



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

Marcos Antonio Marton Filho

Efeitos do pneumoperitônio sobre biomarcadores de lesão renal: estudo clínico randomizado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Anestesiologia.

Orientadora: Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo

Botucatu 2020

Marcos Antonio Marton Filho

**Efeitos do pneumoperitônio sobre biomarcadores de
lesão renal: estudo clínico randomizado**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Anestesiologia.

Orientadora: Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo

Botucatu

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Marton Filho, Marcos Antonio.

Efeitos do pneumoperitônio sobre biomarcadores de lesão renal : estudo clínico randomizado / Marcos Antonio Marton Filho. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Norma Sueli Pinheiro Módolo

Capes: 40102130

1. Pneumoperitônio. 2. Lesão renal aguda. 3. Marcadores bioquímicos. 4. Cistatina C. 5. Lipocalina-2.

Palavras-chave: Biomarcadores; Cistatina C; Lesão renal aguda; Lipocalina-2; Pneumoperitônio artificial.

Dedicatória

À minha esposa, Larissa, que com sua paciência e carinho permitiu que o caminho fosse menos árduo.

À minha filha, Lívia, por suas gargalhadas e choros, por redefinir várias das minhas concepções de vida.

Aos meus pais, Marcos e Desângela, que com seu amor e exemplo são a primeira razão para tudo que faço.

À minha irmã, Caroline, exemplo de resiliência, por sempre acreditar em mim.

À Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo

A vida me permitiu com ela aprender desde muito cedo. Pude acompanhá-la desde a graduação, agora na pós-graduação e até quando puder.

Foi sempre mais que orientadora: amiga e exemplo para os meus caminhos.

Tem aqui o respeito de um orientando, o carinho de um amigo e a admiração de um eterno discípulo.

Agradecimento

Aos amigos Lucas e Rodrigo, pela constante companhia e apoio aos meus projetos.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Alves, pelas inestimáveis contribuições estatísticas e na redação final do manuscrito.

Ao Gabriel dos Santos Tarquinio, anesthesiologista parceiro desde as primeiras letras deste projeto.

À Clínica de Anestesiologia de Ribeirão Preto (CARP), seus médicos e residentes, por sua imensurável colaboração na coleta de dados.

Ao Hospital Santa Casa de Ribeirão Preto, hospital querido desde a residência, onde pude executar parte considerável deste trabalho.

À Alessandra e ao Laboratório da Santa Casa, sempre disponíveis para o processamento das amostras.

À Dra. Luzia e ao Laboratório Behring, que prontamente acolheram nosso pedido para acomodação das amostras.

À Regina, responsável por todas as dosagens e sempre atenciosa nas solicitações.

À FAPESP, pelo auxílio pesquisa (Processo nº 2017/27032-0) e ao graduando Paulo Ferreira Mega, pela ajuda na execução deste trabalho.

RESUMO

Marton Filho MA. Efeitos do pneumoperitônio sobre biomarcadores de lesão renal: estudo clínico randomizado [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Unesp; 2020.

Justificativa e objetivo: O aumento da pressão intra-abdominal para a realização de cirurgias laparoscópicas provoca alterações hemodinâmicas com variações da pressão arterial e venosa que modificam a homeostasia renal. **Métodos:** Este ensaio clínico simples cego, de centro único, randomizou 74 pacientes submetidos a colecistectomia videolaparoscópica, dos quais 64 completaram o estudo. Trinta e três indivíduos foram alocados no grupo de pressão intra-abdominal padrão (P_{10-12} entre 10 e 12 mmHg) e 31, no grupo de baixa pressão (P_{6-8} entre 6 e 8 mmHg). Os desfechos primários analisados foram a variação do valor de NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) e da Cistatina-C séricos, mensurados no início do procedimento (M0), no final do procedimento (M1) e 24 horas após o procedimento (M2). Valores de p abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. **Resultados:** No grupo P_{6-8} os valores de NGAL tiveram médias de $60,8 \pm 11,1$ ng/ml em M0, $148,3 \pm 17,8$ ng/ml em M1 e $63,9 \pm 8,8$ ng/ml em M2, enquanto no grupo P_{10-12} as médias foram de $60,1 \pm 11,5$ em M0, $157,5 \pm 19,8$ ng/ml em M1 e $61,2 \pm 11,4$ ng/ml em M2. Embora não tenha havido uma diferença significativa na evolução do marcador entre os grupos ($p=0,580$), verificou-se uma diferença significativa entre os momentos nos participantes do estudo com uma elevação notada no momento M1 ($p<0,001$). Na análise da Cistatina-C, as médias no grupo P_{6-8} foram de $2184,9 \pm 536,0$ ng/ml em M0, $2631,6 \pm 1092,6$ ng/ml em M1 e $2233,9 \pm 527,2$ ng/ml em M2, enquanto para o grupo P_{10-12} foram $2428,9 \pm 529,8$ ng/ml em M0, $2712,2 \pm 801,2$ ng/ml em M1 e $2496,9 \pm 457,0$ em M2. Assim como no NGAL, esse marcador mostrou uma elevação no M1 nos dois grupos ($p=0,021$), mas sem diferença na comparação entre grupos. **Conclusão:** A colecistectomia videolaparoscópica aumenta os valores de NGAL e Cistatina-C no momento M1 e a implementação de baixas pressões de pneumoperitônio não modifica essa evolução dos marcadores.

Palavras-chave: Lipocalina-2; Cistatina C; Biomarcadores; Lesão renal aguda; Pneumoperitônio artificial.

ABSTRACT

Marton Filho MA. Effects of pneumoperitoneum on kidney injury biomarkers: a randomized clinical. [Ph.D. thesis]. Botucatu: Medical School, Sao Paulo State University, Unesp; 2020.

Background: Increased intra-abdominal pressure for laparoscopic surgery causes hemodynamic changes with variation in arterial and venous blood pressure affecting renal homeostasis. **Methods:** This randomized, single-blind, single-center clinical trial selected 74 patients undergoing laparoscopic cholecystectomy, and 64 of them completed the study. Thirty-three patients were allocated to the standard pressure group (P_{10-12} , 10-12 mmHg) and 31 patients were allocated to the low pressure group (P_{6-8} , 6-8 mm Hg). The primary outcome was the change in serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and cystatin C levels measured at the beginning of the procedure (T0), at the end of the procedure (T1), and 24 hours after the procedure (T2). P-values < 0.05 were considered statistically significant. **Results:** In the P_{6-8} group, mean NGAL values were 60.8 ± 11.1 ng/ml at time point 0 (T0), 148.3 ± 17.8 ng/ml at T1, and 63.9 ± 8.8 ng/ml at T2; in the P_{10-12} group, mean values were 60.1 ± 11.5 ng/ml at T0, 157.5 ± 19.8 ng/ml at T1, and 61.2 ± 11.4 ng/ml at T2. Although there was no significant difference in the course of the biomarker between the groups ($P = 0.580$), there was a significant difference between the time points with elevation at T1 ($P < 0.001$). In the P_{6-8} group, mean cystatin C values were 2184.9 ± 536.0 ng/ml at T0, 2631.6 ± 1092.6 ng/ml at T1, and 2233.9 ± 527.2 ng/ml at T2; in the P_{10-12} group, mean values were 2428.9 ± 529.8 ng/ml at T0, 2712.2 ± 801.2 ng/ml at T1, and 2496.9 ± 457.0 at T2. Similar to NGAL, cystatin C had an elevation at T1 in both groups ($P = 0.021$), but no difference was found when comparing the groups. **Conclusions:** Laparoscopic cholecystectomy increases NGAL and cystatin C levels at T1, and the use of low pressure pneumoperitoneum does not change the course of the biomarkers.

Keywords: Lipocalin-2; Cystatin c; Biomarkers; Acute kidney injury; Pneumoperitoneum, artificial.

LISTA DE SIGLAS

AKIN	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
C	creatinina
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
ETCO₂	<i>end-tidal CO₂</i> ;
IL-6	Interleucina 6
KDIGO	<i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>
NGAL	<i>Neutrophyl Gelatinase-Associated Lipocalin</i>
PEEP	<i>positive end expiratory pressure.</i>
RIFLE	<i>Risk, Injury, Failure, Loss, End Stage</i>
TFG	taxa de filtração glomerular
VEGFR-2	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2</i>

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1	Desenho do estudo.....	32
Figura 2	Fluxograma do estudo.....	37
Gráfico 1	Evolução da pressão arterial média (mmHg) no perioperatório (n=64).....	38
Gráfico 2	Evolução das pressões (em cmH ₂ O) de ventilação mecânica.....	41
Gráfico 3	Evolução de NGAL nos momentos (n=64).....	42
Gráfico 4	Evolução da Cistatina-C nos momentos (n=64).....	43
Gráfico 5	Evolução da média da taxa de filtração glomerular ml/min/1,73m ² nos momentos por grupo.....	44

Tabela 1	Pressão arterial média do perioperatório.....	38
Tabela 2	Variáveis demográficas, antropométricas e perioperatórias.....	39
Tabela 3	Parâmetros de ventilação mecânica do perioperatório (cmH ₂ O).....	40
Tabela 4	Comparação dos valores de NGAL e Cistatina-C em diferentes momentos do perioperatório.....	41
Tabela 5	Comparação do efeito do grupo nos valores de NGAL (ng/ml) em diferentes momentos.....	42
Tabela 6	Comparação do efeito do grupo nos valores de Cistatina-C (ng/ml) em diferentes momentos.....	43
Tabela 7	Creatinina e taxa de filtração glomerular (TFG) em grupos e momentos.....	44

1 Introdução.....	17
1.1 - A fisiologia do néfron.....	18
1.2 - Lesão renal aguda.....	19
1.3 - Cirurgia laparoscópica e pneumoperitônio.....	19
1.4 - Alterações renais no peneumoperitônio.....	20
1.5 - Classificações de lesão renal aguda.....	21
1.6 - Busca de novos marcadores.....	22
2 Hipótese.....	25
3 Objetivo.....	27
4 Métodos.....	29
4.1 - Locais de execução e quesitos éticos.....	30
4.2 - Critérios de seleção dos participantes.....	30
4.3 - Grupos do estudo.....	31
4.4 - Cálculo do tamanho amostral.....	31
4.5 - Randomização.....	31
4.6 - Momentos estudados.....	32
4.7 - Protocolo de anestesia.....	32
4.8 - Protocolo de cirurgia.....	33
4.9 - Variáveis de controle.....	34
4.10 - Análise estatística.....	35
5 Resultados.....	36
6 Discussão.....	45
7 Conclusão.....	51
8 Referências.....	53
Anexos.....	59
ANEXO 1 – Parecer consubstanciado do CEP.....	60
ANEXO 2 – Parecer de alteração do título da Tese.....	64

1.1 A fisiologia do néfron¹

O néfron é a unidade funcional do rim, constituído por um grupo de capilares envoltos por uma cápsula de Bowman, denominados glomérulos, responsáveis pela filtração de líquidos do sangue, e por um tubo longo que se subdivide em porções proximal, alça de Henle e porção distal, nas quais se forma a urina. Essa estrutura depende para seu funcionamento de fluxo constante de urina, para o qual a pressão média é de 60 mmHg.

Os glomérulos filtram livremente o plasma e boa parte dos líquidos e substâncias constantes no sangue, que passam livremente para o interior deles, exceto proteínas. Aproximadamente 180 litros de líquido passam diariamente por essas estruturas, permitindo ao néfron um controle fino sobre todos os componentes circulantes no sangue. No glomérulo e cápsula de Bowman, as concentrações das substâncias são próximas às do plasma.

Enquanto produtos finais do metabolismo, como creatinina e ureia, filtrados no glomérulo praticamente não são reabsorvidos, outras substâncias com poder nutritivo – glicose e aminoácidos, por exemplo – são reabsorvidos em sua quase totalidade. Isso permite importante correlação entre a concentração de substâncias como a creatinina na urina e a própria taxa de filtração glomerular.

As principais influências na taxa de filtração glomerular são as pressões que atuam sobre o glomérulo, a saber, a pressão hidrostática e a coloidosmótica.

Já nos túbulos renais existe intensa reabsorção de água e solutos, que podem tanto ser reabsorvidos quanto secretados nessas estruturas, por trocas ativas e passivas.

1.2 Lesão renal aguda

Inicialmente descrita como síndrome clínica caracterizada pela perda significativa da função renal, necrose tubular aguda e acúmulos de substâncias que levam à azotemia, a insuficiência renal aguda teve seu conceito ampliado, referindo-se inclusive a lesões com menos repercussão clínica imediata, porém associada a importante mortalidade no paciente gravemente enfermo. Agora chamada lesão renal aguda, as alterações são percebidas em até 25% dos pacientes em terapia intensiva, com mortalidade que varia de 15 a 65% dos pacientes com esse diagnóstico².

Dentre as etiologias descritas, encontramos as pré-renais, dentre as quais destacamos as decorrentes de hipofluxo sanguíneo, objeto do presente trabalho, mas também as ditas renais, que estão associadas a lesões decorrentes de substâncias nefrotóxicas, em que existe prejuízo direto às células renais, e as pós-renais, via de regra associadas às obstruções das vias urinárias³.

Embora sejam descritas alterações histológicas compatíveis com necrose tubular aguda, sobretudo nos quadros agudos associados às lesões de isquemia e reperfusão, evidenciou-se recentemente que rins estruturalmente normais podem apresentar importante prejuízo de função, em decorrência de disfunção endotelial, inflamação sistêmica e estresse oxidativo. Dessa forma, a necrose tubular aguda fica reservada a quadros em que existe dano histológico com fluxo normal ou ainda a quadros com prejuízo importante da perfusão por períodos prolongados, como ruptura de aneurismas e dissecação de aorta².

1.3 Cirurgia laparoscópica e pneumoperitônio

A cirurgia laparoscópica, introduzida em 1987 com a realização bem-sucedida de uma colecistectomia por Phillipe Mouret, bem como a recente cirurgia robótica promovem grande revolução nos diversos procedimentos ao trazerem consigo o benefício da menor invasividade e, com isso, menores

índices de dor, complicações cirúrgicas e retorno antecipado às funções. Representam também novos desafios, dentre eles a necessidade de infundir um gás inerte na cavidade peritoneal a fim de criar um espaço de trabalho adequado.

As consequências imediatas dessa infusão de gás são alterações fisiológicas nos sistemas cardiovascular, pulmonar e a perfusão de vísceras abdominais (sobretudo hepática e renal). A fim de minimizar essas alterações, contamos com diversas orientações sobre os valores seguros de pressão intra-abdominal que via de regra não deve ultrapassar 12 a 15 mmHg, além do manejo de drogas anestésicas e da volemia no intraoperatório⁴.

1.4 Alterações renais no pneumoperitônio

Sendo a circulação renal das mais afetadas pela pressão intra-abdominal, a dosagem de marcadores como o VEGFR-2 (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2*) e Interleucina 6 (IL-6) mostra variações significativas e tem correlação com os valores de pneumoperitônio⁵. Merece menção também a posição de proclive, comumente utilizada para alguns procedimentos, reduzindo o retorno venoso.

Experimentos com animais submetidos a pneumoperitônio de 18 mmHg evidenciaram valores mais elevados de radicais livres de oxigênio em relação aos grupos de 0 e 8 mmHg, demonstrando também lesão do tipo isquemia/reperfusão⁶.

Há escassez de estudos de seguimento de longo prazo em humanos. Em animais, há evidência de normalização de todas as alterações em seguimento maior⁷.

Nesse sentido, alguns autores demonstraram ausência de significados clínicos para as alterações laboratoriais de biomarcadores. Aumentos de marcadores sob pneumoperitônio induzido mostraram-se transitórios⁸.

1.5 Classificações da lesão renal aguda

Embora a creatinina sérica tenha largo emprego na prática clínica há muitos anos, até muito recentemente a definição de lesão renal aguda por esse marcador permaneceu bastante controversa na literatura, sendo a diversidade de apresentações um grande limitante na aquisição de dados epidemiológicos e até no manejo clínico dos pacientes. Na tentativa de uniformizar as definições e terminologias, grupos de trabalho propuseram as classificações de RIFLE⁹, AKIN¹⁰ e KDIGO².

A primeira classificação, proposta no ano de 2004, pelo *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI), foi a de RIFLE⁹, considerando dois parâmetros, o clearance de creatinina e o débito urinário, e dividindo os estádios da doença em Risco (*Risk*), Injúria (*Injury*), Falência (*Failure*), Perda (*Loss*) e Final (*End Stage*), conforme detalhado abaixo:

- **Risco:** aumento de 1,5x a creatinina sérica ou redução de 25% da taxa de filtração glomerular. Débito urinário menor que 0,5 ml/kg/h por 6 horas;
- **Injúria:** aumento de 2x a creatinina sérica ou redução de 50% da taxa de filtração glomerular. Débito urinário menor que 0,5 ml/kg/h por 12 horas;
- **Falência:** aumento de 3x a creatinina sérica ou redução de 75% da taxa de filtração glomerular ou creatinina sérica maior que 4 mg/dl. Débito urinário menor que 0,3 ml/kg/h por 24 horas ou anúria por 6 horas;
- **Perda:** falência persistente por mais de 4 semanas;
- **Estágio Final:** falência persistente por mais de 3 meses.

Logo após, em 2007, na tentativa de simplificar a proposta, o grupo *Acute Kidney Injury Network* (AKIN)¹⁰ propôs sua classificação. Nessa proposta, permaneceram apenas três estágios, também considerando *clearance* de creatinina, valor absoluto de creatinina e débito urinário, como abaixo descrito:

- **Estágio 1:** aumento de creatinina de 0,3 mg/dl ou 1,5 a 2x do valor basal. Diurese menor que 0,5 ml/kg/h por 6 horas;

- **Estágio 2:** aumento de creatinina de 2 a 3x do valor basal. Diurese menor que 0,5 ml/kg/h por 12 horas;

- **Estágio 3:** aumento de creatinina de mais de 3x do valor basal ou creatinina sérica maior que 4 mg/dl com aumento agudo de ao menos 0,5 mg/dl. Diurese menor que 0,3 ml/kg/h por 24 horas ou anúria por 12 horas.

Por fim, permanece como proposta mais aceita atualmente a classificação do grupo *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO), apresentada em 2012, que tenta novamente simplificar as propostas anteriores, ainda mantendo a creatinina como marcador, conforme descrito a seguir:

- **Estágio 1:** aumento de creatinina de 0,3 mg/dl ou 1,5 a 1,9x do valor basal. Diurese menor que 0,5 ml/kg/h por 6 a 12 horas;

- **Estágio 2:** aumento de creatinina de 2 a 2,9x do valor basal. Diurese menor que 0,5 ml/kg/h por mais que 12 horas;

- **Estágio 3:** aumento de creatinina de mais de 3x do valor basal ou aumento da creatinina sérica para acima que 4 mg/dl ou indicação de terapia de substituição renal. Diurese menor que 0,3 ml/kg/h por 24 horas ou anúria por 12 horas.

1.6 Busca de novos marcadores

A terapêutica adequada na lesão renal depende da precocidade do seu diagnóstico e, quando instituída no início do quadro, pode ter impacto importante no prognóstico da doença. À semelhança dos marcadores isquêmicos cardíacos, as últimas décadas marcaram uma corrida pela identificação de biomarcadores capazes de identificar precocemente essas alterações, tendo em vista que o marcador convencional, a creatinina (e a taxa de filtração glomerular), apresentam elevação tardia, até 48 horas após instalado o quadro, provocando muitas vezes a perda da janela de oportunidade terapêutica¹¹.

Essa busca identificou várias moléculas com potencial clínico para diagnóstico precoce, dentre as quais merecem especial atenção a NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*) e a Cistatina-C, que atualmente já possuem plataformas comerciais bastante disponíveis, sendo dessa forma necessário esclarecer melhor seu uso em diversos cenários clínicos¹¹.

A Cistatina-C é uma proteína de baixo peso molecular (13,36 Kda), produto de células nucleadas em taxa constante, cuja função é inibir a proteinase da cistina tecidual. É livremente filtrada pelo glomérulo, reabsorvida e metabolizada no túbulo renal proximal, porém sem secreção renal ou extrarrenal. Reflete, portando, exclusivamente a filtração glomerular.

Seu papel em prever lesão renal aguda ainda é controverso na literatura. Embora alguns autores demonstrem elevação de seus níveis em até 48 horas antes da creatinina¹², com performance adequada para prever necessidade de terapia de substituição renal, outros apontam ausência de valor diagnóstico¹³.

Em coorte recente de paciente submetidos a cirurgia cardíaca, a Cistatina-C mostrou-se superior à creatinina em prever mortalidade em longo prazo^{14,15}. Também em pacientes transplantados renais, Cistatina-C e NGAL mostraram alta sensibilidade e especificidade para função renal, com importante associação com o prognóstico dos pacientes estudados¹⁶.

A NGAL foi descrita inicialmente na urina, atingindo níveis expressivos em até 2 horas após a agressão isquêmica ao órgão, com pico em aproximadamente 24 horas¹⁷. Trata-se de uma molécula pré-apoptótica de 25 kD, originalmente caracterizada por neutrófilos ligados à gelatinase, expressa sobretudo em células epiteliais, portanto nos túbulos renais.

Além da elevação precoce, apresenta boa correlação em pacientes que cursam com lesões renais graves e necrose tubular aguda, atinge pico em aproximadamente 3 horas e permanece elevada nesse público por aproximadamente 24 horas. Já pacientes que não evoluem com lesão aguda têm queda após 1 hora da injúria¹⁸. Nesse mesmo sentido, tem se mostrado um bom preditor de necessidade de hemodiálise¹⁹.

O uso clínico desse marcador já foi estudado em diferentes cenários clínicos e experimentais, em que mostrou valor prognóstico, como no trauma abdominal²⁰, no pós-operatório de cirurgia cardíaca²¹ e associado a outras doenças, como a DPOC (doença pulmonar obstrutiva crônica)²².

Existe correlação entre os valores pressóricos de pneumoperitônio e a lesão renal aguda, medida pelos biomarcadores NGAL e Cistatina-C, sendo maior em pacientes submetidos a pressões maiores.

Comparar as variações dos biomarcadores NGAL e Cistatina-C em pacientes submetidos à colecistectomia videolaparoscópica com pneumoperitônio padrão (10-12 mmHg) e baixa pressão (6-8 mmHg). Avaliar as variações de creatinina e da taxa de filtração glomerular nesses grupos.

4.1 Locais de execução e quesitos éticos

O presente estudo consistiu em um ensaio clínico randomizado, simples cego, prospectivo, desenvolvido durante dois anos consecutivos em um hospital terciário. Foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica da Faculdade de Medicina de Botucatu sob o protocolo 2.230.721, CAAE nº 71370517.1.0000.5411 e previamente registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob RBR-5tyrtr em dezembro de 2017. Todos os pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e foram recrutados de janeiro de 2018 até janeiro de 2020.

A coleta de dados foi inteiramente realizada na Sociedade Hospitalar Beneficente Santa Casa de Ribeirão Preto, após autorização expressa de seu corpo gestor, em pacientes sob assistência rotineira desse hospital, que concordaram com a participação no projeto de pesquisa e manifestaram sua concordância em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Todos os pacientes foram operados pela mesma equipe, sob supervisão do mesmo cirurgião.

As amostras de sangue, após coletadas foram processadas e centrifugadas pelo laboratório do hospital e encaminhadas ao Laboratório Behring, para armazenamento a -80°C até a transferência para a Unipex - Unesp Botucatu, para que fossem então realizadas as dosagens. As dosagens de NGAL e Cistatina-C foram conduzidas pela equipe da Unipex- Unesp Botucatu utilizando kits ELISA Elabscience®.

4.2 Critérios de seleção dos participantes

Foram incluídos no estudo indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 18 e 80 anos, com diagnóstico de colelitíase ou barro biliar e indicação formal de colecistectomia.

Foram excluídos indivíduos com coledocolitíase, doença renal crônica ou aguda com clearance de creatinina < 90 ml/min (estimado pela equação de

Cockcroft-Gault) ou índice de massa corpórea (IMC) $> 35 \text{ kg/m}^2$, dada a dificuldade técnica do uso de baixa pressão nos indivíduos obesos. Também foram excluídos pacientes que, na avaliação do anestesiológico, apresentavam contraindicação formal ao seguimento estrito do protocolo de anestesia, ou seja, aqueles que apresentavam necessidade do uso de outras drogas, como coronariopatas e doença pulmonar grave ou intercorrências no intraoperatório.

4.3 Grupos do estudo

Os sujeitos da pesquisa foram divididos em dois grupos de estudo:

- **Pressão padrão (P_{10-12}):** submetidos a procedimento anestésico e cirúrgico descritos, utilizando pressão controlada de pneumoperitônio entre 10 e 12 mmHg durante todo o ato operatório;
- **Baixa pressão (P_{6-8}):** submetidos a procedimento anestésico e cirúrgico descritos, utilizando pressão controlada de pneumoperitônio entre 6 e 8 mmHg durante todo o ato operatório.

4.4 Cálculo do tamanho amostral

Consideramos para o cálculo do tamanho amostral uma diferença esperada dos valores de NGAL entre os grupos em torno de 6,0 ng/dl e desvio-padrão de 8,4 ng/ml por valores obtidos na literatura²¹, com poder do teste de 80% e nível de 5% de significância, ficando determinados 31 pacientes por grupo.

4.5 Randomização

Para a manutenção dos números propostos por grupo, a randomização foi efetuada em blocos de cinco indivíduos conforme programa específico para geração de números aleatórios, sendo que os indivíduos sorteados com números ímpares eram alocados no grupo P_{6-8} e os indivíduos sorteados com

números pares eram alocados no grupo P₁₀₋₁₂ (Figura 1). Os números randomizados eram então ocultados em arquivos digitais e abertos logo após a chegada do paciente à sala cirúrgica. Não houve cegamento do cirurgião e do anestesiológico. O paciente não foi informado sobre o grupo alocado.

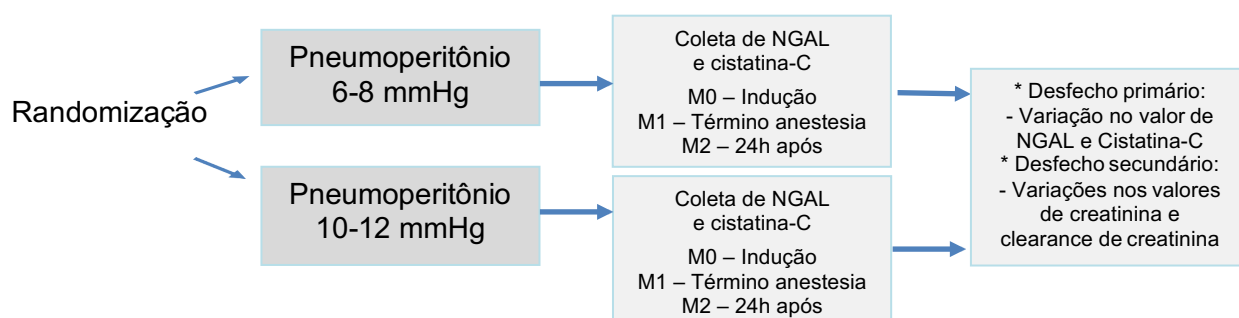


Figura 1 - Desenho do estudo

4.6 Momentos estudados

As amostras para dosagens foram colhidas em 3 momentos:

M0 - Momento inicial: obtida logo após a primeira venóclise, antes do ato anestésico, sendo o parâmetro basal do indivíduo;

M1 - Final do procedimento: obtida ao término do ato anestésico-cirúrgico, assim que o paciente apresentava sinais de despertar, antes da extubação;

M2 - Após 24 horas: obtida no dia seguinte ao procedimento, 24 horas após o término do mesmo, ou seja, após M1.

4.7 Protocolo de anestesia

- Hidratação com solução salina de Ringer Lactato 10 ml/kg de peso ideal na primeira hora, 8 ml/kg de peso ideal na segunda e terceira horas e 6 ml/kg peso ideal nas demais horas;
- Midazolam, 0,05 mg/kg IV após venóclise;

- Remifentanil alvo controlado, com modificação da dose alvo conforme a necessidade para ajuste hemodinâmico, sendo utilizado durante toda a cirurgia;
- Morfina, na dose ideal de 100 mcg.kg^{-1} administrada 30 minutos antes do final previsto para a cirurgia;
- Dipirona 2000 mg e ondansetrona 8 mg, administradas por via endovenosa 30 minutos antes do término previsto da cirurgia;
- Dexametasona 4 mg;
- Cefazolina 2 g na indução;
- Atracúrio $0,6 \text{ mg/kg}$ na indução e $0,15 \text{ mg/kg}$, de peso ideal, com alvo de TOF (*train-of-four*)=0 e PTC (*posttetanic count*)=0;
- Propofol alvo controlado (MARSH), utilizado para a manutenção da anestesia, sendo utilizado o peso total para o cálculo da dose. A concentração foi titulada de acordo com a necessidade, visando ao controle hemodinâmico no decorrer do procedimento;
- Ventilação controlada por volume, com volume corrente calculado em 6-8 ml/kg peso ideal;
- PEEP = 5 cmH₂O;
- FIO₂ = 50%, posteriormente ajustados pela capnografia e oximetria medidas;
- Descurarizar com neostigmina $0,03 \text{ mg.kg}^{-1}$ e atropina $0,015 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso ideal;
- Alta da recuperação com Aldrete e Kroulik de 9 ou 10;
- Analgesia pós-operatória com morfina $0,05 \text{ mg/kg}$, de acordo com a escala numérica verbal para valores iguais ou superiores a 4.

4.8 Protocolo de cirurgia

- Preparo habitual com assepsia e antisepsia;

- Incisão supraumbilical e dissecação até plano aponeurótico. Passagem de agulha de Veress ou abertura da aponeurose para confecção do pneumoperitônio;
- Insuflação do abdome com CO₂ até a pressão predita para o paciente, a depender do grupo de estudo (6 a 8 mmHg ou 10-12 mmHg). A meta de intervalo pressórico é justificada por pequenas oscilações inerentes ao material laparoscópico;
- Foram utilizados insufladores e torres de vídeo das marcas Astus Medical® ou Covidien® em todos os participantes;
- Punção dos demais portais, sendo um subxifóide de 10 mm e outros dois subcostais, de 5 mm;
- Dissecação do ducto cístico e artéria cística com eletrocautério e pinças de dissecação. Clipagem dos mesmos com cliques de titânio duplo do ducto cístico e único na artéria cística;
- Dissecação da vesícula biliar de seu leito hepático com eletrocautério;
- Retirada da vesícula pelo portal umbilical;
- Esvaziamento completo do pneumoperitônio;
- Síntese de planos anatômicos.

4.9 Variáveis de controle

Todos os pacientes foram monitorizados e deles obtidas as seguintes variáveis de controle, demográficas e antropométricas:

- Sexo
- Idade
- Peso, altura e IMC
- Frequência cardíaca
- Saturação de O₂

- ETCO₂
- Pressão arterial média
- Glicemia
- PEEP
- Pressão de pico
- Pressão de platô
- Tempo de anestesia
- Tempo de pneumoperitônio

4.10 Análise estatística

Variáveis demográficas contínuas foram avaliadas pelo teste de Shapiro-Wilk para aferição de normalidade. Aquelas com distribuição normal foram expressas em média e desvio-padrão, enquanto aquelas, com distribuição não normal, em medianas e quartis. As variáveis categóricas foram expressas em números absolutos e relativos (%). Para as variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal, utilizamos o teste *t* de Student; naquelas que não apresentaram, utilizamos o teste de Mann-Whitney. Para comparação dos valores de NGAL e Cistatina-C nos três diferentes momentos, utilizamos ANOVA de medidas repetidas com correção de Bonferroni após confirmação da distribuição normal (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (Levene). O nível de significância foi de 5%.

A alocação dos participantes e as exclusões do estudo estão apresentadas na Figura 2.

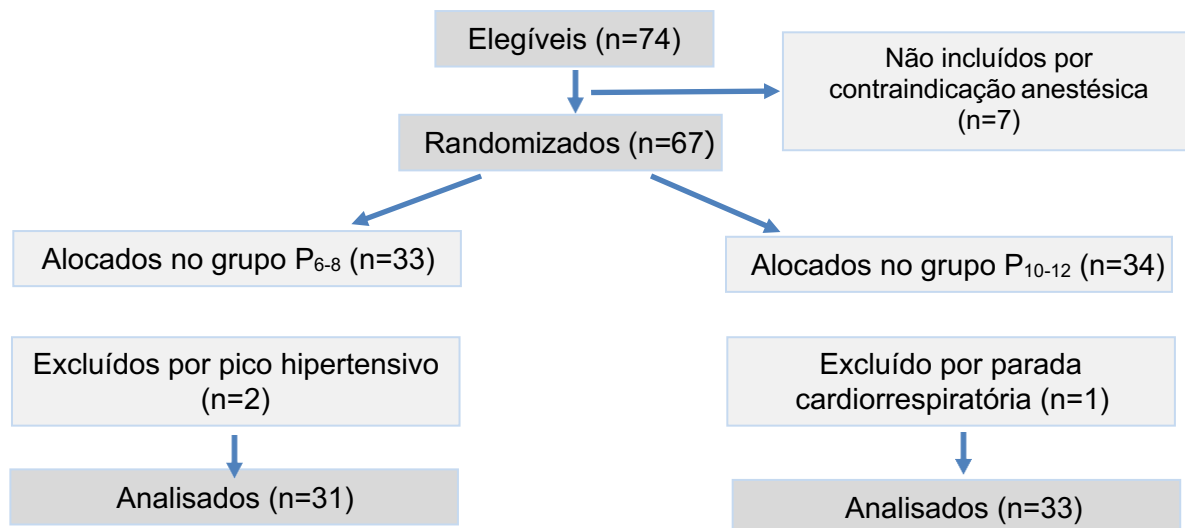


Figura 2 - Fluxograma do estudo

Nenhum participante analisado apresentou instabilidade hemodinâmica (Tabela 1), sendo que os dois que apresentaram pico hipertensivo foram excluídos por necessidade de outras drogas, que não as previstas no protocolo. Um participante evoluiu com parada cardiorrespiratória na sala de recuperação pós-anestésica por depressão respiratória. A evolução da pressão arterial média é apresentada no Gráfico 1.

Tabela 1 - Pressão arterial média do perioperatório

Pressão Arterial Média (mmHg)	GRUPO P ₆₋₈	GRUPO P ₁₀₋₁₂	P
10 minutos ‡	75,0 (70 / 82)	76,0 (70 / 89)	0,367
20 minutos ‡	79,5 (73 / 87)	82,0 (70 / 94)	0,646
30 minutos ‡	83,0 (72 / 92)	85,0 (71 / 100)	0,599
40 minutos ‡	78,0 (74 / 95)	85,0 (75 / 97)	0,322
50 minutos ‡	82,0 (73 / 92)	85,0 (75 / 98)	0,521
60 minutos ‡	80,0 (72 / 93)	83,0 (79 / 92)	0,295
70 minutos ‡	79,0 (71 / 91)	84,5 (80 / 90)	0,156
80 minutos ‡	80,0 (72 / 86)	86,0 (80 / 95)	0,041
90 minutos ‡	77,0 (71 / 91)	85,0 (76 / 90)	0,257

‡Valores expressos em mediana, primeiro e terceiro quartis - Teste U de Mann-Whitney

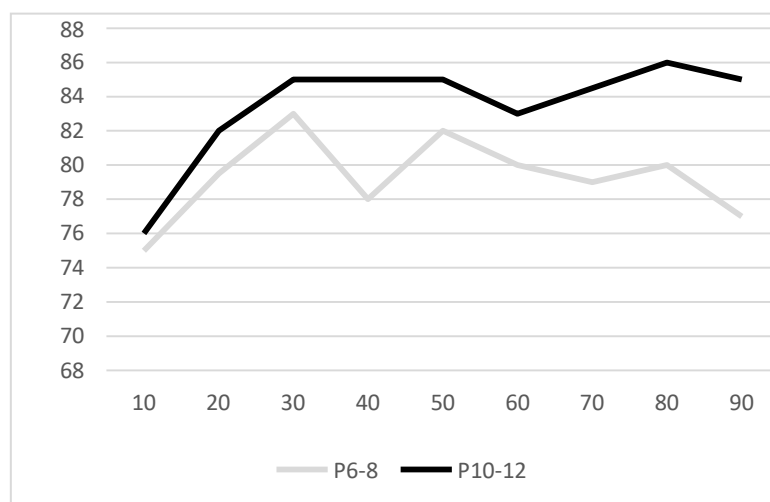


Gráfico 1 - Evolução da pressão arterial média (mmHg) no perioperatório (n=64)

A glicemia intraoperatória, embora com diferença estatística, manteve-se dentro dos padrões de normalidade. Os demais parâmetros não apresentaram diferença significativa (Tabela 2).

Tabela 2 - Variáveis demográficas, antropométricas e perioperatórias

	Grupo P ₆₋₈	Grupo P ₁₀₋₁₂	<i>p</i>
Idade (anos) †	49,6 ± 13,2	44,4 ± 13,5	0,123
Sexo masculino ††	22,6%	21,2%	0,895
Peso (kg) †	73,8 ± 10,47	74,7 ± 11,8	0,751
Altura (cm) †	162,4 ± 9,9	164,3 ± 7,5	0,397
Índice de Massa Corpórea (kg.m ⁻²) †	27,9 ± 3,3	27,6 ± 4,2	0,701
Tempo pneumo (minutos) †	77,2 ± 32,7	70,1 ± 15,2	0,382
Tempo de anestesia (minutos) ‡	131,3 ± 25,9	117,8 ± 27,5	0,139
Saturação arterial* (%) ‡	100,0 (100 / 100)	100,0 (99 / 100)	0,333
ETCO ₂ *(mmHg) ‡	35,0 (32 / 37)	35,5 (33 / 38)	0,336
Glicemia* (mg/dl) ‡	110,0 (95 / 132)	97,0 (87 / 104)	0,011

† Valores expressos em média e desvio-padrão - Teste *t* de Student

†† Valores expressos em frequência relativa - Teste do chi-quadrado

‡ Valores expressos em mediana, primeiro e terceiro quartis - Teste U de Mann-Whitney

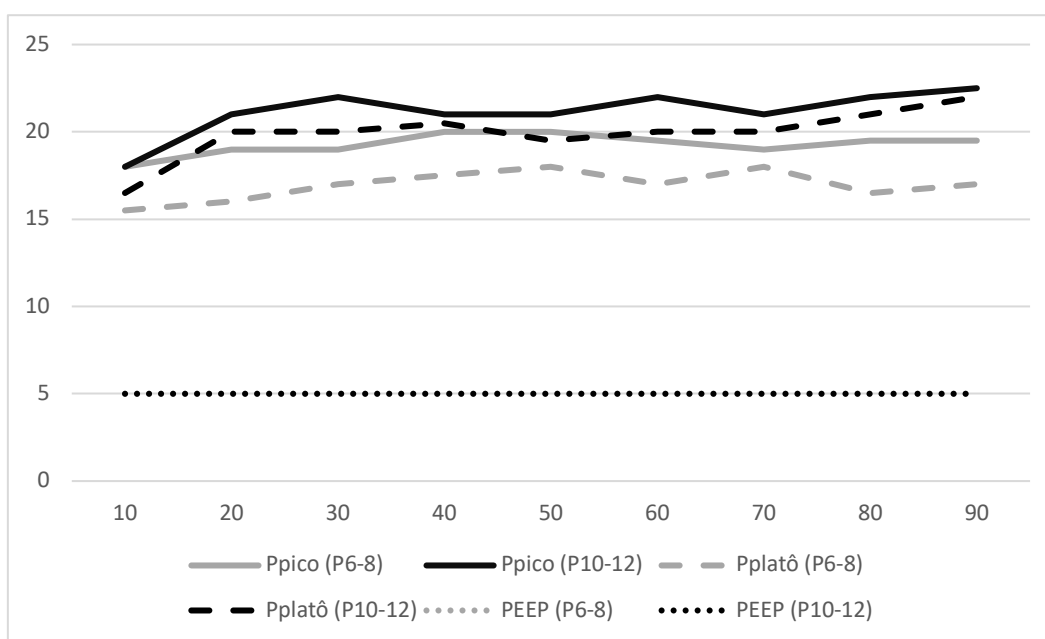
* Valores relativos à primeira hora de procedimento. ETCO₂ = *end-tidal* CO₂.

Os parâmetros de ventilação mecânica mostraram diferença significativa entre os grupos (Tabela 3) conforme esperado pela variação da pressão de pneumoperitônio (maiores valores de pressão de pico e PEEP no grupo de pressão normal). A evolução das pressões de ventilação mecânica são apresentadas no Gráfico 2.

Tabela 3 - Parâmetros de ventilação mecânica do perioperatório (cmH₂O)

VARIÁVEL (em cmH ₂ O)	GRUPO P ₆₋₈	GRUPO P ₁₀₋₁₂	p
Pressão de Pico			
10 minutos ‡	18,0 (16 / 20)	18,0 (16 / 21)	0,516
20 minutos ‡	19,0 (17 / 21)	21,0 (18 / 25)	0,018
30 minutos ‡	19,0 (17 / 21)	22,0 (19 / 25)	0,010
40 minutos ‡	20,0 (17 / 21)	21,0 (20 / 23)	0,002
50 minutos ‡	20,0 (17 / 22)	21,0 (20 / 25)	0,016
60 minutos ‡	19,5 (17 / 21)	22,0 (19 / 23)	0,006
70 minutos ‡	19,0 (16 / 21)	21,0 (20 / 25)	0,004
80 minutos ‡	19,5 (17 / 22)	22,0 (20 / 26)	0,006
90 minutos ‡	19,5 (18 / 21)	22,5 (19 / 25)	0,025
Pressão de Platô			
10 minutos ‡	15,5 (13 / 17)	16,5 (15 / 21)	0,098
20 minutos ‡	16,0 (13 / 18)	20,0 (16 / 25)	0,001
30 minutos ‡	17,0 (13 / 19)	20,0 (18 / 24)	0,002
40 minutos ‡	17,5 (14 / 19)	20,5 (18 / 24)	0,002
50 minutos ‡	18,0 (15 / 19)	19,5 (19 / 24)	0,003
60 minutos ‡	17,0 (15 / 19)	20,0 (18 / 24)	0,001
70 minutos ‡	18,0 (14 / 19)	20,0 (18 / 24)	0,012
80 minutos ‡	16,5 (15 / 19)	21,0 (19 / 25)	0,002
90 minutos ‡	17,0 (15 / 19)	22,0 (18 / 27)	0,006
PEEP			
10 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,164
20 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,150
30 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,153
40 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,107
50 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,081
60 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,121
70 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 6)	0,058
80 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 6)	0,013
90 minutos ‡	5,0 (5 / 5)	5,0 (5 / 5)	0,302

‡ Valores expressos em mediana, primeiro e terceiro quartis - Teste U de Mann-Whitney PEEP = *positive end expiratory pressure*



Pplatô: pressão de platô; Ppico: pressão de pico

Gráfico 2 - Evolução das pressões (em cmH₂O) de ventilação mecânica por grupo.

Quando comparados os momentos, NGAL e Cistatina-C apresentaram comportamento semelhante em ambos os grupos, com aumento significativo dos valores em M1, retornando aos valores basais nas dosagens 24 horas após o procedimento, ou seja, não houve diferença significativa entre M0 e M2 (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação dos valores de NGAL e Cistatina-C em diferentes momentos do perioperatório

Marcador	M0	M1	M2	p
NGAL (ng/ml)†	60,4 ± 11,3	153,6 ± 19,3	62,38 ± 10,4	<0,001
Cistatina-C (ng/ml)†	2324,3 ± 540,8	2677,7 ± 927,4	2384,2 ± 500,6	0,021

† Valores expressos média e desvio-padrão

Quando comparados os grupos para a variável NGAL, não percebemos diferença significativa entre os grupos P₆₋₈ e P₁₀₋₁₂ em nenhum dos momentos estudados (Tabela 5 e Gráfico 3).

Tabela 5 - Comparação do efeito do grupo nos valores de NGAL (ng/ml) em diferentes momentos

GRUPO	M0	M1	M2	p
P ₆₋₈ †	60,8 ± 11,1	148,3 ± 17,8	63,9 ± 8,8	0,580
P ₁₀₋₁₂ †	60,1 ± 11,5	157,5 ± 19,8	61,2 ± 11,4	

† Valores expressos média e desvio-padrão

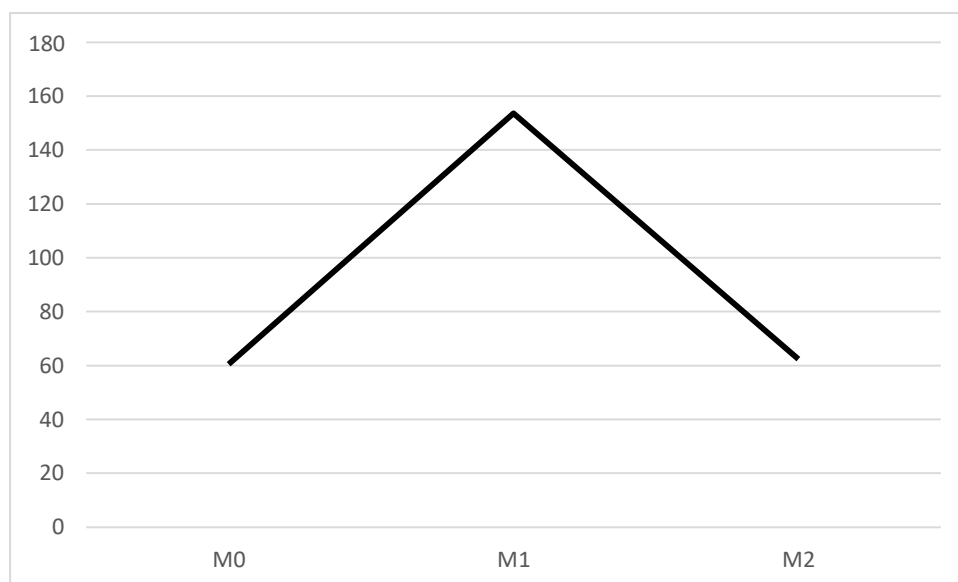


Gráfico 3 - Evolução de NGAL nos momentos (n=64)

Para a Cistatina-C, quando observados os diversos momentos na população estudada, percebemos discreto aumento na Cistatina-C em M1, com posterior redução, com diferença significativa entre M1 e M2 (Tabela 6 e Gráfico 4). A comparação entre os grupos não evidenciou diferença em nenhum dos momentos.

Tabela 6 - Comparação do efeito do grupo nos valores de Cistatina-C (ng/ml) em diferentes momentos

GRUPO	M0	M1	M2	p
P ₆₋₈ †	2184,9 ±536,0	2631,6 ±1092,6	2233,9 ±527,2	0,154
P ₁₀₋₁₂ †	2428,9 ±529,8	2712,2 ±801,2	2496,9 ±457,0	

† Valores expressos média e desvio-padrão

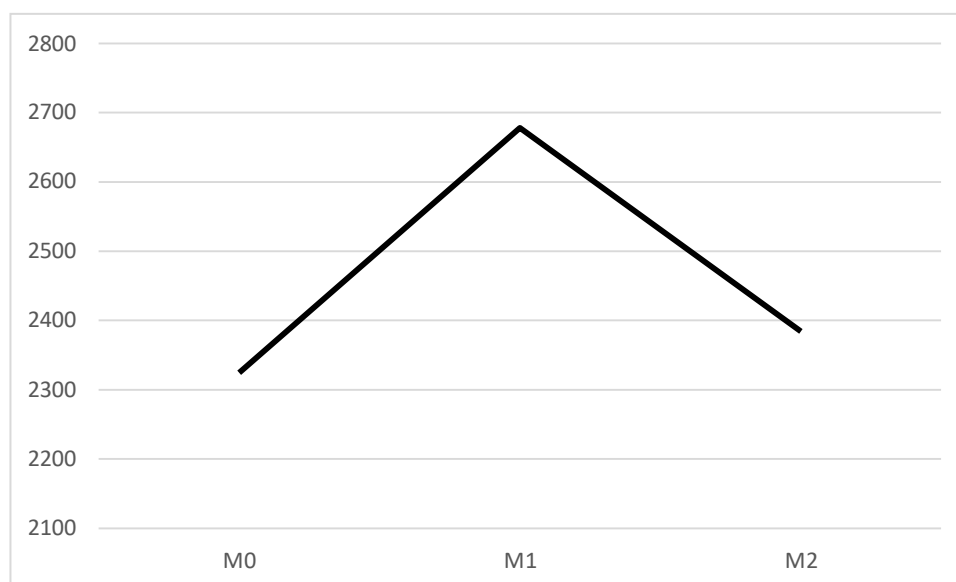


Gráfico 4 - Evolução da Cistatina-C nos momentos (n=64)

Os valores de creatinina e de taxa de filtração glomerular não apresentaram diferença entre os grupos e os momentos avaliados (Tabela 7). Quando comparados os grupos pela classificação de KDIGO, também não percebemos diferença significativa entre os grupos. A evolução da taxa de filtração glomerular é apresentada no Gráfico 5.

Tabela 7 – Creatinina e taxa de filtração glomerular (TFG) nos grupos e momentos

VARIÁVEL	GRUPO P ₆₋₈	GRUPO P ₁₀₋₁₂	<i>p</i>
Creatinina (mg/dl)			
M0 (mg/dl) ‡	0,82 ± 0,16	0,83 ± 0,18	0,1799
M1 (mg/dl) ‡	0,76 ± 0,16	0,81 ± 0,18	
M2 (mg/dl) ‡	0,87 ± 0,24	0,93 ± 0,36	
TFG (ml/min/1,73m²)			
M0†	99,18 ± 27,67	105,68 ± 31,28	0,2727
M1†	109,25 ± 34,82	108,98 ± 31,35	
M2†	97,94 ± 36,28	98,7 ± 33,54	

† Valores expressos em média e desvio-padrão

‡ Valores expressos em mediana, primeiro e terceiro quartis

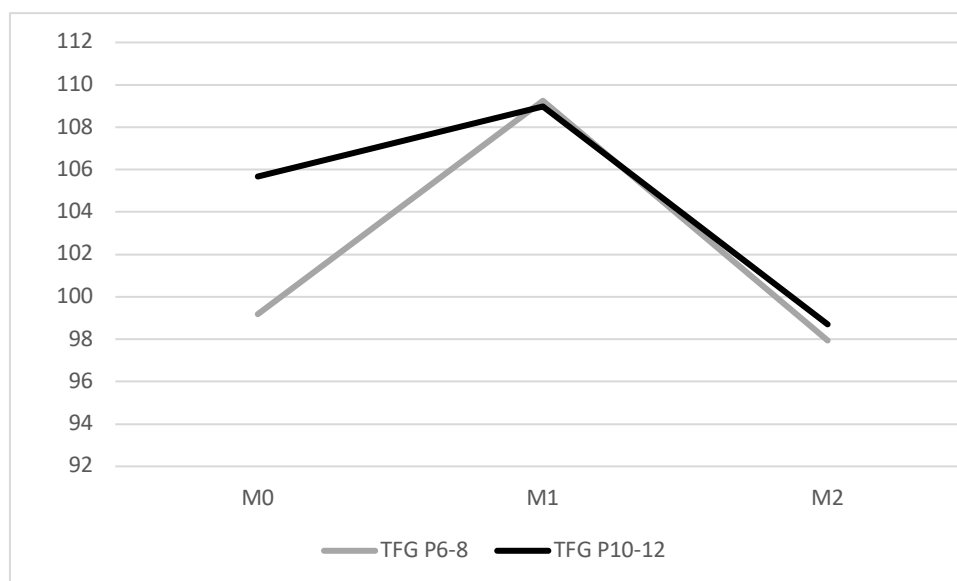


Gráfico 5 - Evolução da média da taxa de filtração glomerular (ml/min/1,73m²) nos momentos por grupo.

O aumento da pressão intra-abdominal leva a uma série de alterações fisiopatológicas das pressões arterial, venosa e de perfusão visceral, com efeitos negativos para a maioria dos órgãos, já conhecidas desde os primórdios da laparoscopia. Harman *et al.* demonstraram, em cães, alterações importantes na circulação renal após pneumoperitônio de 20 e 40 mmHg, com aumento das pressões de cava inferior e veia renal, mas também redução de débito cardíaco e aumento da resistência vascular periférica, evidenciando repercussões sobre a circulação sistêmica²².

Em seres humanos, alterações de pressão arterial, pH, excesso de bases e bicarbonato foram descritas por Hypolito *et al.* sob pressão intra-abdominal de 20 mmHg aplicada durante 5 minutos em pacientes submetidos à laparoscopia²³. Essas alterações foram transitórias e sem significado clínico, no entanto estão presentes e podem ter implicações clínicas em pneumoperitônio prolongado.

A implementação de bloqueios neuromusculares profundos^{24,25} e o aprimoramento do material cirúrgico com aumento da resolução de vídeo e melhor controle de injeção, vedação e pressão do gás abdominal permitiram nos últimos anos uma redução gradual da pressão de pneumoperitônio necessária para a realização dos mais diversos procedimentos laparoscópicos, com consequentes benefícios, como a redução da dor pós-operatória²⁶.

Também o manejo hemodinâmico durante o ato anestésico minimiza as alterações fisiológicas e, consequentemente, a injúria renal. Em metanálise que avaliou os efeitos da otimização hemodinâmica sobre a função renal, naquele momento utilizando RIFLE, Brienza *et al.* evidenciaram redução significativa da incidência de lesão renal (OR 0,66; IC 0,5-0,88; $p=0,004$) e da mortalidade (OR 0,50; CI 0,31-0,80; $p=0,004$). Monitorizamos estritamente os pacientes estudados, com protocolo próprio de manejo volêmico, e aqueles que apresentaram picos hipertensivos foram retirados do estudo²⁷.

A circulação dos rins é uma das mais afetadas pelo aumento da pressão intra-abdominal e a dosagem de biomarcadores de lesão renal mostra variações significativas durante o pneumoperitônio com correlação positiva com

os valores de pressão aplicados⁴. A alteração de fluxo sanguíneo renal é sugerida em diversos estudos reunidos em metanálise publicada por Wever *et al*, embora os autores destaquem a baixa qualidade da evidência e a necessidade de estudos que esclareçam o assunto, além de incluir apenas estudos com animais⁷.

O pneumoperitônio foi associado à lesão renal aguda também por Srisawat *et al.*, em relato que associa o tempo de insuflação como importante fator, assim como de perda sanguínea, variáveis cada vez mais frequentes dado o aumento da complexidade dos procedimentos²⁸. Dessa forma, nossa opção para isolar o efeito do pneumoperitônio sobre a função renal foi delinear o presente estudo sobre pacientes submetidos à colecistectomia, procedimento de simples execução, sem perda sanguínea significativa e com tempo de pneumoperitônio pequeno.

A despeito das alterações renais, alguns autores demonstraram ausência de correspondente clínico para as variações de biomarcadores, já que estas se mostraram transitórias após o pneumoperitônio^{8,29}. Embora haja uma escassez de trabalhos de seguimento de longo prazo, há evidência experimental de não haver modificações permanentes da função renal⁸. Lee *et al.* demonstraram, por análise histológica de rins de ratos submetidos a pneumoperitônio de 15 mmHg por 1 hora ou 5 horas e mantidos vivos por 1 semana ou 91 dias, não haver diferença significativa entre esses grupos, reforçando a tese de que as alterações de função verificadas são transitórias³⁰.

A creatinina mostrou-se pouco sensível às alterações de função, mesmo quando considerados os critérios de KDIGO² no presente estudo. A despeito disso, mantém-se como marcador mais utilizado na prática clínica e é padrão-ouro para diagnóstico da lesão aguda. O desafio recente foi a padronização de nomenclatura e de critérios para a detecção mais precoce possível a partir desse marcador, considerando a taxa de filtração glomerular estimada e não a creatinina de forma isolada, pois vários fatores influenciam seus valores absolutos.

Essa padronização, que se iniciou com RIFLE, AKIN e agora KDIGO, permitiu publicações como Kim *et al.* que comparam a performance da Cistatina-C e da NGAL a da creatinina segundo AKIN, mostrando desempenho da creatinina no diagnóstico em pacientes queimados quando comparada aos demais marcadores³¹. No entanto, esse diagnóstico ainda é retardado em 24 a 48 horas.

Para superar o atraso diagnóstico decorrente do aumento tardio da creatinina e sua menor sensibilidade, houve intensa busca por novos biomarcadores, cujo perfil de sensibilidade e alteração precoce permitissem diagnóstico mais precoce da injúria, dentre os quais destacamos NGAL e Cistatina-C.

Nesse contexto, a NGAL e a Cistatina-C destacam-se diante de mecanismos distintos de lesão do néfron, sendo a NGAL decorrente da lesão tubular e a Cistatina-C decorrente de prejuízo de filtração do glomérulo, ambas alterações possíveis diante do hipofluxo renal. Ainda que com um papel bem estabelecido no diagnóstico precoce de lesão renal, ressalta-se a necessidade de compreender o comportamento destes novos marcadores em diversos cenários clínicos. Há evidência de valor prognóstico no trauma abdominal¹⁷, no pós-operatório de cirurgia cardíaca¹⁸ e associado a outras doenças, como a DPOC²⁴. Alguns autores demonstram elevação de seus níveis em até 48 horas antes da creatinina¹², com performance adequada para prever necessidade de terapia de substituição renal, enquanto outros apontam ausência de valor prognóstico¹³. Em coorte recente de paciente submetidos à cirurgia cardíaca, a Cistatina-C mostrou-se superior à creatinina no que diz respeito a prever mortalidade em longo prazo¹⁴. Também em pacientes transplantados renais, Cistatina-C e NGAL mostraram alta sensibilidade e especificidade para função renal, com importante associação com o prognóstico dos pacientes estudados^{14,25}.

A NGAL pode ser dosada tanto no plasma quanto na urina. Kiseli *et al.* demonstraram alterações discretas no marcador urinário, sem significado clínico evidente⁸. Nossa opção pelo marcador plasmático, no entanto, decorre

de achados de superioridade dessa via de dosagem sugerida na predição de lesão renal aguda sugerida por alguns autores^{15,34}. No nosso estudo, a NGAL sérica mostrou-se efetiva como marcador de injúria renal aguda, com elevações já no final do ato anestésico, que teve duração média maior que 120 minutos, tempo em que as alterações são normalmente percebidas. Também notamos redução dos seus valores após 24 horas, conforme descrição da literatura. Há evidências de que o retorno precoce aos valores basais de NGAL são preditores de desfechos favoráveis, enquanto a manutenção de níveis elevados apresenta correlação com maior mortalidade³⁵.

Assim como o NGAL, a Cistatina-C também apresentou elevação no momento M1, resultado semelhante ao estudo conduzido por Lima *et al.*, também em pacientes submetidos à colecistectomia laparoscópica³⁶, com redução já em M2. Isso posto, em se tratando de um marcador de filtração glomerular, vale destacar o papel protetor que o manejo volêmico adequado pode representar durante o procedimento, tendo em vista a recuperação da função aferida por esse método. Por outro lado, Yegenaga *et al.* demonstraram superioridade da NGAL sobre a Cistatina-C em predizer lesão renal aguda em pacientes críticos. Porém, nesse estudo os autores consideraram diferença significativa nos valores de 48 horas após a admissão³⁷. Dessa forma, embora ambos os marcadores se alterem precocemente, apenas a manutenção de valores elevados apresenta correspondente clínico.

Atribuímos a ausência de diferença entre os grupos estudados à curta duração do procedimento (120 minutos) e aos intervalos pressóricos (6-8 mmHg e 10-12 mmHg) delineados no presente estudo. Embora o objetivo fosse isolar o pneumoperitônio como único fator do estudo, tais limitações podem explicar a ausência de diferença nas diferentes pressões. Fernandes *et al.*, utilizando NGAL em pacientes submetido a procedimentos bariátricos com médias pressóricas de 12 mmHg e pneumoperitônio de aproximadamente 130 minutos, não constatarem alterações significativas do marcador³⁸, fato que sugere que para procedimentos de curta duração as alterações são pouco significativas.

São limitações do presente estudo a realização em centro único, com a maior parte dos procedimentos realizados pelo mesmo cirurgião, incluindo apenas pacientes ASA I e II, com *clearance* de creatinina maior que 60 ml/min. Além disso, merece destaque a dificuldade técnica de procedimentos com baixa pressão em pacientes obesos, o que motivou a exclusão de IMC > 35 kg/m².

Percebemos então que embora haja descrito na literatura alteração sobre o fluxo renal decorrente do pneumoperitônio, o rim apresenta alterações transitórias sem correspondente clínico quando aferido por marcadores sensíveis para lesão renal aguda, independente de pressões que respeitem o limite descrito de 12 mmHg^{39,40}.

Pacientes submetidos a colecistectomia laparoscópica apresentam aumento dos valores de NGAL e Cistatina C logo após o ato operatório, que se normalizam em 24 horas. Para o procedimento proposto, não houve diferença significativa nas variações de NGAL e Cistatina-C entre os grupos de pressão padrão e baixa pressão de pneumoperitônio.

A creatinina não apresentou variações significativas de acordo com os critérios de KDIGO, assim como o ritmo de filtração glomerular.

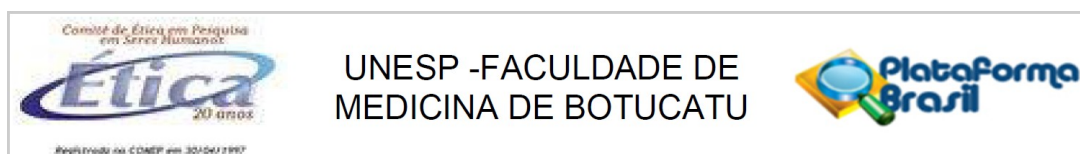
1. Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 11^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.
2. Section 2: AKI Definition. *Kidney Int Suppl* (2011). 2012;2(1):19-36.
3. Nunes TF, Brunetta DM, Leal CM, Pisi PCB, Roriz-Filho JS. Insuficiência renal aguda. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2010;43(3): 272-82.
4. Srivastava A, Niranjana A. Secrets of safe laparoscopic surgery: Anaesthetic and surgical considerations. *J Minim Access Surg*. 2010;6(4):91-94.
5. Aditjaningsih D, Mochtar CA, Lydia A, Siregar NC, Margyaningsih NI, Madjid AS, et al. Effects of low versus standard pressure pneumoperitoneum on renal syndecan-1 shedding and VEGF receptor-2 expression in living-donor nephrectomy: a randomized controlled study. *BMC Anesthesiol*. 2020;20(1):37.
6. Zhao S, Li W, Cheng F, Rao T, Yu W, Ruan Y, et al. High-pressure carbon dioxide pneumoperitoneum induces oxidative stress and mitochondria-associated apoptotic pathway in rabbit kidneys with severe hydronephrosis. *Int J Mol Med*. 2019;43(1):305-15.
7. Wever KE, Bruintjes MH, Warlé MC, Hooijmans CR. Renal Perfusion and Function during Pneumoperitoneum: A Systematic Review and Meta-Analysis of Animal Studies. *PLoS One*. 2016;11(9):e0163419.
8. Kiseli M, Caglar GS, Yilmaz H, Gursoy AY, Candar T, Pabuccu EG, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Levels During Pneumoperitoneum. *JSLs*. 2017;21(1):e2016.00091.
9. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. 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.

10. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al.; Acute Kidney Injury Network.. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.
11. Abensur H. Biomarcadores na Nefrologia [eBook]. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nefrologia; 2011.
12. 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 Int*. 2004;66(3):1115-22.
13. Royakkers AA, Korevaar JC, van Suijlen JD, Hofstra LS, Kuiper MA, Spronk PE, et al. Serum and urine cystatin C are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med*. 2011;37(3):493-501.
14. Mooney JF, Croal BL, Cassidy S, Lee VW, Chow CK, Cuthbertson BH, et al. Relative value of cystatin C and creatinine-based estimates of glomerular filtration rate in predicting long-term mortality after cardiac surgery: a cohort study. *BMJ Open*. 2019;9(9):e029379.
15. Özdemir-van Brunschot DM, van Laarhoven KC, Scheffer GJ, Pouwels S, Wever KE, Warlé MC. What is the evidence for the use of low-pressure pneumoperitoneum? A systematic review. *Surg Endosc*. 2016;30(5):2049-65.
16. Li F, Hu L, Zhao X, Ge W, Pan H, Zhang W, et al. The value of cystatin C and urinary and serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin during the perioperative period of renal transplantation. *Transl Androl Urol*. 2019;8(5):432-441.
17. 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. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(10):2534-43.
18. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2006;105(3):485-91.

19. Reyes LF, Severiche-Bueno DF, Bustamante CA, Murillo S, Soni NJ, Poveda M, et al. Serum levels of neutrophil Gelatinase associated Lipocalin (NGAL) predicts hemodialysis after coronary angiography in high risk patients with acute coronary syndrome. *BMC Nephrol.* 2020;21(1):143.
20. Bakal Ü, Sarac M, Tartar T, Kaman D, Kazez A. A study of the utility of novel non-invasive urinary and serum biomarkers of blunt kidney injury in a rat model: NGAL, KIM-1, and IL-18. *Cent Eur J Immunol.* 2019;44(3):219-25.
21. Tecson KM, Erhardtsen E, Eriksen PM, Gaber AO, Germain M, Golestaneh L, et al. Optimal cut points of plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of acute kidney injury among critically ill adults: retrospective determination and clinical validation of a prospective multicentre study. *BMJ Open.* 2017;7:e016028.
22. Harman PK, Kron IL, McLachlan HD, Freedlender AE, Nolan SP. Elevated intra-abdominal pressure and renal function. *Ann Surg.* 1982;196(5):594-7.
23. Hypolito O, Azevedo JL, Gama F, Azevedo O, Miyahira SA, Pires OC, et al. Effects of elevated artificial pneumoperitoneum pressure on invasive blood pressure and levels of blood gases. *Braz J Anesthesiol.* 2014;64(2):98-104.
24. Wei B, Tian T, Liu YG. IL-10 Combined with NGAL Has Diagnostic Value for AECOPD Combined with AKI. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2020;15:637-644.
25. Özdemir-van Brunschot DM, van Laarhoven KC, Scheffer GJ, Pouwels S, Wever KE, Warlé MC. What is the evidence for the use of low-pressure pneumoperitoneum? A systematic review. *Surg Endosc.* 2016;30(5):2049-65.
26. Wu B, Chen J, Yang Y. Biomarkers of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery: A Narrative Review. *Biomed Res Int.* 2019;2019:7298635.
27. Brienza N, Giglio MT, Marucci M, Fiore T. Does perioperative hemodynamic optimization protect renal function in surgical patients? A meta-analytic study. *Crit Care Med.* 2009;37(6):2079-90.

28. Srisawat N, Kongwibulwut M, Laoveeravat P, Lumplertgul N, Chatkaew P, Saeyub P, et al. The role of intraoperative parameters on predicting laparoscopic abdominal surgery associated acute kidney injury. *BMC Nephrol.* 2018;19(1):289.
29. Yong Z, Pei X, Zhu B, Yuan H, Zhao W. Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials. *Sci Rep.* 2017;7:41012.
30. Lee BR, Cadeddu JA, Molnar-Nadasdy G, Enriquez D, Nadasdy T, Kavoussi LR, et al. Chronic effect of pneumoperitoneum on renal histology. *J Endourol.* 1999;13(4):279-82.
31. Kim Y, Cho YS, Kym D, Yoon J, Yim H, Hur J, et al. Diagnostic performance of plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin, cystatin C, and creatinine for acute kidney injury in burn patients: A prospective cohort study. *PLoS One.* 2018;13(6):e0199600.
32. Mulier JP, Dillemans B. Anaesthetic Factors Affecting Outcome After Bariatric Surgery, a Retrospective Levelled Regression Analysis. *Obes Surg.* 2019;29(6):1841-50.
33. Gurusamy KS, Vaughan J, Davidson BR. Low pressure versus standard pressure pneumoperitoneum in laparoscopic cholecystectomy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 3. Art. No.: CD006930.
34. Sodha S, Nazarian S, Adshead JM, Vasdev N, Mohan-S G. Effect of Pneumoperitoneum on Renal Function and Physiology in Patients Undergoing Robotic Renal Surgery. *Curr Urol.* 2016;9(1):1-4.
35. Mahmoodpoor A, Hamishehkar H, Fattahi V, Sanaie S, Arora P, Nader ND. Urinary versus plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a predictor of mortality for acute kidney injury in intensive care unit patients. *J Clin Anesth.* 2018;44:12-17.

36. Lima RM, Navarro LH, Nakamura G, Solanki DR, Castiglia YM, Vianna PT, et al. Serum cystatin C is a sensitive early marker for changes in the glomerular filtration rate in patients undergoing laparoscopic surgery. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014;69(6):378-83.
37. Yegenaga I, Kamis F, Baydemir C, Erdem E, Celebi K, Eren N, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a better biomarker than cystatin C for the prediction of imminent acute kidney injury in critically ill patients. *Ann Clin Biochem*. 2018;55(2):190-97.
38. Fernandes A, Ettinger J, Amaral F, Ramalho MJ, Alves R, Modolo NSP. General anesthesia type does not influence serum levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin during the perioperative period in video laparoscopic bariatric surgery. *Clinics*. 2014;69(10):655-9.
39. Bayrakci N, Akin T, Ozkayar N, Turhan T, Turan I, Akin M, et al. MP224 Effects of intraabdominal pressure on urinary NGAL levels in laparoscopic cholecystectomy. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(suppl_1):1414.
40. Koo KC, Hong JH, Lee HS, Jeh SU, Choi YD, Rha KH, et al. Accuracy of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Quantifying Acute Kidney Injury after Partial Nephrectomy in Patients with Normal Contralateral Kidney. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133675.

ANEXO 1 – Parecer consubstanciado do CEP**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: VARIAÇÕES DOS VALORES DE NGAL EM PACIENTES SUBMETIDOS A PNEUMOPERITÔNIO COM PRESSÃO BAIXA E PADRÃO

Pesquisador: Norma Sueli Pinheiro Módolo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71370517.1.0000.5411

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.230.721

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado do discente Marcos Antonio Marton Filho, do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da FMB, sob orientação da Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo, do Departamento de Anestesiologia. O estudo é prospectivo/experimental e tem como objetivo comparar a evolução da função renal em pacientes submetidos a pneumoperitônio com valores de pressão padrão (12 - 15 mmHg) e baixos (6 - 8 mmHg) por meio das dosagens de creatinina e NGAL. Segundo o proponente, muitos trabalhos ressaltam os efeitos adversos advindos da insuflação de ar na cavidade abdominal com intuito de criar um espaço de trabalho, impondo alterações importantes na hemodinâmica e microcirculação do paciente. A hipótese apresentada é que a utilização de menores pressões de insuflação abdominal determinarão menor lesão renal. O trabalho contará com a Sociedade Beneficente e Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Ribeirão Preto como instituição coparticipante. O tamanho amostral foi determinado estatisticamente utilizando a variável NGAL, sendo previsto 31 pacientes por grupo (totalizando 62 pacientes). Os pacientes serão distribuídos aleatoriamente em dois grupos de estudos: Grupo de Pressão Padrão (PP) e Grupo de Baixa Pressão (BP). As dosagens de creatinina serão realizadas logo após coleta do material biológico. As amostras para dosagem de NGAL serão devidamente centrifugadas e armazenadas em temperatura - 80°C para posterior dosagem no

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.230.721

Laboratório de Pesquisa Experimental da FMB (UNIPLEX). Os resultados serão analisados estatisticamente.

Objetivo da Pesquisa:

Comparar a evolução da função renal em pacientes submetidos a pneumoperitônio com valores de pressão padrão e baixos por meio de dosagens de creatinina e NGAL.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O proponente cita que a pesquisa não possui riscos. Contudo deve-se considerar os riscos mínimos, como possibilidade de constrangimento do voluntário na abordagem para participação da pesquisa.

Como benefício, o proponente cita a redução do tempo de permanência hospitalar. Contudo, deve-se deixar claro que esse benefício é hipotético e, dessa forma, estende-se hipoteticamente apenas aos voluntários que farão parte do grupo de pacientes submetidos à pneumoperitônio com valores de pressão baixos. Considero que o principal benefício está justamente associado ao objetivo do projeto, sendo: identificar possíveis diferenças entre a evolução da função renal em pacientes submetidos à pneumoperitônio com valores de pressão padrão e baixos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem comentários sobre a pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nesta nova submissão do projeto todos os documentos foram apresentados de forma adequada, atendendo às solicitações prévias deste CEP.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião EXTRAORDINÁRIA do CEP de 21/08/2017, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, seja enviado o Relatório Final de Atividades, o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.230.721

LEMBRAMOS QUE A PRESENTE PESQUISA SOMENTE PODERÁ SER INICIADA APÓS DIA 21/08/2017
– DATA DA APROVAÇÃO DO CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_919437.pdf	09/08/2017 16:44:11		Aceito
Outros	oficio_pendencias.pdf	09/08/2017 16:43:54	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Novo_TCLE.pdf	09/08/2017 16:41:46	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biorepositorio.pdf	09/08/2017 16:38:49	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	07/07/2017 11:02:20	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaopesquisador.pdf	07/07/2017 10:55:03	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	autorizacaoinstituicaocoparticipante.jpg	07/07/2017 10:49:32	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	07/07/2017 10:48:06	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuenciainstitucional.pdf	07/07/2017 10:38:39	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	07/07/2017 10:38:13	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

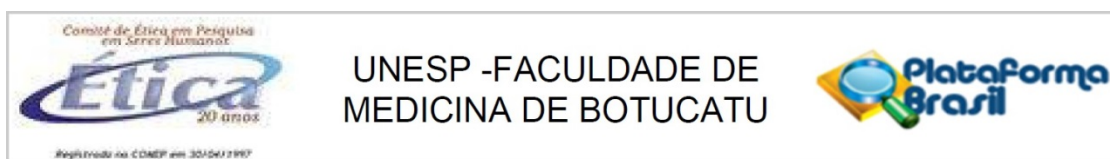
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.230.721

BOTUCATU, 21 de Agosto de 2017

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

CEP: 18.618-970

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

ANEXO 2 – Parecer de alteração do título da Tese**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: VARIAÇÕES DOS VALORES DE NGAL EM PACIENTES SUBMETIDOS A PNEUMOPERITÔNIO COM PRESSÃO BAIXA E PADRÃO

Pesquisador: Norma Sueli Pinheiro Módolo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71370517.1.0000.5411

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: Alteração do título do projeto

Justificativa: Alteração do título do projeto para efeito de defesa da Tese

Data do Envio: 01/06/2020

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.108.087

Apresentação da Notificação:

Trata a presente notificação de informe de título do projeto de pesquisa para efeito de defesa de tese de Marcos Antonio Marton Filho (consta cadastrado como equipe de pesquisa na PB).

Objetivo da Notificação:

Avaliar o informe de título para efeito de defesa de tese.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já avaliados.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

A pesquisadora informa título do projeto para efeito de defesa de tese. Afirma que não houve alteração nos objetivos e metodologia aprovados por este CEP.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 4.108.087

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já avaliados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO EXTRAORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO DA NOTIFICAÇÃO apresentada.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO EXTRAORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 16/06/2020, a NOTIFICAÇÃO apresentada encontra-se APROVADA.

Ao final da execução da Pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Ateracao_titulo_projeto.pdf	01/06/2020 10:17:35	Norma Sueli Pinheiro Módolo	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 24 de Junho de 2020

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br

MUDANÇA DE TÍTULO**PROJETO DE PESQUISA COM OBJETIVO ACADÊMICO**

- () Pós Doutorado
(X) Tese Doutorado
() Dissertação de Mestrado
() Trabalho Científico
() Outros

Especificar: _____

Aluno: Marcos Antonio Marton Filho

Orientador: Norma Sueli Pinheiro Módolo

Data da emissão da aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética: 21/08/2017

Título Inicial: VARIAÇÕES DOS VALORES DE NGAL EM PACIENTES SUBMETIDOS A PNEUMOPERITÔNIO COM PRESSÃO BAIXA E PADRÃO.

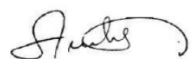
Título Final (alterado): EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO SOBRE BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO.

Declaro que após emissão da aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética, não houve alterações nos objetivos e/ou conteúdo metodológico.

Botucatu, 28 de maio de 2020.



Assinatura do Aluno



Assinatura do Orientador