

**LIPOCALINA ASSOCIADA À GELATINASE NEUTROFÍLICA: UM
MARCADOR PRECOCE DAS MODIFICAÇÕES AGUDAS NA
FILTRAÇÃO GLOMERULAR, APÓS INFUSÃO DE CONTRASTE
RADIOLÓGICO PARA ANGIOGRAFIA CORONARIANA.**

WALTER CURY ANNA JÚNIOR

UBERLÂNDIA –MG 2013

LIPOCALINA ASSOCIADA À GELATINASE NEUTROFÍLICA: UM MARCADOR PRECOCE DAS MODIFICAÇÕES AGUDAS NA FILTRAÇÃO GLOMERULAR, APÓS INFUSÃO DE CONTRASTE RADIOLÓGICO PARA ANGIOGRAFIA CORONARIANA .

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Nefrologia e Hipertensão.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Rodrigues Ferreira Filho

Mestrando: Walter Cury Anna Júnior

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sebastião Rodrigues Ferreira Filho
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Aguinaldo Coelho da Silva
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. José Márcio Ribeiro
Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Sebastião Rodrigues Ferreira Filho, que orientou e direcionou esse trabalho desde o início.

Aos apoiadores do projeto, Samir Semi Arab Reis e Roberto Vieira Botelho, que contribuíram de maneira excepcional na concepção e desenvolvimento desse projeto.

Ao colega de Mestrado Denis Fabiano de Souza, pela troca de conhecimentos e parceria em todos os momentos.

A toda equipe do Instituto do coração do Triângulo e Laboratórios de Análises Clínicas do HC/UFU e Labormed Uberlândia, pela disponibilidade na execução dos exames.

A toda a equipe do serviço de Psiquiatria do HC UFU, pela compreensão e apoio na concretização desse projeto.

À minha família, que compartilhou comigo todas as situações na concretização deste projeto.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	Antagonistas dos Canais de Cálcio
ARA	Antagonistas do Receptor da Angiotensina
CEP	Comissão de Ética e Pesquisa
CINE	Cinecoronariografia (CINE)
Cr	Creatinina sérica
DM	Diabete Mellitus
DU	Densidade Urinária
DRC	Doença Renal Crônica
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EAS	Elementos Anormais do Sedimento
F	Feminino
GC	Grupo Controle
GR	Grupo função renal Reduzida
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HC	Hospital de Clínicas
ICT	Instituto do Coração do Triângulo
IRA	Insuficiência Renal Aguda.
ICT	Instituto do Coração do Triângulo.
IMC	Índice de Massa Corpórea
ITU	Infecção do Trato Urinário
Kg/m ²	Quilograma por metro quadrado
LRA	Lesão Renal Aguda
M	Masculino
RNAm	Ácido Reboxi Nucleotídeo mensageiro
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease-Modificação da Dieta na Doença Renal
mmHG	Milímetros de Mercúrio

NGAL	Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin - Lipocalina Associada à gelatinase neutrofílica
NGAL _u	NGAL urinário
PA	Pressão Arterial
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TFG _e	Taxa de Filtração Glomerular estimada
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
VolC	Volume de Contraste

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Características basais da população do estudo.	20
TABELA 2 Concentrações do NGAL _u e creatinina sérica antes e após a angiografia coronariana.....	21

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Concentrações do NGAL _u 1 e NGAL _u 2.....	22
FIGURA 2 Correlação entre NGAL _u 1 com a Cr 1 antes da angiografia coronariana.	23
FIGURA 3 Correlação entre NGAL _u 2 com a Cr 2 após a angiografia coronariana.	24

RESUMO

Introdução: A deterioração e extensão de comprometimento da função renal estão relacionadas com a intensidade de envolvimento dos túbulos e glomérulos renais. A provável redução na Taxa de Filtração Glomerular (TFG) decorrente de lesão renal será diagnosticada após 48 a 72 horas, através da dosagem da concentração da creatinina sérica. Em geral, os médicos são muitas vezes confrontados com a questão de saber se devem ou não usar medicamentos e agentes potencialmente nefrotóxicos, em pacientes com função renal reduzida a serem submetidos a procedimentos cineangiográficos. Rotineiramente a decisão depende das concentrações prévias da creatinina sérica e nenhum outro exame adicional é feito para a avaliação da função renal. Além disso, esses pacientes são liberados do hospital logo após a angiografia coronária eletiva. Entretanto, em algumas ocasiões, quando eles voltam aos cuidados médicos, descobre-se, tardiamente, uma piora na função renal. Nessas situações, um biomarcador precoce da injúria renal seria clinicamente mais útil se estivesse correlacionado com os valores da creatinina sérica. **Objetivos:** comparar as concentrações do NGAL urinário ($NGAL_u$) em pacientes com e sem diminuição da taxa de filtração glomerular estimada (TFG_e) antes e depois da infusão de contraste radiológico em procedimentos de cinecoronariografia (CINE). Também, foram analisadas as possíveis correlações entre $NGAL_u$ e os valores de creatinina sérica medidos antes e após dois dias da infusão de contraste radiológico em pacientes que se submeteram à angiografia coronariana. **Métodos:** Foram estudados 96 pacientes e, acordo com TFG_e , foram formados dois grupos: o Grupo R ($n=24$) com TFG_e abaixo de $60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ e o Grupo C ($n=72$) com TFG_e acima de $60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$. Os valores de $NGAL_u$ e Creatinina sérica (Cr) foram dosados antes e após a infusão do contraste. **Resultados:** A concentração do $NGAL_u$ antes e após a infusão do contraste radiológico foi significativamente mais alta no Grupo R, em comparação ao Grupo controle ($P < 0.0001$). Além disso, as concentrações do $NGAL_u$ e Cr sérica, antes da angiografia coronária, estavam significativa e positivamente correlacionadas ($r: 0.66; P < 0.0001$). De maneira similar, as concentrações do $NGAL_u$ obtidos duas horas após a angiografia, correlacionaram-se com a creatinina sérica dosada dois dias após a alta hospitalar ($r: 0.59; P < 0.0001$). **Conclusões:** o $NGAL_u$ poderia ser considerado um biomarcador precoce da filtração glomerular em indivíduos com função renal estável porquanto suas concentrações foram significativamente maiores em pacientes com TFG_e diminuída quando comparados aos do grupo controle. Além disso, esse biomarcador pode refletir a evolução posterior da creatinina sérica, uma vez que a sua concentração 2 horas após o término da angiografia coronariana, correlacionou-se com a creatinina sérica obtida 48 horas após a alta hospitalar. Portanto, o $NGAL_u$ pode ser um marcador em tempo real da injúria renal e refletir precocemente os valores posteriores da creatinina sérica. Isso é relevante na prevenção da injúria renal aguda, especialmente em pacientes com redução prévia de TFG, que precisem ser submetidos a procedimentos com risco de agravamento da função renal, como infusão de contrastes radiológicos, potencialmente nefrotóxicos, na angiografia coronariana.

Palavras-chave: Cineangiografia. Creatinina sérica. NGAL urinário. Filtração glomerular.

ABSTRACT

Background: The deterioration of renal function is related to the intensity of injury of the tubules and glomeruli, and the expected reduction in glomerular filtration rate, is belatedly diagnosed through late changes in serum creatinine concentrations. In general, physicians are often faced with the question whether to use drugs and potentially nephrotoxic agents in patients with reduced renal function in cineangiographic procedures. Typically, doctors are faced with the question whether to use drugs and radiographic contrast agents in patients with reduced GFR. Usually, the decision will depend of these situations, and no other additional examination is usually done for the assessment of renal function. Then, the patients are discharged soon after the coronary angiography. However, when the patient returns to medical care, on some occasions, is discovered, too late, worsening renal function. In this situation, an early marker of renal damage would be clinically more useful if it were correlated with posterior serum creatinine concentrations. **Objectives:** Compare the urinary NGAL concentrations (uNGAL) of patients with and without decreasing in the estimated glomerular filtration rate (eGFR) before and after infusion of radiological contrast used during the cinecoronariography (CINE). We also analyzed the possible correlations between uNGAL and the serum creatinine values measured before and two days after the contrast infusion in patients underwent to the CINE. **Methods:** Ninety-six patients were studied and, according to the estimated glomerular filtration (eGFR), were formed two groups: group R (n=24) with eGFR below 60 ml/min/1.73 m² and group C (n=72) with eGFR above 60 ml/min/1.73 m². The uNGAL and serum creatinine (sCr) levels were measured before and after infusion of the contrast agent. **Results:** The NGALu concentration before and after contrast infusion was significantly higher in the group R compared to the controls (P < 0.0001). Moreover, the uNGAL and sCr levels before coronary angiography were significantly and positively correlated (r: 0.66; P < 0.0001). Similarly, the NGALu values determined 2 h after angiography were also correlated with the sCr levels measured 2 days after the CINE (r: 0.59; P < 0.0001). **Conclusions:** The NGALu values were higher in patients with reduced glomerular filtration when compared to controls, and thus, can be considered as a biomarker of GFR in individuals with stable renal function. Moreover, the NGALu concentrations correlated with serum creatinine values obtained 48 hours after hospital discharge, suggesting that it may reflect further evolution of serum creatinine. Therefore, the dosage of NGALu has the expectation to be confirmed as a marker in real-time of GFR. This is especially important in patients with prior reduction of GFR needing to undergo to procedures with potential risk of worsening kidney function, such as coronary angiography, which requires the use of intravascular radiological contrast, potentially nephrotoxic.

Key words: Cineangiography. Serum creatinine. Urinary NGAL. Glomerular filtration

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	12
II. OBJETIVOS	16
III. PACIENTES E MÉTODOS	17
3.1 Os grupos do estudo.....	18
3.2 Cateterismo cardíaco e hidratação	18
3.3 Dosagens das concentrações do NGAL _u e Cr.....	18
3.4 Análises estatísticas.....	19
IV. RESULTADOS	20
4.1 Concentrações do NGAL _u e da creatinina sérica antes e depois da angiografia coronariana.	21
4.2 Concentrações do NGAL _u 1 e NGAL _u 2 na população estudada (grupos C e R).....	22
4.3 Correlações entre NGAL _u 1 com a Cr 1 antes da angiografia coronariana.	23
V. DISCUSSÃO	25
VI. CONCLUSÕES	27
VII. REFERÊNCIAS	28

I. INTRODUÇÃO

A deterioração e extensão de comprometimento da função renal estão associadas com a intensidade de envolvimento dos túbulos e glomérulos renais (MORI *et al.*, 2005, DEVARAJAN *et al.*, 2003). A lesão renal daí resultante será expressa pela concentração da creatinina sérica (Cr), um dos principais biomarcadores da filtração glomerular. A dosagem de seus valores é utilizada para o diagnóstico e classificação de insuficiência renal aguda e crônica (CHOYKE *et al.*, 1998; BAND *et al.*, 2007, WEISBORD *et al.*, 2006). No entanto, nas fases iniciais da lesão renal, uma redução acentuada da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) pode manifestar-se com pouca evidência clínica, mesmo nos pacientes com redução prévia da função renal. Além disso, na situação de lesão renal aguda, o aumento nos valores esperados na Cr ocorre tardiamente e, portanto, não refletirão imediatamente as alterações na função renal (LEVEY *et al.* 2005; BAND *et al.*, 2007, LAFRANCE *et al.*, 2010).

Por outro lado, a concentração da Cr é influenciada por vários fatores que regulam a sua geração, filtração glomerular e secreção tubular. Uma redução aguda da TFG resultará em aumento lento e tardio na concentração sérica da creatinina, sendo que tal incremento será dependente da taxa de geração e do novo volume de distribuição desse biomarcador. Um novo estado de equilíbrio é alcançado quando a formação da creatinina iguala-se com a sua taxa de eliminação por filtração glomerular e secreção tubular. Ou seja, o nível sérico da creatinina aumentará tardiamente, após 2 a 3 dias do decréscimo agudo da TFG (BAND *et al.*, 2007; LAFRANCE *et al.*, 2010; LEVEY *et al.*, 2005; WEISBORD *et al.*, 2006).

Band e cols., correlacionando esses dois parâmetros (Cr e TFG), identificaram que 40% dos pacientes cuja creatinina sérica estava menor que 1,5mg/dl, apresentavam TFG estimada (TFG_e) abaixo de 60ml/mim/1,73m². Além disso, a lesão tubular aguda não levaria obrigatoriamente a alterações significativas nas concentrações da creatinina séricas necessárias para o diagnóstico de insuficiência renal aguda. Também, espera-se que ocorra aumento acima de 50% na concentração da creatinina sérica, para se confirmar o diagnóstico de Lesão Renal Aguda (LRA). Por consequência, nas fases iniciais da LRA uma redução acentuada da taxa de filtração glomerular pode manifestar-se com pouca evidência clínica, mesmo que os pacientes tenham sua função renal previamente reduzida (BAND *et al.*, 2007, LAFRANCE *et al.*, 2010; LEVEY *et al.*, 2005; MCCULLOUGH *et al.*, 2006). Além disso, quando ocorre uma LRA, os aumentos nos valores esperados creatinina sérica, ocorrem tardiamente e, portanto, pode não refletir em tempo real as alterações na função renal (BAND

et al., 2007; LAFRANCE et al., 2010; MCCULOUG *et al.*, 2006; WEISBORD *et al.*, 2006). Portanto, se o diagnóstico da Lesão Renal Aguda (LRA) for baseado exclusivamente no aumento tardio da creatinina sérica, as decisões para o tratamento e o estabelecimento de medidas preventivas para evitar danos nos renais poderão não ser eficazes (CHOYKE *et al.* 1998; LEVEY *et al.*, 2005; LAFRANCE *et al.*, 2010; MCCULOUG *et al.*, 2006).

Quanto aos túbulos renais, várias proteínas são expressas quando ocorre LRA. A Lipocalina Associada à Gelatinase Leucocitária (NGAL) é um dos biomarcadores da LRA e da doença renal crônica (DRC) (DEVARAJAN *et al.*, 2003; WAGENER *et al.*, 2006; BOLIGNANO *et al.*, 2008; MALYSKO *et al.*, 2008). Este é um peptídeo do grupo da lipocalina, de baixo peso molecular (25 kdaltons), ligada covalentemente à gelatinase neutrofílica, rapidamente excretado e detectável na urina e no sangue, resistente à degradação. É normalmente expresso em baixos níveis em diversos epitélios, como próstata, trato intestinal, respiratório e neutrófilos (fontes extra renais). Contudo, é intensamente produzida nos túbulos renais, após um evento lesivo. Estudos genéticos de necrose tubular aguda tem demonstrado rápida expressão de mRNA do NGAL no ramo ascendente da alça de Henle e dutos coletores, onde então são produzidos e excretados, constituindo-se a origem urinária do NGAL (fonte renal). Estudos iniciais da cinética dessa proteína demonstraram aumento urinário e sanguíneo, dentro de duas a seis horas após a injúria renal, sendo isso correlacionável com a duração e intensidade da lesão renal (MORI K *et al.*, 2005;DEVARAJAN *et al.*, 2003; MORRI T *et al.*, 2003) A dosagem da concentração sérica ou urinária do NGAL pode ser utilizada para se estabelecer o diagnóstico e o prognóstico da insuficiência renal aguda e crônica. Também é uma molécula sensível e específica, com estabilidade bioquímica, alto gradiente de variação, aumenta proporcionalmente com a extensão da lesão renal em atividade, correlaciona-se com a severidade de perda da TFG e tem mecanismos de formação conhecidos. Ressalta-se a capacidade dessa molécula diagnosticar precocemente mesmo pequenos danos renais, os quais, apenas tardiamente, serão evidenciáveis pelo aumento nas concentrações da creatinina sérica (BACHORZEWSKA *et al.*, 2007; WAGENER *et a.*, 2006). O NGAL é um novo biomarcador com capacidade preditiva da LRA, não só em situações extremas como cirurgia cardíaca, mas também em procedimentos rotineiros como a angiografia coronariana eletiva (BACHORZEWSKA, *et al.*, 2007, WEBER *et al.*, 2011) Assim, a sua dosagem pode antecipar o diagnóstico da LRA em pelo menos 48 a 72 horas antes do aumento da creatinina sérica. Enfim, trata-se de um marcador em tempo real da lesão tubular aguda, e, conseqüentemente, permite iniciar medidas terapêuticas e preventivas precocemente (MORI

et al., 2005; WAGENER *et al.*, 2006; BOLIGNANO *et al.*, 2008). A meta-análise publicada por Hasse (HASSE *et al.*, 2009), definiu que os valores acima de 100 ng/dl têm sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de LRA. Também nos pacientes com DRC, a dosagem do NGAL é um biomarcador capaz de acrescentar conhecimento quanto à possível redução da TFG, uma vez que sua concentração encontra-se frequentemente aumentada nessa doença (BOLIGNANO *et al.*, 2008a; BOLIGNANO *et al.*, 2008b; BOLIGNANO *et al.*, 2008c; LAFRANCE *et al.*, 2010). Esse achado foi atribuído por Mori à sua produção aumentada pelo epitélio tubular persistentemente inflamado, sendo proposta a "teoria da floresta em chamas na piora da função renal". De acordo com essa teoria, na presença de DRC, o número de néfrons funcionantes é menor; portanto, uma lesão tubular nesses pacientes, produziria maior impacto na TFG do que naqueles pacientes com função renal normal (MORI K *et al.*, 2007). Contudo, existem diversos fatores que dificultam a confirmação do aumento do NGAL proveniente de dano tubular renal. Entre esses, estão os processos inflamatórios sistêmicos, doença cardíaca crônica, hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus. Outros fatores a serem considerados são as angiografias emergenciais, o tempo de duração do procedimento e o volume do contraste radiológico infundido durante a angiografia coronariana. Também a idade e o gênero podem estar associados com valores diferentes do NGAL. Todas essas variáveis se superpõem, dificultando a obtenção de grupos comparativos de pacientes, rigorosamente semelhantes (BACHORZEWSKA *et al.*; BOLIGNANO *et al.*, 2008a; BOLIGNANO *et al.*, 2009b; BOLIGNANO *et al.*, 2008c; GRANDALIANO *et al.*, 2000; LAFRANCE *et al.*, 2010; LEVEY *et al.*, 2005; MALISZKO *et al.*, 2008; MCCULLOUGH *et al.*, 2006a; MCCULLOUGH *et al.*, 2006b; YANG *et al.*, 2009).

Entretanto, uma grande limitação do NGAL é o fato de que existe pouco conhecimento sobre sua acurácia diagnóstica de comprometimento da função renal, nos pacientes portadores de DRC. Nessa condição, alguns investigadores encontraram variações extremas desse marcador, podendo estar tão baixa como 4 ng/ml mas podendo ultrapassar 800 ng/ml (BOLIGNANO *et al.*, 2008a; BOLIGNANO *et al.*, 2008b; BOLIGNANO *et al.*, 2008c). Por outro lado, atualmente observa-se o aumento progressivo de procedimentos cardiológicos invasivos e estes se associam a maiores riscos de instabilidades hemodinâmicas, toxicidade por contraste radiológico e, conseqüentemente, LRA (MALISZKO *et al.*, 2008; WEISBORD *et al.*, 2006; WEBER *et al.*, 2011). Na literatura médica foram publicados alguns trabalhos sobre a dosagem do NGAL_u e suas possíveis correlações com as concentrações da creatinina sérica em pacientes portadores de DRC submetidos à angiografia coronariana eletiva (MALISZKO

et al., 2008; WEISBORD *et al.*, 2006; BACHORZEWSKA *et al.*, 2007; WEBER *et al.*, 2011). Entretanto, no Brasil não existem pesquisas publicadas sobre NGAL_u e angiografia coronariana.

De um modo geral, os médicos são frequentemente confrontados com a questão de utilizar ou não medicamentos e agentes potencialmente nefrotóxicos em pacientes com função renal reduzida antes da infusão de contraste radiológico em procedimentos cineangiográficos. Normalmente, se utiliza apenas os valores prévios de creatinina sérica para decidir o tipo e volume do contraste radiológico a ser infundido no estudo hemodinâmico. Habitualmente, nessas situações, nenhum outro exame adicional costuma ser feito para a avaliação da função renal e os pacientes recebem alta hospitalar logo após o término da cineangiografia. Todavia, em algumas ocasiões, quando o paciente retorna ao atendimento médico, é descoberto, tardiamente, que houve piora da função renal.

Nessa situação, angiografia coronariana eletiva, o NGAL_u, que é considerado um marcador precoce de dano tubular renal, seria clinicamente mais útil se estivesse correlacionado com os valores de creatinina sérica dos pacientes com e sem redução da TFG_e, tanto antes como após a infusão do agente de contraste radiológico.

II. OBJETIVOS

Avaliar o $NGAL_u$ como um possível biomarcador da concentração sérica da creatinina nos pacientes com e sem redução da TFG_e .

Verificar possíveis correlações entre o $NGAL_u$ com as concentrações da creatinina sérica basais e tardios, na angiografia coronariana eletiva.

III. PACIENTES E MÉTODOS

Este é um estudo duplo-cego prospectivo, observacional, realizado em 247 pacientes consecutivamente agendados para angiografia coronariana eletiva entre março e agosto de 2011, no Instituto do Coração do Triângulo, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

O Comitê de Ética em Pesquisa- CEP da Universidade Federal de Uberlândia aprovou este estudo (protocolo 381/10); a partir de então, foi obtida a história clínica detalhada e realizado o exame físico dos pacientes.

Antes de iniciar o estudo hemodinâmico, foram coletadas amostras de sangue para determinar os níveis de creatinina sérica (Cr 1) e, concomitantemente, obtiveram-se as amostras de urina para determinar os níveis basais do NGAL_u 1.

Duas horas depois da infusão do agente de contraste radiológico ser infundido, outra amostra de urina foi colhida para a determinação sequencial da concentração do NGAL_u 2.

Os pacientes receberam alta hospitalar seis horas após a angiografia coronária, sendo obtida outra amostra de sangue após 48 horas da alta hospitalar, para a determinação da concentração final da creatinina sérica (Cr 2).

A urina de todos os pacientes foi submetida à centrifugação padrão, conforme rotina nos laboratórios participantes no estudo, sendo então realizado o exame de Elementos Anormais do Sedimento (EAS).

As amostras de sangue foram coletadas em tubo de ensaio padrão para o exame de creatinina sérica e, a seguir, foram submetidas à centrifugação padrão.

Em seguida, todo esse material (amostras de sangue e urina) foi congelado a -80° centígrados e mantido em laboratório de pesquisa da UFU.

Posteriormente, depois de encerradas todas as coletas, as amostras de sangue e urina foram descongeladas e executou-se, ao mesmo tempo, a análise laboratorial do NGAL, na urina e da creatinina, no sangue.

3.1 Os grupos do estudo

Da população inicial, foram incluídos 24 pacientes com o TFG_e, abaixo de 60 ml/min/1.73m² antes da infusão do contraste (grupo R). O grupo de controle (grupo C) foi formado com pareamento 1:3, isto é, para cada paciente diagnosticado como portadores de TFG_e reduzida (abaixo de 60ml/min/1.73m²), foram selecionados três outros pacientes com TFG_e acima desse valor, composto por 72 pacientes.

O objetivo dessa metodologia foi minimizar a influência dos fatores de confusão, como idade, gênero e principais comorbidades, que poderiam influenciar as concentração do NGAL_u.

Foram excluídos os pacientes com níveis basais NGAL_u acima de 100 ng/dl e as amostras de urina com leucocitúria (> 10.000 leucócitos /ml). Também, foram excluídas as amostras de sangue ou urina em que houve falhas técnicas de coleta, de conservação ou de execução dos testes laboratoriais

3.2 Cateterismo cardíaco e hidratação

O cateter foi introduzido via artéria radial (Tigrad®, teerumo, Tóquio, JP) ou femoral (Judkins, Pigtail, Merit, Galway, Ir) e, uma vez posicionado centralmente, foi infundido, a critério do médico responsável pelo procedimento angiográfico, um contraste iodado hiperosmolar (Pielograf, Justina Bayer, São Paulo, Br). Todos os pacientes receberam 500 ml de solução salina (0,9%), IV, e 500 ml de água e/ou sucos por via oral durante o período de hospitalização (seis horas).

3.3 Dosagens das concentrações do NGAL_u e Cr.

O NGAL_u foi dosado utilizando o ensaio de ARCHITECT® (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, EUA). As concentrações da Cr sérica foram determinadas usando o método Jaffé modificado [FABINY *et al.*, 1971;] e a TFG_e foi calculada pela equação da Modificação da Dieta na Doença Renal (MDRD_e de quatro componentes) (LEVEY *et al.*, 2005).

3.4 Análises estatísticas

Para identificar se as variáveis apresentavam distribuição normal, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis contínuas foram apresentadas pelos valores médios e desvio padrão ou mediana com intervalos interquartis, conforme o caso. O teste t de Student foi utilizado para comparar as variáveis com distribuição normal e o teste de Mann-Whitney, qui-quadrado ou Wilcoxon foram utilizados para as variáveis com distribuição não paramétrica. Correlações entre creatinina sérica e NGAL_u foram avaliadas por meio do teste de Spearman. Um valor de P <0,05 foi considerado para indicar significância estatística. Todas as análises foram realizadas em GraphPad Prism ®, versão 6.0, para Windows.

IV. RESULTADOS

Este capítulo apresenta os resultados desta pesquisa.

A Tabela 1 descreve as características dos pacientes dos grupos C e R. Os grupos foram semelhantes com relação às suas variáveis clínicas e demográficas, exceto para os valores de TFGe, que foram significativamente maiores no grupo C ($93,1 \pm 19,9$ versus $49,6 \pm 8,7$ ml min. $1,73 \text{ m}^2$; $P < 0,0001$).

TABELA 1 Características basais da população do estudo.

	C	R	P
N (%)	72 (75)	24 (25)	
Sexo % (M/F)	45/55	48/52	0,58
Caucasiano % (Branco/Outros)	20/80	18/82	0,36
Idade (Anos)	$63 \pm 6,9$	$66,2 \pm 9,6$	0,30
T.F.G MDRD(ml/min/ $1,73 \text{ m}^2$)	$93,1 \pm 19,9$	$49,6 \pm 8,7$	$< 0,0001$
I.M.C(kg/ m^2)	$28,1 \pm 5$	$26,9 \pm 3,8$	0,48
Pressão Arterial (mmHg)			
Sistólica	$133,1 \pm 19,1$	$138,4 \pm 25,2$	0,56
Diastólica	$80,9,9 \pm 10,9$	$83,7 \pm 10,9$	0,50
Hidratação SF 0.9% (ml)	$623,3 \pm 309,9$	$828,6 \pm 567,8$	0,54
Volume do contraste (ml)	$73,1 \pm 45,5$	$74,1 \pm 48,7$	0,73
DM (%)	33	31	0,80
HAS (%)	83	87	0,70

M, masculino, F, feminino; TFG, Taxa de filtração glomerular; MDRD, Modificação da Dieta na Doença Renal; IMC, Índice de Massa Corporal; DM, Diabetes Mellitus; HAS, Hipertensão Arterial Sistêmica.
C:Grupo com $\text{TFG} \geq 60 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$; R:Grupo com $\text{TFG} < 60 \text{ ML/min.}/1,73 \text{ m}^2$.

4.1 Concentrações do NGAL_u e da creatinina sérica antes e depois da angiografia coronariana.

A Tabela 2 descreve os valores médios de concentrações do NGAL_u e da creatinina sérica nos grupos C e R, antes e depois da cineangiografia (respectivamente, NGAL_u 1 e Cr 1 e NGAL_u 2 e Cr 2). Observou-se que os valores do NGAL_u foram significativamente mais elevados no grupo C do que no R, antes e depois da infusão do contraste (P <0,05). Da mesma forma, observou-se que os valores da creatinina sérica foram significativamente maiores no grupo R em relação ao C (P<0,05).

TABELA 2 Concentrações do NGAL_u e creatinina sérica antes e após a angiografia coronariana.

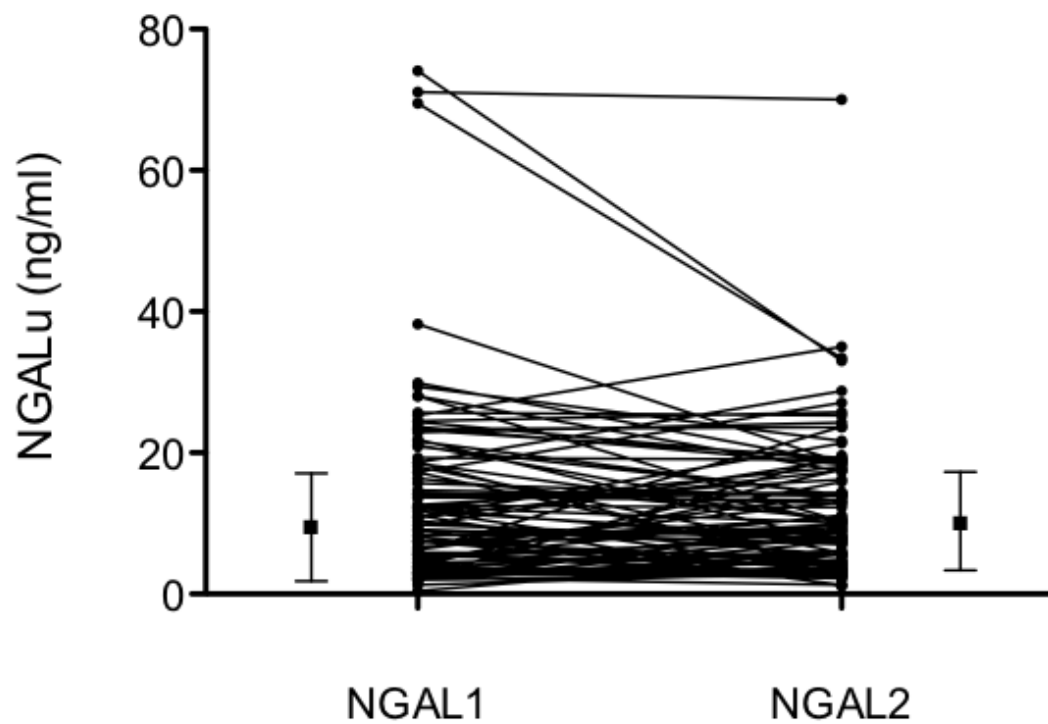
	NGAL _u 1 ng/ml	Cr 1 mg/dl	NGAL _u 2 ng/ml	Cr 2 mg/dl
Grupo C	7,1 (1,2-27,1)	0,8 (0,3-1,1)	6,6 (0,4-21,9)	0,8(0,3-1,5)
Grupo R	24 (10,9-74,1)	1,3 (1-1,9)	19,1(10,3-70)	1,2 (0,5-2,5)

C: Grupo com taxa de filtração glomerular ≥ 60 ml/min./1,73m²; **R:** Grupo com taxa de filtração glomerular < 60ml/min./1,73m²; **NGAL 1:** duas horas antes da cineangiografia; **NGAL 2:** duas horas após a cineangiografia; **Cr 1:** duas horas antes da cineangiografia; **Cr 2:** dois dias após a cineangiografia.

4.2 Concentrações do NGALu 1 e NGALu 2 na população estudada (grupos C e R).

A Figura 1 mostra as concentrações urinárias do NGAL antes e após a angiografia coronariana (NGAL 1 *versus* NGAL 2). Não houve alterações estatisticamente significativas nos valores médios desse biomarcador (P: 0,56)

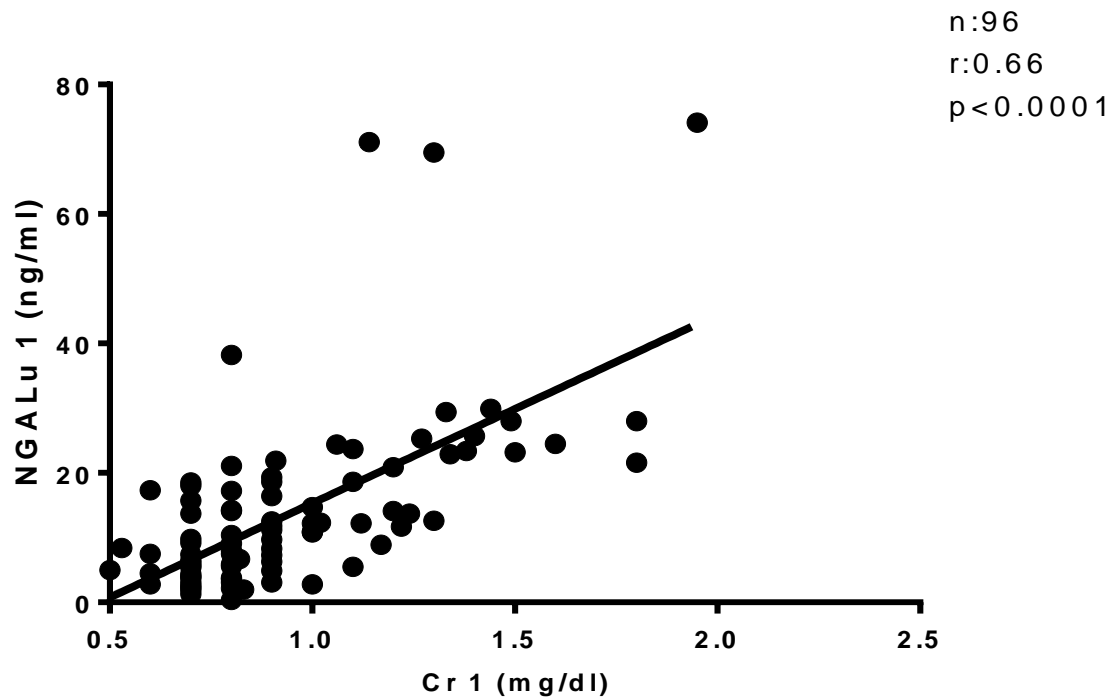
FIGURA 1 Concentrações do NGALu 1 e NGALu 2.



4.3 Correlações entre NGAL_u 1 com a Cr 1 antes da angiografia coronariana.

A Figura 2 mostra correlação positiva e significativa entre as concentrações da Cr 1 com os valores do NGAL_u antes da infusão do contraste (r: 0,66; P <0,0001).

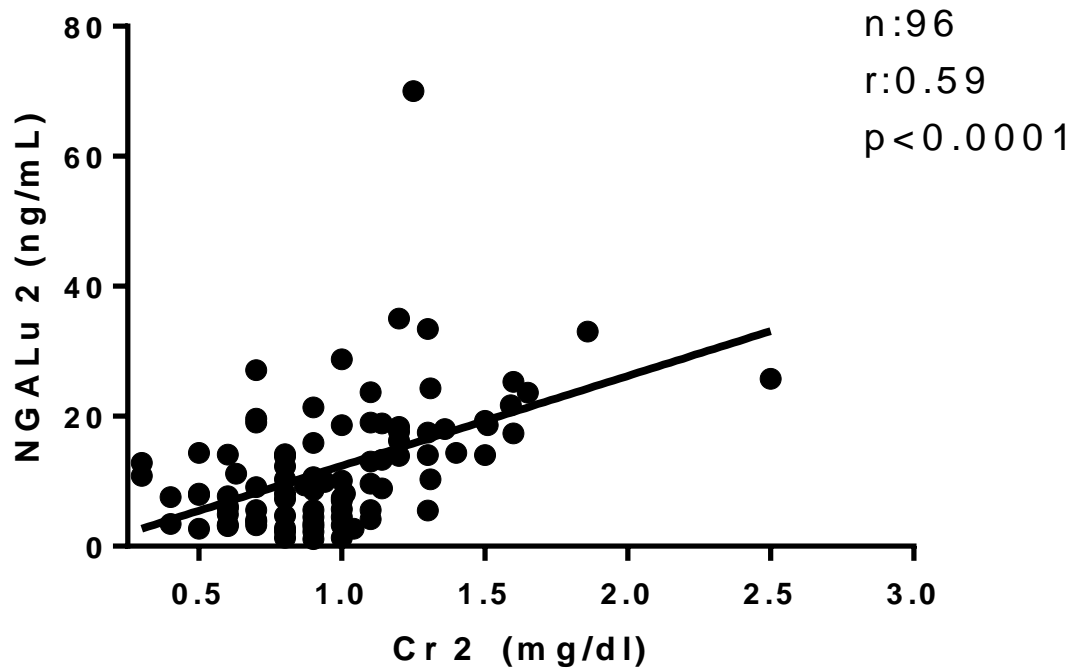
FIGURA 2 Correlação entre NGAL_u 1 com a Cr 1 antes da angiografia coronariana.



4.4 Correlações entre NGAL_u 2 com a Cr 2 após a angiografia coronariana.

A Figura 3 mostra correlação positiva e significativa entre as concentrações do NGAL_u 2 horas após a angiografia coronariana, com os valores da Cr 2 sérica obtida 48 horas após a alta hospitalar ($r: 0,59$; $P < 0,0001$).

FIGURA 3 Correlação entre NGAL_u 2 com a Cr 2 após a angiografia coronariana.



V. DISCUSSÃO

Nesse estudo, descrevemos as diferenças na concentração do NGAL_u entre os pacientes com TFG_e reduzida (abaixo de $60 \text{ ml/min.1,73m}^2$) e aqueles com o TFG_e igual e superiores a estes valores, antes e depois da infusão de contraste radiológico para a angiografia coronariana. Foram utilizados dois grupos de pacientes semelhantes em relação à idade, gênero e comorbidades, mas diferentes no que diz respeito à concentração da Cr e TFG_e . Escolheram-se esses critérios para a formação dos grupos, a fim de minimizar a influência de fatores que poderiam afetar a concentração de NGAL_u (MALISZKO *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2009; FU *et al.*, 2012).

Foi observada, tanto antes como após a administração do agente de contraste, concentração do NGAL_u três vezes maior no grupo R do que no C (Tabela 2). Isso está de acordo com trabalhos publicados que encontraram correlação significativa e positiva entre a creatinina sérica e o NGAL_u com a quantidade de néfrons danificados cronicamente e, dessa forma, estabeleceram uma associação entre a intensidade de lesão renal e a concentração do NGAL_u (GRANDALIANO *et al.*, 2000; MORII T *et al.*, 2003; MORI K *et al.*, 2005; MORI K *et al.*, 2007;).

Ao analisar-se o comportamento do NGAL_u antes e após o uso de contraste radiológico, foram observadas pequenas variações individuais nas concentrações do NGAL_u antes e após a angiografia coronariana, apesar de que as suas concentrações médias permaneceram inalterados (Figura 1). Foi suposto que essas variações do NGAL_u poderiam estar associadas com as concentrações da creatinina sérica. Em decorrência disso, estudamos as correlações entre as concentrações do NGAL_u com a creatinina sérica antes e após a angiografia coronariana.

Os nossos dados demonstram que as concentrações NGAL_u se correlacionaram com as concentrações da Cr 1 antes da infusão do agente de contraste (Figura 2, $r = 0,66$, $P < 0,0001$). Como as dosagens da Cr 1 e NGAL_u 1 foram realizadas ao mesmo tempo antes da administração de contraste radiológico, a correlação encontrada demonstrou que, em pacientes com função renal estável, as concentrações do NGAL_u podem refletir o estado de filtração glomerular. Esses resultados estão de acordo com as conclusões de outros autores segundo os quais, em pacientes estáveis, os valores NGAL_u podem refletir a função renal (BACHORZEWSKA *et al.*, 2007; BOLIGNANO *et al.*, 2008a; BOLIGNANO *et al.*, 2008b; BOLIGNANO *et al.*, 2008c; MALYSKO *et al.*, 2008;).

Além disso, os valores de $NGAL_u$ obtidos duas horas após a infusão de agente de contraste radiológico ($NGAL_2$), também foram correlacionados com as concentrações da creatinina sérica, dosadas depois de 48 horas da alta hospitalar dos pacientes. A Figura 3 mostra a correlação significativa entre as duas variáveis ($r: 0,59; P < 0,0001$). Isso indicaria que o $NGAL_u$ pode antecipar o estado futuro da filtração renal, após o uso de agentes nefrotóxicos. Portanto, esses achados podem ajudar na prevenção de insuficiência renal aguda induzida por meio de injeção de contraste em pacientes submetidos à angiografia coronária.

Por outro lado, Bachorzewska e colaboradores, observaram um aumento discreto do $NGAL$ sérico e urinário em pacientes com função renal normal de duas a quatro horas após o uso de meio de contraste radiológico, enquanto a creatinina sérica permaneceu inalterada (BACHORZEWSKA *et al*, 2007). Entretanto, os nossos resultados são semelhantes aos encontrados por Weber que também não identificaram aumento significativo na concentração da creatinina sérica e do $NGAL_u$ após a infusão do agente de contraste (WEBER *et al.*, 2011). Na presente pesquisa, a manutenção das concentrações da Cr e do $NGAL_u$ após a angiografia coronariana, foi atribuída à uma hidratação adequada.

Enfim, foi observado que a concentração do $NGAL_u$ foi superior em pacientes com diminuição da filtração glomerular abaixo de $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$, em comparação com aqueles com valores acima deste parâmetro. Além disso, a concentração do $NGAL_u$ dosado duas horas antes da angiografia coronariana mostrou correlação positiva e significativa com os valores da Cr, obtidos antes desse procedimento. Também, as concentrações do $NGAL_u$ obtido 2 horas após a angiografia coronariana foi correlacionável com a creatinina sérica obtida dois dias após a alta hospitalar.

VI. CONCLUSÕES

As concentrações do NGAL_u foram maiores nos indivíduos com filtração glomerular reduzida, quando comparados com os respectivos controles, podendo, assim, ser considerado um biomarcador do estágio da filtração glomerular, em indivíduos com função renal estável.

Os valores do NGAL_u antes e após a angiografia coronariana correlacionaram-se com os a creatinina sérica obtidos imediatamente antes da infusão do contraste radiológico e após 48 horas da alta hospitalar, sugerindo que o NGAL_u pode refletir em tempo real as dosagens das creatininas séricas e também foi capaz de antecipar a evolução posterior de suas concentrações.

O NGAL_u foi correlacionado com a concentração da creatinina sérica em pacientes com e sem redução da TFGe, podendo ser um biomarcador útil na prevenção da LRA, especialmente em pacientes com redução prévia da TFG.

Outros estudos prospectivos devem ser realizados em pacientes em diferentes estágios da insuficiência renal, a fim de estabelecer e confirmar estes resultados.

VII. REFERÊNCIAS

BACHORZEWSKA-GAJEWSKA, H.; MALYSZKO, J.; SITNIEWSKA, E.; MALYSZKO, J. S.; PAWLAK, K.; MYSLIWIEC, M.; LAWNICKI, S.; SZMITKOWSKI, M.; DOBRZYCKI, S.. Could neutrophil-gelatinase-associated lipocalin and cystatin C predict the development of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine values? **Kidney Blood Press Res.** 30:408-15, 2007.

BAND, R. A.; GAIESKI, D. F.; MILLS, A.M.; SEASE, K. L.; SHOFER, F. S.; ROBEY, J. L.; HOLLANDER, J. E. Discordance between serum creatinine and creatinine clearance for identification of ED patients with abdominal pain at risk for contrast-induced nephropathy. **Am J Emerg Med.** 25:268-72, 2007.

BARRETT, B. J.; CARLISLE, E. J. Metaanalysis of the relative nephrotoxicity of high- and low-osmolality iodinated contrast media. **Radiology.** 188:171-8, 1993.

BOLIGNANO, D.; COPPOLINO, G.; LACQUANITI, A.; NICOCIA, G.; BUEMI, M. Pathological and prognostic value of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in macroproteinuric patients with worsening renal function. **Kidney Blood Press Res.** 31:274-9, 2008a.

_____ DONATO, V.; COPPOLINO, G.; CAMPO, S.; BUEMI, A.; LACQUANITI, A.; BUEMI, M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. **Am J Kidney Dis.** 2008;52:595-605, 2008b.

_____ LACQUANITI, A.; COPPOLINO, G.; CAMPO, S.; ARENA, A.; BUEMI, M.. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin reflects the severity of renal impairment in subjects affected by chronic kidney disease. **Kidney Blood Press Res.** 31:255-8, 2008c.

_____ Lacquaniti A; Coppolino G; Donato V; Fazio MR; Nicocia G; Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients. **Kidney Blood Press Res.** 32:91-8, 2009.

CHOYKE, P. L.; CADY, J.; DEPOLLAR, S. L.; AUSTIN, H. Determination of serum creatinine prior to iodinated contrast media: is it necessary in all patients? **Tech Urol.** 4:65-9, 1998.

DEVARAJAN, P.; MISHRA, J.; SUPAVEKIN, S.; PATTERSON, L. T.; STEVEN POTTER, S. Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis; biomarker discovery; and novel therapeutics. **Mol Genet Metab.** 80:365-76, 2003.

FABINY, D. L.; ERTINGSHAUSEN, G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CentrifChem. **Clin Chem.** 17:696-700, 1971.

FU, W. J.; XIONG, S. L.; FANG, Y. G.; WEN, S.; CHEN, M. L.; DENG, R.T.; ZHENG, L.; WANG, S. B.; PEN, L. F.; WANG, Q. Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study. **Endocrine.** 41:82-8, 2012.

GRANDALIANO, G.; GESUALDO, L.; BARTOLI, F.; RANIERI, E.; MONNO, R.; LEGGIO, A.; PARADIES, G.; CALDARULO, E.; INFANTE, B.; SCHENA, F. P. MCP-1 and EGF renal expression and urine excretion in human congenital obstructive nephropathy. **Kidney Int.** 58:182-92, 2000.

HAASE, M.;DEVARAJAN, P; BELLOMO, R; et al; Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalyn (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. **Am J Kidney Dis**, United State, v.54, p.1012-1024,

LAFRANCE, J. P.; DJURDJEV, O.; LEVIN, A. Incidence and outcomes of acute kidney injury in a referred chronic kidney disease cohort. **Nephrol Dial Transplant.** 25:2203-9, 2010.

LEVEY, A.S.; ECKARDT, K. U.; TSUKAMOTO, Y.; LEVIN, A.; CORESH, J.; ROSSERT, J.; DE ZEEUW, D.; HOSTETTER, T. H.; LAMEIRE, N.; EKNOYAN, G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). **Kidney Int.** 67:2089-100, 2005.

MALYSZKO, J.; BACHORZEWSKA-GAJEWSKA, H.; MALYSZKO, J. S.; PAWLAK, K.; DOBRZYCKI, S. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in hypertensive and normotensive patients with coronary artery disease. **Nephrology (Carlton).** 13:153-6, 2008.

MCCULLOUGH, P. A.; ADAM, A.; BECKER, C. R.; DAVIDSON, C.; LAMEIRE, N.; STACUL, F.; TUMLIN, J.; CIN Consensus Working Panel. Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. **Am J Cardiol** 98:5K-13K,2006.

_____ ;ADAM. A.; BECKER, C. R.; DAVIDSON, C.; LAMEIRE. N.; STACUL, F.; TUMLIN. J. CIN Consensus Working Panel. Risk prediction of contrast-induced nephropathy. **Am J Cardiol.** 98:27K-36K, 2006.

MORI, K.; NAKAO, K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. **Kidney Int.** 2007;71:967-70.

_____ ; LEE H. T.; RAPOPORT, D; DREXLER, I.R.; FOSTER, K.; YANG, J.; SCHMIDT-OTT, K. M.; CHEN X; LI, J.Y.; WEISS, S.; MISHRA, J.; CHEEMA, F.H.; MARKOWITZ, G.; SUGANAMI, T.; SAWAI, K.; MUKOYAMA, M.; KUNIS, C.; D'AGATI, V.; DEVARAJAN, P.; BARASCH, J.. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. **J Clin Invest.** 115:610-21, 2005.

MORII, T.; FUJITA, H.; NARITA, T.; KOSHIMURA, J.; SHIMOTOMAI, T.; FUJISHIMA, H.; YOSHIOKA, N; IMAI, H.; KAKEI, M.; ITO. S. Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 in proteinuric renal diseases. **Ren Fail.** 25:439-44,2003.

WAGENER G.; JAN, M.; KIM, M.; MORI, K.; BARASCH, J. M.; SLADEN, R. N.; LEE, H. T. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. **Anesthesiology.** 105:485-91, 2006.

WEBER, C.L.; BENNETT, M.; ER, L.; BENNETT, M. T.; LEVIN, A. Urinary NGAL levels before and after coronary angiography: a complex story. **Nephrol Dial Transplant.** 26:3207-11, 2011.

WEISBORD, S. D.; CHEN. H.; STONE, R. A.; KIP, K. E.; FINE, M. J.; SAUL, M. I.; PALEVSKY, P. M. Associations of increases in serum creatinine with mortality and length of hospital stay after coronary angiography. **J Am Soc Nephrol.** 17:2871-7, 2006.

YANG, Y. H.; HE, X. J.; CHEN, S. R.; WANG. L.; LI, E. M.; XU, L. Y. Changes of serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in type-2 diabetic patients with nephropathy: one year observational follow-up study. **Endocrine.** 36:45-51, 2009.

