CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXO	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Classificação de LRA: RIFLE e AKIN.....	15
Figura 2: Classificação e principais causas de LRA.....	18
Figura 3: Fisiopatologia da LRA isquémica.....	21
Figura 4: Novos marcadores vs marcadores tradicionais.....	24
Figura 5: Análise da expressão de KIM-1 no rim normal e 48-h pós-isquemia no rim de rato embrionário.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Mortalidade em UCI de acordo com a classe RIFLE máxima.....	13
Gráfico 2: Duração do internamento em UCI de acordo com a classe RIFLE máxima.....	13
Gráfico 3: Representação esquemática dos novos marcadores de LRA após cirurgia cardíaca em adultos.....	27
Gráfico 4: Curvas ROC para os valores máximos das primeiras 6h após CCT para os quatro biomarcadores de LRA.....	29
Gráfico 5: Curva ROC que demonstra a capacidade preditiva de proteínas tubulares (CysC, α 1M, β 2M e RBP) na urina de doentes com NTA não-oligúrica.....	31
Gráfico 6: Concentrações urinárias de KIM-1 e NAG após cirurgia cardíaca pediátrica.....	34
Gráfico 7: Curva ROC que demonstra a capacidade preditiva de enzimas (α -GST, NAG, GGT e lactato desidrogenase) na urina de doentes com NTA não-oligúrica.....	34
Gráfico 8: As concentrações urinárias médias de NGAL após intervenção cardíaca.....	37
Gráfico 9: Curvas ROC de NGAL, IL-18 e KIM-1 urinários e creatinina sérica no 1º dia pós-operatório para a previsão de diálise na 1ª semana após transplante renal.....	37
Gráficos 10, 11, 12: Valores médios para a creatinina sérica, NGAL urinária e plasmática após a administração de contraste.....	38
Gráfico 13: Regulação da expressão de netrina-1 após fenómenos de isquemia-reperusão renal.....	39
Gráfico 14: Expressão de netrina-1 na urina ■ e de creatinina no soro ▼ de rato após isquemia-reperusão.....	40

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Definições de LRA publicadas na literatura.....	12
Tabela 2: Fármacos frequentemente associados a nefrotoxicidade em UCI.....	21
Tabela 3: Funções e características de um marcador ideal de LRA.....	23
Tabela 4: Fatores que afetam os marcadores tradicionais de LRA.....	26
Tabela 5: Vantagens da CysC em relação aos marcadores tradicionais.....	28
Tabela 6: Variações dos níveis plasmáticos/séricos e urinários de α 1M com diferentes condições patológicas.....	31
Tabela 7: Correlação de medidas de NGAL na urina (ng/mL) 2h, 4h e 6h após cirurgia cardíaca com fatores clínicos independentes.....	38

ABREVIATURAS E SIGLAS

- α_1 M: α_1 -microglobulina;
- AAP: Alanina aminopeptidase;
- AKIN: Acute Kidney Injury Network;
- AQDI: Acute Dialysis Quality Initiative;
- AUC: *Area under the relative operating characteristic curve*;
- β_2 M: β_2 -microglobulina;
- BEST: *Kidney Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney*;
- CC: Cirurgia cardíaca;
- CCT: Cirurgia cardiotorácica;
- DU: Débito urinário;
- ELISA: *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*;
- FP: Falsos positivos;
- FR: Função renal;
- GGT: Gama-glutamil transpeptidase;
- GST: Glutatião-S-transferase;
- IL-18: Interleucina-18;
- IRA: Insuficiência renal aguda;
- KIM-1: Molécula de lesão renal 1;
- LRA: Lesão renal aguda;
- NAG: N-acetil- β -(D)-glucosaminidase;
- NGAL: Gelatinase neutrofílica associada à lipocalina;
- NTA: Necrose tubular aguda;
- OR: *Odds ratio*;
- PA: Fosfatase alcalina;
- PBPM: Proteínas de baixo peso molecular;
- PICARD: *Program to Improve Care in Acute Renal Disease*;
- PTT: Púrpura trombocitopénica trombótica;
- RIA: *Radioimmunoassay*;
- RBP: Proteína de ligação ao retinol;
- RIFLE: *Risk Injury Failure Loss End-Stage*;
- TM: Taxa de mortalidade;
- TIM-1: *T-cell immunoglobulin and mucin-containing molecule*;
- TFG: Taxa de filtração glomerular;
- TP: Túbulo proximal;

TSR: Terapia de substituição renal;

UCI: Unidade de cuidados intensivos;

⁵¹Cr-EDTA: *litholamate, chromiumethylenediamine tetraacetic acid*;

⁹⁹Tc-DTPA: *Diethylenetriamine pentaacetic acid*.

RESUMO

A lesão renal aguda constitui um problema de saúde major associado a morbidade e mortalidade elevadas. A baixa sensibilidade e especificidade dos marcadores clássicos de disfunção renal, creatinina e ureia séricas, impossibilitam a identificação precoce de lesão renal aguda, com perda de oportunidade terapêutica. A abordagem diagnóstica e terapêutica constitui um domínio em constante evolução e novos marcadores séricos e urinários são alvo de investigação.

O objetivo principal desta revisão é a descrição dos novos marcadores de lesão renal aguda e a análise comparativa das suas potencialidades diagnósticas e preditivas de lesão renal aguda em contexto clínico.

A cistatina C constitui um marcador com vantagem sobre a creatinina sérica, de baixo custo e com aplicação presente no diagnóstico de disfunção renal. Além deste marcador existe uma nova geração de biomarcadores promissores, como os marcadores induzíveis: gelatinase neutrofílica associada à lipocalina, netrina-1 e molécula de lesão renal-1, com perfil diagnóstico específico e sensível, mas com aplicação na prática clínica limitada pelo elevado custo e indisponibilidade. Apesar de bons resultados em estudos animais e humanos, mais estudos serão necessários para validar a aplicação na clínica diária. Este domínio de investigação inclui alguns resultados controversos como é o caso do valor da citocina inflamatória interleucina-18. Além das potencialidades diagnósticas, alguns marcadores apresentam ainda potenciais vantagens com aplicação terapêutica na lesão renal aguda.

A adoção destes novos marcadores na rotina diária depende de investigação rigorosa em diferentes contextos clínicos.

PALAVRAS-CHAVE: Lesão renal aguda, biomarcadores, cistatina C, gelatinase neutrofílica associada à lipocalina, molécula de lesão renal, netrina-1, glutatíon-S-transferase, citocinas.

ABSTRACT

Acute kidney injury is a major health problem associated with high morbidity and mortality. The classic markers of renal dysfunction, serum creatinine and urea, have low sensitivity and specificity that preclude an early identification of the acute kidney injury and miss the therapeutic goal. The need for an early diagnosis of acute kidney injury led to large investigation in order to define new serum and urinary markers of acute kidney injury.

The purpose of this review is to outline the new markers of acute kidney injury and compare their diagnostic and predictive potential of acute kidney injury in the clinical setting.

Cystatin C is a low cost marker, with advantages over serum creatinine, used currently in the diagnosis of renal dysfunction. In addition, there is a new generation of promising biomarkers, such as inducible markers with a specific and sensitive diagnostic profile, but with limited clinical application because of their high cost and unavailability. This class of biomarkers includes the neutrophil gelatinase associated with lipocalin, the netrin-1 and the kidney injury molecule-1. Despite the good results in animal and human studies, more research is required to validate their application in everyday practice. Other biomarkers studies reported controversial results such as the value of the inflammatory cytokine interleukin-18. Moreover, some biomarkers have potential therapeutic application in acute kidney injury.

This is an evolving domain and the adoption of these new markers in medical practice depends on continuous and precise clinical research.

KEYWORDS: Acute kidney injury, biomarkers, cystatin C, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, kidney injury molecule, netrin-1, glutathione S-transferase, cytokines.

PREÂMBULO

Apesar dos avanços terapêuticos, a lesão renal aguda (LRA) isquêmica/nefrotóxica é uma doença multifatorial, extremamente frequente em contexto hospitalar, principalmente em unidade de cuidados intensivos (UCI). A LRA pode complicar várias condições médico-cirúrgicas e associa-se a uma elevada taxa de mortalidade (TM) e morbidade.

Classicamente são descritas três fases na LRA: instalação, manutenção/estado e recuperação. As principais medidas para evitar esta condição devem ser implementadas nas fases iniciais, antes da elevação dos tradicionais marcadores. Com uma crítica janela terapêutica, apenas a deteção precoce permite uma intervenção adequada.

Os tradicionais biomarcadores, creatinina e ureia, são insensíveis e inespecíficos para a deteção de LRA em estadios precoces, o que limita as opções terapêuticas. Estes marcadores são consequências funcionais e não refletem diretamente a lesão celular, o que justifica o atraso na sua elevação.

Nas últimas décadas, novos marcadores séricos e urinários foram estudados destacando-se as proteínas de baixo peso molecular (PBPM), as enzimas tubulares, os marcadores induzíveis e as citoquinas. Embora alguns destes marcadores, como a cistatina C (cysC) tenham já aplicação na prática clínica, persistem controvérsias relativamente aos novos marcadores. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo a apresentação do estado da arte no que concerne à aplicabilidade dos novos biomarcadores à prática clínica.

CAPÍTULO 1. LESÃO RENAL AGUDA

1.1 DEFINIÇÃO

LRA, anteriormente designada por insuficiência renal aguda (IRA) (1), é classicamente definida como uma queda rápida, abrupta e sustentada da taxa de filtração glomerular (TFG), num curto intervalo de tempo. Conforme a gravidade e duração pode traduzir-se em distúrbios hidro-eletrolíticos e ácido-base e na acumulação de produtos e toxinas urémicas. Inerente a esta classificação está a indefinição dos termos "rápida", "abrupta" e "sustentada" (2).

Nas últimas décadas, mais de 20 termos e 35 definições diferentes de LRA foram utilizados na literatura científica. Esta multiplicidade de enunciados constitui um entrave aos progressos na investigação epidemiológica, terapêutica e preventiva da LRA (1-5) (tabela 1).

Bellomo et al. (3) e Kellum et al. (4) reconheceram a impossibilidade de uma definição perfeita e salientaram a urgência de uma definição consensual aplicável na clínica.

Tabela 1: Definições de LRA publicadas na literatura. Adaptado de Mehta e Chertow (2003). (6).

Autor	Definição
Solomon et al., Tepel et al., Schwab et al., Weisberg et al., Stevens et al. and others	Aumento de 0,5mg/dL na SCr em 48h
Hou et al.	Aumento de 0,5mg/dL na SCr, se $SCr_{\text{basal}} \leq 1,9\text{mg/dL}$, ou aumento de 1,0mg/dL na SCr, se SCr_{basal} entre 2,0 e 4,9mg/dL, ou aumento de 1,5mg/dL na SCr, se $SCr_{\text{basal}} \geq 5,0\text{mg/dl}$
Shusterman et al.	Aumento de 0,9mg/dL na SCr, se $SCr_{\text{basal}} < 2,0\text{mg/dL}$, ou aumento de 1,5mg/dL na SCr, se $SCr_{\text{basal}} \geq 2,0\text{mg/dL}$ e “aumento permanente pelo menos numa determinação consecutiva adicional”
Lianõ and Pascual	“Súbita” elevação $>2\text{mg/dL}$ em indivíduos com função renal prévia normal, ou “súbito” aumento de $\geq 50\%$ na SCr, com IRC basal ligeira a moderada com $SCr < 3,0\text{mg/dL}$, ou “elevação da SCr na admissão com rins de tamanho normal ou aumentado (exceto no mieloma ou hidronefrose com atrofia cortical)”
Bates et al.	Aumento de 50% na SCr para $SCr \geq 2,0\text{mg/dL}$ (“IRA”), ou aumento de 100% na SCr para $SCr \geq 3,0\text{mg/dL}$ (“IRA grave”)
Levy et al.	Aumento de 25% na SCr para $SCr \geq 2,0\text{mg/dL}$ durante 2 dias
Behrend and Miller	Aumento de 0,9mg/dL na SCr se $SCr_{\text{basal}} < 2,0\text{mg/dL}$ para $\geq 2,0\text{mg/dL}$, ou aumento de 1,5mg/dL na SCr se $SCr_{\text{basal}} \geq 2,0\text{mg/dl}$ (SCr_{basal} definida como o mínimo de SCr nos 3 últimos meses ou o mínimo durante o internamento)
Obialo et al.	Aumento de 0,5mg/dL na SCr para $SCr \geq 2,0\text{mg/dL}$, ou na admissão $SCr \geq 2,0\text{mg/dL}$ sem história de doença renal
Kurnik et al. Wang et al.	Aumento de 0,5mg/dL na SCr, ou aumento de 25% a partir do valor basal durante 48h
Hirschberg et al.	$SCr \geq 3,0\text{mg/dL}$ com $SCr_{\text{basal}} < 1,8\text{mg/dL}$, ou “diminuição aguda” na clearance de creatinina para $\leq 25\text{mL/min}$ após cirurgia, trauma, hipotensão, ou sepsis
Allgren et al.	Aumento de 1,0mg/dL na SCr em 2 dias
Parfrey et al.	Aumento de $>50\%$ na SCr para $\geq 1,4\text{mg/dL}$
Cochran et al.	Aumento de $>0,3\text{mg/dL}$ e $>20\%$ da SCr
Eisenberg et al.	Aumento de $\geq 1,0\text{mg/dL}$ da SCr, ou aumento de $\geq 20\text{mg/dl}$ ou de 50% na ureia
Lautin et al.	Aumento de $>0,3\text{mg/dL}$ e de $>20\%$ na SCr no dia 1, 2 ou 3, e dia 5, 6, ou 7, ou aumento de $>0,3\text{mg/dL}$ na SCr no dia 1, 2 ou 3, ou aumento $>0,3\text{mg/dl}$ e $>20\%$ na SCr no dia 1 ou 2, ou aumento de $\geq 2,0\text{mg/dL}$ na SCr no dia 1 ou 2, ou aumento de $\geq 1,0\text{mg/dL}$ na SCr no dia 1, ou aumento $\geq 20\text{mg/dL}$ ou $\geq 50\%$ na ureia no dia 1
Fiaccadori et al.	Aumento da SCr de $>50\%$, na ausência de “ <i>volume responsive prerenal status</i> ,” ou aumento da SCr de $>1\text{mg/dL}$ com insuficiência renal conhecida
Taylor et al.	Aumento da SCr de $\geq 0,3\text{mg/dL}$

IRA: insuficiência renal aguda; IRC: insuficiência renal crônica; SCr: creatinina sérica.

CRITÉRIOS RIFLE

Em 2004, em resposta a esta necessidade de uma classificação unificadora, o grupo internacional *Acute Dialysis Quality Initiative (AQDI)* (7) desenvolveu os critérios 'RIFLE' (8) baseados na gravidade do dano renal, que compreendem três estádios: (*R*) *Risk of renal dysfunction*, (*I*) *Injury to the kidney* e (*F*) *Failure of kidney function*, e dois *outcomes*: (*L*) *Loss of kidney function* e (*E*) *End-stage kidney disease* (figura1). Este sistema inclui dois parâmetros fáceis de avaliar: a elevação da creatinina sérica, a partir da linha de base e o débito urinário (DU). A gravidade da LRA é determinada pelo parâmetro mais grave. Os dois *outcomes* são definidos pela duração da perda da função renal (FR): quatro semanas e três meses, respetivamente.

Esta classificação categórica abrange todo o espectro de disfunção renal aguda, com elevada sensibilidade num extremo (R) e alta especificidade no extremo oposto (E). O estádio R tem mais falsos positivos (FP), enquanto no estádio E os critérios de inclusão são mais rigorosos e mais específicos, com aumento dos falsos negativos (8).

Estudos publicados validaram a aplicação desta classificação, comprovando o seu valor na deteção e estratificação da LRA, bem como o seu potencial prognóstico a curto-prazo. Uma revisão sistemática de Ricci et al. (9) de mais de 71.000 doentes de diferentes populações e contextos clínicos mostrou um aumento gradual das TM a curto-prazo (até aos 60 dias após a alta), ao longo dos três estádios (TM 18,9%, 36,1% e 45,5% e Risco Relativo 2,40, 4,15 e 6,15). Igualmente, Piccinni et al. (10) demonstraram a utilidade destes critérios na previsão da evolução da LRA, da duração do internamento e da mortalidade intra-hospitalar (gráficos 1 e 2).

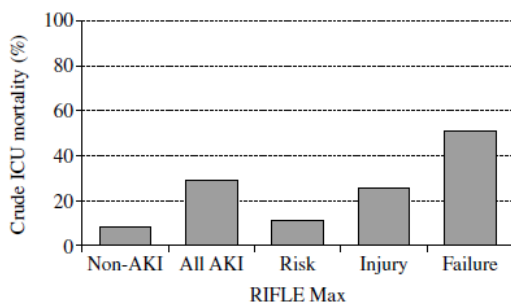


Gráfico 1: Mortalidade em UCI de acordo com a classe RIFLE máxima. Retirado de Piccinni et al. (2011) (10).

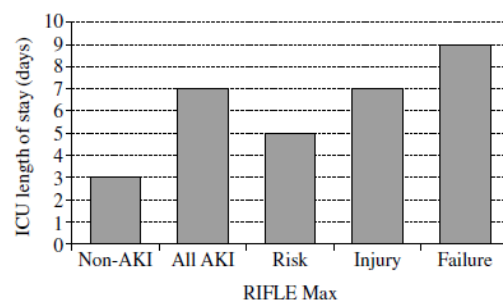


Gráfico 2: Duração do internamento em UCI de acordo com a classe RIFLE máxima. Retirado de Piccinni et al. (2011) (10).

Este sistema apresenta algumas limitações. Os critérios estabelecidos para cada estadió não são baseados em evidência e é necessário um valor de creatinina sérica basal ou a estimativa da TFG através de equações matemáticas. Apesar do doseamento fácil da creatinina e do DU, a sua correlação com o decréscimo agudo da FR não é proporcional e é condicionada por fatores extrarrenais, como a massa muscular e o estado de hidratação. As alterações do DU são pouco específicas para detetar LRA, que pode estar presente com diurese normal (8).

CRITÉRIOS AKIN

Dois estudos (11,12) revelaram que o aumento de creatinina sérica de $<0,5$ mg/dL nas 48h após cirurgia cardiotorácica (CCT) é um fator independente de prognóstico, com aumento significativo de mortalidade no primeiro mês (de 2,1% para 6% e de 1,8% para 5%). Elevações de $\geq 0,5$ mg/dL estão associadas a mortalidades expressivamente superiores (32,5% e 18,4%); Chertow et al. (13) reportaram que variações de creatinina sérica $\geq 0,5$ mg/dL estão associadas a um aumento significativo da mortalidade intra-hospitalar (6,5-vezes), da duração de internamento (3,5 dias) e dos custos hospitalares (\$7500 US).

Neste contexto, o grupo *Acute Kidney Injury Network* (AKIN) (14) propôs algumas modificações na classificação RIFLE para aumentar a sensibilidade diagnóstica. Esta nova classificação define LRA como um aumento de creatinina sérica $\geq 0,3$ mg/dL ou ≥ 26 mmol/L, em 48h (figura1). Esta categorização compreende três estadios: AKIN 1, 2 e 3, inclui os doentes em TSR no estádio AKIN 3 (RIFLE - *Failure*) e exclui da classificação os *outcomes* (*Loss* e *End-stage kidney disease*).

A adoção destes critérios mais abrangentes tem como vantagem a deteção precoce e aplicação de estratégias preventivas e terapêuticas para a preservação da FR. Contudo, inerente a este aumento de sensibilidade está um aumento dos FP (14).

CRITÉRIOS RIFLE VS CRITÉRIOS AKIN

Bagshaw et al. (15), Lopes et al. (16) e Chang et al. (17) demonstraram que, em doentes graves em UCI, os critérios AKIN condicionam um aumento não significativo na identificação de indivíduos com LRA (1,1%, 6,6% e 7,9%) e não têm repercussões na mortalidade hospitalar (15,16). A análise de Bagshaw et al. (15) decorreu apenas nas primeiras 24h, o que exclui a evolução em 48h da classificação AKIN.

Segundo Joannidis et al. (18), os erros de classificação são menos frequentes com os critérios RIFLE. O cruzamento de dados das duas classificações revelou que a classificação AKIN apresentou 10,5% falsos negativos em oposição aos 3,5% da RIFLE.

A análise comparativa destas classificações foi alvo de diversas publicações sem um consenso evidente. Contudo, parece consensual a existência de um aumento progressivo na mortalidade hospitalar com o agravamento do estadió em ambas as classificações, o que reforça a sua aplicabilidade na prática clínica (15-19). Uma revisão de Cruz et al. (19) demonstrou o crescente recurso aos critérios RIFLE e AKIN para a definição da LRA, o que revela a aceitação encorajadora de uma definição única pela comunidade científica.

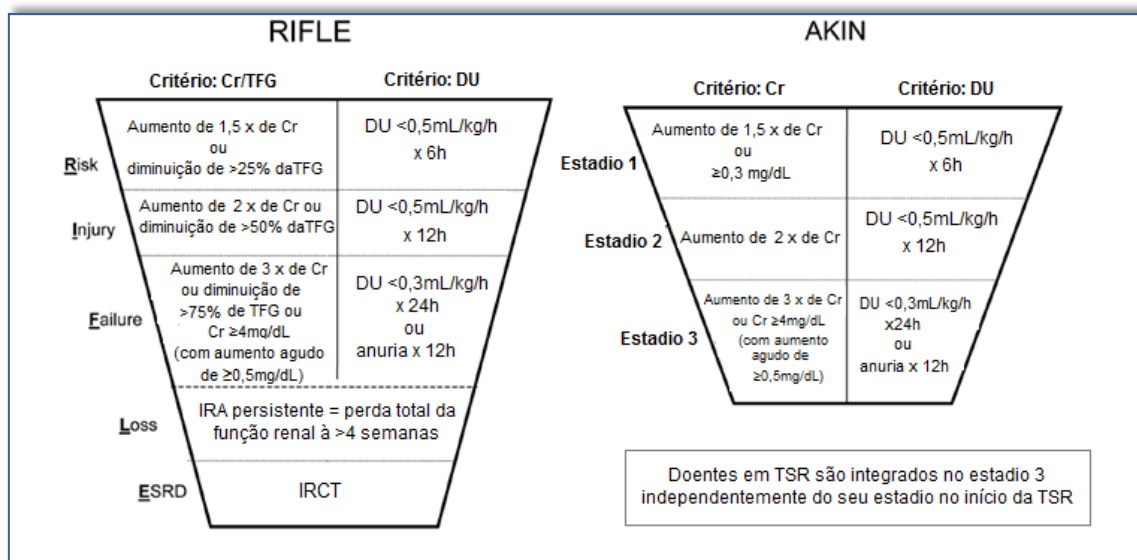


Figura 1: Classificação de LRA: RIFLE e AKIN. Adaptado de Cruz et al. (2009) (19). Cr: creatinina; DU: débito urinário; IRA: insuficiência renal aguda; IRCT: insuficiência renal crónica terminal; TFG: taxa de filtração glomerular.

1.2 EPIDEMIOLOGIA

A LRA constitui um problema frequente, particularmente grave em doentes cirúrgicos e em estado crítico, que aumenta significativamente a mortalidade, a duração do internamento e os custos hospitalares (10,13,20).

Apesar de múltiplas investigações epidemiológicas, a inexistência de uma definição única dificulta a estimativa de incidências e *outcomes*, bem como a comparação e integração de resultados (21). Os estudos multicêntricos BEST (22) e PICARD (23) são exemplos de disparidades nas incidências e *outcomes* de LRA na ausência de critérios-padrão. Previamente à introdução dos critérios RIFLE/AKIN, as incidências LRA publicadas variavam entre 1 e 30% (5).

A incidência e *outcomes* de LRA dependem do contexto e população-alvo. Estima-se que a incidência hospitalar esteja entre os 5 e os 7% (5,24), podendo superar os 50% em UCI (10,25). A incidência hospitalar é cerca de 5 a 10 vezes superior à LRA comunitária (5,24).

Vários autores verificaram uma tendência crescente da incidência de LRA. Xue et al. (26) evidenciaram um aumento de 11%/ano na incidência de LRA em meio hospitalar entre 1992 e 2001 e Waikar et al. (27) demonstraram um aumento de LRA na alta hospitalar de 0,4% em 1988 para 2,1% em 2002. Do mesmo modo, um coorte Australiano (28) realizado em UCI determinou um aumento de 2,8%/ano na incidência de LRA. Hsu et al. (29) apontaram incidências crescentes de LRA com e sem necessidade de diálise (de 19,5/100.000 e 322,7/100.000 em 1996 para 29,5/100.000 e 522,4/100.000 em 2006), em adultos do Norte da Califórnia (Kaiser).

Apesar dos avanços na abordagem terapêutica da LRA, uma revisão sistemática de Ympa et al. (30) demonstrou que a mortalidade intra-hospitalar nos últimos 30 anos se manteve em torno dos 50%, embora a comparação inclua grupos de doentes com diferentes dimensões (500 vs 5000), índices de gravidade (enfermaria vs UCI, diferentes definições de LRA) e idades. O envelhecimento da população acarreta um aumento das comorbilidades e redução da reserva fisiológica renal. Igualmente, o advento tecnológico permite intervenções diagnósticas e terapêuticas mais complexas e aumenta o risco de LRA isolada ou associada a falência multiorgânica (31).

Em UCI, a LRA está associada a mortalidade extremamente elevada variando entre 30 e 80% (5,6). Dados do coorte Australiano (28) reconheceram um decréscimo da TM de 3,4%/ano, entre 1996 e 2005, em doentes com LRA em UCI, ainda insuficiente com

manutenção de uma TM > 40%. Este decréscimo na mortalidade intra-hospitalar é corroborada por Xue et al. (26) (TM₁₉₉₂=38,8% e TM₂₀₀₁=32,2%) e Waikar et al. (27) (TM₁₉₈₈=40,4% e TM₂₀₀₂=20,3%).

As principais causas de LRA dependem do contexto do doente (5). A doença pré-renal e a NTA constituem as causas major de LRA intra-hospitalar e representam 75% dos casos de LRA (32). Algumas publicações (22,33) apontam a sépsis como a etiologia mais frequente de LRA, sendo responsável por cerca de 30 a 50% dos casos (5). Em contrapartida, Cruz et al. (34) e Piccinni et al. (10) indicam a hipovolémia (30-40%), seguida da sépsis (13-25%) como as causas mais frequentes de LRA nas UCI italianas.

1.3 FISIOPATOLOGIA

A LRA pode ser classificada em: 1-pré-renal (70%) que constitui uma resposta fisiológica à hipoperfusão renal, com preservação da integridade renal; 2-renal ou intrínseca (25%) associada a lesão parenquimatosa; 3-pós-renal (5%) resultante de obstrução urinária (35) (figura 2).

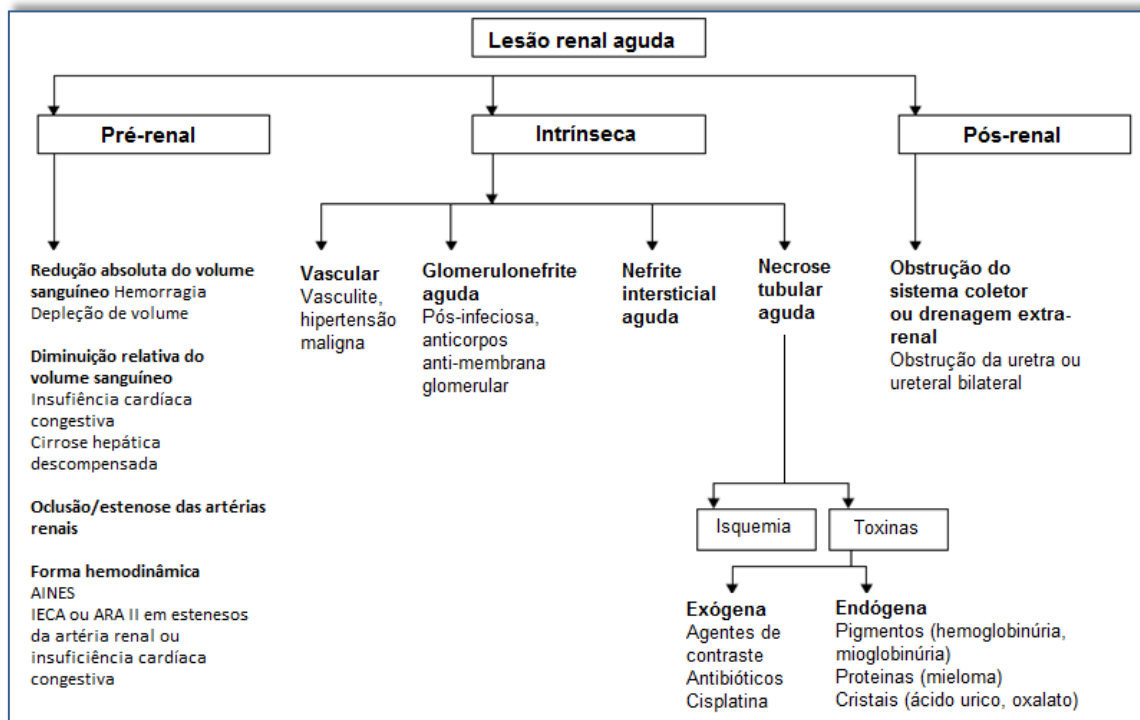


Figura 2: Classificação e principais causas de LRA. Adaptado de Lamiere et al. (2005) (36). AINES: Anti-inflamatórios não esteroides; ARA II: Antagonistas do recetor da angiotensina; IECAS: Inibidores da enzima de conversão da angiotensina.

LRA PRÉ-RENAL

A LRA pré-renal constitui uma resposta fisiológica a um compromisso da perfusão renal (37) associado a uma verdadeira depleção de volume, diminuição do volume circulante efetivo, doença aterosclerótica das artérias renais e/ou alteração dos mecanismos de autorregulação do fluxo renal (38).

Fármacos, como os anti-inflamatórios não-esteroides, os inibidores da enzima conversora de angiotensina e os antagonistas do recetor da angiotensina II, afetam a

perfusão renal e podem precipitar ou agravar a LRA em indivíduos suscetíveis com comorbidades ou quando usados em associação (39). Os idosos são particularmente suscetíveis devido ao elevado número de comorbidades, à redução da reserva renal e à ativação basal dos mecanismos de autorregulação (40).

Na depleção de volume, para manter a perfusão renal e a TFG, complexos mecanismos de compensação neuro-hormonais são ativados, nomeadamente: o sistema nervoso simpático, o sistema renina angiotensina aldosterona e a hormona antidiurética. Contudo, caso a condição subjacente persista ou seja muito grave, estes mecanismos podem ser superados e a LRA pré-renal estabelece-se com uma redução da TFG e consequente elevação da creatinina e ureia séricas (35).

A LRA pré-renal é potencialmente reversível se a hipoperfusão for corrigida em 24 a 48h e depende do tratamento do distúrbio subjacente, da reposição hidro-electrolítica e da eliminação de eventuais agentes nocivos presentes. A duração da hipoperfusão está inversamente relacionada com a possibilidade de reversão da LRA e a isquemia prolongada leva a LRA intrínseca. A deteção precoce da LRA é, por isso, imprescindível para a recuperação da FR e preservação da integridade tecidual (35,38).

LRA INTRÍNSECA

A LRA intrínseca pode associar-se a lesão vascular, glomerular e/ou túbulo-intersticial e a sua principal causa é a NTA, isquémica ou nefrotóxica (90%) (35).

NTA isquémica

A doença pré-renal e a NTA isquémica são um contínuo do mesmo processo fisiopatológico. Na NTA isquémica a hipoperfusão renal é suficientemente grave para lesar o parênquima e a isquemia extrema ou prolongada pode conduzir a necrose cortical bilateral irreversível (35,41).

Às três fases classicamente descritas na NTA isquémica: instalação, manutenção/estado e recuperação (35), em 2001, Tsagalis (42) adicionou 2 novas etapas: **pré-renal**, instalação, **ampliação**, manutenção/estado e recuperação.

Na fase **pré-renal** há ativação dos mecanismos de compensação renal em resposta à redução da perfusão renal e a vasoconstrição renal resultante provoca uma redução na oxigenação celular com sofrimento renal (35).

Durante a fase de **instalação**, a isquemia mantida conduz à destruição do citoesqueleto e da bordadura de escova do epitélio tubular, com translocação para a superfície apical das bombas $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ e com perda da polaridade celular. A redistribuição das moléculas de adesão celular e a perda das junções intercelulares apertadas conduz à descamação das células tubulares, com formação de cilindros que obstruem o lúmen tubular e conseqüente aumento da pressão intratubular e diminuição da TFG (42,43). Contudo, é ainda possível restaurar o fluxo sanguíneo renal e reverter a lesão (35). A porção terminal do túbulo proximal (TP) e a porção medular do ramo ascendente espesso da ansa de *Henle* constituem as regiões do nefrônio mais vulneráveis à lesão isquêmica, quer pela localização medular, região menos profundida, quer pelo elevado consumo energético exigido para a reabsorção por transporte ativo de cloreto de sódio (42).

Seguem-se as fases de **ampliação** e de **manutenção**, nas quais a lesão epitelial está já estabelecida, a TFG e o DU atingem o seu mínimo e surgem as complicações urêmicas. A correção da volémia é ineficaz e um conjunto de mecanismos perpetua a redução da TFG (35). As células lesadas geram fatores vasoconstritores (endotelina e tromboxano), em detrimento de vasodilatadores (óxido nítrico e prostaciclina) com potenciação da isquemia. A produção local de fatores inflamatórios e a infiltração intersticial de células inflamatórias, associadas ao compromisso do fluxo sanguíneo, levam à produção de espécies reativas de oxigênio que propagam a lesão (42,43).

Na **recuperação**, inicia-se um processo de reepitelização tubular, com diferenciação de células renais indiferenciadas, sob a influência de fatores de crescimento e a migração de células indiferenciadas da medula óssea (42). A reparação e regeneração podem restabelecer a FR sem dano residual. Mas, se o processo for incompleto, pode ocorrer progressão para doença renal terminal (35,43). Ko et al. (44) demonstraram que a persistência da resposta inflamatória na fase de recuperação, com ativação fibroblástica e acentuada fibrose renal pode explicar esta progressão (figura 3).

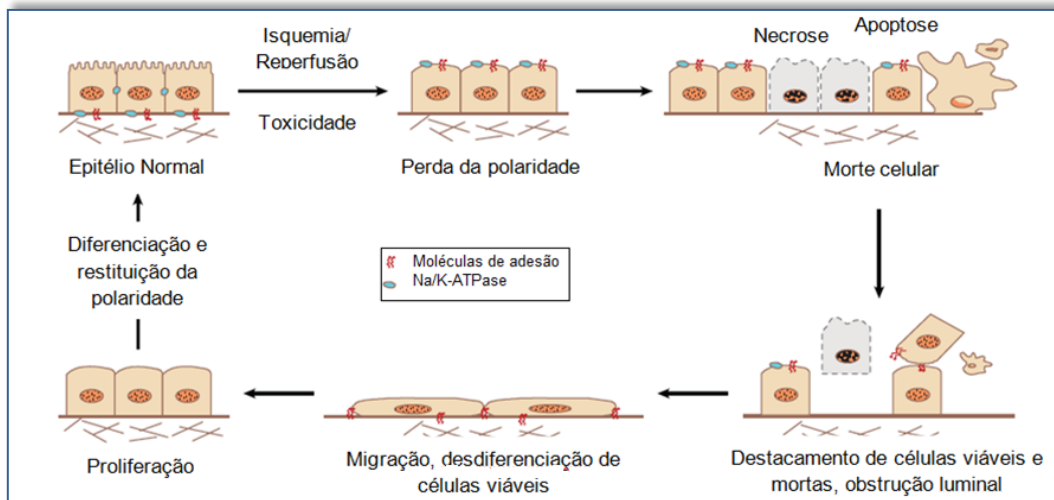


Figura 3: Fisiopatologia da LRA isquêmica. Adaptado de Vaidya et al. (2008) (45).

NTA nefrotóxica

As nefrotóxicas endógenas ou exógenas provocam LRA por diferentes mecanismos, nomeadamente: vasoconstrição intraglomerular, lesão direta do epitélio tubular e obstrução intratubular (35).

Tal como na LRA isquêmica, o diagnóstico e a terapêutica devem ser efetuados precocemente para restabelecer a FR (35).

Tabela 2: Fármacos frequentemente associados a nefrototoxicidade em UCI. Adaptado de Rosner and Okusa (2008) (39).

Mecanismo	Fármacos
Hemodinâmico	Agentes de contraste, inibidores da calcineurina, AINES, IECAS, interleucina-2
Necrose tubular aguda (toxinas exógenas)	Aminoglicosídeos, anfotericina, cisplatina, agentes de contraste, metoxiflurano, tetraciclina, cefalosporinas, mitramicina, inibidores da calcineurina, pentamidina, ifosfamida, zoledronato, cidofovir, adefovir, tenofovir
Necrose tubular aguda (toxinas endógenas - rabdomiólise)	Lovastatina, etanol, barbitúricos, diazepam
Necrose tubular aguda (hemoglobina)	Quinidina, quinino, sulfonamidas, hidralazina, triamtereno, nitrofurantoína
Nefrite intersticial aguda	Penicilina, rifampicina, sulfonamidas, tiazidas, cimetidina, fenitoína, alopurinol, furosemida, AINES, ciprofloxacina, pentoprazol, omeprazol, atazanavir, bevacizumab
Nefrose osmótica	Manitol, imunoglobulina, dextranos
Necrose papilar	AINES
Obstrução (precipitação intratubular)	Aciclovir, metotrexato, sulfonamidas, triamtereno, indinavir, foscarnet, ganciclovir
Obstrução (pós-renal)	Ergotamina, metildopa, hidralazina
Microangiopatia trombótica	Mitomomicina, ciclosporina, bevacizumab, gemcitabina

AINES: Anti-inflamatórios não esteroides; IECAS: Inibidores da enzima de conversão da angiotensina.

LRA PÓS-RENAL

Na LRA pós-renal, a obstrução pode ser intraluminal (litíase, coágulos, fungos, necrose papilar) ou extraluminal (neoplasia, fibrose retroperitoneal). No trato superior, apenas as obstruções bilaterais ou unilaterais em rim único funcionante se traduzem em LRA (35,36,38,41). A obstrução urinária inferior, mais prevalente, resulta de hiperplasia benigna da próstata, carcinoma da próstata ou do colo uterino e distúrbios retroperitoneais (38,41).

A duração da obstrução está inversamente relacionada com a recuperação da FR e esta etiologia deve ser rapidamente excluída. A oligoanúria é frequente, mas a diurese pode estar preservada (35,38,41).

O tratamento passa pela correção da obstrução e tratamento da condição subjacente, que condiciona o prognóstico (36).

CAPÍTULO 2. BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA

Um biomarcador ideal para o diagnóstico precoce de LRA deve apresentar determinadas características e cumprir algumas funções (tabela 3).

Como é pouco provável que um único marcador preencha todos os requisitos definidos, é aconselhável um painel de marcadores para prever, diagnosticar e monitorizar a disfunção renal.

Tabela 3: Funções e características de um marcador ideal de LRA. Adaptado de Urbschat et al. (2011) **(32)**, Massey (2004) **(46)**, Bagshaw and Gibney (2008) **(47)**, Nguyen and Devarajan (2008) **(48)**.

Funções	Características
Deteção de LRA precoce	Endógeno, hidrossolúvel, não tóxico, não invasivo
Identificação de reduções na função glomerular	Produção a uma taxa constante Mínima ligação a proteínas
Avaliação da gravidade e probabilidade de progressão	Filtração glomerular livre Sem secreção, reabsorção tubular
Monitorização da resposta à terapêutica	Sem metabolização ou eliminação extrarrenal
Determinação dos subtipos fisiopatológicos: pré-renal, intrínseca e pós-renal	Avaliação fácil, rápida, barata e disponível, em amostras acessíveis como sangue e urina
Identificação de diferentes etiologias de LRA (hipóxia, toxinas, sepsis)	Preciso e confiável Mínima interferência analítica

2.1 BIOMARCADORES TRADICIONAIS

A introdução do termo “lesão renal aguda” traduz uma mudança de paradigma na abordagem à doença renal aguda. Como os marcadores clássicos de disfunção renal dependem do decréscimo da TFG, permitem o diagnóstico apenas algumas horas a dias após o evento inicial, quando o compromisso da FR está já estabelecido (32,49) (figura 4).

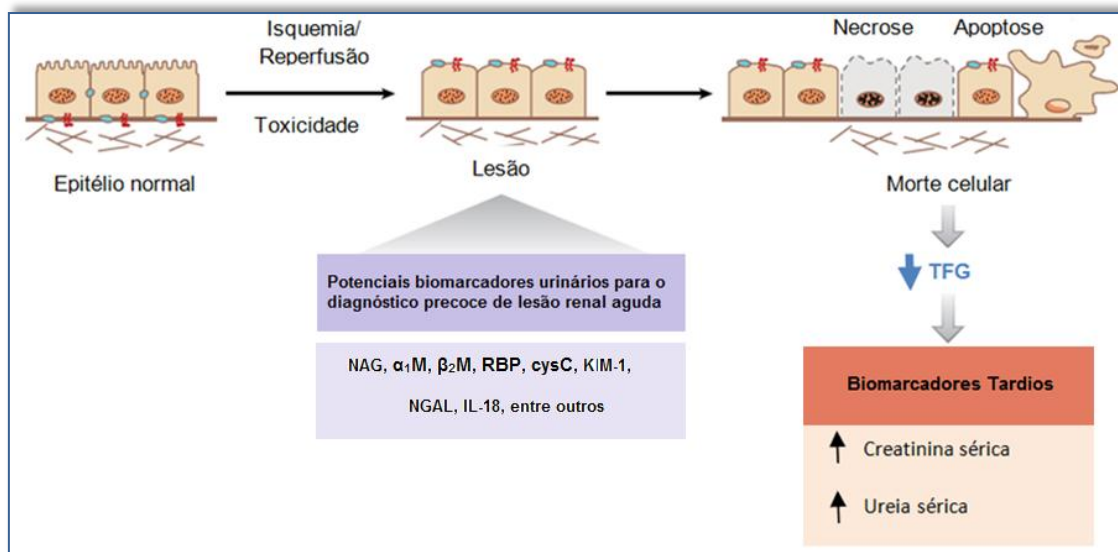


Figura 4: Novos marcadores vs marcadores tradicionais. Adaptado de Vaidya et al. (2008) (45). α_1M : α_1 -microglobulina; β_2M : β_2 microglobulina; CysC: cistatina C; IL-18: interleucina 18; KIM-1: molécula de lesão renal-1; NAG: N-acetil- β -(D)-glucosaminidase; NGAL: gelatinase neutrofílica associada à lipocalina; RBP: proteína de ligação ao retinol; TFG: taxa de filtração glomerular.

O *gold-standard* para a determinação da TFG é a depuração de substâncias exógenas como a inulina ou os compostos com isótopos marcados: ^{51}Cr -EDTA e ^{99}Tc -DTPA. Embora proporcionem uma estimativa mais fidedigna da TFG, a sua aplicação na clínica é condicionada pela sua complexidade, custo elevado (\$50,00 US) e limitada disponibilidade (47,50,51).

A depuração da creatinina sérica constitui uma estimativa válida da função glomerular, ainda que sobrestimada devido à secreção tubular. Exige a determinação da creatinina sérica e urinária (24h) ou em alternativa a aplicação de cálculo matemático para a determinação aproximada da TFG pelas equações de *Cockcroft-*

Gault ($Ccr = [(140 - \text{idade}) \times \text{peso}] / (72 \times \text{Scr}) \times 0.85$ se sexo feminino) e *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) ($GFR = 186 \times (\text{Scr})^{-1.154} \times (\text{idade})^{-0.203} \times 0.742$ se sexo feminino ou $\times 1.212$ se raça negra) (32,52).

Apesar da ampla investigação, a determinação da LRA depende ainda dos tradicionais biomarcadores endógenos: creatinina e ureia (32).

CREATININA

A creatinina sérica constitui o marcador padrão para a deteção de compromisso da FR por ser uma proteína endógena, de baixo peso molecular (113Da), produzida a uma taxa constante e livremente filtrada (46,47,52,53).

Esta molécula relativamente específica para a disfunção renal, sobrestima a TFG em 10 a 40% devido à secreção tubular (46,47,52). Além disso, alguns fármacos alteram esta secreção. A sua concentração sérica depende da taxa de produção e do volume de distribuição corporal (54). Assim, fatores como idade, sexo, massa muscular, metabolismo muscular, peso corporal, ingestão proteica e hidratação condicionam variabilidade nos valores basais. Da mesma forma condições patológicas extrarrenais como doenças hepáticas, distúrbios musculares, traumatismos e estados febris podem determinar variações. Apesar de menos comum, alguns fatores como a cetoacidose diabética e alguns fármacos (cefotaxima, flucitosina) podem condicionar uma diminuição na determinação laboratorial pelo método de *Jaffe* da creatinina sérica (32,47,48,55) (tabela 4).

A creatinina constitui um marcador insensível e pouco confiável de alterações agudas da TFG, porque vários dias podem ser necessários para que o equilíbrio seja alcançado e o declínio da função glomerular seja identificado. Geralmente, a elevação sérica da creatinina ocorre após perda de mais de 50% da FR, quando a oportunidade terapêutica já foi ultrapassada (32,47,48,55).

Estudos em doentes após cirurgia cardíaca (CC) revelaram que a deteção da LRA pelo aumento da creatinina sérica só foi possível 48 a 72h após a intervenção cirúrgica (56). Do mesmo modo, doentes com *delayed graft function* que necessitaram de TSR apresentaram pico de creatinina sérica 2 a 4 dias após o transplante (57).

UREIA

A ureia é uma molécula endógena, hidrossolúvel e de baixo peso molecular (60Da) que deriva do metabolismo proteico e constitui um marcador urémico. Este marcador tem baixa sensibilidade e especificidade para LRA porque a sua concentração sérica é modulada por fatores renais e extrarrenais, independentes da lesão/disfunção renal. A taxa de produção de ureia não é constante e um aumento da ureia sérica pode resultar de condições extrarrenais como *intake* ou catabolismo proteico aumentado, hemorragia GI, trauma e terapia com glucocorticoides, sem que a FR esteja diminuída. Em contrapartida, uma doença hepática avançada ou um baixo *intake* proteico determinam uma diminuição na concentração de ureia, sem mudanças na TFG (32,47) (tabela 4).

Tabela 4: Fatores que afetam os marcadores tradicionais de LRA. Adaptado de Bagshaw and Gibney (2008) (47).

Marcador sérico	Aumento	Diminuição
Creatinina	Idade jovem Sexo masculino Massa muscular Consumo de carne cozinhada Reação de <i>Jaffe</i> (cetose, hiperglicemia) Fármacos (cimetidina, trimetropim) Exercício físico intenso	Idade avançada Sexo feminino Restrição proteica (doença renal ou hepática) Dieta vegetariana Perda de massa muscular (doença neuromuscular, desnutrição) Amputação Reação de <i>Jaffe</i> (hiperbilirrubinemia)
Ureia	Redução do volume circulante efetivo Aumento da ingestão proteica Doenças críticas (febre, trauma, queimaduras, sepsis) Hemorragia gastrointestinal Fármacos (corticoides, tetraciclina)	Expansão de volume agressiva Gravidez SIADH Restrição proteica Doença hepática

SIADH: Secreção inapropriada de hormona anti-diurética.

2.2 NOVOS BIOMARCADORES

Investigações no âmbito da LRA procuram indicadores sensíveis que traduzam alterações celulares nas fases pré-renal/installação, potencialmente reversíveis. Trata-se de uma janela de oportunidade estreita, principalmente nos casos de NTA (49).

A análise urinária constitui um método não-invasivo, disponível e de baixo custo. A pesquisa de marcadores urinários específicos e sensíveis para a LRA precoce marcou as últimas décadas. Os marcadores urinários podem ser proteínas ou enzimas expressas de forma constitutiva nas células tubulares renais, que são excretadas na lesão tubular aguda ou podem ser marcadores induzíveis, isto é, produtos de genes cuja transcrição/tradução é ativada na lesão tubular (58). O perfil de elevação dos vários marcadores tem sido estudado em várias situações clínicas como por exemplo a cirurgia cardíaca (gráfico 3).

Apesar das referidas vantagens, o doseamento de marcadores urinários pode ser influenciado pelo estado de hidratação do doente e pelos diuréticos, sendo inútil na presença de oligoanúria onde a análise sérica assume particular relevância (59).

As características dos novos biomarcadores descritos encontram-se resumidas na Tabela Resumo em anexo.

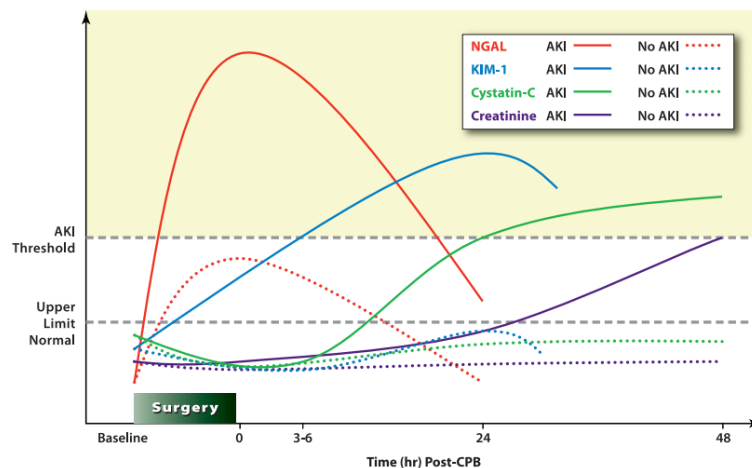


Gráfico 3: Representação esquemática dos novos marcadores de LRA após cirurgia cardíaca em adultos. Retirado de McIlroy and Thomas et al. (2010) (60).

2.2.1 PROTEÍNAS DE BAIXO PESO MOLECULAR

O valor de PBPM no diagnóstico precoce de LRA tem sido amplamente estudado, e a sua fácil e rápida determinação podem ser determinantes para a aplicação na prática clínica (61). Destacam-se a cysC, a α_1 -microglobulina (α_1M), a β_2 -microglobulina (β_2M) e a proteína de ligação ao retinol (RBP) (59).

Estas moléculas livremente filtradas no glomérulo, pelo seu peso molecular <40kDa, são reabsorvidas no TP. Em condições fisiológicas, a sua concentração urinária é indetetável e a sua identificação urinária parece estar associada a lesão/disfunção tubular proximal ou sobrecarga tubular (59). A utilidade destas proteínas como biomarcadores na definição de LRA pode ser limitada por proteinúria glomerular significativa ou hiper-filtração glomerular (62).

CISTATINA C

Inicialmente designada por γ -trace, a cysC é um inibidor da protease da cisteína composto por uma única cadeia polipéptida não-glicosilada (120 aminoácidos). Pertence à superfamília das cistatinas tipo 2 e apresenta algumas características de marcador ideal de LRA (63-66) (tabela 5).

Tabela 5: Vantagens da CysC em relação aos marcadores tradicionais. Adaptado de Tgsalis (2011) (42), Filler et al. (2005) (51), Zhu et al. (2006) (53).

Produto de gene <i>housekeeping</i> expresso em todas as células nucleadas Taxa de produção constante Sem ligação a proteínas plasmáticas
Baixo peso molecular (13,343–13,359 kDa) e carga positiva a pH fisiológico Filtração glomerular livre Sem secreção tubular

Apesar de a medição da cysC ser um pouco mais cara (\$3,00 vs \$0,25 US) tem aplicabilidade comparável à creatinina sérica (32,51). As concentrações normais de CysC séricas e urinárias são 0,57-1,79mg/L e 0,033-0,29mg/L (51).

Em doentes submetidos a substituição valvular cardíaca (53) a cysC sérica mostrou ser mais sensível que a creatinina sérica (*area under the relative operating characteristic curve* (AUC)=0,876 vs 0,801) e apresentou correlação superior com a clearance da creatinina ($r=0,751$ vs $0,629$). Atingiu o valor máximo ao 2º dia e a creatinina sérica apenas ao 3º dia.

Em UCI (67), a cysC sérica apresentou também um elevado valor diagnóstico de LRA (sensibilidade 55% e 82%), nos 2 dias que precederam a elevação sérica da creatinina $\geq 50\%$. Um aumento de $\geq 50\%$ de cysC sérica precedeu a elevação da creatinina em $1,5 \pm 0,6$ dias. Uzun et al. (68) observaram uma sensibilidade superior da cysC sérica na deteção de disfunção renal em doentes previamente saudáveis e com doença renal prévia comparativamente à creatinina sérica (98% vs 80%) e com especificidade semelhante (99% e 100%) para um *cut-off* de 1,36mg/L.

Em doentes submetidos a cateterismo cardíaco, um *cut-off* de cysC de 1,3mg/L apresenta sensibilidade=88% e especificidade=96% para disfunção renal, em oposição aos 63% e 80% da creatinina para um *cut-off* de 1,2mg/dL (68).

No pós-operatório de CCT, a cysC urinária revelou-se superior à creatinina e cysC séricas (AUC<0,70), no diagnóstico precoce de LRA. As concentrações séricas diminuíram 8% e 22% respetivamente, nas primeiras 6h após a cirurgia, pelo que a deteção de elevações significativas ($>50\%$) só ocorreu no 2º dia de pós-operatório, para a creatinina e no 3º dia para a CysC. Pelo contrário, a concentração urinária de cysC aumentou 147 vezes no pós-operatório imediato nos doentes que desenvolveram LRA. A capacidade preditiva de CysC urinária superou também a NGAL urinária, contudo esta diferença não foi significativa. O valor urinário de CysC às 6h e o valor máximo composto nas primeiras 6h constituem preditores independentes de LRA (AUC=0,724 e 0,734) (56) (gráfico 4).

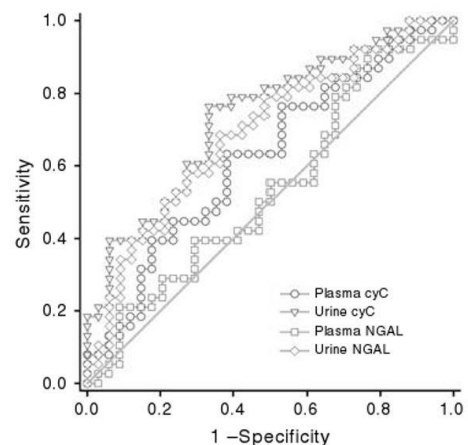


Gráfico 4: Curvas ROC para os valores máximos das primeiras 6h após a CCT para os quatro biomarcadores de LRA. Retirado de Koyner et al. (2008) (56).

Os valores urinários da CysC apresentaram ainda um valor prognóstico na previsão da necessidade de TSR em doentes submetidos a CCT (56) e em doentes com NTA não-oligúrica (AUC=0,92; Sensibilidade=92% e Especificidade=83%) (61) (gráfico 5).

Apesar da menor variabilidade interindividual em comparação com a creatinina (32,51,53,70) e da não influência do sexo, as concentrações séricas da CysC aumentaram com a idade ($0,82\pm 0,17\text{mg/L}$, 36-50 anos e $1,07\pm 0,21\text{mg/L}$, 50-65 anos) (68) e foram influenciadas pelas hormonas tiroideias (71,72) e pelo tratamento glucocorticoide (73).

O hipotireoidismo, sintomático ou subclínico, associa-se a uma diminuição nos valores de cysC e o inverso é observado no hipertireoidismo. Assim a função tiroideia deve ser sempre avaliada na determinação da cysC (71,72).

Segundo Risch et al. (73), a terapêutica glucocorticoide em transplantados renais associou-se a um aumento reversível da cysC sérica, pelo que a TFG parece ser subestimada por este método. Esta variação é dose-dependente (500mg vs $\leq 10\text{mg}$ metilprednisolona intravenosa) e não se verifica com a ciclosporina A. Os autores estimaram o aumento da cysC com glucocorticoides em baixas doses entre 0,20 e 1,85mg/L. Estes resultados não foram reportados por Zhu et al. (53) e Bökenkamp et al. (74) que apontaram valores de cysC séricos inalterados em doentes submetidos a CCT e em crianças com síndrome nefrótica cortico-sensível tratados com baixas doses de corticoide (dexametasona 10mg/dia (53) e prednisolona $<60\text{mg/dia}$ (74)).

α_1 -MICROGLOBULINA

A $\alpha_1\text{M}$, também designada proteína HC, é uma glicoproteína (31kD), com síntese hepática e provável função imunomoduladora. Metade desta molécula circula no plasma humano ligada à imunoglobulina A na forma de um complexo de elevado peso molecular e em menores quantidades circula ligada à albumina (7%) e protrombina (1%). Na sua forma livre é filtrada livremente pelos glomérulos e reabsorvida pelo recetor megalina no TP (59,68,75).

A concentração sérica da $\alpha_1\text{M}$ depende da função hepática e renal e mantém-se estável em condições patológicas distintas (neoplasias, infeções, doenças autoimunes) (75) (tabela 6).

Tabela 6: Variações dos níveis plasmáticos/séricos e urinários de α_1 M com diferentes condições patológicas. Adaptado de Penders and Delanghe (2004) (75).

Níveis plasmáticos/séricos de α_1 M		
Aumentados	Inalterados	Diminuídos
<ul style="list-style-type: none"> - Diminuição da TFG - Melanoma Maligno 	<ul style="list-style-type: none"> - Reações de fase aguda - Neoplasias - Doenças do SNC - Infecções - Artrite reumatóide - Artrite - Hepatite 	<ul style="list-style-type: none"> - Seropositividade HIV - Insuficiência hepática grave - Cirrose hepática
Níveis urinários de α_1 M		
Aumentados		
<ul style="list-style-type: none"> - Comprometimento da função tubular (intoxicação por metais pesados, nefropatia dos Balcãs) - Nefrolitíase - Obstrução ureteral crônica - Nefropatia diabética - Diminuição da TFG 		

HIV: vírus da imunodeficiência adquirida.

Uma revisão de Penders et al. (75) enfatiza a estabilidade molecular em amplos valores de pH da α_1 M, em oposição à β_2 M. O doseamento urinário de α_1 M livre é apontado como um indicador sensível da disfunção tubular proximal de diferentes etiologias (fármacos e tóxicos, pielonefrite aguda e crônica, doenças vasculares renais, rejeição de transplante renal), constituindo uma alternativa aos marcadores tradicionais. Por ser livremente filtrada, a determinação sérica desta proteína permite a estimativa da TFG, já que a diminuição da filtração glomerular leva a uma redução da depuração proteica.

Um estudo comparativo (61) entre proteínas e enzimas tubulares urinárias no contexto de NTA destacou a α_1 M e a CysC como indicadores de necessidade de TSR numa fase precoce não-oligúrica (AUC=0,86; sensibilidade=83%; especificidade=88%) (gráfico 5).

Mais estudos são necessários para a sua validação como marcador a utilizar na rotina diária.

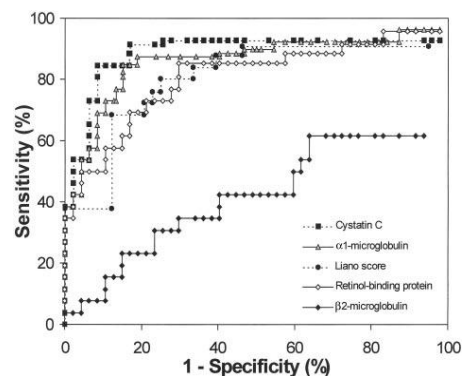


Gráfico 5: Curva ROC que demonstra a capacidade preditiva de proteínas tubulares (CysC, α_1 M, β_2 M e RBP) na urina de doentes com NTA não-oligúrica. Retirado de Herget-Rosenthal et al. (2004) (61).

β_2 -MICROGLOBULINA

A β_2 M é constituída por uma cadeia polipeptídica única (100 aminoácidos), homóloga à cadeia leve da molécula de *major histocompatibility class I*, expressa na superfície das células nucleadas (76,77). A sua forma monomérica (11,8 kDa) é livremente filtrada pelo glomérulo (68,59). Os níveis séricos médios de β_2 M (0,75–3,04mg/dL) não são significativamente influenciados pelo sexo ou idade. Comparativamente à creatinina sérica, este marcador sérico apresenta sensibilidade superior (86% vs 80%) mas menor especificidade (92% vs 100%) para a deteção de disfunção renal, para um *cut-off* de 2,51mg/L (68).

Como marcador urinário, a sua utilidade clínica está limitada pela instabilidade em meio ácido e necessidade de alcalinização das amostras urinárias (78).

PROTEÍNA DE LIGAÇÃO AO RETINOL

O RBP sintetizado no fígado e envolvido no transporte da vitamina A tem baixo peso molecular (21kDa) e é livremente filtrado e reabsorvido no TP (59).

Bernard et al. (62) comprovaram que o RBP urinário constitui um indicador altamente sensível de disfunção tubular proximal tóxica, com elevação urinária deste marcador 10 vezes superior à do N-acetil- β -(D)-glucosaminidase (NAG). Comparativamente à β_2 M, o RBP apresenta estabilidade superior em pH ácido o que lhe confere vantagem como marcador urinário. Para valores de pH >6, verifica-se uma boa correlação entre a β_2 M e o RBP urinários ($r=0,93$), o que sugere que ambos respondem a lesão tubular proximal com sensibilidade semelhante, apesar do aumento da β_2 M ser frequentemente mais expressivo (>311 μ g/L). A correlação da excreção urinária destes dois marcadores com a função tubular só está presente para TFG normais ou ligeiramente diminuídas (creatinina sérica <20mg/L).

A investigação da aplicabilidade deste marcador é ainda insuficiente.

2.2.2 ENZIMAS TUBULARES

As enzimas tubulares estão presentes constitutivamente nos túbulos renais e a sua excreção renal é consequência direta da lesão tubular. As enzimas tubulares estudadas incluem enzimas citosólicas (glutatião-S-transferase (GST)), enzimas lisossomais (NAG) e enzimas da bordadura em escova do túbulo proximal (alanina aminopeptidase (AAP), fosfatase alcalina (AP) e gama-glutamyl-transpeptidase (GGT)).

ISOENZIMAS GLUTATIÃO-S-TRANSFERASE

As enzimas GST têm expressão constitutiva no citoplasma do epitélio tubular renal e a sua excreção urinária aumenta na LRA. As 3 classes estruturais α -GST, μ -GST e π -GST (58,59) apresentam uma distribuição heterogénea no nefrónio humano. A α -GST é expressa ao nível do TP e a isoforma π -GST está presente nas células do ramo fino da ansa de *Henle*, túbulo contornado distal e ducto coletor, pelo que a α -GST é considerada um marcador de lesão do TP e a π -GST do nefrónio distal (79,80).

Westhuyzen et al. (81) estudaram o valor da elevação urinária de enzimas tubulares (GGT, π -GST, α -GST, AP e NAG) na deteção de LRA, em UCI. A α -GST e a π -GST apresentaram os melhores resultados ($AUC_{\alpha\text{-GST}}=0,950$ e $AUC_{\pi\text{-GST}}=0,929$), com alterações significativas precedendo a elevação da creatinina sérica em 12h.

Outro estudo revelou que α -GST é um marcador de deteção precoce de disfunção tubular induzida por contraste, com uma elevação significativa de α -GST urinária no 1º dia pós-cateterismo cardíaco (de $2,15 \pm 1,94$ para $13,24 \pm 18,07 \mu\text{g/L}$) (82).

Sundberg et al. (80) demonstraram que a determinação das diferentes isoformas permite diferenciar a etiopatogenia da LRA, particularmente útil no pós-transplante renal, em que diferentes fatores podem originar a LRA. A α -GST constitui um marcador da toxicidade induzida pela ciclosporina A (aumento de $5,6 \text{ng/mL}$), ao passo que a π -GST surge elevada no caso de rejeição aguda do transplante (aumento de $14,6 \text{ng/dL}$). No caso de NTA e enfarte do enxerto renal verificou-se um aumento significativo de ambas ($20,7$ e $147,4 \text{ng/dL}$ de α -GST; $240,1$ e $802,1 \text{ng/dL}$ de π -GST). Igualmente, na nefropatia associada ao cádmio observou-se um aumento da excreção de α -GST (20ng/mL), refletindo a lesão tubular proximal inerente.

Um estudo prospetivo (83) mostrou um aumento estatisticamente significativo da excreção urinária de α -GST e π -GST nas 4h pós-CC sem complicações, sugerindo

lesão tubular proximal e distal associadas. Porém, não foi comprovada uma correlação entre a excreção urinária destas enzimas e a variação de creatinina sérica ou da TFG. A elevada sensibilidade destes marcadores para a deteção de lesão tubular com um elevado número de FP e a necessidade de um armazenamento correto de urina com adição de estabilizadores enzimáticos são desvantagens para a sua utilização (59).

N-ACETIL-B-(D)-GLUCOSAMINIDASE

O NAG é uma glicosidase lisossomal do TP, de elevado peso molecular (>130 kDa). Ausente em condições fisiológicas, a sua elevação urinária poderá refletir lesão tubular renal (32,84).

Num estudo caso-controlo pós-CC pediátrica, o NAG urinário começou a aumentar nas primeiras 6h ($AUC_{12h}=0,69$, $AUC_{24h}=0,70$ e $AUC_{36h}=0,71$) e manteve-se elevado até às 48h nos doentes que desenvolveram LRA, precedendo a elevação da creatinina sérica que ocorreu às 24h (85) (gráfico 6).

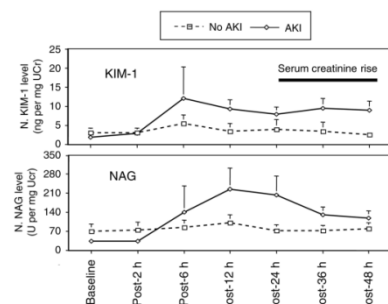


Gráfico 6: Concentrações urinárias de KIM-1 e NAG após cirurgia cardíaca pediátrica. Retirado de Han et al. (2008) (85).

Perante a LRA estabelecida, a NAG urinária constitui um marcador de gravidade e prognóstico (morte hospitalar e necessidade de diálise) superior aos marcadores convencionais ($AUC_{NAG}=0,70$; $AUC_{Creatina\ Sérica}=0,60$; $AUC_{DU}=0,65$). A probabilidade de desfecho adverso é cerca de 5vezes superior no quartil superior em comparação com o 1ºquartil de NAG (84).

Em comparação com outras enzimas tubulares (α -GST, GGT), o NAG apresenta o melhor valor preditivo para a necessidade de TSR ($AUC=0,81$) em doentes com NTA não oligúrica (61) (gráfico 7).

Apesar destes resultados, a excreção urinária do NAG pode estar elevada em doenças crónicas, como a diabetes e a exposição crónica ao lítio, o que dificulta a sua valorização clínica (84).

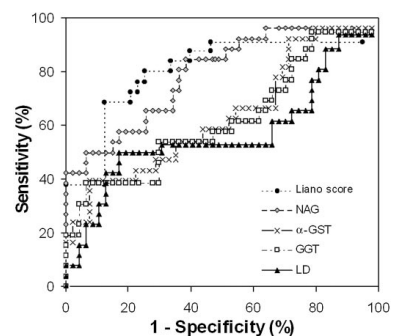


Gráfico 7: Curva ROC que demonstra a capacidade preditiva de enzimas (α -GST, NAG, GGT e lactato desidrogenase) na urina de doentes com NTA não-oligúrica. Retirado de Herget-Rosenthal et al. (2004) (61).

ALANINA AMINOPEPTIDASE, FOSFATASE ALCALINA E GAMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASE

A AAP, a PA e a GGT são enzimas da bordadura em escova do TP. A sua excreção urinária aumentada implica lesão da bordadura em escova, com perda das microvilosidades (59).

A instabilidade enzimática pode limitar a sua aplicação na clínica e a sua determinação deve decorrer até 4h após a colheita urinária, com recurso à cromatografia (59,62).

A sua validade como marcadores de LRA não está ainda clarificada.

2.2.3 BIOMARCADORES INDUZÍVEIS

Os biomarcadores induzíveis habitualmente não estão presentes nas células tubulares renais ou na urina, sendo a sua deteção celular ou urinária uma resposta direta à lesão celular dos túbulos renais (58).

GELATINASE NEUTROFÍLICA ASSOCIADA À LIPOCALINA

A NGAL é uma glicoproteína ligada à gelatinase (25kDa), expressa nos grânulos específicos dos neutrófilos e membro da família das lipocalinas, caracterizadas pela ligação a pequenas moléculas lipofílicas (86,87).

Cowland et al. (88) revelaram a expressão constitutiva desta molécula na medula óssea, compatível com a associação à linhagem neutrofílica. Foram analisados 50 tipos de tecidos humanos e detetados elevados níveis de NGAL em órgãos como o estômago, apêndice, cólon, traqueia e pulmão. Esta distribuição em órgãos expostos a microrganismos, associada à ausência de expressão no intestino delgado, virtualmente estéril, é compatível com um papel de *scavenger* de produtos bacterianos. Esta função anti-inflamatória de NGAL é corroborada pela expressão aumentada em epitélios proliferativos, áreas de inflamação/malignidade intestinal (89).

No rim, a NGAL parece desempenhar um papel preponderante na regulação da proliferação celular, nos processos de reparação e reepitelização tubular. Este marcador corresponde a uma via adicional de transporte de ferro que determina um aumento da transcrição da heme-oxigenase 1. Esta enzima protege e preserva as células tubulares proximais, com um efeito proliferativo e antiapoptótico (90).

Em estudos animais de isquemia/reperfusão e nefrotoxicidade (91), a NGAL foi expressa predominantemente nas células do TP em proliferação. Trata-se de um biomarcador urinário de LRA precoce, detetável na urina 2 a 3h após o evento isquémico, permanecendo elevada por um período de 24h. Esta deteção depende do grau e duração da isquemia, com elevação da NGAL urinária 2h após 30min de clampe vascular e 6h após 5min de isquemia bilateral. Em comparação com outros marcadores de LRA, a sua elevação precedeu o NAG e a β_2 M, que aumentaram 8 a 12h após a lesão isquémica e a creatinina que só se elevou 24h após o evento inicial. Do mesmo modo, a determinação deste marcador urinário após lesão nefrotóxica (cisplatina) precedeu a elevação de NAG e β_2 M em cerca de 3 a 4 dias. Esta rápida

indução de NGAL parece compatível com uma resposta intrínseca das células tubulares à lesão independentemente da atividade neutrofílica que ocorre mais tardiamente.

Diversos estudos em humanos confirmaram o valor diagnóstico deste promissor marcador urinário. No contexto de CC pediátrica, verificou-se uma elevação precoce (2h) e persistente da NGAL urinária (de 1,6 para 147 μ g/L) que se correlacionou com o desenvolvimento de LRA (AUC_{2h}=0,998, para um *cut-off* de 50 μ g/L) (92) (gráfico 8).

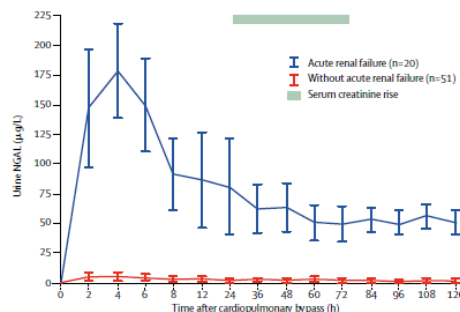


Gráfico 8: As concentrações urinárias médias de NGAL após intervenção cardíaca. Retirado de Misha et al. (2005) (92).

Em adultos após CC, esta elevação apresentou pico às 3h e persistia às 18h (AUC_{18h}=0,80, com limiar 213ng/ml) (93). Outro estudo no pós-operatório de CC em adultos corroborou estes resultados (AUC=0,705 à entrada da UCI) (56) (gráfico 4). A elevação menos expressiva em adultos pode resultar da maior incidência de comorbidades nas faixas etárias mais elevadas, associadas a disfunção renal e valores mais elevados de NGAL basal (94).

Estudos prospetivos (95,96) em populações heterogêneas em UCI reforçaram o valor deste biomarcador urinário para a previsão do desenvolvimento de LRA nas 48h seguintes numa população pediátrica (AUC=0,78) (95) e nas 24 e 48h seguintes em adultos (AUC=0,71 e 0,64) (96).

A NGAL urinária representa ainda um marcador preditivo de disfunção renal e diálise na primeira semana pós-transplante renal, com AUC_{0h}=0,90 (57) e 0,82 (97) (gráfico 9).

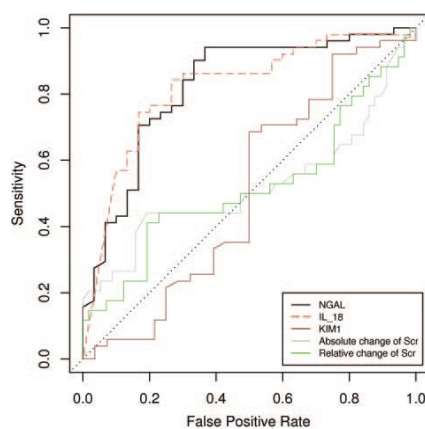
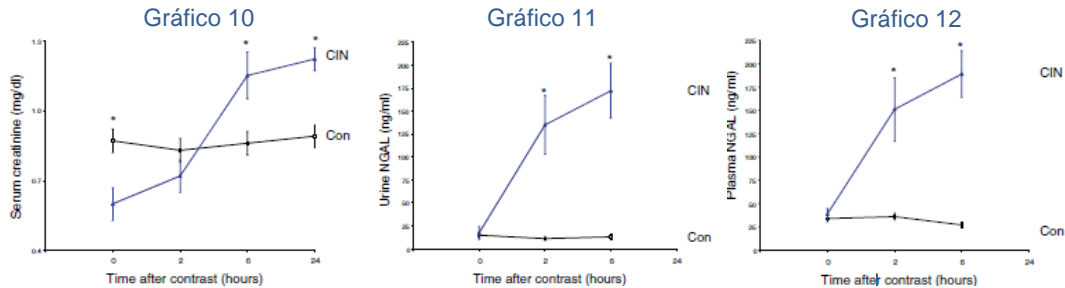


Gráfico 9: Curvas ROC de NGAL, IL-18 e KIM-1 urinários e creatina sérica no 1º dia pós-operatório para a previsão de diálise na 1ª semana após transplante renal. Retirado de Hall et al. (2010) (97).

Um coorte com 59 doentes mostrou ainda que a concentração sérica de NGAL permite a identificação precoce (2h) de LRA no pós-transplante hepático (AUC=0,79, *cut-off*=139ng/mL) (98).

A NGAL urinária e sérica 2h após a administração de contraste constituem fatores independentes na previsão de nefropatia por contraste (AUC=0,92 e 0,91 e R₂=0,52 e 0,72, para um *cut-off* de 100ng/mL). Os valores de NGAL na urina e sangue elevaram-

se significativamente logo às 2h (8 e 4 vezes) e às 6h o aumento foi de 10 e 5 vezes respetivamente (99) (gráficos 10,11,12).



Gráficos 10,11,12: Valores médios para a creatinina sérica, NGAL urinária e plasmática após administração de contraste. Retirados de Hirsch et al. (2007) (99).

Alguns autores reportaram um aumento da produção de NGAL noutros tecidos, no contexto de LRA, nomeadamente no fígado, que constitui o *pool* sistémico de NGAL. Além disso, o aumento de NGAL sérico na LRA pode ser condicionado por um aumento da sua libertação por neutrófilos, macrófagos e outras células inflamatórias, e não refletir apenas uma redução da TFG (98).

Além de promissores na deteção precoce de LRA ($AUC_{2h}=0,92$), os níveis urinários de NGAL 2h após uma CC estão correlacionados com a duração da LRA, a duração do internamento, a necessidade de diálise e a mortalidade (100).

Tabela 7: Correlação de medidas de NGAL na urina (ng/mL) 2h, 4h e 6h após cirurgia cardíaca com fatores clínicos independentes. Retirado de Bennett et al. (2008) (100).

Comparison parameter	Hour	Correlation Type	R	P	AUC
NGAL versus Δ creatinine (%)	2	Nonparametric	0.66	<0.0001	—
NGAL versus LOS (days)	2	Nonparametric	0.42	<0.0001	—
NGAL versus days in AKI	2	Nonparametric	0.73	<0.0001	—
NGAL versus dialysis	2	Logistic	0.38	0.01	0.86
NGAL versus death	2	Logistic	0.53	0.01	0.91
NGAL versus Δ creatinine (%)	4	Nonparametric	0.68	<0.0001	—
NGAL versus LOS (days)	4	Nonparametric	0.44	<0.0001	—
NGAL versus days in AKI	4	Nonparametric	0.77	<0.0001	—
NGAL versus dialysis	4	Logistic	0.30	0.1 (NS)	0.80
NGAL versus death	4	Logistic	0.33	0.1 (NS)	0.81
NGAL versus Δ creatinine (%)	6	Nonparametric	0.72	<0.0001	—
NGAL versus LOS (days)	6	Nonparametric	0.49	<0.0001	—
NGAL versus days in AKI	6	Nonparametric	0.80	<0.0001	—
NGAL versus dialysis	6	Logistic	0.45	0.06 (NS)	0.90
NGAL versus death	6	Logistic	0.15	0.48 (NS)	0.67

LOS, length of hospital stay (days); Δ creatinine, percent change in serum creatinine from baseline; AUC, area under the curve values from a typical ROC plot (for predicting dialysis, $n = 4$; and death, $n = 3$); —, not applicable; NS, not significant. The predictive modeling for death and dialysis events were limited due to the size of the study.

A capacidade diagnóstica (AUC=0,96, *cut-off*=150ng/mL) e preditiva da duração da LRA (R=0,57) e do internamento hospitalar (R=0,44) de NGAL 2h após CC foi corroborada por Dent *et al.* (101). A concentração urinária de NGAL às 12h além de correlação com os restantes fatores, constituiu um indicador de mortalidade (R=0,48).

Em consequência da sua ação anti-apoptótica, a NGAL é apontada como método terapêutico promissor para a LRA. Num modelo animal (102), a sua administração 1h antes, durante ou 1h após isquemia condicionou uma melhoria morfológica e funcional importante, evidenciada pela diminuição do dano histopatológico tubular e pelos valores de creatinina sérica. Contudo, ensaios com animais *lipocalin 2-deficient* (103) mostraram que este défice não aumenta a sensibilidade a fenómenos de isquemia-reperfusão. Mais estudos serão necessários para avaliar esta potencialidade.

NETRINA-1

A netrina-1 é uma molécula semelhante à laminina, membro da família de proteínas extracelulares que regulam a migração de neurônios e cones de crescimento axonal (*laminin related family of axon-guidance molecules*) (104). Amplamente expressa em vários órgãos, incluindo o rim (105), parece estar ausente na circulação sistémica (106), o que conjuntamente com o elevado peso molecular (72kDa) explica a sua ausência na urina de indivíduos saudáveis (105).

Modelos animais (107) revelaram que, em rins normais, a netrina-1 é expressa abundantemente no endotélio vascular renal, mas que é minimamente ou não expressa nas células epiteliais tubulares. Na isquemia-reperfusão, nas primeiras 3h, verificaram-se mudanças dramáticas na quantidade e distribuição desta proteína, com aumento da netrina-1 no epitélio tubular e diminuição no interstício, com aumento até às 24h e reversão às 72h (gráfico 13).

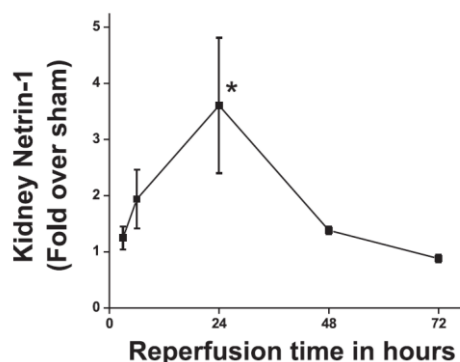


Gráfico 13: Regulação da expressão de netrina-1 após fenômenos de isquemia-reperfusão renal. Retirado de Wang *et al.* (2008) (107).

A administração de netrina-1 recombinante 5µg/animal melhorou significativamente a FR em 24h (creatinina: 1,2±0,07 vs 0,7±0,1mg/dL) e diminuiu a lesão tubular e infiltração leucocitária na medula externa. Estes resultados sugerem que a diminuição

de netrina-1, no endotélio renal, pode promover a ativação endotelial e infiltração leucocitária e contribuir para a lesão tubular. Assim, a NGAL parece desempenhar um papel na regeneração tubular com potencial utilização na recuperação da integridade renal (107). Estes resultados são corroborados por Ly *et al.* (108) que comprovaram a função de inibição da migração leucocitária da netrina-1 endotelial.

O ensaio de Reeves *et al.* (105) em animais transplantados renais evidenciou o papel da netrina-1 na regeneração tubular renal após a LRA, mediante estímulo da proliferação e migração epitelial e inibição da apoptose. Este marcador está presente nas células epiteliais do túbulo renal em rins transplantados 30min após a reperfusão e a sua excreção urinária constitui um marcador inicial de lesão tubular renal. Apenas 1h após os fenómenos de isquemia-reperfusão e 3h após a administração de cisplatina observou-se a elevação urinária da netrina-1, com valor máximo às 6h, ainda detetável às 72h. Por

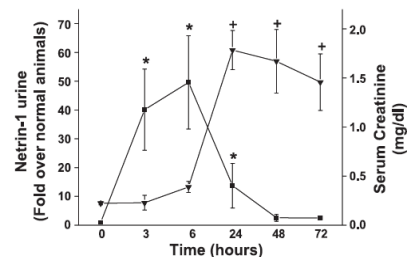


Gráfico 14: Expressão de netrina-1 na urina ■ e de creatinina no soro ▼ de rato após isquemia-reperfusão. Retirado de Reeves *et al.* (2008) (105).

seu turno, a creatinina sérica aumentou a partir das 6h (com pico às 24h) após o evento isquêmico e apenas 24 a 48h após o evento nefrotóxico, o que justifica a utilidade no diagnóstico precoce da LRA da netrina-1 (gráfico 14). Resultados semelhantes foram obtidos com a administração de lipopolissacarídeo bacteriano, com elevação da netrina-1 na urina após 1h, precedendo a elevação da creatinina sérica que ocorreu às 24h. Esta elevação foi mais precoce que a do NGAL cujos níveis urinários só foram detetados às 24h após o insulto.

Trabalhos em humanos (109) confirmaram estes resultados e validaram a universalidade deste biomarcador para o diagnóstico de LRA de diferentes etiologias: pós-isquemia, nefrotoxicidade (contraste e fármacos), sépsis e no pós-transplante imediato com elevação apenas às 2h após a intervenção.

Ramesh *et al.* (106) reportaram resultados semelhantes aos de Reeves *et al.* (105) no contexto de CC em humanos. Estes autores (106) comprovaram ainda uma boa correlação entre os níveis elevados de netrina-1 na urina às 6h e a duração de internamento e gravidade da LRA.

Este promissor biomarcador cumpre vários pré-requisitos para a deteção precoce da LRA é específico e sensível.

MOLÉCULA DE LESÃO RENAL-1

A KIM-1 também designada Tim-1 (*T-cell immunoglobulin and mucin-containing molecule*) é uma glicoproteína transmembranar de adesão epitelial, análoga a uma molécula de adesão celular (*mucosal addressin cell adhesion molecule1*), membro da superfamília das imunoglobulinas com um domínio *Ig-like* e um domínio de mucina na porção extracelular (110,111). A clivagem do domínio extra-celular para o lúmen tubular, regulada pelas quinases *mitogen-activated protein*, determina a sua excreção urinária de forma estável (112,113).

Estudos em animais revelaram que esta molécula praticamente indetetável no tecido renal, em condições fisiológicas, aumenta significativamente a sua expressão nas células em regeneração do TP, após um evento isquémico. As células do segmento S3 do TP especialmente sensíveis apresentam um aumento dramático da expressão de KIM-1 cerca de 48h após uma LRA isquémica. Esta molécula parece integrar os processos de proliferação, desdiferenciação e migração celular, que intervêm no restauro morfológico e funcional (110) (figura 5).

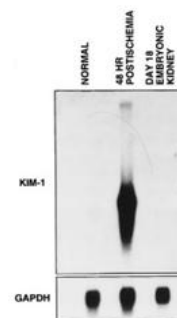


Figura 5: Análise da expressão de KIM-1 no rim normal e 48-h pós-isquemia no rim de rato embrionário. Retirado de Ichimura et al. (1998) (110).

Outras condições como a doença renal poliquística (114) e carcinoma de células renais (115) determinam aumento da expressão tubular proximal de KIM-1.

A vertente diagnóstica deste biomarcador parece promissora em modelos animais de isquemia (110,116) e nefrotoxicidade (116-121), com potencial aplicação na monitorização de fármacos nefrotóxicos (110,116,122), porém a investigação em humanos é ainda incipiente.

Num estudo caso-controlo em CC pediátrica (85), a elevação urinária de KIM-1 ocorreu às 2h, com pico às 6h e estabilização às 48h ($AUC_{12h}=0,83$; $AUC_{24h}=0,78$; $AUC_{36h}=0,84$), precedendo a elevação de creatinina que ocorreu às 24h. Embora superior à atividade urinária do NAG, esta diferença não foi significativa (gráfico 6).

A KIM-1 urinária está associada a um risco 12 vezes superior de NTA isquémica. Em comparação com outras formas de doença renal aguda e crónica, os níveis urinários de KIM-1 foram significativamente elevados na NTA isquémica (123).

Um estudo realizado com alguns biomarcadores urinários destacou a capacidade de KIM-1, a par com α -GST, de identificar no contexto de CC, o desenvolvimento de LRA nos estádios 1 e 3 de AKIN (58).

Destaca-se que a deteção de KIM-1 em biopsias de aloenxertos renais pode ser útil no diagnóstico de lesão epitelial significativamente correlacionada com a redução da TFG ($r=0,587$) (124).

A medição urinária de KIM-1 é inócua, reprodutível, fácil e rápida, com potencial aplicação na clínica, embora mais estudos sejam em contextos clínicos reais sejam necessários.

2.2.4 CITOQUINAS INFLAMATÓRIAS: IL-18

Em virtude do papel da inflamação na LRA vários estudos avaliaram a capacidade preditiva e diagnóstica das interleucinas. A interleucina-18 (IL-18) é uma citocina inflamatória (18 kDa), membro da superfamília da IL-1, constitutivamente expressa no néfron distal (125,126).

Modelos animais (127,128) enfatizaram o papel deletério da IL-18 na LRA isquêmica, reconhecendo esta molécula como um potencial alvo terapêutico. A ação desta citocina depende da sua ativação pela caspase-1, logo inibidores desta última enzima constituem potenciais agentes protetores renais. Porém, a inibição da IL-18 em ratinhos transgênicos não permitiu prevenir a LRA induzida por cisplatina, com um aumento de 2,5 vezes de IL-18 no rim (129).

Apesar de alguns autores (57,97,130-132) afirmarem que a uIL-18 é um teste alternativo no diagnóstico de LRA e da disponibilidade no mercado de *kits* ELISA para fácil e rápida utilização, a sua utilidade clínica é ainda controversa.

Apresenta um bom desempenho, superando a creatinina, no diagnóstico de LRA em UCI, em adultos nas 24h (AUC=0,73, *odds ratio* (OR)=3,2-8,8) e 48h seguintes (AUC=0,65, OR=2,3-3,7) (130), bem como nas 24 a 48h seguintes em crianças (OR=3,7) (132). Constitui um preditor independente de gravidade e morte associada a LRA, em adultos (uIL-18>100pg/mL, OR=1,6) (130) e crianças (OR=1,29) (132) em UCI.

Mostrou ser um marcador precoce de LRA no pós-operatório de CC em adultos (AUC_{4h}=61%, AUC_{12h}=75% e AUC_{24h}=73%). Os níveis urinários elevaram-se 4 a 6h após a intervenção, com um pico às 12h (25 vezes superior) em oposição à creatinina sérica elevada às 48-72h. Em comparação com a NGAL, com pico às 2h e redução às 6h, a uIL-18 permanece elevada por 48h. Este marcador apresenta ainda correlação com a duração da LRA em dias ($r^2=0,18$) (131).

Dois estudos prospectivos (57,97) apontaram a uIL-18 no 1º dia pós-transplante renal como fator preditivo de diálise na primeira semana (AUC=0,90 e 0,82).

Porém, segundo Haase et al. (133) a uIL-18 à entrada e às 24h em UCI não parece ser melhor que o acaso na predição de LRA no pós-operatório de CC (AUC=0,53, à entrada na UCI e AUC=0,55, às 24h).

Este marcador parece constituir um marcador inespecífico de inflamação e não um marcador de LRA. Como se trata de uma molécula inflamatória é também libertada por macrófagos no contexto de uma resposta inflamatória. De facto, as suas propriedades pró-inflamatórias e a sua *up-regulation* em doenças inflamatórias pode limitar a sua aplicação (133).

CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

O presente trabalho constitui uma revisão da aplicabilidade dos novos biomarcadores séricos e urinários na deteção precoce de LRA na rotina diária. A avaliação comparativa do valor diagnóstico e prognóstico de cada marcador permitiu reconhecer vantagens e desvantagens.

Neste domínio, novas ferramentas de identificação de potenciais marcadores estão em desenvolvimento. Contudo, a nova geração de biomarcadores é ainda uma área experimental. Os resultados mais promissores são dos marcadores induzíveis. A expressão renal e urinária destes marcadores induzida em resposta à lesão tubular de diferentes etiologias confere especificidade significativa. Assim, a NGAL e a netrina-1 constituem alternativas com bom perfil diagnóstico de LRA precoce, em modelos experimentais e em contextos clínicos reais. Da mesma forma, a KIM-1 apresentou vantagens em modelos animais, embora a investigação em clínica seja ainda incipiente. Apesar das potencialidades destes novos indicadores, o custo da sua determinação laboratorial e a sua indisponibilidade podem limitar a sua aplicação.

Marcadores como as PBPM apresentam métodos de deteção de baixo custo, rápidos e amplamente disponíveis, mas de utilidade limitada pela sua instabilidade e carência de validação clínica. Destaca-se a cysC que constitui uma molécula fiável na deteção de disfunção renal e substitui com vantagem a creatinina sérica na avaliação funcional renal. A utilização atual como marcador de função corrobora o seu valor, embora o seu papel como marcador de lesão não esteja bem definido.

As enzimas tubulares constituem marcadores extremamente sensíveis de lesão tubular e permitem a localização da lesão no nefrónio. Porém, não são marcadores precisos de LRA, já que a sua elevação ocorre com lesão tubular sem significado clínico. A utilização da IL-18 é controversa, pois é uma molécula inflamatória cuja elevação depende de estados inflamatórios o que condiciona a sua especificidade.

Vários autores defendem o recurso a um painel de marcadores para a deteção de LRA, avaliação prognóstica e monitorização terapêutica. Trata-se de uma área em revolução, que deve incentivar a investigação comparativa dos diferentes marcadores com vista ao estabelecimento de um painel diagnóstico. Além das potencialidades diagnósticas, os marcadores NGAL, netrina-1 e IL-18 foram apontados como agentes ou alvos terapêuticos de LRA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Srisawat N, Hoste EEA, Kellum JA. Modern Classification of Acute Kidney. *Blood Purification*. 2010;29:300-307.
2. Hilton R. Defining acute renal failure. *Canadian Medical Association journal*. 2011;183:1167-9.
3. Bellomo R, Kellum J, Ronco C. Acute renal failure: time for consensus. *Intensive care medicine*. 2001;27:1685-8.
4. Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N. Developing a consensus classification system for acute. *Current Opinion in Critical Care*. 2002;8:509-514.
5. Yong K, Dogra G, Boudville N, Pinder M, Lim W. Acute Kidney Injury: Controversies Revisited. *International Journal of Nephrology*. 2011;2011:1-17.
6. Mehta RL, Chertow GM. Acute Renal Failure Definitions and Classification: Time for Change? *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003;14:2178-87.
7. Ronco C, Kellum JA, Mehta R. Acute dialysis quality initiative (ADQI). *Nephrology, dialysis, transplantation*. 2001;16:1555-1558.
8. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, ADQI w. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical Care*. 2004;8:R204-R212.
9. Ricci Z, Cruz D, Ronco C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. *International Society of Nephrology*. 2008;73:538-546.
10. Piccinni P, Cruz DN, Gramaticopolo S, Garzotto F, Dal Santo M, Aneloni G, et al. Prospective multicenter study on epidemiology of acute kidney injury in the ICU: a critical care nephrology Italian collaborative effort (NEFROINT). *Minerva anesthesiologica*. 2011;77:1072-83.
11. Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, Bachmann LM, Druml W, Bauer P, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2004;15:1597-1605.
12. Lassnigg A, Schmid ER, Hiesmayr M, Falk C, Druml W, Bauer P, et al. Impact of minimal increases in serum creatinine on outcome in patients after cardiothoracic surgery: do we have to revise current definitions of acute renal failure? *Critical Care Medicine*. 2008;36:1124-1137.

13. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005;16:3365-70.
14. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care*. 2007;11:R31.
15. Bagshaw SM, George C, Bellomo R, Management AD. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 2008;23:1569-74.
16. Lopes JA, Fernandes P, Jorge S, Gonçalves S, Alvarez A, Costa e Silva Z, et al. Acute kidney injury in intensive care unit patients: a comparison between the RIFLE and the Acute Kidney Injury Network classifications. *Critical Care*. 2008;12:R110.
17. Chang CH, Lin CY, Tian YC, Jenq CC, Chang MY, Chen YC, et al. Acute kidney injury classification: comparison of AKIN and RIFLE criteria. *SHOCK*. 2010;33:247-52.
18. Joannidis M, Metnitz B, Bauer P, Schusterschitz N, Moreno R, Druml W, et al. Acute kidney injury in critically ill patients classified by AKIN versus RIFLE using the SAPS 3 database. *Intensive care medicine*. 2009;35:1692-702.
19. Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN – time for reappraisal. *Critical Care*. 2009;13:211.
20. Liangos O, Wald R, O'Bell J, Price L, Pereira B, Jaber B. Epidemiology and outcomes of acute renal failure in hospitalized patients: a national survey. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2006;1:43-51.
21. Hoste E, Schurgers M. Epidemiology of acute kidney injury: how big is the problem? *Critical care medicine*. 2008;36:S146-51.
22. Uchino S, Kellum J, Bellomo R, Doig G, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *the journal of the American Medical Association*. 2005;294:813-8.
23. Mehta R, Pascual M, Soroko S, Savage B, Himmelfarb J, Ikizler T, et al. Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: the PICARD experience. *Kidney international*. 2004;66:1613-21.
24. Pisoni R, Wille K, Tolwani A. The epidemiology of severe acute kidney injury: from BEST to PICARD, in acute kidney injury: new concepts. *Nephron. Clinical practice*. 2008;109:C188-91.

25. Hoste E, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus D, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Critical care*. 2006;10:R73.
26. Xue J, Daniels F, Star R, Kimmel P, Eggers P, Molitoris B, et al. Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2006;17:1135-42.
27. Waikar S, Curhan G, Wald R, McCarthy E, Chertow G. Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2006;17:1143-50.
28. Bagshaw S, George C, Bellomo R, Committee ADM. Changes in the incidence and outcome for early acute kidney injury in a cohort of Australian intensive care units. *Critical care*. 2007;11:R68.
29. Hsu C, McCulloch C, Fan D, Ordoñez J, Chertow G, Go A. Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney international*. 2007;72:208-12.
30. Ympa Y, Sakr Y, Reinhart K, Vincent J. Has mortality from acute renal failure decreased? A systematic review of the literature. *The American journal of medicine*. 2005;118:827-32.
31. Bellomo R. The epidemiology of acute renal failure: 1975 versus 2005. *Current opinion in critical care*. 2006;12:557-60.
32. Urbschat A, Obermüller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals. 2011;16:S22-30.
33. Ali T, Khan I, Simpson W, Prescott G, Townend J, Smith W, et al. Incidence and outcomes in acute kidney injury: a comprehensive population-based study. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2007;18:1292-8.
34. Cruz D, Bolgan I, Perazella M, Bonello M, de Cal M, Corradi V, et al. North East Italian Prospective Hospital Renal Outcome Survey on Acute Kidney Injury (NEiPHROS-AKI): targeting the problem with the RIFLE Criteria. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2007;2:418-25.
35. Brady H, Singer G. Acute renal failure. *Lancet*. 1995;346:1533-40.
36. Lameire N, Vanholder R, Van Biesen W. Acute renal failure. *Lancet*. 2005;365:417-30.
37. Blantz RC. Pathophysiology of pre-renal azotemia. *Kidney International*. 1998;53:512-523.

38. Agrawal M, Swartz R. Acute renal failure. *American family physician*. 2000;61:2077-88.
39. Rosner MH, Okusa MD. Drug-associated acute kidney injury in the intensive care unit. In *Clinical Nephrotoxins: Renal Injury from Drugs and Chemicals*.: Springer; 2008. p.29-41.
40. Pascual J, Liaño F, Ortuño J. The elderly patient with acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1995;6:144-53.
41. Thadhani R, Pascual M, Bonventre J. Acute renal failure. *The New England journal of medicine*. 1996;334:1448-60.
42. Tsagalis G. Update of acute kidney injury: intensive care nephrology. *Hippokratia*. 2011;15:53-68.
43. Bagshaw S, Bellomo R, Devarajan P, Johnson C, Karvellas C, Kutsiogiannis D, et al. [Review article: Acute kidney injury in critical illness]. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*. 2010;57:985-98.
44. Ko G, Grigoryev D, Linfert D, Jang H, Watkins T, Cheadle C, et al. Transcriptional analysis of kidneys during repair from AKI reveals possible roles for NGAL and KIM-1 as biomarkers of AKI-to-CKD transition. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2010;298:F1472-83.
45. Vaidya V, Ferguson M, Bonventre J. Biomarkers of acute kidney injury. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2008;48:463-93.
46. Massey D. Commentary: clinical diagnostic use of cystatin C. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2004;18:55-60.
47. Bagshaw S, Gibney R. Conventional markers of kidney function. *Critical care medicine*. 2008;36:S152-8.
48. Nguyen M, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2008;23:2151-7.
49. Waikar S, Bonventre J. Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2007;16:557-64.
50. Price C, Finney H. Developments in the assessment of glomerular filtration rate. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2000;297:55-66.
51. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martínez-Brú C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. *Clinical biochemistry*. 2005;38:1-8.

-
52. Stevens L, Coresh J, Greene T, Levey A. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *The New England journal of medicine*. 2006;354:2473-83.
 53. Zhu J, Yin R, Wu H, Yi J, Luo L, Dong G, et al. Cystatin C as a reliable marker of renal function following heart valve replacement surgery with cardiopulmonary bypass. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2006;374:116-21.
 54. Lameire N, Hoste E. Reflections on the definition, classification, and diagnostic evaluation of acute renal failure. *Current opinion in critical care*. 2004;10:468-75.
 55. Bellomo R, Kellum J, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive care medicine*. 2004;30:33-7.
 56. Koyner J, Bennett M, Worcester E, Ma Q, Raman J, Jeevanandam V, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. *Kidney international*. 2008;74:1059-69.
 57. Parikh C, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2006;6:1639-45.
 58. Koyner J, Vaidya V, Bennett M, Ma Q, Worcester E, Akhter S, et al. Urinary biomarkers in the clinical prognosis and early detection of acute kidney injury. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2010;5:2154-65.
 59. Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood purification*. 2010;29:357-65.
 60. McIlroy D, Wagener G, Lee H. Biomarkers of acute kidney injury: an evolving domain. *Anesthesiology*. 2010;112:998-1004.
 61. Herget-Rosenthal S, Poppen D, Hüsing J, Marggraf G, Pietruck F, Jakob H, et al. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clinical chemistry*. 2004;50:552-8.
 62. Bernard A, Vyskocil A, Mahieu P, Lauwerys R. Assessment of urinary retinol-binding protein as an index of proximal tubular injury. *Clinical chemistry*. 1987;33:775-9.
 63. Grubb A, Löfberg H. Human gamma-trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1982;79:3024-7.

64. Barrett A, Davies M, Grubb A. The place of human gamma-trace (cystatin C) amongst the cysteine proteinase inhibitors. *Biochemical and biophysical research communications*. 1984;30:631-6.
65. Abrahamson M, Barrett A, Salvesen G, Grubb A. Isolation of six cysteine proteinase inhibitors from human urine. Their physicochemical and enzyme kinetic properties and concentrations in biological fluids. *The Journal of biological chemistry*. 1986;261:11282-9.
66. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsbäck M, Lundwall A, Jensson O, et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. *The Biochemical journal*. 1990;268:287-94.
67. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney international*. 2004;66:1115-22.
68. Uzun H, Ozmen Keles M, Ataman R, Aydin S, Kalender B, Uslu E, et al. Serum cystatin C level as a potentially good marker for impaired kidney function. *Clinical biochemistry*. 2005;38:792-8.
69. Artunc F, Fischer I, Risler T, Erley C. Improved estimation of GFR by serum cystatin C in patients undergoing cardiac catheterization. *International journal of cardiology*. 2005;102:173-8.
70. Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2002;323:121-8.
71. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney international*. 2003;63:1944-7.
72. Wiesli P, Schwegler B, Spinass G, Schmid C. Serum cystatin C is sensitive to small changes in thyroid function. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2003;338:87-90.
73. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber A. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *Clinical chemistry*. 2001;47:2055-9.
74. Bökenkamp A, van Wijk J, Lentze M, Stoffel-Wagner B. Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and beta2-microglobulin concentrations. *Clinical chemistry*. 2002;48:1123-6.
75. Penders J, Delanghe J. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2004;346:107-18.

76. Berggård I, Bearn A. Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids. *The Journal of biological chemistry*. 1968;243:4095-103.
77. Cunningham B, Berggård I. Structure, evolution and significance of beta2-microglobulin. *Transplantation reviews*. 1974;21:3-14.
78. Davey P, Gosling P. beta 2-Microglobulin instability in pathological urine. *Clinical chemistry*. 1982;28:1330-3.
79. Harrison D, Kharbanda R, Cunningham D, McLellan L, Hayes J. Distribution of glutathione S-transferase isoenzymes in human kidney: basis for possible markers of renal injury. *Journal of clinical pathology*. 1989;42:624-8.
80. Sundberg A, Appelkvist E, Dallner G, Nilsson R. Glutathione transferases in the urine: sensitive methods for detection of kidney damage induced by nephrotoxic agents in humans. *Environmental health perspectives*. 1994;102:293-6.
81. Westhuyzen J, Endre Z, Reece G, Reith D, Saltissi D, Morgan T. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2003;18:543-51.
82. Arici M, Usalan C, Altun B, Erdem Y, Yasavul U, Turgan C, et al. Radiocontrast-induced nephrotoxicity and urinary alpha-glutathione S-transferase levels: effect of amlodipine administration. *International urology and nephrology*. 2003;35:255-61.
83. Eijkenboom J, van Eijk L, Pickkers P, Peters W, Wetzels J, van der Hoeven H. Small increases in the urinary excretion of glutathione S-transferase A1 and P1 after cardiac surgery are not associated with clinically relevant renal injury. *Intensive care medicine*. 2005;31:664-7.
84. Liangos O, Perianayagam M, Vaidya V, Han W, 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*. 2007;18:904-12.
85. Han W, Waikar S, Johnson A, Betensky R, Dent C, Devarajan P, et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney international*. 2008;73:863-9.
86. Kjeldsen L, Johnsen A, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *The Journal of biological chemistry*. 1993;268:10425-32.

87. Kjeldsen L, Bainton D, Sengeløv H, Borregaard N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood*. 1994;83:799-807.
88. Cowland J, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics*. 1997;45:17-23.
89. Nielsen B, Borregaard N, Bundgaard J, Timshel S, Sehested M, Kjeldsen L. Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. 1996;38:414-20.
90. Mori K, Lee H, Rapoport D, Drexler I, Foster K, Yang J, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115:610-21.
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*. 2003;14:2534-43.
92. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes M, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005;365:1231-8.
93. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch J, Sladen R, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2006;105:485-91.
94. Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Pawlak K, Dobrzycki S. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in hypertensive and normotensive patients with coronary artery disease. *Nephrology (Carlton)*. 2008;13:153-6.
95. Zappitelli M, Washburn K, Arikan A, Loftis L, Ma Q, Devarajan P, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Critical care (London, England)*. 2007;11:R84.
96. Siew E, Ware L, Gebretsadik T, Shintani A, Moons K, Wickersham N, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin moderately predicts acute kidney injury in critically ill adults. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2009;20:1823-32.
97. Hall I, Yarlagadda S, Coca S, Wang Z, Doshi M, Devarajan P, et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010;21:189-97.

98. Niemann C, Walia A, Waldman J, Davio M, Roberts J, Hirose R, et al. Acute kidney injury during liver transplantation as determined by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2009;15:1852-60.
99. Hirsch R, Dent C, Pfriem H, Allen J, Beekman R3, Ma Q, et al. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2007;22:2089-95.
100. Bennett M, Dent C, Ma Q, Dastrala S, Grenier F, Workman R, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2008;3:665-73.
101. Dent C, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes M, Barasch J, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Critical care (London, England)*. 2007;11:R127.
102. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, Mitsnefes M, et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2004;15:3073-82.
103. Berger T, Togawa A, Duncan G, Elia A, You-Ten A, Wakeham A, et al. Lipocalin 2-deficient mice exhibit increased sensitivity to Escherichia coli infection but not to ischemia-reperfusion injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103:1834-9.
104. Barallobre M, Pascual M, Del Río J, Soriano E. The Netrin family of guidance factors: emphasis on Netrin-1 signalling. *Brain research. Brain research reviews*. 2005;49:22-47.
105. Reeves W, Kwon O, Ramesh G. Netrin-1 and kidney injury. II. Netrin-1 is an early biomarker of acute kidney injury. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2008;294:F731-8.
106. Ramesh G, Krawczeski C, Woo J, Wang Y, Devarajan P. Urinary netrin-1 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2010;5:395-401.
107. Wang W, Reeves W, Ramesh G. Netrin-1 and kidney injury. I. Netrin-1 protects against ischemia-reperfusion injury of the kidney. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2008;294:F739-47.
108. Ly N, Komatsuzaki K, Fraser I, Tseng A, Prophan P, Moore K, et al. Netrin-1 inhibits leukocyte migration in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102:14729-34.

109. Ramesh G, Kwon O, Ahn K. Netrin-1: a novel universal biomarker of human kidney injury. *Transplantation proceedings*. 2010;42:1519-22.
110. Ichimura T, Bonventre J, Bailly V, Wei H, Hession C, Cate R, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *The Journal of biological chemistry*. 1998;273:4135-42.
111. van Timmeren M, van den Heuvel M, Bailly V, Bakker S, van Goor H, Stegeman C. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *The Journal of pathology*. 2007;212:209-17.
112. Bailly V, Zhang Z, Meier W, Cate R, Sanicola M, Bonventre J. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277:39739-48.
113. Zhang Z, Humphreys B, Bonventre J. Shedding of the urinary biomarker kidney injury molecule-1 (KIM-1) is regulated by MAP kinases and juxtamembrane region. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2007;18:2704-14.
114. Kuehn E, Park K, Somlo S, Bonventre J. Kidney injury molecule-1 expression in murine polycystic kidney disease. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2002;283:F1326-36.
115. Han W, Alinani A, Wu C, Michaelson D, Loda M, McGovern F, 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*. 2005;16:1126-34.
116. Vaidya V, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla N, Bonventre J. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2006;290:F517-29.
117. Ichimura T, Hung C, Yang S, Stevens J, Bonventre J. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2004;286:F552-63.
118. Prozialeck W, Vaidya V, Liu J, Waalkes M, Edwards J, Lamar P, et al. Kidney injury molecule-1 is an early biomarker of cadmium nephrotoxicity. *Kidney international*. 2007;72:985-93.
119. Zhou Y, Vaidya V, Brown R, Zhang J, Rosenzweig B, Thompson K, et al. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2008;101:159-70.

120. Prozialeck W, Edwards J, Lamar P, Liu J, Vaidya V, Bonventre J. Expression of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in relation to necrosis and apoptosis during the early stages of Cd-induced proximal tubule injury. *Toxicology and applied pharmacology*. 2009;283:306-14.
121. Tonomura Y, Tsuchiya N, Torii M, Uehara T. Evaluation of the usefulness of urinary biomarkers for nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2010;273:53-9.
122. Chaturvedi S, Farmer T, Kapke G. Assay validation for KIM-1: human urinary renal dysfunction biomarker. *International journal of biological sciences*. 2009;5:128-34.
123. Han W, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre J. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney international*. 2002;62:237-44.
124. Zhang P, Rothblum L, Han W, Blasick T, Potdar S, Bonventre J. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. *Kidney international*. 2008;73:608-14.
125. Gauer S, Sichler O, Obermüller N, Holzmann Y, Kiss E, Sobkowiak E, et al. IL-18 is expressed in the intercalated cell of human kidney. *Kidney international*. 2007;72:1081-7.
126. Siew E, Ikizler T, Gebretsadik T, Shintani A, Wickersham N, Bossert F, et al. Elevated urinary IL-18 levels at the time of ICU admission predict adverse clinical outcomes. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2010;5:1497-505.
127. Melnikov V, Ecker T, Fantuzzi G, Siegmund B, Lucia M, Dinarello C, et al. Impaired IL-18 processing protects caspase-1-deficient mice from ischemic acute renal failure. *The Journal of clinical investigation*. 2001;107:1145-52.
128. Melnikov V, Faubel S, Siegmund B, Lucia M, Ljubanovic D, Edelstein C. Neutrophil-independent mechanisms of caspase-1- and IL-18-mediated ischemic acute tubular necrosis in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2002;110:1083-91.
129. Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, Ljubanovic D, Hoke TS, Somerset H, Oh DJ, Lu L, et al. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2007;322:8-15.
130. Parikh C, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein C. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005;16:3046-52.

131. Parikh C, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C, et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney international*. 2006;70:199-203.
132. Washburn K, Zappitelli M, Arikan A, Loftis L, Yalavarthy R, Parikh C, et al. Urinary interleukin-18 is an acute kidney injury biomarker in critically ill children. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2008;23:566-72.
133. Haase M, Bellomo R, Story D, Davenport P, Haase-Fielitz A. Urinary interleukin-18 does not predict acute kidney injury after adult cardiac surgery: a prospective observational cohort study. *Critical care (London, England)*. 2008;12:R96.

ANEXO

TABELA RESUMO: NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA

Tabela Resumo: Novos biomarcadores de LRA.

	Marcador/ Peso Molecular	Origem	Soro Urina	Características	Vantagens	Limitações	Método	Contextos clínicos/ experimentais
Proteínas de baixo peso molecular (PBPM) (<40kDa)	Cistatina C (CysC) 13,351 kDa	-Inibidor da protease da cisteína -Expressão em todas as células nucleadas	Soro/ Urina	-Produção a taxa constante -Filtração glomerular livre e reabsorção no TP -Sem secreção tubular -Sem ligação a proteínas plasmáticas	-Marcador sérico sensível de disfunção renal, precede a elevação da creatinina em 24-36h -Níveis urinários elevados refletem disfunção TP e têm valor prognóstico -Medição fácil e de baixo custo -Amplamente disponível -Menor variabilidade inter-individual -Independente do sexo	-Presença na urina pode traduzir lesão ou sobrecarga glomerular -Condicionalada pela função tiroideia, terapia glucocorticoide e idade	ELISA Imunofelométrico	CA, CC, CCT, DRC, NTA-NO, UCI
	α 1-Microglobulina (α 1M) 31kDa	-Glicoproteína de síntese hepática	Soro/ Urina	-Filtração glomerular livre da fração livre e reabsorção no TP -Metabolização hepática e excreção urinária -Papel na imunomodulação	-Concentração sérica estável em várias condições -Marcador sérico de disfunção renal -Indicador urinário sensível de disfunção TP -Amplamente disponível	-Presença na urina pode traduzir lesão ou sobrecarga glomerular -Níveis séricos aumentados: HIV, IH grave, cirrose; diminuídos: melanoma - Níveis urinários diminuídos: nefrolitíase, obstrução ureteral crónica, nefropatia diabética		NTA-NO, LRA-T,TR, UCI, CC
	β 2-Microglobulina (β 2M) 11,8 kDa	-Cadeia leve da molécula MHC I -Expressão na superfície de todas as células nucleadas	Soro/ Urina	-Forma monomérica: filtração glomerular livre e reabsorção no TP	-Marcador sérico de disfunção renal -Independente de sexo e idade -Amplamente disponível	-Presença na urina pode traduzir lesão ou sobrecarga glomerular -Correlação dos níveis urinários com a função do TP depende da TFG -Instabilidade em meio ácido, (alcalinização urinária)		NTA-NO, DRC, CC, LRA-T, UCI
	Proteína de ligação ao retinol (RBP) 21kD	-Proteína de síntese hepática	Urina	- Filtração glomerular livre e reabsorção no TP - Transporte da vitamina A	- Indicador sensível de disfunção do TP - Estabilidade superior em meio ácido -Amplamente disponível	-Presença urinária pode traduzir lesão/sobrecarga glomerular -Correlação com a função do TP depende da TFG, (reabsorção TP - saturável)		NTA-NO, LRA-T, CC, UCI, AN

Enzimas	Glutatião-S-transferase (GST)	α	-Citosol do TP	Urina	-Marcador de nefrotoxicidade induzida por ciclosporina A e por contraste	-Deteção urinária compatível com lesão tubular renal	-Sem correlação com a TFG e a creatinina sérica	ELISA RIA	-LRA-T, TR, CC, UCI
		π	-Citosol: segmentos finos da ansa de <i>Henle</i> , TCD e túbulos coletores		-Indicador de nefropata associada ao cádmio				
					-Marcador de rejeição aguda de transplante renal	-Ambas elevadas na NTA e enfarte renal			
	N-acetil-β-(D)-glucosaminidase (NAG)	-Glicosidase Lisossomal	Urina	-Elevado peso molecular	-Marcador de lesão do TP	-Elevação pode traduzir aumento da atividade lisossomal, DM ou exposição crônica ao lítio	Colorimetria	LRA-T, UCI, NTA-NO, CC (pediátrica) LEC, AN.	
	>130 kDa	-Bordadura em escova do TP		-Não sofre filtração glomerular					-Valor prognóstico
	Alanina aminopeptidase (AAP)	-Bordadura em escova do TP	Urina	-Presença na urina resulta de lesão da membrana da bordadura em escova, com perda das microvilosidades			-Instabilidade enzimática	NTA-NO, UCI, LRA-T, LEC	
	Fosfatase alcalina (AP)								
Gama-glutamil transpeptidase (GGT)									-Necessidade de recurso a cromatografia

Marcadores indutíveis	Gelatinase neutrofílica associada à lipocalina (NGAL) 25kDa	-Glicoproteína ligada à gelatinase -Expressão nos grânulos específicos dos neutrófilos	Soro/ Urina	- Em condições fisiológicas: expressão reduzida no rim	-Expressão aumentada no epitélio em desdiferenciação/ proliferação do TP -Papel no processo de reparação e re-epitelização tubular renal -Valor diagnóstico e prognóstico -Potencial alvo terapêutico em estudo		ELISA, Luminex®- based assay	LRA-I/T, CC pediátrica e em adultos, UCI, TR, TH, ICP
	Netrina-1 72 kDa	-Molécula semelhante à laminina	Urina	-Proteína de elevado peso molecular -Em condições fisiológicas: expressão abundante no endotélio vascular; ausente no epitélio tubular, circulação sistêmica e urina -Papel na inibição leucocitária -Papel na restituição da função tubular renal	-Em resposta a fenômenos de isquemia-reperfusão: aumento da expressão tubular e diminuição da expressão endotelial -Valor diagnóstico e prognóstico -Potencial valor terapêutico/preventivo de LRA			LRA-I/T, SE, CC,TR
	Molécula de lesão renal-1 (KIM-1)	-Glicoproteína transmembranar	Urina	-Em condições fisiológicas: ausente	-Expressão aumentada no epitélio em desdiferenciação/ proliferação do TP (S3)			LRA-I/T, TR, CC, ARDS
Citoquinas inflamatórias	Interleucina -18 (IL-18) 18 kDa	-Citoquina inflamatória	Urina	-Expressão constitutiva no nefrônio distal	-Valor diagnóstico e prognóstico -Potencial alvo terapêutico em estudo	-Utilidade diagnóstica controversa -Marcador inespecífico de inflamação		UCI, TR, CC

Abreviaturas: AN: asfixia neonatal, ARDS: Síndrome da angustia respiratória, CA: cateterismo cardíaco, CC: cirurgia cardíaca, CCT: cirurgia cardio-torácica, ICP: intervenção coronária percutânea, LEC: litotripsia extra-corporal, LRA-I: lesão renal aguda isquêmica, LRA-T: LRA nefrotóxica, SE: sepsis, TH: transplante hepático, TR: transplante renal.