



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO  
DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**José Andrade Neto**

**Avaliação da lipocalina associada à gelatinase  
de neutrófilos (NGAL) em idosos  
após osteossíntese de fêmur**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Anestesiologia.

Orientadora: Profa Dra. Norma Sueli Pinheiro Módolo

**Botucatu  
2015**

**José Andrade Neto**

**Avaliação da lipocalina associada à gelatinase  
de neutrófilos (NGAL) em idosos  
após osteossíntese de fêmur**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Anestesiologia.

Orientadora: Profa Dra. Norma Sueli Pinheiro Módolo

**Botucatu  
2015**

A567 Andrade, José Neto

Avaliação da lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) em pacientes idosos após osteossíntese de fêmur. / José Neto Andrade. – Salvador, 2015.

43 f; il.

Orientadora: Norma Sueli Pinheiro Módolo  
Dissertação(mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu “Julio de Mesquita Filho” – UNESP. Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia, 2015.

1. NGAL 2. Lipocalina 3. Lesão renal aguda 4. Pacientes - idosos 5. Fratura de fêmur 6. I. Faculdade de Medicina de Botucatu II. Módolo, Norma Sueli Pinheiro III. Título.

CDU616

## *Dedicatória*

*Dedico este trabalho à minha família, em especial, à minha esposa Keila Lopes Andrade pela compreensão, incentivo e companheirismo. Aos meus filhos, Valmir Neto e Helena Andrade, de onde extraio toda a força que preciso para qualquer desafio. Aos meus pais, Regina Helena e Valmir Guedes, aos meus irmãos Valmir Filho e Verena Andrade, todos muito importantes em minha vida.*

## **Agradecimento Especial**

À minha orientadora, Professora Norma Sueli Pinheiro Módolo, por tornar possível a realização deste sonho.

## **Agradecimentos**

Agradeço adicionalmente a algumas pessoas que me ajudaram tornando possível a realização desse trabalho:

À Luciane Oliveira, enfermeira do serviço de ortopedia do Hospital Geral de Vitória da Conquista,

À Regina Moretto, bioquímica do Laboratório da Universidade Estadual Paulista de Botucatu,

À equipe de anestesiologia do Hospital Geral de Vitória da Conquista,

À equipe de cirurgiões ortopedistas do Hospital Geral de Vitória da Conquista,

Aos residentes de anestesiologia do Hospital Geral de Vitória da Conquista,

À equipe de técnicos de enfermagem do centro cirúrgico do Hospital Geral de Vitória da Conquista em especial Ana, Rita, Leila, Eliete, Marilene e Miriam,

À Nádia Chiachio, bioquímica do Hospital Geral de Vitória da Conquista,

À equipe de técnicos do Banco de Sangue do Hospital Geral de Vitória da Conquista,

Ao meu grande amigo e companheiro de viagem, Reinaldo Silva Junior.

A todos, meu muito obrigado!

ANDRADE, JN. **Avaliação da lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) em idosos após osteossíntese de fêmur.** 43f, 2015. Dissertação (Mestrado em Anestesiologia) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

## RESUMO

**Introdução:** A lesão renal aguda (LRA) ocorre em 23% dos pacientes hospitalizados. É responsável por alta morbimortalidade e, ainda assim, não há um marcador precoce e acurado de diagnóstico. Pacientes idosos estão em risco e frequentemente desenvolvem LRA no pós-operatório de grandes cirurgias ortopédicas. **Objetivos:** Avaliar o biomarcador NGAL plasmático como preditor precoce de LRA no período pós-operatório de fratura de fêmur em idosos. **Método:** 57 pacientes idosos submetidos à operação de correção de fratura de fêmur foram estudados prospectivamente após 48 horas do pós-operatório. Amostras de sangue foram coletadas para análise de NGAL logo ao término da cirurgia, no período de 4 e 24 horas depois. Amostras da creatinina foram coletadas na admissão hospitalar, 24 e 48 horas no pós-operatório. Foi analisada a acurácia da molécula de NGAL para diagnóstico de LRA. **Resultados:** Dezesesseis (28%) pacientes desenvolveram LRA e apresentaram valores mais elevados de NGAL no plasma com diferença estatística significativa. A análise da área sob a curva *Receiving Operator Characteristic* demonstrou em 4 horas valor de 0.799 (0.663 a 0.936,  $p < 0,001$ ); em 24 horas valor de 0.805 (0.665 a 0.946,  $p < 0,001$ ). **Conclusão:** A molécula de NGAL apresentou uma boa acurácia para predição de LRA quando medido após 4 e 24 horas do período pós-operatório.

**Palavras-chave:** NGAL. Idosos. Lesão renal aguda. Biomarcador renal. Creatinina. Fratura de fêmur.

ANDRADE, JN. **Lipocalin Assessment gelatinase associated with neutrophil (NGAL) in elderly patients after femoral osteosynthesis.** 43f, 2015. Dissertation (Master in Anesthesiology) - Faculty of Medicine of Botucatu, São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP.

## ABSTRACT

**Introduction:** Introduction: Acute kidney injury is common in hospitalized patients undergoing surgical procedures. It is responsible for a high mortality and yet, there is no early and reliable diagnostic marker. Elderly patients are at risk and often undergo orthopedic procedures as surgical repair of femur fractures. **Objectives:** To evaluate serum NGAL as a predictor of AKI in the postoperative correction of femur fractures in the elderly. **Methodology:** 56 elderly patients undergoing surgical repair of femoral fracture were studied prospectively for 48 hours postoperatively. Blood samples were collected for analysis of NGAL after surgery, 4 and 24 hours later. Creatinine measurements collected 24 and 48 hours postoperatively. Accuracy of NGAL was analyzed for diagnosis of acute kidney injury. **Results:** 16 (28.1%) of patients developed AKI and had significantly higher values of serum NGAL. In 4hours the AUROC = 0.799 (0.663-0.936,  $p < 0.001$ ). In 24 hours the AUROC = 0.805 (0.665-0.946,  $p < 0.001$ ). **Conclusion:** The molecule of NGAL showed good accuracy for prediction of AKI within 24 hours when measured after 04 hours and 24 hours postoperatively.

**Key Words:** NGAL- Lipocalin 2- Elderly - Acute kidney injury- Biomarkers- Creatinine- Hip fracture

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação de RIFLE para lesão renal aguda.....	13
Tabela 2 – Caracterização clínica da amostra e incidência de lesão renal aguda.....	26
Tabela 3 – Variáveis do intraoperatório segundo a presença ou não de lesão renal aguda .....	27
Tabela 4 – Valores de NGAL e Creatinina segundo o tempo cirúrgico e presença de lesão renal aguda .....	28
Tabela 5 – Acurácia da NGAL pós-operatório imediato elevado (> 150 ng/dL) no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE...	28
Tabela 6 – Acurácia da NGAL de 04 horas elevado (> 150 ng/dL) no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE .....	29
Tabela 7 – Acurácia da NGAL de 24 horas elevado (> 150 ng/dL) no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE .....	29
Tabela 8 – Acurácia de qualquer NGAL elevado (> 150 ng/dL) em até 24 horas no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE.....	29

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 – Acurácia da NGAL pós-operatório imediato no diagnóstico de lesão renal qualquer pelo critério RIFLE (n=56)</b>	<b>30</b>
<b>Figura 2 – Acurácia da NGAL de 04 horas no diagnóstico de lesão renal qualquer pelo critério RIFLE (n=51)</b>	<b>31</b>
<b>Figura 3 – Acurácia da NGAL de 24 horas no diagnóstico de lesão renal qualquer pelo critério RIFLE (n=54)</b>	<b>31</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AINES</b>	Antinflamatórios não esteroidais
<b>AUC ROC</b>	Área sob a curva <i>Receiving Operator Characteristic</i>
<b>FSR</b>	Fluxo sanguíneo renal
<b>LRA</b>	Lesão renal aguda
<b>LRC</b>	Lesão renal crônica
<b>NGAL</b>	Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica
<b>NTA</b>	Necrose tubular aguda
<b>TFG</b>	Taxa de filtração glomerular
<b>TSR</b>	Terapia de substituição renal
<b>UTI</b>	Unidade de terapia intensiva
<b>VPN</b>	Valor preditivo negativo
<b>VPP</b>	Valor preditivo positivo

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1 LESÃO RENAL AGUDA .....	12
1.2 BIOMARCADORES .....	14
1.3 MECANISMO DE LESÃO RENAL PERI-OPERATÓRIA .....	17
1.4 AMOSTRA DO ESTUDO .....	18
<b>2 HIPÓTESE DO ESTUDO .....</b>	<b>20</b>
<b>3 OBJETIVO .....</b>	<b>21</b>
<b>4 MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
4.1 PACIENTES.....	22
4.2 COLETA DAS AMOSTRAS .....	23
4.3 DOSAGENS DA NGAL .....	24
4.4 CÁLCULO AMOSTRAL .....	24
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>38</b>
<b>8 CONCLUSÕES .....</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>40</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 LESÃO RENAL AGUDA

Lesão renal aguda (LRA) é a nova nomenclatura que veio para substituir o termo insuficiência renal aguda. Essa era definida como diminuição abrupta da taxa de filtração glomerular (TFG). LRA representa um contínuo insulto que transcorre durante um período de tempo associado ou não à diminuição da TFG, consistindo em uma síndrome clínica que apresenta um amplo espectro de gravidade variando desde uma lesão renal leve e prontamente reversível até perda completa da função renal com necessidade de terapia de substituição renal (TSR). Quando um agente agressor causa uma lesão grave que leva à rápida diminuição da função excretora renal, há acúmulo de produtos nitrogenados oriundos do metabolismo proteico, representados pelo aumento da concentração plasmática de ureia e creatinina. A incapacidade de excretar ácidos conduz à acidose metabólica e suas complicações como sobrecarga e falência respiratória, depressão cardíaca e choque com disfunção dos demais órgãos. Ocorre também uma sobrecarga hídrica em decorrência da retenção de líquidos que leva à congestão pulmonar, resultando em distúrbios eletrolíticos graves, sangramentos, encefalopatia e etc.<sup>(1)</sup>.

A LRA é uma doença frequente no ambiente hospitalar. Trabalhos publicados em 2002 mostraram uma incidência de 5 a 7% entre os pacientes hospitalizados e em mais de 30% nos pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI)<sup>(2)</sup>. Dos pacientes hospitalizados que desenvolvem lesão renal, 20 a 25% a apresentam no período perioperatório e a chance de recuperação completa da função renal é de apenas 15%<sup>(3)</sup>. No entanto, com as novas definições de LRA, foi observado um importante aumento em sua incidência. Em metanálise publicada no ano de 2013, quando foi utilizada a classificação do Kidney Disease: Improve Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group para LRA, a lesão renal apresentou uma incidência global de 23% em pacientes hospitalizados<sup>(4)</sup>.

Havia mais de 30 definições para LRA na literatura. Na tentativa de padronizar o diagnóstico, em 2004, o grupo ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) criou o critério

RIFLE<sup>(5)</sup>. Caracteriza-se por estratificar a lesão renal aguda em três estágios (R, Risk; I, Injury; F, Failure) e dois desfechos (L, Loss; E, End-Stage) de acordo com elevações dos níveis de creatinina ou diminuição da taxa de filtração glomerular e/ou do débito urinário (Tabela 1). O critério RIFLE teve seu uso validado em trabalhos clínicos e mostrou ter impacto no prognóstico e mortalidade na medida em que a disfunção renal evolui para os diferentes estágios. Ricci et al. encontraram em uma população mista de pacientes, um risco relativo para mortalidade de 2.4 para a categoria Risk; 4.15 para a categoria Injury; e 6.37 para a categoria Failure quando comparados aos pacientes que não desenvolveram LRA<sup>(6)</sup>.

**Tabela 1 – Classificação de RIFLE para lesão renal aguda.**

<b>Estágios</b>	<b>Creatinina sérica (Cr)</b>	<b>Débito urinário (DU)</b>
Risk	1.5 X Cr basal ou diminuição TFG > 25%	DU < 0.5 ml/kg/h por 6 horas
Injury	2 X Cr basal ou diminuição TFG > 50%	DU < 0.5 ml/kg/h por 12 horas
Failure	3 X Cr basal ou Cr > 4.0mg/dl ou diminuição da TFG > 75%	DU < 0.3 ml/kg/h por 24 horas ou anúria por 12h
Loss	Perda completa da função > 4 semanas	
End-stage	Perda completa da função > 3 meses	

Adaptada de Bellomo et al. 2004<sup>(5)</sup>

O critério de RIFLE é utilizado para identificar e classificar precocemente os pacientes que desenvolvem LRA à medida que quantifica as elevações da creatinina sérica, o que não se realizava anteriormente.

A LRA é fator de risco independente para desfechos desfavoráveis<sup>(7)</sup>. Estudos relatam taxas de mortalidade de 50% nos pacientes que a desenvolvem e a mortalidade tem permanecido constante ao longo do tempo<sup>(8)</sup>. Essa associação é mais forte quanto mais grave for a disfunção renal, podendo atingir entre 60% a 70% de mortalidade quando há necessidade de TSR<sup>(9)</sup>. LRA também está associada a um importante aumento do tempo de permanência hospitalar e significativa elevação dos custos<sup>(10)</sup>.

## 1.2 BIOMARCADORES

Taxas elevadas de mortalidade podem estar associadas ao diagnóstico tardio com os marcadores atualmente disponíveis na prática clínica. Um biomarcador ideal deve ser específico para o órgão estudado, ter baixo custo, ser facilmente medido e seu resultado estar rapidamente disponível. Deve estar alterado nos estágios iniciais da lesão, seus valores devem se correlacionar com a gravidade e evolução da doença, também estimar a necessidade de TSR, prever prognóstico e mortalidade. Esse marcador ideal ainda não está disponível na prática clínica e a creatinina, comumente usada, falha em diversos aspectos<sup>(11)</sup>.

Isso ocorre porque a creatinina é um biomarcador não muito sensível de LRA e de mudanças agudas na função do rim, havendo várias limitações para o seu uso. A creatinina varia com a idade, sexo, ingestão e catabolismo proteico, massa e atividade muscular. É secretada pela célula tubular renal podendo superestimar a TFG e só se altera quando esta última apresenta uma queda maior do que 50%. Também é um marcador tardio de lesão renal já que, após o início da lesão, a creatinina leva cerca de 48 horas para atingir um estado de equilíbrio e se elevar no plasma<sup>(12)</sup>.

A creatinina é um biomarcador de função renal e não de agressão às estruturas desse órgão, ou seja, ela serve para avaliar a diminuição da TFG que é um processo tardio no curso da evolução da LRA. Até o rim evoluir para perda da função, os mecanismos de LRA como danos às células glomerulares e tubulares passam despercebidos quando o diagnóstico é baseado apenas em marcadores de função. Apesar disso, a creatinina tem sido usado há mais de 50 anos na prática clínica muito mais em decorrência da escassez de biomarcadores que avaliam lesão do que pelo seu próprio desempenho<sup>(13)</sup>. Novos biomarcadores de lesão estão surgindo e sendo avaliados em trabalhos clínicos como a lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL), molécula de lesão renal – 1 (KIM1), a interleucina 18 (IL-18).

O débito urinário (DU) também não é um marcador nem muito sensível nem específico de LRA. Sua presença não exclui a possibilidade de lesão. Um DU maior que 0.5 ml/Kg/h tem limitada sensibilidade quando são usados diuréticos. Diversas condições agudas e crônicas podem causar dano à célula epitelial tubular renal e a perda da capacidade de concentração urinária, levando também à dissociação da

produção de urina com a função renal. Um baixo DU tem limitada especificidade para LRA já que pode ocorrer em condições de obstrução do trato urinário, desidratação ou vazamento de urina não mensurada por dispositivos. Para sua correta medida, uma sonda vesical de longa permanência deve estar presente e isso implica em aumento de chance de colonização e infecção bacteriana<sup>(14)</sup>.

Até o momento, com os marcadores disponíveis, o manejo dos pacientes tem ficado restrito a medidas de prevenção e, quando já estabelecida a LRA, ao uso da terapia de substituição renal.

A possibilidade de um marcador mais sensível e precoce poderia levar ao diagnóstico e intervenções também mais precoces e efetivas. Medidas como imediata expansão volêmica, transfusão sanguínea, suspensão de drogas nefrotóxicas, alcalinização da urina, início da terapia de substituição renal mais rapidamente e a possibilidade de mais estudo sobre novas drogas com ações nefroprotetoras na fase aguda da lesão. Essas medidas poderiam evitar a progressão da doença e consequentemente redução da morbimortalidade<sup>(15)</sup>.

É nesse cenário de busca por um diagnóstico mais precoce de LRA que surge a molécula de NGAL. A lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) é uma molécula pertencente à família das lipocalinas de peso molecular de aproximadamente 25 kDa e composta por 178 aminoácidos distribuídos em uma estrutura tridimensional em forma de barril. Está contida nas granulações de neutrófilos ligada à molécula gelatinase, uma metaloproteinase da matriz extracelular<sup>(16)</sup>. Essa proteína é livremente filtrada pelo glomérulo renal e, em seguida, amplamente reabsorvida pelo túbulo proximal, sendo secretada em baixas concentrações (< 5ng/ml) na urina pela porção ascendente espessa da alça de Henle. Quando ocorre agressão às células tubulares e comprometimento de suas funções, a reabsorção da molécula NGAL fica comprometida. Durante a LRA também ocorre aumento da expressão de genes responsáveis pela síntese e mais secreção de NGAL. Como consequência, a concentração de NGAL na urina se eleva bastante. Nas situações em que ocorre diminuição da TFG, os níveis plasmáticos da molécula NGAL também aumentam em decorrência da diminuição de sua filtração<sup>(17)</sup>.

Outras condições podem concorrer para o aumento de NGAL no plasma. Esta molécula está presente em baixas concentrações em tecidos humanos incluindo rim,

traqueia, pulmão, estômago e cólon. Pode ter sua concentração plasmática elevada quando ocorre dano epitelial a esses órgãos. A NGAL é uma proteína endógena que tem função bacteriostática ao se ligar aos sideróforos das bactérias impedindo o uso de ferro por esses germes e, por isso, sua concentração sérica também se eleva em infecções bacterianas<sup>(18)</sup>. A NGAL, ao se ligar à metaloproteinase 9 da matriz extracelular (MMP9), uma proteína que degrada a matriz extracelular, impede a inativação dessa enzima, aumentando sua atividade. Essa enzima é importante para a disseminação de alguns tipos de cânceres em humanos e isso explica por que determinadas neoplasias induzem aumento de NGAL no sangue<sup>(19)</sup>. Em pacientes portadores de falência renal crônica, os níveis séricos e, principalmente, urinários dessa molécula também estão persistentemente elevados sem significar lesões agudas concomitantes<sup>(20, 21)</sup>.

Estudos clínicos avaliaram a molécula de NGAL e sua associação com o desenvolvimento de lesão renal em diferentes cenários: paciente submetidos à cirurgia cardíaca com by-pass cardiopulmonar, submetidos a contraste angiográfico, pacientes nos setores de emergência, nos pacientes gravemente enfermos e sépticos, pacientes submetidos a transplantes renais<sup>(22)</sup>. Sua acurácia tem variado na dependência da população estudada e de valores de ponto de corte utilizado. Alguns trabalhos mostraram uma AUC ROC de 0.80 a 0.89. Uma AUC de 0.75 ou acima é considerado um bom marcador, e uma AUC de 0.9 ou acima é considerado um excelente marcador<sup>(15)</sup>. Devido ao seu bom desempenho, a molécula de NGAL tem sido utilizada como biomarcador precoce quando LRA é a variável estudada em trabalhos clínicos<sup>(23)</sup>.

A proteína NGAL possui algumas características de um marcador ideal: eleva-se precocemente após o início da lesão, seu nível sérico tem correlação com o grau da LRA (quanto maior a lesão, maior sua concentração no sangue e urina), com a evolução da doença e necessidade de TSR. Mishra et al.<sup>(24)</sup> demonstraram em uma população de 71 pacientes pediátricos submetidos à cirurgia cardíaca com by-pass cardiopulmonar que a NGAL estava elevada 2 horas após o início da circulação extracorpórea nos pacientes que desenvolveram LRA<sup>(24)</sup>. Em uma população de pacientes graves de unidade de terapia intensiva, níveis plasmáticos de NGAL mais elevados se correlacionaram com o estágio da LRA definida pela classificação de RIFLE<sup>(25)</sup>. Pacientes sépticos que desenvolveram LRA com

necessidade de TSR também cursaram com aumento da NGAL e apresentaram maiores taxas de mortalidade<sup>(26)</sup>.

Os valores de NGAL estão relacionados ainda com o mecanismo de LRA. Esse marcador parece não ter sua concentração significativamente elevada em pacientes com LRA pré-renal quando comparado à LRA intrínseca<sup>(27)</sup>. De acordo com a etiologia (LRA pré-renal *versus* NTA), o tratamento difere e uma terapia errada pode trazer consequências graves aos pacientes. Por exemplo, uma hidratação excessiva em um paciente diagnosticado erroneamente como tendo LRA pré-renal pode levar, nos casos de NTA, a sobrecarga hídrica com edema do interstício renal e piora da sua própria função<sup>(28)</sup>.

A NGAL também falha em algumas características de marcador ideal. Não é específica para o rim como a troponina é para o coração. Está elevada em outras situações (neoplasias, infecções, doença pulmonar obstrutiva crônica descompensada) nas quais pode não estar presente a LRA. Também parece perder acurácia quando mecanismos diversos de lesão renal estão envolvidos como é o caso dos pacientes sépticos<sup>(29)</sup>. Pacientes portadores de LRC apresentam níveis de NGAL já elevados tornando sua interpretação prejudicada nessa população<sup>(22)</sup>. A maioria dos trabalhos excluem esses pacientes muito embora seja a LRC um grande fator de risco para o desenvolvimento de LRA. Seu custo quando comparado ao da creatinina ainda limita seu amplo uso no ambiente hospitalar. A molécula de NGAL ainda precisa ser validada em diversas populações e em muitas outras diferentes situações clínicas.

### 1.3 MECANISMO DE LESÃO RENAL PERI-OPERATÓRIA

Os mecanismos de LRA no período perioperatório são diversos. Hipofluxo causado pela translocação de líquidos, perda sanguínea, hipotensão intra-operatória que leva à isquemia de órgãos e corresponde à principal causa de lesão renal nos pacientes submetidos a cirurgias de grande porte<sup>(30)</sup>. Em situação normal, o fluxo sanguíneo renal (FSR) excede o consumo renal de oxigênio. Esse fluxo não está distribuído de maneira uniforme sendo que o córtex recebe mais do que 75% de sangue em comparação à medula renal. No entanto, é na medula onde ocorre o transporte ativo de sódio, dependente de oxigênio, que mantém a hiperosmolaridade

dessa região. Essa situação de alta taxa metabólica, elevado consumo de oxigênio, fluxo sanguíneo reduzido e uma baixa pressão parcial de oxigênio, torna a região medular susceptível à lesão isquêmica quando ocorre redução no FSR<sup>(31)</sup>.

O rim possui mecanismo de compensação durante períodos de hipoperfusão. A autorregulação renal ocorre quando a diminuição da pressão de perfusão renal desencadeia vasodilatação da arteríola aferente, mediada por prostaglandinas vasodilatadoras, seguida de vasoconstrição das arteríolas eferentes mediada pela angiotensina II, com a finalidade de manter a TFG. Quando os mecanismos de lesão não são interrompidos e a autorregulação não conseguiu manter o FSR, ocorre a lesão renal isquêmica. Lesões prolongadas, por sua vez, levam à ativação endotelial, ativação da cascata inflamatória e do sistema de coagulação. Estes fenômenos acabam por resultar na ruptura de junções celulares e apoptose de células epiteliais, erroneamente denominada necrose tubular aguda (NTA)<sup>(32)</sup>.

Os pacientes que apresentam fratura de fêmur estão sujeitos a mecanismos adicionais de lesão como anemia aguda, desidratação, rabdomiólise causada pelo trauma muscular e podendo também ocorrer embolia gordurosa. O emprego de fármacos para analgesia como anti-inflamatórios não esteroides (AINES) também causam ou agravam a LRA. Em alguns procedimentos cirúrgicos são necessários o uso de metilmetacrilato (cimento ortopédico) que pode causar instabilidade hemodinâmica durante seu implante. Pacientes no período pós-operatório admitidos em unidades de terapia intensiva que desenvolveram LRA, as cirurgias ortopédicas foram a segunda principal causa<sup>(33)</sup>.

#### 1.4 AMOSTRA DO ESTUDO

O aumento da expectativa de vida e o desenvolvimento tecnológico da medicina vem tornando os procedimentos cirúrgicos menos invasivos tem levado os pacientes idosos a se submeterem mais frequentemente a intervenções médicas<sup>(34)</sup>. O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística considera uma pessoa idosa a partir dos 60 anos de idade. Acima dessa faixa etária, o indivíduo apresenta alterações fisiológicas em muitos sistemas orgânicos resultando em diminuição da reserva

fisiológica e em um declínio acentuado das funções orgânicas quando submetidos a uma situação de estresse.

A idade avançada é fator de risco para desenvolver LRA. Mudanças estruturais no rim ocorrem com a idade que por vezes se confunde com mecanismos de doença. Há diminuição da massa renal e do número de glomérulos (esclerose glomerular) e fibrose tubulointersticial com o envelhecimento. Ocorre também um declínio acentuado da TFG e do FSR, e um aumento da resistência vascular renal a partir da idade de 65 anos. A função tubular e a capacidade de concentrar a urina e excretar água e sal também estão comprometidas. Essas mudanças tornam-se mais acentuadas quando associados a doenças comuns do envelhecimento<sup>(35)</sup>.

Os pacientes idosos frequentemente possuem comorbidades que interferem no mecanismo de autorregulação do FSR. Condições como a lesão renal crônica (LRC), a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e uso de anti-hipertensivos, a doença arteriosclerótica, o diabetes mellitus (DM) são algumas das condições prevalentes nessa população que os tornam mais propensos a desenvolver LRA quando sofrem qualquer tipo de agravo a saúde<sup>(36)</sup>.

Apesar dos pacientes idosos apresentarem importantes fatores de risco, essa população específica de pacientes não tem sido estudada com a intenção de analisar a acurácia da molécula de NGAL como marcador de LRA no pós-operatório de cirurgias ortopédicas.

## **2 HIPÓTESE DO ESTUDO**

O biomarcador NGAL terá sua concentração sérica aumentada precocemente no pós-operatório de pacientes que desenvolverem lesão renal aguda definida pelos valores de creatinina utilizando os critérios de RIFLE em pacientes idosos submetidos à correção cirúrgica de fratura de fêmur sob bloqueio subaracnoide.

### **3 OBJETIVO**

Avaliar a acurácia do biomarcador NGAL como preditor de LRA, assim como sua melhor concentração para ponto de corte, na população de idosos submetidos à correção cirúrgica de fratura de fêmur sob bloqueio subaracnoide.

## 4 MÉTODOS

### 4.1 PACIENTES

Pacientes idosos submetidos à cirurgia eletiva de fratura de fêmur realizado em um hospital geral público terciário de Vitória da Conquista (cidade situada no estado da Bahia, Brasil) foram elegíveis para o estudo. Um total de 66 pacientes foi estudado em uma coorte prospectiva de 01 de fevereiro a 31 de julho de 2014. Após a aprovação do Núcleo de Ensino e Pesquisa e do Comitê de Ética do mesmo hospital, após consentimento informado por escrito dos pacientes ou dos seus responsáveis legais, foi avaliada a acurácia do marcador NGAL como preditor de LRA.

Os critérios de inclusão no estudo foram pacientes com idade igual ou maior a 60 anos, estado físico American Society Anesthesiologists (ASA) I e II (classificação de risco cirúrgico da Sociedade Americana de Anestesiologistas) que foram submetidos a operação para correção de fratura de fêmur sob anestesia subaracnoidea.

Foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram lesão renal crônica (LRC) evidenciada por um valor de creatinina acima de  $2,0\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ , em diálise ou em programa de diálise e aqueles com contraindicação absoluta ao bloqueio subaracnóideo (coagulopatias, infecção no local da punção, recusa do paciente). Pacientes portadores de neoplasia maligna também foram excluídos por já possuírem concentrações séricas elevadas de NGAL. Portadores de doenças crônicas descompensadas tiveram o procedimento cirúrgico adiado até o controle da doença de base.

Para definição de LRA, foi utilizada a classificação de RIFLE baseado apenas nas medidas da creatinina. Esta era solicitada na admissão dos pacientes e adotada como a creatinina basal. Em casos em que a operação era postergada por um período maior que sete dias, uma nova creatinina era solicitada e usada como referência.

Quando aptos ao procedimento, os pacientes eram encaminhados ao centro cirúrgico após 8 horas de jejum e sem medicação pré-anestésica. Os pacientes foram monitorizados com eletrocardiografia contínua na derivação DII e V5, pressão arterial não invasiva, oximetria de pulso e temperatura.

Como não são práticas habituais do serviço, a sondagem vesical não foi realizada e a diurese não mensurada. O acesso venoso foi realizado em veia periférica com cateter 20 ou 18G. Os pacientes foram submetidos a anestesia pré-definida pelo pesquisador junto à equipe de anesthesiologistas (bloqueio subaracnoideo com punção lombar na linha média ao nível de L2 - L3 ou L3 - L4 com agulha Quincke 25G e após retorno de líquido cefalorraquidiano, injeção intratecal em separado de 12 a 15 mg de cloridrato de bupivacaina isobárica e 60 µg de morfina). As anestésias foram realizadas por diferentes anesthesiologistas, assim como os procedimentos cirúrgicos foram realizadas por diferentes cirurgiões ortopedistas obedecendo à técnica melhor indicada para determinado tipo de fratura.

Todos os pacientes receberam profilaxia antibiótica com cefalotina dois gramas intravenosa dose única e oxigênio suplementar via cateter nasal a um fluxo de 3 L/min. A reposição volêmica intraoperatória, tanto a quantidade de volume a ser feito quanto ao tipo de expansor (cristaloide com solução salina ou ringer lactato, coloide ou hemoderivados) foi realizado conforme o julgamento clínico do médico anesthesiologista, porém se objetivava uma reposição mínima de 10 ml/kg/h com soluções cristaloides. Hipotensão (definida por uma pressão arterial sistólica menor que 90 mmHg ou uma diminuição de 40% desta em relação ao valor basal) foi prontamente tratada com vasopressor (cloridrato de etilefrina ou bitartarato de metaraminol mais comumente usados). Os pacientes foram encaminhados então à unidade de terapia intensiva, se indicado, ou enfermaria e acompanhados por um período de 48 horas.

#### 4.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Imediatamente ao término da cirurgia, foi coletada amostra de sangue para a primeira dosagem da NGAL plasmática. Amostras subsequentes foram coletadas após 4 e 24 horas do término da operação. Para todas as dosagens de NGAL foram coletados 2 ml de sangue venoso em tubo contendo anticoagulante EDTA. Logo após as coletas, as amostras eram encaminhadas ao departamento de banco de sangue do hospital onde ocorria a centrifugação do sangue e a separação do plasma (objeto do estudo) em tubos crio-tubos, e posterior armazenamento em botijões de alumínio da

marca Volta série CryoSystem, contendo nitrogênio líquido a uma temperatura inferior a  $-170$  grau centrígrados até sua posterior análise.

#### 4.3 DOSAGENS DA NGAL

As amostras de plasma da NGAL foram analisadas no laboratório da Universidade Estadual Paulista em Botucatu (cidade do Estado de São Paulo, Brasil) pelo método ELISA, Kit 036 da Bioporto Diagnostics (Dinamarca). O teste ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) é um método imunoenzimático que se baseia na interação antígeno-anticorpo. Esse kit de NGAL Humano é um Elisa Direto, também chamado de Elisa Sanduíche. Um anticorpo primário é adsorvido nos alvéolos da placa do kit. É adicionado o antígeno da solução problema (nesse caso o NGAL é o antígeno e a solução problema é o plasma) e depois um segundo anticorpo específico marcado com uma enzima é adicionado. Esta enzima reage com o substrato fazendo com que o cromógeno mude de cor. A cor indica a presença do antígeno. Quanto mais forte a cor, maior a concentração de NGAL na amostra. É um teste quantitativo, específico, sensível e rápido.

Para a medida da creatinina, foi utilizada o produto Creatinina K da Labtest. Sua metodologia baseia na reação de Jaffé, mais comumente usada no Brasil, onde ocorre a formação de um complexo de cor vermelha quando a creatinina reage com picrato em meio alcalino.

#### 4.4 CÁLCULO AMOSTRAL

Para o cálculo amostral, considerou-se um alfa de 0,05 e poder de 80%. Para uma AUROC de 0.800 e uma incidência de LRA de 25%, seria necessário um número mínimo de 36 pacientes.

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizou-se análise descritiva das variáveis quantitativas através de médias e respectivos desvios-padrão para aquelas que possuíam distribuição normal, e

mediana e quartis para as não normais, e das variáveis categóricas por meio de frequências absolutas e relativas. Em caráter exploratório, os valores de Creatinina e NGAL foram comparados entre os grupos que tiveram ou não lesão renal aguda (em qualquer grau), através do teste T student para amostras independentes com distribuição normal ou Mann-Whitney para amostras com distribuição não normal.

Para avaliação da acurácia da molécula NGAL na predição e/ou diagnóstico de LRA, analisou-se sua capacidade discriminatória, por meio da área sob a curva *Receiving Operator Characteristic* (AUROC), e sua calibração, pelo teste de Hosmer-Lemeshow. O melhor ponto de corte foi reportado. Adicionalmente, após dicotomização dos valores de NGAL em acima ou igual ou abaixo de 150 ng/dl (ponto de corte utilizado pelos kits atualmente disponíveis) foram elaboradas tabelas de contingência e calculado sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) e razões de verossimilhança positiva e negativa, com os respectivos intervalos de confiança de 95%.

Todos os testes foram bicaudados e foram considerados estatisticamente significantes resultados finais com valores de  $p \leq 0,05$ .

Os dados foram analisados com auxílio do *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS, versão 20.0, EUA).

## 5 RESULTADOS

As características dos pacientes e a incidência de LRA estão listados na tabela 2 abaixo. Dos 66 pacientes elegíveis para o estudo, a molécula de NGAL plasmática foi analisada com sucesso em 57. Nove pacientes foram excluídos (um por apresentar sinais de sepse em sala operatória, quatro pacientes perdidos no seguimento após transferência para outro hospital, e quatro pacientes por perda de coleta de dados dos marcadores em estudo). Destes, 16 (28%) desenvolveram LRA pelos critérios de RIFLE no pós-operatório.

**Tabela 2 – Caracterização clínica da amostra e incidência de lesão renal aguda**

Variável	Resultado
<b>Idade (média ± desvio padrão)</b>	78.2 ± 9.9
<b>Peso</b>	62.7 ± 12.7 kg
<b>ASA</b>	
I	6 (10.5)
II	51 (89.5)
<b>Uso de AINES</b>	7 (12.3)
<b>Comorbidades</b>	
Hipertensão	32 (56.1)
Diabetes Mellitus II	7 (12.3)
Acidente Vascular Cerebral	2 (3.5)
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	2 (3.5)
Demência	1 (1.8)
Epilepsia	1 (1.8)
<b>Lesão renal (RIFLE)</b>	16 (28.1)
Risco	6 (37.5)
Injúria	10 (62.5)

Os valores são apresentados como n(%), exceto se especificado.

ASA: American Society of Anesthesiologists physical status classification system; AINES: Anti-inflamatórios não esteroidais.

Os dados de intraoperatórios foram comparados entre os dois grupos (com LRA e sem LRA), e são apresentados na tabela 3. Observa-se maior incidência de hipotensão em pacientes que cursaram com LRA.

**Tabela 3 – Variáveis do intraoperatório segundo a presença ou não de lesão renal aguda**

Variável	Geral (56)	Sem lesão renal aguda (40)	Lesão renal aguda (16)	Valor p
Hemoglobina	9.7 ± 1.7	9.6 ± 1.7	10.0 ± 1.8	0.462
Cristaloide (ml)	1669.6 ± 694.3	1612.5 ± 744.5	1812.5 ± 543.9	0.335
Concentrado de hemácias (ml)	347.1 ± 87.9	397.0 ± 135.6	318.6 ± 32.9	0.333
Tempo cirúrgico em minutos	101.1 ± 42.4	96.2 ± 42.9	112.8 ± 40.0	0.190
Volume infundido total (ml/kg/h)	17.4 ± 6.2	17.7 ± 6.1	16.6 ± 6.6	0.552
Hipotensão, n(%)	33 (58.9)	20 (50.0)	13 (81.2)	0.032
Uso de vasopressor, n(%)	32 (57.1)	19 (47.5)	13 (81.2)	0.021

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, exceto se especificado.

Apenas um paciente fez uso de coloide, em volume de 500ml. Este não apresentou lesão renal.

As informações do intraoperatório foram perdidas para um paciente.

**Tabela 4 – Valores de NGAL e Creatinina segundo o tempo cirúrgico e presença de lesão renal aguda**

Variável	Geral (57)	Sem lesão renal aguda (41)	Lesão renal aguda (16)	Valor p
<b>NGAL (média ± desvio padrão)</b>				
Pós-operatório imediato	229.6 ± 119.5	216.7 ± 124.6	261.8 ± 102.0	0.204
04 horas	234.2 ± 111.3	201.7 ± 96.3	320.1 ± 105.1	< 0.001
24 horas	235.4 ± 119.8	195.4 ± 88.6	339.3 ± 130.5	0.001
<b>Creatinina (mediana e quartis)</b>				
Pré-operatória	0.8 (0.7 – 1.0)	0.9 (0.7 – 1.0)	0.8 (0.7 – 1.1)	0.767
24 horas	0.9 (0.7 - 1.2)	0.9 (0.7 – 1.0)	1.2 (0.7 – 1.7)	0.074
48 horas	0.9 (0.7 – 1.2)	0.8 (0.7 – 1.0)	1.4 (1.2 – 2.0)	< 0.001

Os valores séricos de NGAL plasmático apresentaram diferença estatística significativa no período de 4 e 24 horas do pós-operatório, apresentando concentrações mais elevadas nos pacientes que desenvolveram LRA (Tabela 4).

**Tabela 5 – Acurácia da NGAL pós-operatório imediato elevado (> 150 ng/dL) no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE**

		Lesão renal aguda qualquer (RIFLE) - n (%)		
		Sim	Não	Total
NGAL n (%)	≥ 150	14 (34.1)	27 (65.9)	41 (100.0)
	< 150	2 (13.3)	13 (86.7)	15 (100.0)
	Total	16 (28.6)	40 (71.4)	56 (100.0)
Sensibilidade		87.5 61.7 – 98.5	Especificidade	32.5 18.6 – 49.1
Valor preditivo positivo		34.2 20.1 – 50.6	Valor preditivo negativo	86.7 59.5 – 98.3
Razão de verossimilhança positiva		1.3 1.0 – 1.7	Razão de verossimilhança negativa	0.4 0.1 – 1.5

**Tabela 6 – Acurácia da NGAL de 04 horas elevado (> 150 ng/dL) no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE**

		Lesão renal aguda qualquer (RIFLE) - n (%)		
		Sim	Não	Total
NGAL n (%)	≥ 150	13 (36.1)	23 (63.9)	36 (100.0)
	< 150	1 (6.7)	14 (93.3)	15 (100.0)
	Total	14 (27.5)	37 (72.5)	51(100.0)
Sensibilidade		92.9 66.1 – 99.8	Especificidade	37.8 22.5 – 55.2
Valor preditivo positivo		36.1 20.8 – 53.8	Valor preditivo negativo	93.3 68.1 – 99.8
Razão de verossimilhança positiva		1.5 1.1 – 2.0	Razão de verossimilhança negativa	0.2 0.03 – 1.3

**Tabela 7 – Acurácia da NGAL de 24 horas elevado (> 150 ng/dL) no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE**

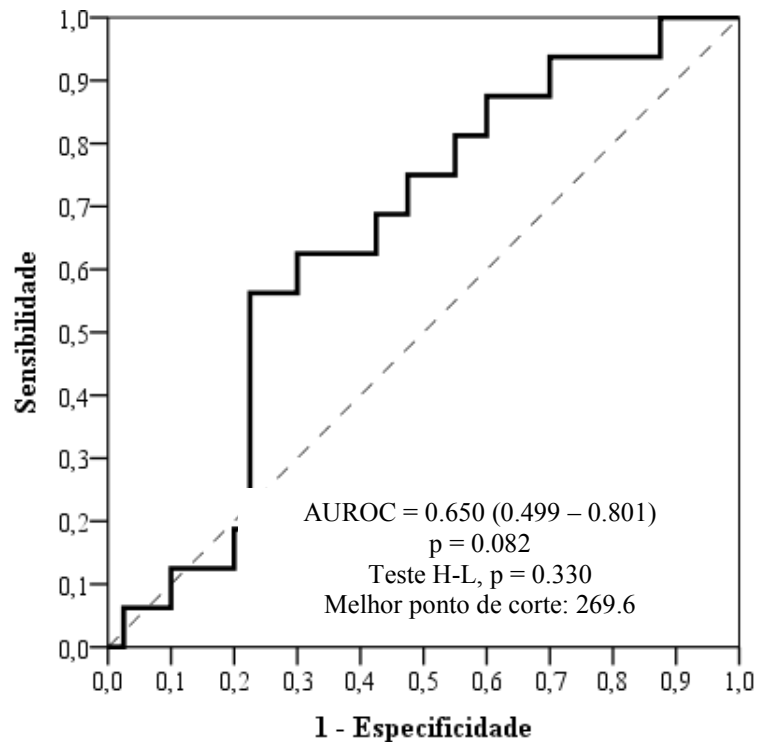
		Lesão renal aguda qualquer (RIFLE) - n (%)		
		Sim	Não	Total
NGAL n (%)	≥ 150	13 (35.1)	24 (64.9)	37 (100.0)
	< 150	2 (11.8)	15 (88.2)	17 (100.0)
	Total	15 (27.8)	39 (72.2)	54 (100.0)
Sensibilidade		86.7 59.5 – 98.3	Especificidade	38.5 23.4 – 55.4
Valor preditivo positivo		35.1 20.2 – 52.5	Valor preditivo negativo	88.2 63.6 – 98.5
Razão de verossimilhança positiva		1.4 1.0 – 1.9	Razão de verossimilhança negativa	0.4 0.09 – 1.3

**Tabela 8 – Acurácia de qualquer NGAL elevado (> 150 ng/dL) em até 24 horas no diagnóstico de lesão renal aguda qualquer pelo critério RIFLE**

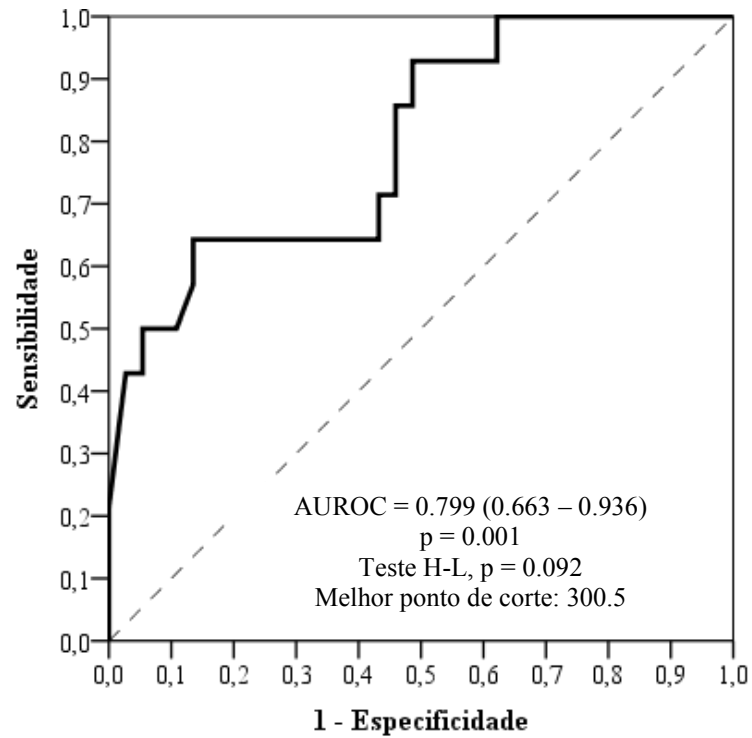
		Lesão renal aguda qualquer (RIFLE) - n (%)		
		Sim	Não	Total
NGAL n (%)	≥ 150	16 (32.7)	33 (67.3)	49 (100.0)
	< 150	0 (00.0)	6 (100.0)	6 (100.0)
	Total	16 (29.1)	39 (70.9)	55 (100.0)
Sensibilidade		100.0%	Especificidade	17.4%
Valor preditivo positivo		40.6%	Valor preditivo negativo	100.0%
Razão de verossimilhança positiva		1.21	Razão de verossimilhança negativa	0.00

Foram calculados a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos (VPP) e negativos (VPN), razões de verossimilhança positiva e negativa da molécula NGAL nos três momentos (pós-operatório imediato, 4 horas e 24 horas de pós-operatório) para o ponto de corte de 150 ng/dl. Os resultados estão demonstrados nas tabelas 5, 6 e 7. A tabela 8 apresenta todas essas análises para qualquer valor de NGAL elevado nas 24 horas do pós-operatório.

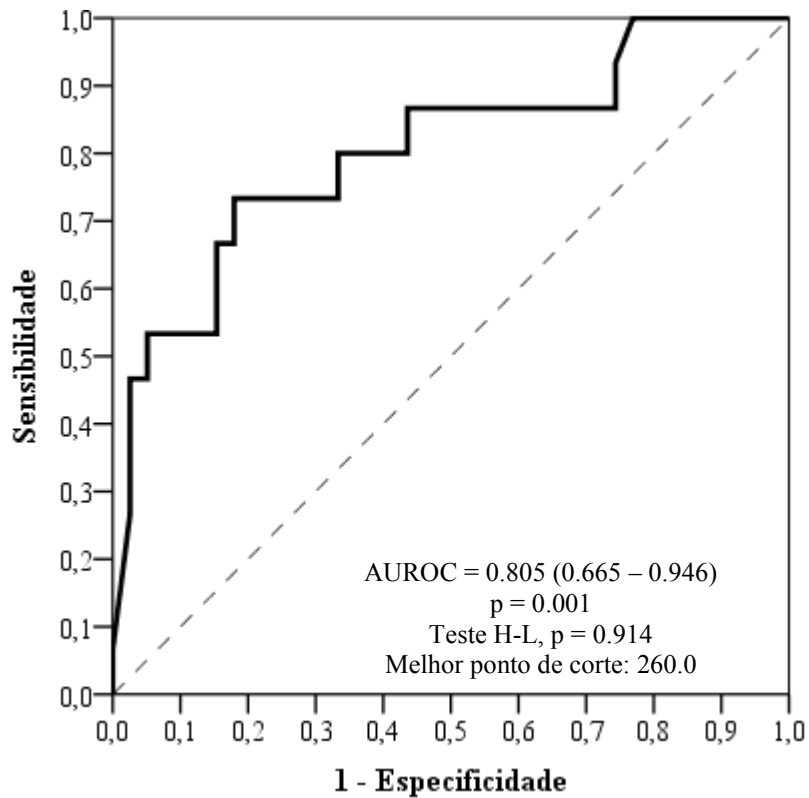
As AUROC, nos três momentos das coletas (fim da cirurgia, 4 e 24 horas após), assim como seus melhores pontos de corte da molécula de NGAL para discriminar LRA estão apresentados nas figuras 1, 2 e 3:



**Figura 1 – Acurácia da NGAL pós-operatório imediato no diagnóstico de lesão renal qualquer pelo critério RIFLE (n=56)**



**Figura 2 – Acurácia da NGAL de 04 horas no diagnóstico de lesão renal qualquer pelo critério RIFLE (n=51)**



**Figura 3 – Acurácia da NGAL de 24 horas no diagnóstico de lesão renal qualquer pelo critério RIFLE (n=54)**

## 6 DISCUSSÃO

Apesar de pacientes idosos possuírem importantes fatores de risco para LRA e, ao serem submetidos a procedimento cirúrgico, estarem sujeitos a mecanismos adicionais de lesão<sup>(37)</sup>, o biomarcador NGAL tem sido pouco estudado nessa amostra específica de pacientes.

Este estudo demonstrou uma incidência de 28% de LRA (tabela 2). Azevedo et al. encontraram uma incidência de 21% também definida pelos critérios de RIFLE, no pós-operatório de fratura de fêmur, em pacientes com mais de 65 anos<sup>(38)</sup>. No entanto, a incidência de LRA pode ainda ter sido subestimada no atual trabalho na medida em que a diurese não foi mensurada. É sabido que pacientes podem apresentar valores normais de creatinina e cursar com baixo débito urinário recebendo assim diagnóstico de LRA<sup>(39)</sup>. Na classificação de RIFLE prevalece como critério de LRA o estágio mais avançado da doença seja este diagnosticada pela creatinina ou pela diminuição do débito urinário.

Mais da metade dos pacientes (58%) apresentaram hipotensão arterial sistêmica e esta foi mais frequente em pacientes que desenvolveram LRA (tabela 3). O hipofluxo renal desencadeado pela hipotensão pode representar o principal mecanismo de lesão. É sabido que os pacientes idosos, por vezes hipertensos (56% dos pacientes desse estudo), não toleram longos períodos de hipotensão e, quando ela ocorre, leva à isquemia de órgãos. Pacientes gravemente enfermos de unidade de terapia intensiva com LRA que cursam com hipotensão durante a realização de hemodiálise apresentam retardo na recuperação da função renal<sup>(40)</sup>. Em um estudo observacional prospectivo de pacientes submetidos a grandes cirurgias não cardíacas, a análise multivariada mostrou que idade, comorbidades e a ocorrência de hipotensão no intraoperatório são fatores de risco independente para mortalidade em um período de um ano após o procedimento cirúrgico<sup>(41)</sup>. Assim, devido à elevada incidência de LRA nesta amostra, este estudo corrobora para um controle mais rigoroso de parâmetros hemodinâmicos por meio da monitorização invasiva da pressão arterial, da sondagem vesical e medida contínua do débito urinário. Reposição volêmica mais agressiva e uso precoce de vasopressor para tratamento de hipotensão intraoperatória consiste de medidas preventivas para LRA.

Os pacientes tiveram seu compartimento intravascular expandido principalmente com soluções cristaloides (Ringer com lactato ou a solução fisiológica a 0.9%). Eles receberam em média 17 ml/kg/h de hidratação venosa (tabela 3), acima do valor mínimo pré-estabelecido de 10 ml/kg/h. Apenas um paciente recebeu solução de coloide tipo amido neste trabalho mas não desenvolveu LRA. Estudos recentes de pacientes gravemente enfermos que receberam expansão volêmica com coloides a base de amido tiveram maior incidência de LRA<sup>(42)</sup>.

A LRA esteve associada ao aumento das concentrações plasmáticas de NGAL em 4 e 24 horas de pós-operatório com diferença estatística significativa entre os grupos (tabela 4). Nesse estudo, a concentração de NGAL de 24 horas apresentou uma melhor AUROC (figura 3). Esses resultados mostram a precocidade do biomarcador NGAL como marcador de LRA quando comparado à creatinina (esta última só teve seus valores séricos elevados após 48 horas de pós-operatório) confirmando a hipótese do estudo.

Devido à característica de detectar danos precoces ao rim, a molécula de NGAL tem sido estudada em diferentes momentos após a exposição ao agente agressor. Essas variações de tempo dificultam comparações e o melhor momento para solicitar a dosagens desse biomarcador não está bem estabelecido. Talvez a NGAL deva ser solicitada em intervalos regulares, se seu custo permitir, observando a tendência de aumento (persistência ou agravamento da lesão) ou diminuição (resolução da lesão) de sua concentração, muito semelhante ao que acontece com o lactato em pacientes gravemente enfermos, para acompanhar a evolução da doença em 24 horas<sup>(43)</sup>.

Em metanálise publicada em 2009, a molécula de NGAL, tanto plasmática quanto urinária, tem mostrado boa correlação com o desenvolvimento de LRA, e concentrações séricas entre 100 a 279 ng/dL com um valor médio de 170ng/dL para adultos, foram necessários para alcançar adequada sensibilidade e especificidade<sup>(44)</sup>. O valor de 150ng/dL tem sido utilizado como ponto de corte pelos "kits" atualmente disponíveis. Para esse valor, observou-se, neste estudo, uma alta sensibilidade, porém com uma baixa especificidade (tabela 5 a 8). Apesar de um intervalo de confiança amplo, sua baixa razão de verossimilhança negativa para a concentração menor que 150ng/dl sugere que este marcador poderia ser utilizado como exame de exclusão

para LRA (tabelas 6 e 7). O presente estudo sinaliza para valores mais elevados de ponto de corte de NGAL conforme demonstrado pela AUROC nas figuras 1, 2 e 3.

A molécula de NGAL foi avaliada em uma população de pacientes internados no ambiente hospitalar com muitos fatores de risco para LRA. No entanto, os VPP e VPN sofrem interferência da prevalência da doença. A prevalência de LRA na comunidade é muito inferior à prevalência dessa doença nos pacientes hospitalizados. Em estudo de 39 indivíduos saudáveis, onde foram analisados marcadores urinários de lesão renal aguda, percebeu-se que a variação na concentração da molécula de NGAL apresentava um estreito intervalo de confiança, porém isso era influenciado pelo sexo, sendo sua concentração maior em indivíduos do sexo feminino<sup>(45)</sup>. Dessa forma, a NGAL plasmática deve ser avaliada em populações maiores envolvendo também indivíduos saudáveis para conhecer seu comportamento e melhorar sua interpretação na prática clínica.

Concentrações de NGAL mais elevadas que o valor de 150ng/dl foram frequentemente observadas no pós-operatório (tabela 4). Não se sabe se a molécula de NGAL nesse cenário representa LRA subclínica (não evidenciada pela creatinina), ou marcador de resposta inflamatória, ou se representa apenas uma diminuição da filtração dessa molécula como resultado da redução da TFG com o avançar da idade, um processo natural do envelhecimento. Já foi demonstrado que pacientes com lesão renal crônica tem valores da NGAL sérico basais mais elevados<sup>(20)</sup>. No entanto, Haase et al. demonstraram que pacientes que cursavam com NGAL elevado subclínico apresentavam um prognóstico desfavorável (REF 40).

Sabendo que a creatinina é um marcador de função e não de dano ao parênquima renal, o diagnóstico de LRA baseado na sua utilização pela classificação de RIFLE, e mais recentemente a classificação do AKIN ou KDIGO (todas as três classificações validadas por trabalhos clínicos e apresentando poder semelhante em discriminar mortalidade<sup>(46-48)</sup>) fica limitado ao estágio final da doença renal onde uma janela de tempo de oportunidade terapêuticas foram perdidas. Assim, o décimo consenso do ADQI sugeriu que o diagnóstico de LRA deveria ser feito considerando em conjunto tanto os biomarcadores de dano renal como os biomarcadores de função renal<sup>(13)</sup>. Surge então novos espectros da LRA:

1. Pacientes com marcadores tanto de dano (NGAL, KIM1, IL 18...) quanto de função normais (creatinina, cistatina, inulina...), ou seja, pacientes sem LRA.
2. Pacientes com biomarcador de dano renal elevado e marcador de função renal normal, ou seja, a LRA subclínica. Este seria um estágio mais precoce da LRA onde a lesão direta ao parênquima renal causando danos, estaria presente sem a capacidade de gerar perda da função do órgão. Esse estágio também seria o melhor momento para intervenções precoces evitando assim a progressão da doença<sup>(49)</sup>.
3. Pacientes com biomarcador de função elevado, ou seja, perda de função, mas com marcadores de dano normais. Estaria neste estágio os pacientes desidratados onde a TFG estaria reduzida em decorrência da depleção de volume, mas sem estar causando a lesão ou necrose celular. Esse estágio corresponderia à denominada LRA pré-renal. Até o momento, utiliza-se da dosagem de sódio urinário, a fração excretória de sódio e fração excretória de ureia para o diagnóstico desse tipo de LRA, todos muito falhos<sup>(14)</sup>.
4. Pacientes com biomarcadores de danos elevados e também elevação dos marcadores de função. Este estágio de pior prognóstico corresponderia à LRA denominada por NTA. Ocorre aqui perda importante da função renal e suas implicações clínicas. Aqui as oportunidades de tratamento ficam limitadas à TSR.

A associação de marcadores de função com biomarcadores de dano para o diagnóstico de LRA ainda merece ser melhor estudada. Determinar qual biomarcador poderá ser utilizado, seus valores de ponto de corte, qual o perfil da população que ele deve ser aplicado e o impacto que trará no prognóstico dos pacientes ainda são perguntas que a somação de resultados de trabalhos clínicos deverá responder. Até o momento, a creatinina e o débito urinário, mesmo com todas suas limitações, continuam e devem continuar por muito tempo tendo seu espaço para o diagnóstico e manejo da LRA.

Este estudo excluiu pacientes considerados portadores de lesão renal crônica (considerados crônicos pacientes com valores de creatinina > 2.0mg/dl) e sépticos. Essas doenças representam importantes fatores de risco para LRA, ou seja, foram excluídos os pacientes mais propensos a desenvolver LRA. Isso se deve ao fato de,

nesses pacientes, haver elevações nas concentrações da NGAL dificultando com isso a interpretação dos resultados. Outro motivo para exclusão de pacientes com sepse ocorreu por se tratar de pacientes programados para cirurgia eletiva onde é necessário tratamento antimicrobiano prévio para controle da infecção. Porém a sepse é a causa responsável por mais de 50% de LRA no ambiente hospitalar e trabalhos procurando esclarecer dúvidas sobre a habilidade da molécula NGAL em diagnosticar a presença ou ausência de LRA nos pacientes com sepse é de muita importância.

Mesmo sabendo que a molécula de NGAL não é específica para o rim e pode estar elevado na presença de lesão a outros órgãos, suas concentrações plasmáticas e urinárias estão mais elevados significativamente quando existe lesão renal concomitantemente. Shrestha et al.<sup>(50)</sup> demonstraram que, em pacientes com insuficiência cardíaca sistólica crônica e crônica agudizada, os níveis sistêmicos de NGAL estavam mais elevados quando havia presença de novo dano renal<sup>(50)</sup>.

Nesse estudo, a molécula de NGAL foi comparada à creatinina que tem um comportamento muito distante de um exame padrão ouro de diagnóstico. Principalmente em pacientes idosos, uma concentração sérica normal de creatinina não necessariamente implica em função renal normal. Isso porque a creatinina sofre grande influência da massa muscular e da área de superfície corpórea, da ingesta proteica e atividade física, todos diminuídos nas pessoas idosas. Por exemplo, uma creatinina de 1.2 mg/dl corresponde a uma TFG de aproximadamente 80 ml/min em uma pessoa de 30 anos, porém este mesmo valor de creatinina pode corresponder a uma TFG de 40 ml/min em uma pessoa de 80 anos. A mensuração da creatinina pelo método baseado na reação de Jaffé também sofre muitas limitações. A presença de diversas substâncias que se comportam como pseudo-cromógenos costumam levar a resultados falso-positivos<sup>(51)</sup>.

No desconhecimento da creatinina basal, foi adotada a sua medida da admissão hospitalar como referência. Para a molécula de NGAL, foi adotado, como valor basal, sua medida logo ao término da cirurgia. No entanto, nesses momentos, as concentrações plasmáticas desses dois marcadores podem não corresponder a seus valores normais de base.

Devido ao curto tempo de seguimento, este estudo não foi desenhado para avaliar a correlação dos níveis plasmáticos da molécula de NGAL com desfechos

que indiquem necessidade de TSR ou insuficiência do órgão. A revisão sistemática de diferentes populações (pacientes pediátricos, adultos, paciente no departamento de emergência ou cuidados intensivos) mostrou que as concentrações séricas e urinárias elevadas de NGAL estão associadas à gravidade e duração da doença renal, necessidade de TSR, aumento de tempo de internação em UTI e hospitalar, e também mortalidade<sup>(52)</sup>.

Com o envelhecimento populacional, cada vez mais, o médico vai se deparar diante da necessidade de realizar procedimentos em pacientes idosos. O anesthesiologista tem um papel importante nesse cenário. Conhecer a fisiologia do idoso e a sua limitada reserva funcional faz com que decisões sejam tomadas com mais rapidez. Utilizar ferramentas de monitorização mais frequentemente, corrigir perdas hídricas, prevenir e tratar agressivamente a hipotensão e bradicardia são essenciais para o sucesso perioperatório. Isso tudo é justificável diante da elevada incidência de LRA e suas implicações em morbidade e mortalidade.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Na atual falta de um marcador ideal para o diagnóstico de LRA, e de diversos outros marcadores ainda em estudos, cada um com suas características, cria-se uma perspectiva futura sobre o uso de um painel de biomarcadores tanto de dano quanto de função renal, onde somam-se informações que possam levar ao correto diagnóstico do momento, do tipo, da gravidade, e do local onde ocorre a lesão renal. Esse trabalho corrobora com a ideia de que a molécula de NGAL deve fazer parte desse painel.

## 8 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou precocidade e uma boa acurácia do biomarcador NGAL plasmático como preditor de LRA quando dosado 4 e 24 horas do pós-operatório em pacientes idosos submetidos à cirurgia para correção de fratura de fêmur.

Valores acima de 150 ng/dl devem ser considerados para uma melhor acurácia do biomarcador.

## REFERÊNCIAS

1. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet*. 2005;365(9457):417-30.
2. Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis*. 2002;39(5):930-6.
3. Jones DR, Lee HT. Perioperative renal protection. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2008;22(1):193-208.
4. Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, Abulfaraj M, Alqahtani F, Koulouridis I. World incidence of AKI: a meta-analysis. *CJASN*. 2013;8(9):1482-93.
5. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*. 2004;8(4):R204-12.
6. Ricci Z, Cruz D, Ronco C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. *Kidney Int*. 2008;73(5):538-46.
7. Hoste EA, Kellum JA. Incidence, classification, and outcomes of acute kidney injury. *Contrib Nephrol*. 2007;156:32-8.
8. Ympa YP, Sakr Y, Reinhart K, Vincent JL. Has mortality from acute renal failure decreased? A systematic review of the literature. *The Am J Med*. 2005;118(8):827-32.
9. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*. 2005;294(7):813-8.
10. Xue JL, Daniels F, Star RA, Kimmel PL, Eggers PW, Molitoris BA. Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *JASN*. 2006;17(4):1135-42.
11. Devarajan P, Murray P. Biomarkers in acute kidney injury: are we ready for prime time? *Nephron Clin Practice*. 2014;127(1-4):176-9.
12. Bagshaw SM, Gibney RT. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med*. 2008;36(4 Suppl):S152-8.
13. McCullough PA, Shaw AD, Haase M, Bouchard J, Waikar SS, Siew ED. Diagnosis of acute kidney injury using functional and injury biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. *Contrib Nephrol*. 2013;182:13-29.
14. Okusa MD, Jaber BL, Doran P, Duranteau J, Yang L, Murray PT. Physiological biomarkers of acute kidney injury: a conceptual approach to improving outcomes. *Contrib Nephrol*. 2013;182:65-81.
15. Nguyen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatric Nephrol*. 2008;23(12):2151-7.

16. Devarajan P. Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrol.* 2010;15(4):419-28.
17. Martensson J, Bellomo R. The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. *Blood Purif.* 2014;37(4):304-10.
18. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *JASN.* 2007;18(2):407-13.
19. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: new paths for an old shuttle. *Cancer Therapy.* 2007;5(B):463-70.
20. Malyszko J, Malyszko JS, Bachorzewska-Gajewska H, Poniatowski B, Dobrzycki S, Mysliwiec M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a new and sensitive marker of kidney function in chronic kidney disease patients and renal allograft recipients. *Transplant Proc.* 2009;41(1):158-61.
21. Przybylowski P, Malyszko J, Malyszko JS. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin correlates with kidney function in heart allograft recipients. *Transplant Proc.* 2010;42(5):1797-802.
22. Shemin D, Dworkin LD. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for early acute kidney injury. *Crit Care Clin.* 2011;27(2):379-89.
23. Maisel AS, Mueller C, Fitzgerald R, Brikhan R, Hiestand BC, Iqbal N. Prognostic utility of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with acute heart failure: the NGAL Evaluation Along with B-type NaTriuretic Peptide in acutely decompensated heart failure (GALLANT) trial. *Eur J Heart Fail.* 2011;13(8):846-51.
24. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet.* 2005;365(9466):1231-8.
25. Cruz DN, de Cal M, Garzotto F, Perazella MA, Lentini P, Corradi V. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population. *Int Care Med.* 2010;36(3):444-51.
26. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Int Care Med.* 2010;36(3):452-61.
27. Nejat M, Pickering JW, Devarajan P, Bonventre JV, Edelstein CL, Walker RJ. Some biomarkers of acute kidney injury are increased in pre-renal acute injury. *Kidney Int.* 2012;81(12):1254-62.
28. Prowle JR, Echeverri JE, Ligabo EV, Ronco C, Bellomo R. Fluid balance and acute kidney injury. *Nature Rev Nephrol.* 2010;6(2):107-15.
29. Martensson J, Bell M, Oldner A, Xu S, Venge P, Martling CR. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in adult septic patients with and without acute kidney injury. *Int Care Med.* 2010;36(8):1333-40.
30. Weldon BC, Monk TG. The patient at risk for acute renal failure. Recognition, prevention, and preoperative optimization. *Anesthesiol Clin North Am.* 2000;18(4):705-17.

31. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *JASN*. 2003;14(8):2199-210.
32. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. *Lancet*. 2012;380(9843):756-66.
33. Thakar CV. Perioperative acute kidney injury. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2013;20(1):67-75.
34. Kohli HS, Bhaskaran MC, Muthukumar T, Thennarasu K, Sud K, Jha V. Treatment-related acute renal failure in the elderly: a hospital-based prospective study. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(2):212-7.
35. Lamb EJ, O'Riordan SE, Delaney MP. Kidney function in older people: pathology, assessment and management. *Clin Chimica Acta*. 2003;334(1-2):25-40.
36. Short A, Cumming A. ABC of intensive care. Renal support. *BMJ*. 1999;319(7201):41-4.
37. Sear JW. Kidney dysfunction in the postoperative period. *BJA*. 2005;95(1):20-32.
38. Azevedo VL, Silveira MA, Santos JN, Braz JR, Braz LG, Modolo NS. Postoperative renal function evaluation, through RIFLE criteria, of elderly patients who underwent femur fracture surgery under spinal anesthesia. *Ren Fail*. 2008;30(5):485-90.
39. Hoste EA, Kellum JA. Acute kidney injury: epidemiology and diagnostic criteria. *Curr Opin Crit Care*. 2006;12(6):531-7.
40. Doshi M, Murray PT. Approach to intradialytic hypotension in intensive care unit patients with acute renal failure. *Artif Organs*. 2003;27(9):772-80.
41. Monk TG, Saini V, Weldon BC, Sigl JC. Anesthetic management and one-year mortality after noncardiac surgery. *Anesth Analg*. 2005;100(1):4-10.
42. Bayer O, Reinhart K, Sakr Y, Kabisch B, Kohl M, Riedemann NC. Renal effects of synthetic colloids and crystalloids in patients with severe sepsis: a prospective sequential comparison. *Crit Care Med*. 2011;39(6):1335-42.
43. Vernon C, Letourneau JL. Lactic acidosis: recognition, kinetics, and associated prognosis. *Crit Care Clin*. 2010;26(2):255-83, table of contents.
44. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2009;54(6):1012-24.
45. Brott DA, Adler SH, Arani R, Lovick SC, Pinches M, Furlong ST. Characterization of renal biomarkers for use in clinical trials: biomarker evaluation in healthy volunteers. *Drug Design, Development and Therapy*. 2014;8:227-37.
46. Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care*. 2009;13(3):211.
47. Thomas ME, Blaine C, Dawnay A, Devonald MA, Ftouh S, Laing C. The definition of acute kidney injury and its use in practice. *Kidney Int*. 2015;87(1):62-73.
48. Luo X, Jiang L, Du B, Wen Y, Wang M, Xi X. A comparison of different diagnostic criteria of acute kidney injury in critically ill patients. *Crit Care*. 2014;18(4):R144.

49. Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Cruz DN, Wagener G. The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(17):1752-61.
50. Shrestha K, Borowski AG, Troughton RW, Thomas JD, Klein AL, Tang WH. Renal dysfunction is a stronger determinant of systemic neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels than myocardial dysfunction in systolic heart failure. *J Cardiac Fail*. 2011;17(6):472-8.
51. Tomson CR, Lamb EJ, Griffith K, O'Donoghue D, Feehally J. eGFR and chronic kidney disease: Time to move forward. *BMJ*. 2007;335(7611):111.
52. Cruz DN, Bagshaw SM, Maisel A, Lewington A, Thadhani R, Chakravarthi R. Use of biomarkers to assess prognosis and guide management of patients with acute kidney injury. *Contrib Nephrol*. 2013;182:45-64.