

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS  
CURSO DE FARMÁCIA

Suzana da Silva

**O papel dos biomarcadores TIMP-2, IGFBP7 e L-FABP no diagnóstico da lesão renal  
aguda**

Florianópolis

2020

Suzana da Silva

**O papel dos biomarcadores TIMP-2, IGFBP7 e L-FABP no diagnóstico da lesão renal  
aguda**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Orientadora: Profa. Dirleise Colle, Dra.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

da Silva, Suzana  
O papel dos biomarcadores TIMP-2, IGFBP7 e L-FABP no diagnóstico da lesão renal aguda / Suzana da Silva ; orientador, Dirleise Colle, 2020.  
71 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Lesão Renal Aguda. 3. L-FABP. 4. TIMP 2. 5. IGFBP7. I. Colle, Dirleise. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Este trabalho é dedicado aos meus colegas de classe e aos meus queridos pais.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus e aos meus pais, Sônia e Osmarino, que sempre me incentivaram a estudar e ser uma pessoa melhor, sendo sempre presentes em toda a minha vida, abdicando de coisas para si para poder garantir os meus estudos.

Ao meu amado Maicon, que acompanhou toda a minha trajetória dentro da universidade, estando sempre ao meu lado, ouvindo as alegrias e também as reclamações, me ajudando sempre, com muito amor. Você é minha fonte de inspiração, como aluno exemplar, e foi meu porto seguro em meio à todas as tempestades que sugiram neste caminho.

Aos meus queridos colegas de turma, em especial Francieli, Maria Helena, Jaqueline, Isabelle, Luany, Jéssica e Marlon, que me acompanharam desde o início, sendo parceiros de trabalhos, estudos, estágios, dos quais sempre lembrarei de todos os momentos de risada e companheirismo, que vivemos ao longo destes 5 anos de curso. Vocês foram parte essencial desta conquista!

Às minhas supervisoras de estágios, em especial, as farmacêuticas Marina, Aline, Karina, Ana Paula, Juliana e Samira, que me ensinaram a profissão que seguem com tanto amor, sendo fontes de inspiração para a minha caminhada futura!

Aos professores, em especial os do CIF e ACL, que transmitiram sua sabedoria com amor e carinho, sendo indispensáveis na formação de profissionais de qualidade. Em especial, agradeço à minha orientadora, profa. Dirleise, que sempre me ajudou a clarear as ideias e coloca-las no papel, sempre ágil e muito atenciosa!

À UFSC, que se tornou minha segunda casa, por ser uma excelente instituição de ensino, sempre garantindo o ensino de qualidade e dando amparo e apoio aos alunos!

A todos que ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho!

## RESUMO

A lesão renal aguda (LRA) é uma síndrome caracterizada por uma rápida diminuição da função excretora renal. É uma condição clínica muito comum e acontece principalmente no âmbito hospitalar. A síndrome possui características clínicas variadas e pode ocorrer concomitantemente ou em decorrência de outras doenças. Sepses, cirurgias cardíacas, uso de medicamentos, uso de contraste e internação em unidade de terapia intensiva podem levar ao desenvolvimento de LRA. Seu diagnóstico atualmente é feito com base nos valores da taxa de filtração glomerular e da creatinina sérica, porém, devido às limitações da creatinina, ela geralmente só aumenta consideravelmente quando o paciente já possui uma lesão grave. O desenvolvimento de novos biomarcadores que possam diagnosticar a LRA de forma mais rápida vem acontecendo ao longo dos últimos anos com o objetivo de auxiliar no tratamento correto e precoce e na posterior redução de sequelas e mortalidade. A proteína ligadora de ácidos graxos do tipo hepática (L-FABP), quando ocorre um processo de peroxidação lipídica decorrente de algum estresse na célula renal, se liga aos lipoperóxidos e transporta essas estruturas para o lúmen tubular, retirando-as de dentro das células e impedindo a peroxidação lipídica e a lesão da célula renal. Já o inibidor tecidual de metaloproteinases 2 (TIMP-2) e o insulín growth factor binding protein 7 (IGFBP7) são marcadores de parada do ciclo celular, e estão envolvidos no controle de cinases e proteínas P que promovem uma parada de divisão celular na fase G1 para que a célula tubular renal possa reparar seus defeitos de divisão. Este trabalho, uma revisão integrativa da literatura, avaliou os biomarcadores L-FABP, TIMP-2 e IGFBP7 como biomarcadores de diagnóstico, utilizando como parâmetro principal a análise da área sob a curva receiver operating characteristic (AUC-ROC). Foram utilizadas as bases de dados Pubmed e Scielo, e foram incluídos nesta revisão 38 artigos - 15 da L-FABP e 23 de TIMP-2 e/ou IGFBP7 - publicados entre 2010 e 2020, em português ou inglês, com o objetivo de verificar se estes biomarcadores são úteis para o diagnóstico de LRA. Para esta análise levou-se em consideração os valores de AUC-ROC publicados nos estudos. A L-FABP se mostrou, em geral, um biomarcador ruim para diagnóstico de LRA, porém, em pacientes pós uso de contraste e pós cirurgia de grande porte se mostrou como um ótimo biomarcador (AUC-ROC de 0,92 e 0,85, respectivamente). Algumas limitações nos estudos podem ter dado origem ao resultado ruim, como por exemplo, diferenças na metodologia de análise e expressão de resultados e também um baixo número de pacientes incluídos em alguns estudos. Em relação ao TIMP-2 e IGFBP7, a média das AUC-ROC foi igual a 0,77, o que nos faz considerar o TIMP-2 e o IGFBP7 como biomarcadores razoáveis de LRA. Analisando individualmente em relação à condição clínica, assim como na L-FABP, ambos se mostraram melhores em pacientes com sepse e após cirurgias de grande porte (AUC-ROC de 0,84 e 0,85, respectivamente). Em geral, os 3 biomarcadores aumentam mais precocemente que a creatinina sérica e aparentam ser úteis para o diagnóstico, apresentando algumas limitações, porém, ainda são necessários amplos estudos, que abranjam mais países e uma população mais heterogênea para elucidar seu papel no diagnóstico da LRA.

**Palavras-chave:** Lesão renal aguda, L-FABP, TIMP-2, IGFBP7.

## ABSTRACT

Acute kidney injury (AKI) is a syndrome characterized by a quick decrease in renal excretory function. It is a very common clinical condition and occurs mainly in hospitals. The syndrome has multiple clinical characteristics and can occur concomitantly or as a result of other diseases. Sepsis, cardiac surgery, medications use, contrast use and intensive care unit (ICU) admission can lead to the development of AKI. Its diagnosis is currently made based on the values of glomerular filtration rate and serum creatinine, however, due to the limitations of creatinine, it usually only increases considerably when the patient already has a serious injury. The development of new biomarkers that can diagnose AKI more quickly has been happening over the last few years with the aim of helping in the correct and early treatment and in the subsequent reduction of sequelae and mortality. L-FABP is a liver type fatty acid binding protein and, when a lipid peroxidation process occurs due to some stress in the renal cell, it binds to lipoperoxides and transports these structures to the tubular lumen, removing them from inside the cells and preventing lipid peroxidation and kidney cell damage. Tissue inhibitor of metalloproteinases 2 (TIMP-2) and insulin growth factor binding protein 7 (IGFBP7), on the other hand, are markers of cell cycle arrest, and are involved in the control of kinases and P proteins that promote cell division arrest in the G1 phase so that the renal tubular cell can repair its division defects. This study, an integrative literature review, evaluated the biomarkers L-FABP, TIMP-2 and IGFBP7 as diagnostic biomarkers, using the area under the receiver operating characteristic curve (AUC-ROC) analysis as the main parameter. The Pubmed and Scielo databases were used, and 38 articles were included in this review - 15 from L-FABP and 23 from TIMP-2 and/or IGFBP7 - published between 2010 and 2020, in Portuguese or English, in order to verify whether these biomarkers are useful for the diagnosis of AKI. For this analysis, the AUC-ROC values published in the studies were taken into account. The L-FABP was, in general, a bad biomarker for the diagnosis of AKI, however, in patients after use of contrast and after major surgery it was shown to be an excellent biomarker (AUC-ROC of 0.92 AND 0.85, respectively). Some limitations in the studies may have given rise to the poor result, for example, differences in the methodology of analysis and expression of results and also a low number of patients included in some studies. In relation to TIMP-2 and IGFBP7, the average of AUC-ROC was equal to 0.77, which makes us consider TIMP-2 and IGFBP7 as reasonable biomarkers of AKI. Analyzing individually in relation to the clinical condition, as well as in the L-FABP, both were better in patients with sepsis and after major surgery (AUC-ROC of 0.84 and 0.85, respectively). In general, the 3 biomarkers increase earlier than serum creatinine and appear to be useful for diagnosis, with some limitations, however, extensive studies are needed, covering more countries and a more heterogeneous population to elucidate their role in the diagnosis of AKI .

**Keywords:** Acute Kidney Injury, L-FABP, TIMP-2, IGFBP7.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Origem dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 .....	24
Figura 2. Origem do biomarcador L-FABP.....	25
Figura 3. Sensibilidade e Especificidade .....	28
Figura 4. Comparação entre curvas ROC.....	29
Figura 5. Metodologia de seleção dos artigos para a revisão .....	36
Figura 6. Distribuição do número total de pacientes de acordo com o continente onde foi realizada a pesquisa para o biomarcador L-FABP. ....	37
Figura 7. Condições clínicas da população estudada para o biomarcador L-FABP .....	38
Figura 8. Distribuição do número total de pacientes de acordo com o continente onde foi realizada a pesquisa para os biomarcadores TIMP2 e IGFBP7. ....	41
Figura 9. Condições clínicas da população estudada para IGFBP7 e TIMP-2. ....	42
Figura 10. Média da AUC-ROC do biomarcador LFABP em relação às condições clínicas dos pacientes incluídos na revisão. ....	51
Figura 11. Média da AUC-ROC dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 em relação às condições clínicas dos pacientes incluídos na revisão. ....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação da LRA de acordo com os critérios RIFLE, AKIN e KDIGO. ....	19
Tabela 2. Características gerais dos estudos selecionados para a revisão do biomarcador L-FABP. ....	39
Tabela 3. Características gerais dos estudos selecionados para a revisão dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7. ....	43
Tabela 4. Análise do papel do biomarcador L-FABP como ferramenta de diagnóstico para a LRA. ....	47
Tabela 5. Análise do papel dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 como ferramenta de diagnóstico para a LRA. ....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

[TIMP-2].[IGFBP7] Produto dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7

Ac Anticorpo

Ag Antígeno

AINEs Anti-inflamatórios não esteroidais

AKIN *Acute Kidney Injury Network*

AUC-ROC Área sob a curva ROC

CDK Quinases dependentes de ciclina

CEC Circulação extra-corpórea

CKD-EPI Fórmula elaborada pelo grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

CrS Creatinina sérica

DNA Ácido desoxirribonucleico

ELISA *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EROs Espécies reativas de oxigênio

FABP Proteínas ligadoras de ácidos graxos

FDA *Food and Drug Administration*

IECA Enzima Conversora de Angiotensina

IGFBP7 *Insulin-like growth factor-binding protein 7*

IL-18 Interleucina 18

KDIGO *The Kidney Disease Improving Global Outcomes consensus classification*

KIM-1 Molécula de injúria renal 1

L-FABP Proteínas ligadora de ácido graxo do tipo hepática

LRA Lesão renal aguda

LRA-C Lesão renal aguda adquirida na comunidade

LRA-H Lesão renal aguda adquirida no ambiente hospitalar

MDRD Fórmula elaborada pelo grupo *Modification of Diet in Renal Disease*

N Total Número total de participantes no estudo

N LRA Número de pacientes que desenvolveram a lesão renal aguda no estudo

NAG N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidase

NGAL lipocalina associada à gelatinase neutrofílica

NTA Necrose Tubular Aguda

RIFLE *Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease*

ROC *Receiver operating characteristic curve*

TAVI Implante transcater de válvula aórtica

TFG Taxa de filtração glomerular

TFGe Taxa de filtração glomerular estimada

TIMP Inibidores teciduais de metaloproteinase

TIMP-2 Inibidor tecidual de metaloproteinase 2

TRS Terapia renal substitutiva

UTI Unidade de terapia intensiva

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	LESÃO RENAL AGUDA: ASPECTOS GERAIS E EPIDEMIOLÓGICOS .....	15
1.2	PRINCIPAIS CAUSAS DE LRA .....	16
1.3	DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DA LRA .....	17
1.4	DIAGNÓSTICO DA LRA .....	20
<b>1.4.1</b>	<b>Novos biomarcadores no diagnóstico da LRA .....</b>	<b>22</b>
<b>1.4.2</b>	<b>Desenvolvimento de novos biomarcadores .....</b>	<b>26</b>
<i>1.4.2.1</i>	<i>AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE UM BIOMARCADOR .....</i>	<i>27</i>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>32</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>33</b>
4.1	MÉTODOS DE BUSCA DOS ESTUDOS NA LITERATURA .....	33
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....	33
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	33
4.4	SELEÇÃO DOS ESTUDOS E EXTRAÇÃO DOS DADOS .....	34
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>35</b>
5.1	DOS ESTUDOS SELECIONADOS .....	35
5.2	CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS SELECIONADOS .....	36
<b>5.2.1</b>	<b>Características gerais dos estudos selecionados para a revisão do biomarcador L-FABP</b>	<b>36</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Características gerais dos estudos selecionados para a revisão dos biomarcadores IGFBP7 e TIMP-2.....</b>	<b>41</b>
5.3	O PAPEL DOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO DA LRA.....	46
<b>5.3.1</b>	<b>L-FABP no diagnóstico da LRA.....</b>	<b>46</b>

<b>5.3.2</b>	<b>TIMP-2 e IGFBP7 no diagnóstico da LRA .....</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 LESÃO RENAL AGUDA: ASPECTOS GERAIS E EPIDEMIOLÓGICOS

Lesão renal aguda (LRA), previamente conhecida como insuficiência renal aguda (IRA), é o termo designado para descrever uma síndrome caracterizada por uma rápida diminuição da função excretora renal (avaliada pela taxa de filtração glomerular - TFG), em horas ou dias. Essa diminuição rápida da função renal leva à perda na depuração de pequenos solutos, o que causa alterações nos fluidos, nos eletrólitos e no equilíbrio ácido-base do organismo. É rotineiramente diagnosticada e classificada pelo aumento de produtos da degradação de nitrogênio, como ureia e creatinina no sangue e/ou pela diminuição do volume de urina (oligúria). A troca do termo se deve ao fato de que primeiramente ocorre uma lesão renal e, se ela for contínua, irá levar à perda da função renal, sendo posteriormente identificada laboratorialmente (BELLOMO; A KELLUM; RONCO, 2012).

A LRA não é uma única doença, mas uma síndrome que envolve diversas manifestações clínicas (SINGBARTL; KELLUM, 2012). Pode ocorrer concomitantemente a outras doenças renais ou de maneira isolada. Se caracteriza pela perda abrupta da função renal e está fortemente associada a um aumento da taxa de mortalidade e morbidade. É uma doença que afeta a população de todo o mundo, que causa uma diminuição da sobrevida e pode evoluir para doença renal crônica (DRC)(XU et al., 2015).

Há uma certa dificuldade em analisar-se os dados epidemiológicos sobre a LRA, primeiramente porque na literatura existem mais de 35 diferentes definições de LRA (SINGBARTL; KELLUM, 2012) e também por existirem diferentes critérios diagnósticos sendo utilizados na clínica, o que causa uma discrepância nos dados publicados por diferentes fontes (SANTOS et al., 2019).

A LRA é uma condição comum no âmbito hospitalar, ocorre em aproximadamente 20% dos pacientes hospitalizados (LEVEY; JAMES, 2017) e sua incidência aumenta consideravelmente, ultrapassando 40% quando os pacientes são admitidos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) (PERES; WANDEUR; MATSUO, 2015). A incidência da LRA em países desenvolvidos é de 33,4% e em países em desenvolvimento é 37,7% (SANTOS et al., 2019). Seus números também variam de acordo com o tipo de LRA, se foi adquirida na comunidade (LRA-C) ou adquirida no ambiente hospitalar (LRA-H), bem como a causa associada. As três principais causas de LRA-C são sepse, obstrução do trato urinário e DRC, as

quais são responsáveis, respectivamente, por 15,2%, 12,3% e 11,8% dos casos de LRA. Já em relação à LRA-H, observa-se que a principal causa também é a sepse, seguida de cirurgias cardíacas e DRC. A incidência da LRA-H se eleva com o aumento da idade dos pacientes, já na LRA-C só se vê uma relação entre o aumento da idade e a incidência a partir dos 60 anos (XU et al., 2015).

Apesar do constante aprimoramento relacionado à fisiopatologia e tratamento, o índice de mortalidade da LRA ainda é extremamente elevado, ultrapassando 50% (RIELLA, 2004). Isso pode ser justificado por uma demora excessiva para o diagnóstico e o início da terapia, além de outros fatores limitantes como a idade dos pacientes e a presença de outras comorbidades. Esse índice atinge 80% quando o paciente é admitido em uma UTI, um valor extremamente maior do que dos pacientes em cuidado intermediário, cuja mortalidade é de 50% (PONCE et al., 2011). Em relação ao tipo de LRA, sabe-se que o índice de mortalidade é maior em pacientes com LRA-H do que em pacientes com LRA-C, e, além disso, esse índice também aumenta conforme a severidade da lesão (XU et al., 2015). Observa-se que o desenvolvimento das nações também interfere na taxa de mortalidade, obtendo-se valores de 40,6% em países desenvolvidos e 43,2% em países em desenvolvimento (SANTOS et al., 2019). Além disso, pacientes com LRA necessitam de um tempo maior de internação hospitalar em relação à pacientes sem LRA, devido às consequências da doença, que pode afetar outros órgãos além dos rins (LI; BURDMANN; MEHTA, 2013). De maneira geral, o tempo médio de internação dos pacientes com LRA é de 18 dias, e a recuperação leva em média 7 dias (XU et al., 2015). Neste cenário, os pacientes necessitam de mais medicamentos vasopressores e cuidados mais específicos, aumentando assim o custo da internação. Essa diferença em termos financeiros pode explicar o aumento das taxas de morbidade e mortalidade em países em desenvolvimento, os quais não possuem toda a estrutura necessária para o atendimento a esses pacientes (SANTOS et al., 2019).

Em relação à prevalência da LRA, a mesma varia de acordo com a população, porém estima-se que a cada 1 milhão de pessoas, 5 mil terão LRA sem necessidade de realizar diálise, e 295 pessoas necessitarão de diálise (BELLOMO; A KELLUM; RONCO, 2012).

## 1.2 PRINCIPAIS CAUSAS DE LRA

As causas de LRA podem ser divididas em 3 categorias: pré-renal, renal e pós-renal (KOZA, 2016). A LRA pré-renal é causada principalmente por uma redução na perfusão

renal e no ritmo de filtração glomerular, geralmente originada por eventos que reduzem o volume e conseqüentemente o fluxo sanguíneo para os rins. Dentre os fatores que podem originar essa redução pode-se citar desidratação, uso de diuréticos e insuficiência cardíaca. Geralmente, a LRA pré-renal é rapidamente reversível se corrigida a causa da hipoperfusão (RIELLA, 2004).

Por outro lado, a LRA de origem renal é causada por fatores intrínsecos ao rim e sua classificação é de acordo com o local afetado (túbulos, interstício, vasos ou glomérulos). A necrose tubular aguda (NTA), de origem isquêmica ou tóxica, é a causa mais comum de dano tubular. A NTA isquêmica é causada por eventos hipotensivos que resultam em diminuição da perfusão nos rins seguido por isquemia e necrose tubular. As principais causas de NTA isquêmica são sepse, choque e trauma. Já a NTA nefrotóxica é provocada por exposição a toxinas endógenas ou exógenas que, por meio de diferentes mecanismos, levam à LRA (BRUNZEL, 2018). Alguns medicamentos podem causar dano tubular renal, como por exemplo, medicamentos que não afetam a hemodinâmica glomerular, como os antibióticos aminoglicosídeos, os contrastes radiológicos e quimioterápicos como a cisplatina. Dentre os medicamentos que induzem modificações hemodinâmicas no glomérulo, pode-se citar a ciclosporina, inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) e anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs). Reações alérgicas a drogas também podem causar LRA, geralmente por nefrite intersticial. Além disso, doenças, como o Lúpus Eritematoso Sistêmico, também podem causar LRA renal, porém com uma menor frequência (RIELLA, 2004).

A LRA pós-renal, por sua vez, ocorre quando há uma obstrução no trato urinário, que pode ser ocasionada por diversos fatores incluindo hipertrofia prostática, câncer de próstata ou cervical, distúrbios retroperitoneais ou bexiga neurogênica, por exemplo. Dentre as demais causas de LRA pós-renal, pode-se citar as derivadas de fatores intraluminais (cálculo renal bilateral, necrose papilar, carcinoma de bexiga, entre outros) e extraluminais (fibrose retroperitoneal, tumor colorretal, entre outros). A precipitação de cristais como ácido úrico, oxalato de cálcio, aciclovir e sulfonamida também pode ser causa de uma obstrução intratubular. A reversibilidade da LRA pós-renal é relativa ao tempo de obstrução renal (RIELLA, 2004).

### 1.3 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DA LRA

Havia muita confusão relacionada à definição de LRA ou de NTA antes de maio de 2004, quando o grupo *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI) lançou o primeiro trabalho com uma definição de LRA (RICCI; ROMAGNOLI, 2018). Essa primeira classificação é conhecida como RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease*) e define LRA de acordo com o aumento na concentração de creatinina sérica (CrS) e na diminuição do volume de urina por quilogramas de peso corpóreo em um período específico de 7 dias (BELLOMO et al., 2004). Este critério define três classes de gravidade (*Risk, Injury* e *Failure*) e duas classes de desfecho (*Loss* e *End-Stage*). De acordo com a classificação, *Risk* (risco), seria a categoria menos severa de LRA, seguido de *Injury* (dano), *Failure* (falha), *Loss function* (perda de função) e *End-Stage renal disease* (doença renal em estágio final). Os valores de CrS e débito urinário para definição e classificação, segundo o critério RIFLE, estão apresentados na Tabela 1.

Em 2007, foi publicado na revista *Critical care* um novo critério de classificação, conhecido como AKIN (*Acute Kidney Injury Network*), e diferentemente do RIFLE, o critério AKIN classifica a LRA em 3 estágios: 1, 2 e 3, excluindo a perda de função e a doença renal em estágio final, que foram consideradas classes prognósticas e, portanto, não possuem propósitos de classificação (RICCI; ROMAGNOLI, 2018). A classificação segundo o critério AKIN só é utilizada após atingir-se um nível adequado de hidratação no paciente e após excluir a possibilidade de uma obstrução urinária. Considera-se para a classificação apenas os valores de CrS e não modificações na TFG. Além disso, não é necessária a determinação do valor basal da CrS, sendo, no entanto, necessário pelo menos duas dosagens de CrS realizadas em um período de 48 horas para classificar o paciente em um dos estágios (LOPES; JORGE, 2013). Segundo o critério AKIN, a LRA é definida por um aumento maior ou igual a 0,3 mg/dL na CrS ou por um aumento de 1,5 vezes o valor basal da CrS, ou por uma diminuição no débito urinário de 0,5 mL/Kg/h por 6 horas (MEHTA et al., 2007), conforme descrito na Tabela 1.

A última classificação, disponibilizada em 2012, teve como objetivo tentar conciliar as classificações anteriores. É conhecida como KDIGO (*The Kidney Disease Improving Global Outcomes consensus classification*) e também classifica a LRA em 3 estágios (1, 2 e 3) utilizando os valores de creatinina sérica e o débito urinário (RICCI; ROMAGNOLI, 2018). O critério KDIGO define a LRA como um aumento na creatinina sérica maior ou igual a 0,3 mg/dL, dentro de um intervalo de 48 horas, ou um aumento de 1,5 vezes em relação ao valor de creatinina basal conhecida ou presumida dentro de 7 dias, ou um débito urinário menor que

0,5 mL/kg/h em 6 horas (KDIGO, 2012). Os valores que classificam a LRA em estágios, segundo critério KDIGO estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação da LRA de acordo com os critérios RIFLE, AKIN e KDIGO.

Critério	Creatinina sérica (CrS)	Débito urinário
<b>RIFLE</b>		
Risco	Aumento de 1,5x da CrS ou redução da TFG > 25%	< 0,5 mL/kg/h em 6 h
Dano	Aumento de 2x da CrS ou redução da TFG > 50%	< 0,5 mL/kg/h em 12 h
Falha	Aumento de 3x da Cr ou redução da TFG > 75% ou CrS > 4 mg/dl	< 0,3 mL/kg/h em 24 h ou anúria por 12 h
Perda de função	Perda completa da função renal por um período superior a 4 semanas	
Doença renal em estágio final	Necessidade de diálise por mais de 3 meses	
<b>AKIN</b>		
Estágio 1	Aumento da CrS $\geq 0,3$ mg/dL ( $\geq 26,5$ $\mu\text{mol/L}$ ) ou 1,5-2x (150-200%) do VB	< 0,5 mL/kg/h por 6 h
Estágio 2	Aumento da CrS > 2-3x (200-300%) do VB	< 0,5 mL/kg/h por > 12 h
Estágio 3	Aumento da CrS > 3x (> 300%) do VB, ou CrS $\geq 4,0$ mg/dL ( $\geq 354$ $\mu\text{mol/L}$ ) com aumento agudo de 0,5 mg/dL ou necessidade de TRS	< 0,3 mL/kg/h por 24 h ou anúria por 12 h
<b>KDIGO</b>		
Estágio 1	Aumento da CrS $\geq 0,3$ mg/dL ( $\geq 26,5$ $\mu\text{mol/L}$ ) ou 1,5-1,9 x do VB	< 0,5 mL/kg/h por 6-12 h.
Estágio 2	Aumento da CrS 2-2,9x do VB	< 0,5 mL/kg/h por $\geq 12$ h.
Estágio 3	Aumento da CrS > 3x do VB, ou CrS $\geq 4,0$ mg/dL ( $\geq 354$ $\mu\text{mol/L}$ ) com aumento agudo de 0,5 mg/dL; ou necessidade de TRS; ou em pacientes < 18 anos, TFG estimada < 35 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	< 0,3 mL/kg/h por $\geq 24$ h ou anúria por $\geq 12$ h.

CrS: Creatinina sérica, TFG: Taxa de filtração glomerular, TRS: Terapia de substituição renal, VB: Valor Basal

Fonte: Adaptada de Ricci; Romagnoli, 2018.

## 1.4 DIAGNÓSTICO DA LRA

LRA é geralmente assintomática, por isso é importante o monitoramento clínico da CrS, da TFG e do volume de urina (LEVEY; JAMES, 2017). Como não existem sintomas específicos, a LRA é geralmente diagnosticada no contexto de alguma outra condição clínica aguda, como a sepse, por exemplo (RONCO; BELLOMO; A KELLUM, 2019). O sinal mais comum é a oligúria, mas não é sensível e nem específico, e os parâmetros laboratoriais mais utilizados para diagnóstico são a CrS e a ureia sérica (KOZA, 2016). A LRA não tem sintomas, até que os rins parem de funcionar, podendo ocorrer em decorrência da falha renal uma sensação de sonolência, além de náuseas, suor, retenção hídrica, taquipneia e tontura (LEVEY; JAMES, 2017). Atualmente o diagnóstico da LRA é feito utilizando os critérios descritos no item 1.2, sendo a creatinina sérica o principal marcador utilizado.

Segundo Sirota; Klawitter; Edelstein, 2011, a creatinina é uma molécula de 113 Dalton que é derivada do metabolismo da creatina e da fosfocreatina no tecido muscular. É produzida a uma taxa relativamente constante, resultando em uma concentração constante no plasma e excreção relativamente constante na urina. Ela é filtrada livremente pelos glomérulos e excretada posteriormente sem um metabolismo significativo ou reabsorção pelos rins. Essas características fazem da creatinina um bom biomarcador para avaliar a função renal. A avaliação da função renal é realizada por meio da determinação da TFG, que é definida como o volume plasmático de uma substância que pode ser completamente filtrada pelos rins em uma determinada unidade de tempo. Quando a função renal é comprometida, ocorre uma diminuição na TFG e, conseqüentemente, um aumento na concentração sérica de creatinina. A relação recíproca entre a CrS e a TFG foi bem descrita e hoje existe uma variedade de equações (por exemplo, Cockcroft-Gault, MDRD e CKD-EPI) que foram desenvolvidas para estimar a TFG a partir de um nível medido de CrS (SIROTA; KLAWITTER; EDELSTEIN, 2011). A primeira equação desenvolvida foi a equação de Cockcroft-Gault, em 1973, o estudo que deu origem a ela analisou homens caucasianos com função renal normal. Em 1999 o grupo *Modification of Diet in Renal Disease* publicou a equação MDRD, onde em seus estudos eles incluíam pacientes com DRC e não incluíam pacientes saudáveis. Mais recentemente, em 2009, o grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* estabeleceu uma nova fórmula, CKD-EPI, que é uma variação da fórmula MDRD, onde em seus estudos eles incluíram pacientes com e sem DRC (BRITO; OLIVEIRA; SILVA, 2016). A TFG também pode ser estimada através de testes de depuração, os quais são baseados na determinação da creatinina plasmática e urinária, em

amostra de urina de 24 horas. A creatinina é considerada vantajosa no diagnóstico da LRA, pois é uma molécula estável e a dosagem laboratorial consiste na utilização de métodos tradicionais a partir da reação de Jaffé e métodos enzimáticos, sendo, portanto, considerada uma análise de baixo custo (PERES et al., 2013).

Apesar da CrS ser atualmente o principal biomarcador no diagnóstico da LRA, a mesma apresenta marcantes limitações. Uma das principais limitações se deve ao fato de que a elevação das concentrações de creatinina no soro só ocorre após uma redução significativa na TFG, sendo que esse aumento pode demorar vários dias. Por conta disso, a TFG estimada (TFGe) a partir da creatinina pode ser imprecisa, dificultando a avaliação da verdadeira função renal do paciente (SIROTA; KLAWITTER; EDELSTEIN, 2011). Além disso, nem toda a creatinina que é excretada na urina é eliminada por filtração glomerular; uma pequena quantidade (aproximadamente 7-10%) é secretada pelos túbulos renais. Essa secreção resulta em uma elevação nas concentrações da creatinina urinária, o que pode superestimar a TFG quando determinada através de testes de depuração (BRUNZEL, 2018). Alguns fatores relacionados ao indivíduo podem também afetar a interpretação dos exames laboratoriais, um exemplo disso é o fato de que a CrS aumenta mais lentamente em pacientes com baixa massa muscular em relação aos pacientes com massa muscular elevada. Outro fator a se considerar são os níveis basais, pois quando a TFG basal do indivíduo é baixa, uma pequena flutuação na TFG pode aumentar os valores de CrS (0,3 mg/dL) sem a presença da LRA, portanto, para minimizar o subdiagnóstico é importante respeitar as 48 horas elencadas no critério diagnóstico. O uso de alguns medicamentos, como o trimetoprim e cimetidina, inibem a secreção de creatinina e também podem alterar os exames laboratoriais (LEVEY; JAMES, 2017).

Além disso, a produção de creatinina no indivíduo é influenciada pela idade, sexo, pelo grau de hidratação e também pela alimentação. Pacientes com dieta hiperproteica terão seus níveis de creatinina elevados. Além disso, indivíduos do sexo masculino e atletas (tanto homens quanto mulheres) produzem mais creatinina em relação a mulheres não atletas, idosos ou crianças (BRUNZEL; 2018).

As limitações elencadas relacionadas à creatinina, limitam a prática clínica, comprometendo o tratamento dos pacientes com LRA. Para melhorar o diagnóstico e o tratamento, são necessárias novas ferramentas que não sejam influenciadas por características do indivíduo, que possam identificar reduções na TFG de maneira mais precoce ou ainda, que possam identificar uma possível lesão nos rins e o potencial risco de desenvolvimento de LRA (SIROTA; KLAWITTER; EDELSTEIN, 2011).

### 1.4.1 Novos biomarcadores no diagnóstico da LRA

Segundo Sirota, Klawitter e Edelstein (2011) um biomarcador ideal de lesão renal seria uma substância que o rim libera imediatamente em resposta a uma lesão e que pode ser detectada no sangue ou na urina, sem que sofra um metabolismo significativo. Além disso, esse biomarcador seria altamente sensível e específico para lesões nos rins, essas influenciando a TFG ou não. Estudos recentes identificaram vários biomarcadores promissores para uma detecção mais rápida do dano renal. Porém, limitações na especificidade e sensibilidade fazem com que muitos dos métodos sejam utilizados apenas com propósito de pesquisa (RONCO; BELLOMO; A KELLUM, 2019).

Nos últimos anos, vários novos biomarcadores para diagnóstico de LRA foram descobertos e validados para proporcionar a detecção precoce da doença, bem como, para melhorar a identificação de pacientes em grupos de risco para insuficiência renal progressiva, necessidade de terapia renal substitutiva (TRS) ou morte. Entre os biomarcadores mais estudados pode-se citar: cistatina C, lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL), molécula de injúria renal 1 (KIM-1), proteína de ligação a ácidos graxos do tipo hepática (L-FABP), interleucina 18 (IL-18), *insulin-like growth factor-binding protein 7* (IGFBP-7), inibidor tecidual de metaloproteinase 2 (TIMP-2), calprotectina, angiotensinogênio urinário (AGT) e microRNAs urinário (KASHANI; CHEUNGPASITPORN; RONCO, 2017). Dentre estes biomarcadores, a NGAL é o mais utilizado em estudos clínicos. Sua concentração urinária e plasmática aumenta dentro de poucas horas após lesão, o que torna essa proteína um bom marcador de lesão renal em estágios iniciais (SCHREZENMEIER et al., 2016). Já a KIM-1 é um marcador de lesão tubular mais específico, cuja concentração encontra-se elevada após lesão renal isquêmica ou tóxica (SIROTA; KLAWITTER; EDELSTEIN, 2011).

Recentemente, as proteínas TIMP-2 e IGFBP-7 têm sido bastante estudadas como biomarcadores de LRA. O TIMP-2 é uma proteína de 24 kDa, membro da família de inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMP). Já o IGFBP-7 é uma proteína de 29 kDa que se liga e inibe a sinalização via receptores do fator de crescimento insulínico 1 (KASHANI; CHEUNGPASITPORN; RONCO, 2017). Ambos são expressos e secretados pelas células tubulares renais e, embora várias partes do néfron possam produzir esses marcadores, os principais locais de produção de TIMP-2 e IGFBP7 são, respectivamente, o túbulo distal e o túbulo proximal (SRISAWAT; KELLUM, 2020). Conforme observa-se na Figura 1, essas proteínas estão envolvidas na regulação de mecanismos de paradas do ciclo celular em fases

iniciais de estresse ou lesão celular causados por diversos insultos, como por exemplo, estresse oxidativo, sepse, exposição a nefrotoxinas e eventos isquêmicos (ORTEGA; HEUNG, 2018).

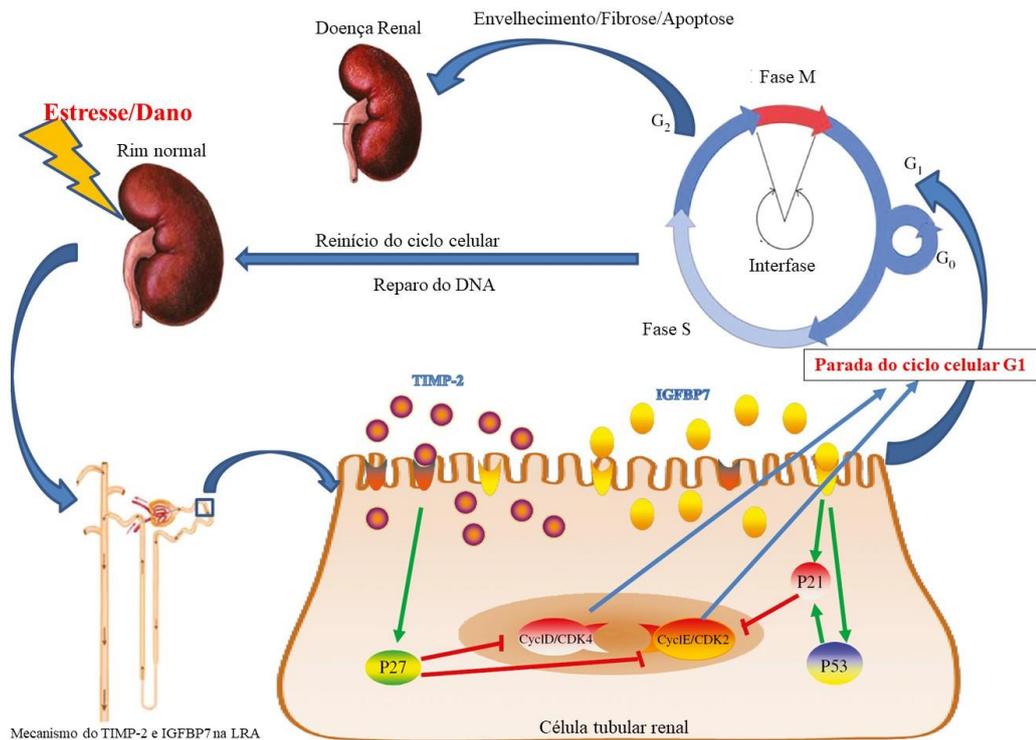
Em um cenário de LRA isquêmica ou tóxica, por exemplo, ocorrem paradas no ciclo celular na fase G1 para que haja reparo ao DNA e, tanto o IGFBP7 quanto o TIMP-2, estão envolvidos neste processo (KASHANI; CHEUNG PASITPORN; RONCO, 2017). Quando expostas ao estresse ou lesão celular, as células tubulares renais podem produzir e liberar TIMP-2 e IGFBP7. TIMP-2 estimula a expressão da proteína p27 e o IGFBP7 aumenta a expressão das proteínas p53 e p21. Em seguida, essas proteínas bloqueiam a ação dos complexos ciclinas D/proteínas cinases dependentes de ciclinas (CyclD-CDK4 e CyclE-CDK2), importantes na progressão da fase G1 para a fase S do ciclo celular, resultando na interrupção transitória do ciclo na fase G1, proporcionando às células, a oportunidade de reparar eventuais danos ao DNA e recuperar a função. Esse processo ocorre durante o estresse celular precoce e é um mecanismo muito importante na manutenção do balanço energético celular e para evitar a divisão no DNA quando a célula está lesada. Entretanto, uma parada sustentada no ciclo celular resultará em um fenótipo celular senescente o que pode levar à fibrose das células renais (FAN et al., 2019).

Estudos mostram que essas proteínas são liberadas em resposta a estímulos nocivos, e não danosos, além de serem moléculas pré-formadas e que não requerem a transcrição de genes para serem expressas, sendo consideradas, por essas características, como marcadores de estresse renal (RONCO; BELLOMO; A KELLUM, 2019). Em relação ao período de tempo necessário para o aparecimento ou o pico desse biomarcador na urina, Cummings et al., 2019 relata que ele ocorre imediatamente após o uso de circulação extracorpórea (CEC) em cirurgias cardíacas, e nas demais condições clínicas o pico se dá entre 6 e 24 h.

A avaliação do potencial papel de TIMP-2 e IGFBP7 como biomarcadores de LRA, começou a ser estudada recentemente. Diversos estudos já foram conduzidos e muitos deles apontam para um papel importante dessas moléculas no diagnóstico de LRA (FAN et al., 2019). De particular importância, o estudo de Kashani e colaboradores (2013) mostrou que TIMP-2 e IGFBP7 apresentaram a melhor performance clínica na previsão de LRA estágios 2 e 3 (segundo critério KDIGO) dentro de 12 horas, em relação a mais de 300 outros biomarcadores, como NGAL, IL-18, L-FABP e KIM-1. Este estudo foi o pioneiro na identificação dessas proteínas como potenciais biomarcadores de lesão renal e fundamental para posterior validação da utilização dos mesmos na prática clínica (KASHANI et al., 2013; HOSTE et al., 2014; BIHORAC et al., 2014). Em 2014, a FDA aprovou o NephroCheck<sup>®</sup>, um teste que determina ambos os biomarcadores simultaneamente ([TIMP-2] · [IGFBP7]) em amostras de urina, com

o intuito de auxiliar na identificação do risco de desenvolvimento de LRA moderada à severa em pacientes criticamente doentes. Atualmente o NephroCheck® está disponível para uso nos Estados Unidos e na Europa. O papel de TIMP-2 e IGFBP7 no diagnóstico da LRA será discutido com mais detalhes no item 4 (Resultados e Discussão).

Figura 1. Origem dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7



Fonte: Adaptada de Fan et al., 2019.

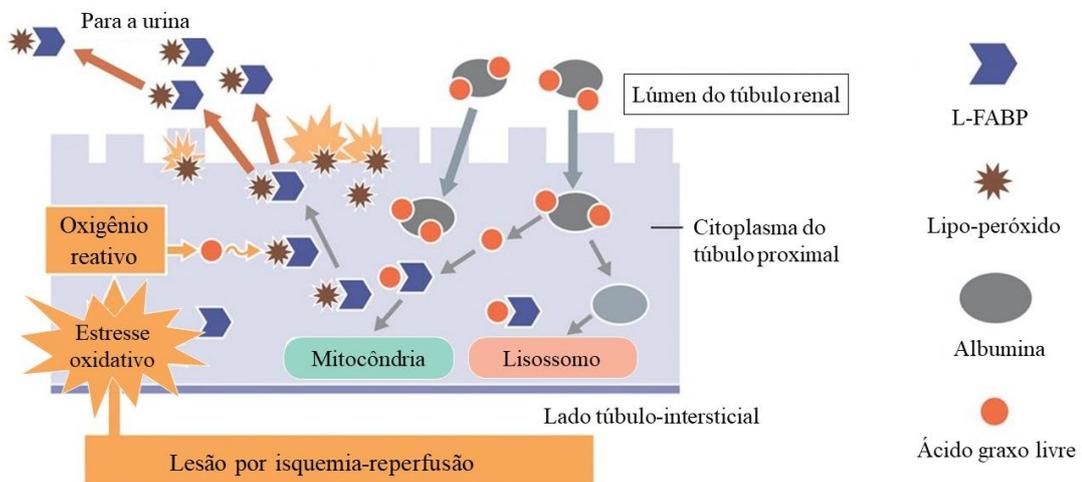
O ciclo celular é composto pelas fases de repouso (G<sub>0</sub>), de síntese de DNA (G<sub>1</sub> e S) e mitose (G<sub>2</sub> e M). Esse ciclo é controlado por ciclinas, CDK e inibidores de CDK. Qualquer distúrbio que faça as células ficarem presas nas fases G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, ocasionará a criação de um fenótipo senescente, hipertrófico e fibrótico que pode levar à apoptose. Ao serem expostas a fatores de estresse ou lesão, as células tubulares produzem TIMP-2 e IGFBP7. TIMP-2 e IGFBP7 estimulam a expressão de p27, p53 e p21, respectivamente. Essas proteínas p bloqueiam o efeito das CDK na promoção do ciclo celular, resultando na interrupção do ciclo na fase G<sub>1</sub>, proporcionando para as células a oportunidade de reparar os danos do DNA e recuperar a função.

Outro biomarcador que tem sido estudado recentemente é a proteína ligadora de ácidos graxos do tipo L (L-FABP) intracelular, de mamíferos. Ela é uma proteína de 14 kDa codificada por uma grande família multigênica e é um membro da superfamília de proteínas de ligação a lipídeos (LBP). Foram identificadas dez FABPs, as quais foram nomeadas de acordo com o órgão onde foram encontradas: do tipo L (fígado), I (intestino), H (coração), A (adipócito), E (epiderme), IL (íleo), B (cérebro), M (músculos), MY (mielina) e T (testículos). A FABP do tipo L é expressa principalmente no fígado, mas também no intestino, pâncreas, estômago,

pulmão e rins (mais especificamente na porção contorcida e reta dos túbulos proximais em humanos). Todos os membros da família FABP desempenham um papel primordial na regulação do metabolismo dos ácidos graxos e das proteínas intracelulares.

O L-FABP liga os ácidos graxos e os transporta para as mitocôndrias ou peroxissomos, onde são metabolizados via  $\beta$ -oxidação e fornecem energia para as células epiteliais tubulares. Além disso, possui alta capacidade de ligação e alta afinidade por produtos de peroxidação de ácidos graxos (produtos de peroxidação lipídica), promovendo sua excreção na urina, agindo como uma molécula antioxidante. Conforme ilustrado na Figura 2, em uma situação de LRA ocorre um aumento do estresse oxidativo, através do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que mediam a peroxidação lipídica. O L-FABP interrompe esse processo através da ligação ao excesso de ácidos graxos insaturados e produtos de peroxidação lipídica nos bolsos de sua estrutura de folhas  $\beta$ , transferindo essas substâncias para o lúmen tubular, impedindo assim a lesão renal. Em uma situação de LRA, juntamente com lipídios citotóxicos, o L-FABP é excretado dos túbulos proximais para a urina, podendo ser dosado como biomarcador de lesão renal (XU et al., 2015).

Figura 2. Origem do biomarcador L-FABP



Fonte: Adaptado de Diapharma (2020)

Na ocorrência de uma LRA, ocorre um aumento do estresse oxidativo, através do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que mediam a peroxidação lipídica, causando dano celular. A L-FABP age interrompendo esse processo, pois liga os excessos de ácidos graxos insaturados e produtos de peroxidação lipídica nos bolsos de sua estrutura de folhas  $\beta$  e transporta essas substâncias para o lúmen tubular, para serem eliminadas pela urina, impedindo assim a lesão renal. Por sua excreção ser urinária, a amostra para realizar sua dosagem é a urina.

Diversos estudos mostraram um aumento de L-FABP urinária em pacientes com LRA secundária a diferentes situações clínicas incluindo cirrose (BELCHER et al., 2014), cirurgias cardíacas (MATSUI et al., 2012) e nefrotoxicidade induzida por contraste (NAKAMURA et al., 2006). O intervalo de tempo em que ocorre o pico desse biomarcador na urina varia conforme a condição clínica, mas Nakamura et al., 2006 relata que esse aumento ocorre antes do aumento nos níveis de CrS e Matsui et al., 2012 relatou que esse aumento ocorre em até 4 horas após a realização de cirurgia cardíaca. No item 5 (Resultados e Discussão), mais detalhes sobre a performance diagnóstica de L-FABP serão abordados.

Atualmente existem diversos estudos na literatura que avaliam o papel das proteínas TIMP-2, IGFBP-7 e L-FABP como potenciais biomarcadores precoces de LRA (KASHANI; CHEUNG PASITPORN; RONCO, 2017). Entretanto, não existe um consenso na literatura sobre a real relevância dessas moléculas como marcadores de lesão renal na prática clínica. Desta forma, existe a necessidade de mais estudos a fim de compreender melhor o papel das proteínas TIMP-2, IGFBP-7 e L-FABP no diagnóstico da LRA.

#### **1.4.2 Desenvolvimento de novos biomarcadores**

Desde a descoberta de um novo biomarcador até sua utilização na prática clínica, diferentes etapas são necessárias, as quais requerem diversos estudos. Conforme Srisawat e Kellum (2020), existem 4 etapas para o desenvolvimento de novos biomarcadores de LRA: fase de descoberta, de verificação e quantificação, de validação e, por fim, a fase de implantação. Na primeira fase são realizados estudos tanto com amostras de urina, quanto em culturas de células e em modelos animais. Utiliza-se amostras padrão ouro para reduzir a variação biológica nos estudos de caso controle e tecnologias como análise proteômica para diferenciar a expressão de proteínas dos casos com e sem a LRA. O objetivo desta primeira etapa é descobrir potenciais candidatos para serem avaliados na etapa seguinte.

Na segunda fase, os candidatos a biomarcador selecionados na etapa anterior, são quantificados em amostras de pacientes com a doença (padrão ouro), para verificar se realmente existe uma abundância diferencial nesses pacientes. Em seguida, ocorre a verificação (realizada em amostras derivadas da população em geral), que tem como objetivo principal determinar a especificidade, portanto o número de amostras testadas nessa fase deve ser grande o suficiente para incluir com segurança fontes potenciais de falsidade positiva. Aos candidatos que passarem nas duas primeiras fases, será feita a validação, que consiste em ensaios clínicos com

grande número de amostras, para garantir uma representação adequada das variedades clínicas. Quanto maior o estudo, maior será sua aceitação. Nesta fase são também determinados a sensibilidade e especificidade dos marcadores. E, finalmente, na última fase, os biomarcadores são aplicados no uso clínico de várias maneiras, e os resultados centrados no paciente são medidos. Há necessidade de que tratamentos eficazes sejam combinados com o teste para mostrar benefícios (SRISAWAT; KELLUM, 2020).

#### 1.4.2.1 AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE UM BIOMARCADOR

Para avaliar a capacidade de um teste diagnóstico de predizer uma condição clínica é necessário entender alguns conceitos importantes como, por exemplo, a sensibilidade e a especificidade. Sensibilidade corresponde à probabilidade de decidir se a doença está presente quando ela realmente estiver presente, ou seja, corresponde à capacidade de um teste de identificar indivíduos doentes. Já a especificidade é a probabilidade de decidir se a doença está ausente quando ela realmente estiver ausente, ou seja, corresponde à capacidade de um teste de identificar indivíduos saudáveis (METZ, 1986).

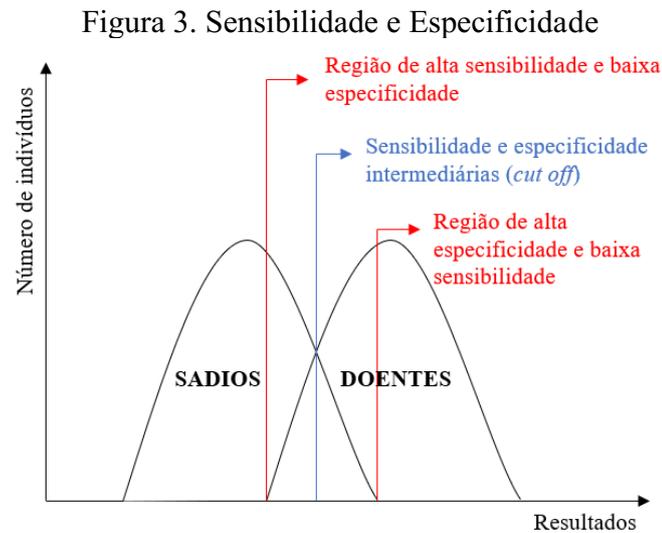
Tanto a sensibilidade quanto a especificidade podem ser calculadas através de fórmulas matemáticas. De acordo com a fórmula 1, sensibilidade (S) corresponde à quantidade de verdadeiros positivos (VP - testes com resultado positivo em indivíduos realmente doentes), dividido pela soma de VP e a taxa de falsos negativos (FN - que corresponde aos testes com resultado negativo em indivíduos que tem a doença). Já a especificidade (E) é a quantidade de verdadeiros negativos (VN - testes com resultado negativo em indivíduos saudáveis), dividido pela soma de VN e de falsos positivos (FP - que corresponde aos testes com resultado positivo em indivíduos que não possuem a doença) (ver fórmula 2).

$$S = VP/(VP + FN) \quad (1)$$

$$E = VN/(VN + FP) \quad (2)$$

Para um teste diagnóstico é fixado um valor (ponto) de corte para a variável em estudo, também conhecido como *cut off*, e este será o ponto de separação na classificação dos indivíduos como saudáveis ou doentes. Geralmente para os testes diagnósticos, valores acima do ponto de corte classificam o indivíduo como doente e valores inferiores ou iguais a esse

ponto, classificam o indivíduo como saudável. Entretanto, o contrário também pode ser aplicado, ou seja, valores baixos correspondem a indivíduos doentes e valores altos a indivíduos saudáveis. Levando esse valor de *cut off* em consideração, os testes são avaliados pela comparação do valor de VP, FP, VN e FN, sendo utilizados, portanto, para esta comparação os conceitos de sensibilidade e especificidade do teste. Sendo assim, conforme a Figura 3, percebe-se que valores de corte elevados levam a um teste pouco sensível, porém muito específico e ao contrário, valores de corte menores, conduzem a um teste muito sensível e pouco específico.



Fonte: Próprio autor

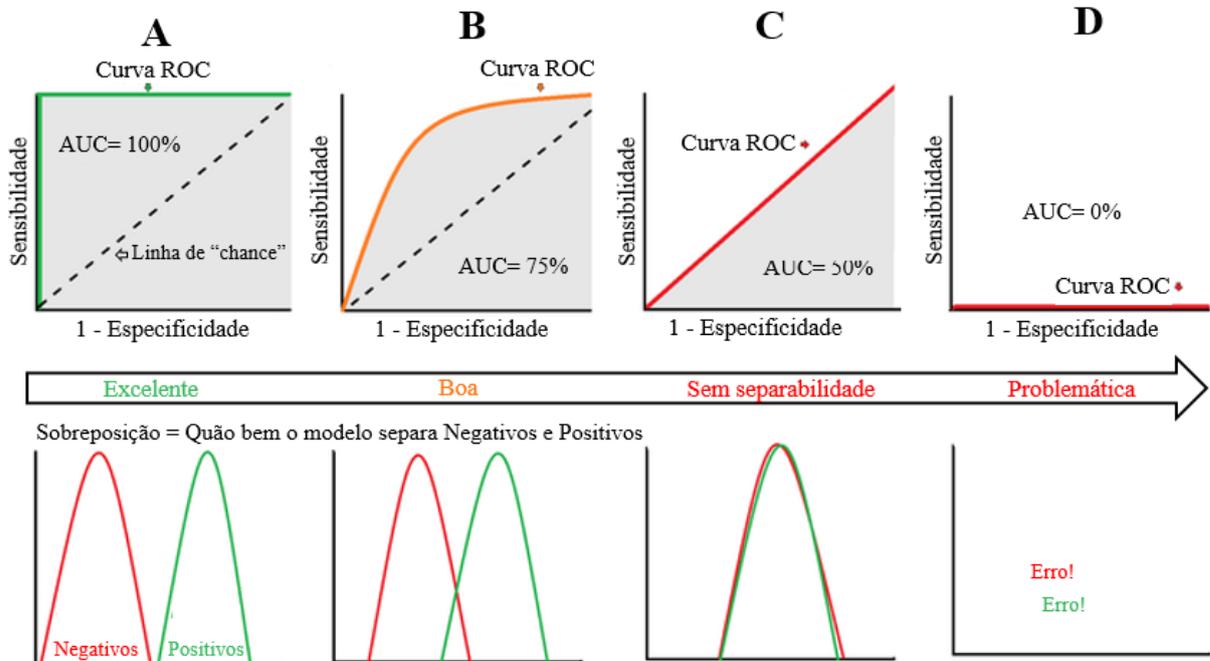
Demonstração de como os valores de corte influenciam na sensibilidade e especificidade do teste. Valores de corte mais baixos levam a resultados mais sensíveis e menos específicos e valores de corte mais elevados terão o efeito inverso (em vermelho). O ideal, portanto, é escolher um valor de *cut off* onde a sensibilidade e especificidade sejam intermediárias (em azul).

O ideal de um teste diagnóstico é que ele seja altamente sensível e específico. Entretanto, é muito difícil encontrar um teste de diagnóstico para o qual não se obtenha nenhum resultado falso positivo ou negativo. Assim, é importante analisar diferentes valores de pontos de corte, para então escolher aquele em que a ocorrência de resultados falsos seja mínima. Para cada valor de corte é calculada a sensibilidade e a especificidade, as quais podem ser representadas como coordenadas “y” e “x” dando origem ao gráfico conhecido como *receiver operating characteristic curve*, a curva ROC (BRAGA, 2000).

A curva ROC, representada através de um gráfico de sensibilidade (eixo y) e 1-especificidade (eixo x), é uma técnica gráfica que avalia a capacidade de um teste diagnóstico

em fazer a distinção entre doentes e não doentes. Nela é possível fazer análises visuais entre sensibilidade e especificidade relativamente a diversos pontos de corte (Figura 4).

Figura 4. Comparação entre curvas ROC.



Fonte: Adaptado de Glen (2019).

Quando a curva AUC-ROC é 100% (A) há uma excelente separação entre os negativos e positivos em um teste diagnóstico. Quando o valor é 75% (B) ainda existe uma boa separação entre os positivos e negativos, porém, vai acontecer uma região de sobreposição entre os positivos e negativos, que é relativa aos resultados conhecidos como falso positivos ou falso negativos. Com uma AUC-ROC de 50% (C) ou menor (D), é impossível separar os resultados positivos e negativos, portanto, não há utilidade diagnóstica.

Um teste capaz de discriminar perfeitamente indivíduos doentes de saudáveis, seria aquele com sensibilidade e especificidade, para um dado ponto de corte, igual a 100%. Neste caso a curva ROC está localizada no canto superior esquerdo (Figura 4A). Por outro lado, um teste incapaz de distinguir indivíduos doentes de saudáveis, para determinado valor de corte, é aquele em que a sensibilidade e a especificidade são iguais, ou seja,  $x=y$  (Figura 4C). Desta forma, para avaliar o desempenho de testes diagnósticos do mesmo tipo e compará-los, assumindo que as curvas não se cruzam, existem três níveis de discriminação: baixo, médio e elevado. Quanto mais próxima do canto superior esquerdo maior será o poder discriminante, ou seja, maior será a capacidade do teste em distinguir indivíduos doentes de saudáveis. Esta capacidade diminui à medida que a curva se aproxima de  $x=y$  (CRISTIANO, 2017). Para uma melhor compreensão, ver Figura 4.

Uma outra forma de analisar um teste, é através da análise da área sob a curva ROC (AUC-ROC), que é uma forma de resumir a curva ROC. A AUC-ROC é um índice de precisão (acurácia) utilizado para avaliar a qualidade da curva e o desempenho do teste diagnóstico. Se a curva é próxima ao canto superior esquerdo ( $S=100\%$  e  $E=100\%$ ) então o valor de AUC-ROC deve ser próximo de 1. Um teste inapto em discriminar indivíduos doentes de saudáveis, será aquele que apresentar uma área sob a curva de 0,5, pois significa que sensibilidade é sempre igual a 1-especificidade, ou seja,  $x=y$ . Como mencionada anteriormente, quanto mais a curva se aproxima do canto superior esquerdo, maior será a AUC-ROC, logo, maior será a capacidade do teste em discriminar os indivíduos doentes dos saudáveis (LOGAN, 2013).

## 2 JUSTIFICATIVA

A LRA é uma condição clínica com uma prevalência elevada, que acomete indivíduos do mundo todo e apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade. É uma doença que afeta muitos indivíduos hospitalizados e aumenta consideravelmente o tempo de permanência dos mesmos no hospital, sendo, portanto, onerosa para o serviço público de saúde.

A creatinina ainda hoje é o padrão diagnóstico para LRA, porém apresenta diversos problemas em relação à sensibilidade e especificidade, além de sofrer diversas alterações decorrentes dos hábitos de vida individuais. O aumento dos níveis séricos é considerado tardio, pois só ocorre após a lesão já estar em estágio avançado, o que prejudica o início rápido do tratamento e pode, portanto, gerar complicações ao paciente. Além disso, existe uma carência de modelos de estratificação baseados em fatores clínicos capazes de identificar potenciais paciente em risco de desenvolver LRA. Considerando a complexidade da LRA e que essa condição não apresenta sintomatologia específica, a capacidade de se identificar pacientes em risco iminente de desenvolver LRA é extremamente relevante e representa uma necessidade médica. Por conta disso, o estudo de tecnologias recentes que envolvem biomarcadores mais precocemente identificáveis que a creatinina tem se intensificado. Essas pesquisas se baseiam na busca de novas moléculas, mais sensíveis e específicas, que sejam alteradas imediatamente após uma lesão e que possam ser facilmente identificadas em amostras de sangue ou urina, para que o diagnóstico seja facilitado e o paciente receba o tratamento adequado a tempo, antes da ocorrência de consequências mais graves ao mesmo. Visto isso, este trabalho torna-se relevante pois leva em consideração um estudo aprofundado sobre três desses novos biomarcadores e busca identificar a sua importância no diagnóstico precoce da LRA.

### 3 OBJETIVOS

Nas seções abaixo estão descritos o objetivo geral e os objetivos específicos deste TCC.

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo discutir a importância dos biomarcadores inibidor tecidual de metaloproteinases 2 (TIMP-2), *insulin-like growth factor binding protein - 7* (IGFBP-7) e proteína ligadora de ácidos graxos do tipo hepática (L-FABP) no diagnóstico da LRA, através de uma revisão integrativa da literatura.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Revisar o papel dos biomarcadores TIMP-2, IGFBP-7 e L-FABP no diagnóstico da LRA através da avaliação de estudos publicados na literatura recente;
- ii. Revisar a acurácia diagnóstica desses biomarcadores através da análise da área sob a curva *receiver operating characteristic* (AUC-ROC).
- iii. Revisar a metodologia disponível na literatura para a determinação dos biomarcadores em amostras biológicas.

## 4 METODOLOGIA

Nas seções abaixo está descrito como foi realizada a metodologia de pesquisa deste trabalho.

### 4.1 MÉTODOS DE BUSCA DOS ESTUDOS NA LITERATURA

Foi realizado um levantamento bibliográfico, com busca nas bases de dados Medline via Pubmed e SciELO utilizando os seguintes termos MeSH e suas associações: “*acute kidney injury*”, “lesão renal aguda”, “*insulin-like growth factor binding protein 7*”, “IGFBP7”, “*tissue inhibitor of metalloproteinase 2*”, “inibidor tecidual de metaloproteinases 2”, “TIMP-2”, “*liver-type fatty acid-binding protein*”, “proteína ligadora de ácidos graxos do tipo hepática” e “L-FABP”.

### 4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os seguintes critérios de inclusão foram considerados para a seleção dos artigos: trabalhos completos disponíveis e publicados no período de Janeiro de 2010 a Janeiro de 2020; artigos publicados na língua inglesa e em português; estudos observacionais e de coorte prospectivos e estudos randomizados; estudos realizados com pacientes maiores de 18 anos diagnosticados para LRA segundo os critérios RIFLE, AKIN e KDIGO; trabalhos que utilizaram a dosagem dos biomarcadores TIMP-2, IGFBP-7 e L-FABP em amostras biológicas no diagnóstico de LRA e estudos que utilizaram a curva ROC e calcularam a área sob a curva ROC (AUC-ROC) para os marcadores, a fim de avaliar a acurácia diagnóstica dos mesmos.

### 4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão considerados foram: artigos duplicados; artigos publicados fora do período cronológico estipulado; artigos em línguas diferentes daquelas mencionadas acima; estudos experimentais em modelos animais ou em cultivo celular; estudos do tipo relato de caso e estudos de revisão.

#### 4.4 SELEÇÃO DOS ESTUDOS E EXTRAÇÃO DOS DADOS

A seleção dos artigos foi realizada em três etapas, segundo os critérios de inclusão e exclusão previamente descritos. Primeiramente, após a realização da busca utilizando os termos MeSH, os trabalhos encontrados nas bases de dados foram analisados quanto à elegibilidade através da leitura dos títulos e resumos. A partir dessa primeira consulta, foram selecionados os estudos que se enquadravam nos critérios previamente mencionados. Na segunda etapa, os trabalhos previamente selecionados, foram lidos na íntegra e avaliados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, para o processo de seleção final. As informações dos artigos selecionados foram extraídas e estruturadas no formato de formulários ou planilhas no programa Microsoft Excel 2005.

As seguintes informações foram extraídas dos artigos selecionados: a) informações gerais: características gerais (título, autor e ano de publicação), tipo de estudo, dados da população estudada (número total participantes, número de pacientes que desenvolveu LRA e as condições clínicas dessa população), critério de classificação de LRA utilizado e b) informações específicas: biomarcador analisado, valores de sensibilidade, especificidade, AUC-ROC e *cut off*. Os resultados obtidos foram apresentados de forma descritiva e na forma de tabelas ou gráficos, dependendo dos dados coletados.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão descritos os resultados da revisão, bem como serão discutidos os tópicos mais relevantes em relação à análise dos biomarcadores.

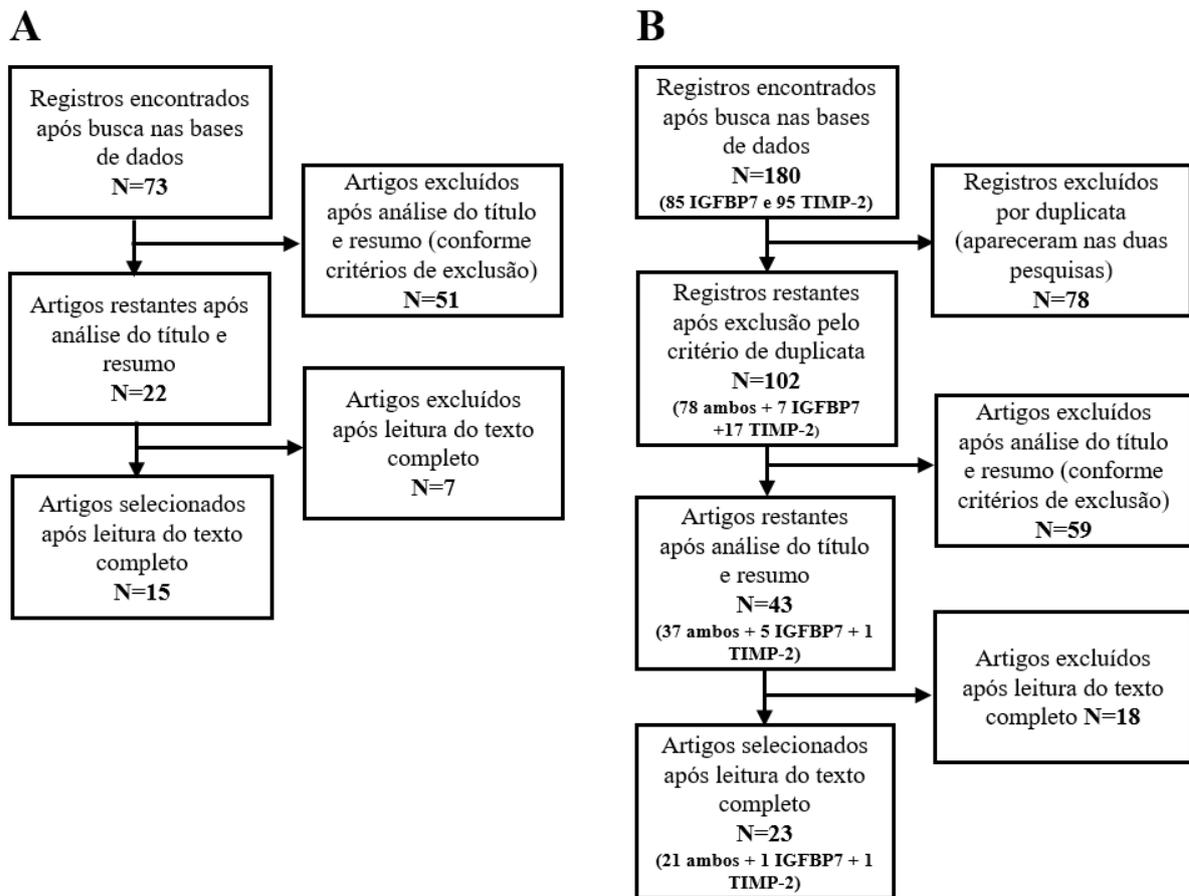
### 5.1 DOS ESTUDOS SELECIONADOS

Para a realização deste trabalho, utilizou-se a base de dados PubMed, onde foi realizada uma pesquisa avançada utilizando os termos MeSH conforme descrito no item 4.1. Também foi consultada a base de dados SciELO. Após a obtenção dos títulos relacionados à combinação dos termos MeSH, foram selecionados os artigos que se enquadravam dentro do período da revisão, de janeiro de 2010 até janeiro de 2020. Após, foram lidos todos os títulos e resumos e excluídos os artigos que não se enquadravam nos critérios de inclusão (item 4.2). Dos trabalhos restantes após leitura de título e resumo, realizou-se a leitura do artigo na íntegra e a extração dos dados em uma tabela para posterior análise. Uma descrição detalhada sobre a seleção dos estudos para cada biomarcador pode ser encontrada na Figura 5.

Para o biomarcador L-FABP, a pesquisa nas bases de dados resultou em um total de 73 registros, dos quais 51 foram excluídos conforme os critérios de exclusão. Após essa análise, 22 artigos foram selecionados para a leitura na íntegra. A partir destes, 7 estudos foram excluídos por não cumprirem os critérios de inclusão, restando um total de 15 artigos, os quais foram incluídos no presente trabalho (Figura 5A).

Em relação aos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7, durante o processo de seleção, observou-se que a grande maioria dos artigos abordava ambos os marcadores em conjunto (TIMP-2 x IGFBP7), portanto, obteve-se um grande número de artigos repetidos que foram excluídos. Inicialmente foram obtidos um total de 180 registros somados para as pesquisas individuais de TIMP-2 e IGFBP7, dos quais 78 foram excluídos por estarem duplicados (ver figura 5B). Após a exclusão dos artigos duplicados, restaram 102 registros, dos quais, após leitura dos títulos e resumos foram excluídos 59, restando 43 artigos para leitura na íntegra. Destes, 18 registros foram excluídos pois não se adequavam aos critérios de inclusão, restando um total de 23 artigos para inclusão na presente revisão.

Figura 5. Metodologia de seleção dos artigos para a revisão



Fonte: Próprio autor (2020).

A) Fluxograma do processo de seleção dos estudos sobre o biomarcador L-FABP. Foram obtidos 73 registros nas bases de dados consultadas, e, após o julgamento pelos critérios de inclusão e exclusão, 15 artigos foram selecionados para a revisão. B) Fluxograma do processo de seleção dos estudos sobre os biomarcadores IGFBP7 e TIMP-2. Em razão de alguns estudos tratarem destes biomarcadores individualmente, inicialmente realizou-se a consulta individual, buscando nas bases de dados com a combinação de Termos MeSH para LRA e TIMP-2 e LRA e IGFBP7, resultando em um total de 180 trabalhos nas duas bases de dados. Antes de iniciar a seleção foram excluídos os registros em duplicata (N=78), que tratavam de ambos os marcadores e, portanto, apareceram nas duas seleções. Em seguida procedeu-se com os critérios de inclusão e exclusão, restando 23 artigos incluídos que foram incluídos nesta revisão.

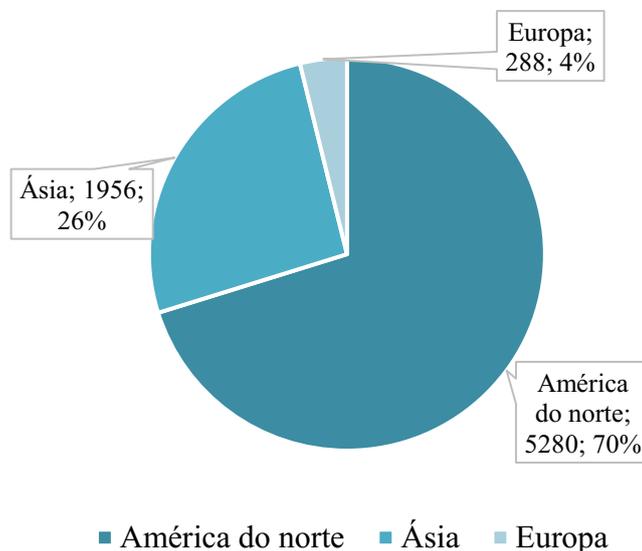
## 5.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS SELECIONADOS

Nesta seção serão apresentados os aspectos gerais extraídos dos artigos selecionados, primeiramente do biomarcador L-FABP e em sequência dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7.

### 5.2.1 Características gerais dos estudos selecionados para a revisão do biomarcador L-FABP

Para a análise desse biomarcador foram selecionados 15 artigos e suas características gerais estão descritas ao final desta seção na Tabela 2. Observa-se que a maior parte dos estudos publicados até o momento foram realizados nos continentes asiático e norte americano, e uma menor parcela na Europa. O total de pacientes que foram estudados nos artigos selecionados foi de 7524, distribuídos nos continentes conforme representado na Figura 6. Destes pacientes, 1634 foram diagnosticados com LRA, sendo 1082 na América do Norte, 508 na Ásia e 44 na Europa. Nos demais continentes ainda não haviam estudos publicados, que pudessem ser incluídos nessa revisão, que relacionam a L-FABP ao diagnóstico de LRA.

Figura 6. Distribuição do número total de pacientes de acordo com o continente onde foi realizada a pesquisa para o biomarcador L-FABP.

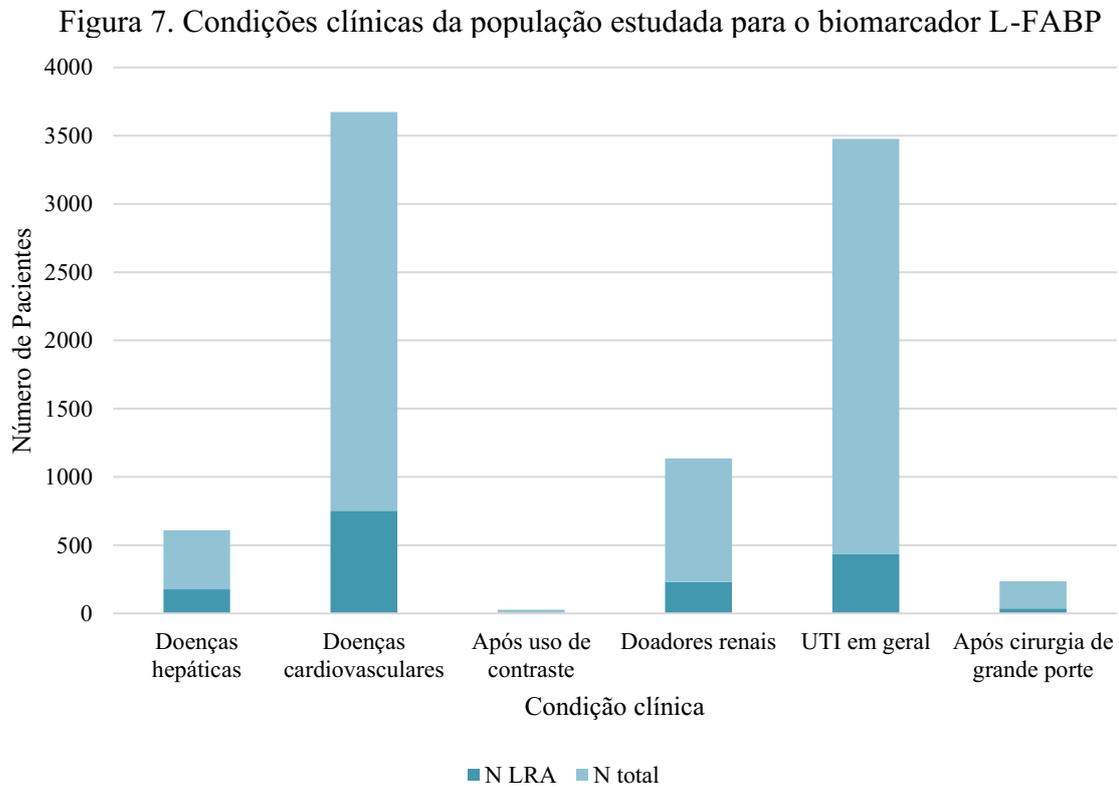


Fonte: Próprio autor (2020)

De acordo com a Figura 7, dos pacientes envolvidos na pesquisa, observa-se que a maior parte possuía alguma patologia cardiovascular ou esteve internado em UTI hospitalar, no número de pacientes que desenvolveram LRA (N LRA). Há também pacientes com cirrose ou que passaram por cirurgia de transplante hepático e pacientes que realizaram cirurgia de grande porte. Diferencialmente dos demais, Molendina et al., 2017 analisa em seu estudo uma população sadia, que foi doadora de rim, dos quais 25.4% dos doadores desenvolveram LRA. Katoh et al., 2013 avalia pacientes pós-uso de contraste, porém o número de amostra é relativamente pequeno.

Em relação a classificação da LRA conforme os critérios, a maioria dos autores utilizou o critério da AKIN, 3 autores optaram pelo critério KDIGO e apenas 1 autor utilizou a

classificação de RIFLE. Observa-se também, que a maioria dos estudos analisados foram estudos de Coorte prospectivos observacionais, com exceção de um estudo de caso controle aninhado e uma análise transversal de estudo de coorte.



Fonte: Próprio autor (2020)

Dentre as limitações dos estudos, uma que é relativamente expressiva é a diferença do número de amostra (ver Tabela 2), onde 5 estudos trabalharam com um número total (N total) de pacientes menor do que 100, em 6 estudos o número de pacientes variou entre 100 e 400 e apenas 4 estudos incluíram um N total maior que 900 pacientes. Essas diferenças no número de amostra dificultam a comparação entre os estudos, além dos demais fatores como condição clínica da população estudada, raça e critérios de classificação utilizados para o diagnóstico.

Tabela 2. Características gerais dos estudos selecionados para a revisão do biomarcador L-FABP.

Continua

Referência	Título	Local	Tipo do estudo	População/ Condição clínica	Definição LRA	N total	N LRA
BELCHER et al., 2014a	<i>Urinary Biomarkers and Progression of AKI in Patients with Cirrhosis</i>	EUA	Coorte prospectivo observacional multicêntrico	Cirrose	AKIN	219	83
BELCHER et al., 2014b	<i>Kidney Biomarkers and Differential Diagnosis of Patients With Cirrhosis and Acute Kidney Injury</i>	EUA	Coorte prospectivo observacional multicêntrico	Cirrose	AKIN	188	83
COCA et al., 2016	<i>First Post-Operative Urinary Kidney Injury Biomarkers and Association with the Duration of AKI in the TRIBE-AKI Cohort</i>	América do Norte	Coorte prospectivo	Submetidos a cirurgia cardíaca em alto risco de LRA pós-operatória	AKIN	1199	407
ISSHIKI et al., 2018	<i>Modest Impact of Serial Measurements of Acute Kidney Injury Biomarkers in an Adult Intensive Care Unit</i>	Japão	Coorte prospectivo	Maiores de 18 anos admitidos na UTI	KDIGO	272	157
KATAGIRI et al., 2012	<i>Combination of Two Urinary Biomarkers Predicts Acute Kidney Injury After Adult Cardiac Surgery</i>	Japão	Prospectivo	Após cirurgia cardíaca	AKIN	77	28
KATOH et al., 2013	<i>Elevation of urinary liver-type fatty acid-binding protein as predicting factor for occurrence of contrast-induced acute kidney injury and its reduction by hemodiafiltration with blood suction from right atrium</i>	Japão	Prospectivo	Após o uso de contraste	KDIGO	25	3
LI et al., 2012	<i>Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and L-type fatty acid binding protein as diagnostic markers of early acute kidney injury after liver transplantation</i>	China	Prospectivo	Doença hepática terminal que realizarão cirurgia de transplante hepático	AKIN	25	11
MATSUI et al., 2012	<i>Usefulness of Urinary Biomarkers in Early Detection of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery in Adults</i>	Japão	Prospectivo	Submetidos a cirurgia cardíaca	AKIN	85	48

							Conclusão	
Referência	Título	Local	Tipo do estudo	População/ Condição clínica	Definição LRA	N total	N LRA	
MOLENDINA et al., 2017	<i>Performance of Serum Creatinine and Kidney Injury Biomarkers for Diagnosing Histologic Acute Tubular Injury</i>	Centros de doadores de órgãos	Análise transversal de Estudo de coorte prospectivo multicêntrico	Doadores de rim	AKIN	905	230	
NARUSE et al., 2018	<i>Predicting acute kidney injury using urinary liver-type fatty-acid binding protein and serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in patients treated at medical cardiac intensive care units</i>	Japão	Coorte prospectivo	Internados em UTIs médicas cardíacas	KDIGO	1273	224	
PARR et al., 2015	<i>Urinary L-FABP predicts poor outcomes in critically ill patients with early acute kidney injury</i>	EUA	Coorte prospectivo de centro único e multi-UTI	Internados nas 4 UTIs (médica, cardíaca, cirúrgica e trauma)	KDIGO	2397	152	
SIEW et al., 2013	<i>Distinct injury markers for the early detection and prognosis of incident acute kidney injury in critically ill adults with preserved kidney function</i>	EUA	Caso-controle aninhado	Internados nas 4 UTIs (médica, cardíaca, cirúrgica e trauma)	AKIN	372	127	
TORREGROSA et al., 2014	<i>Urinary KIM-1, NGAL and L-FABP for the diagnosis of AKI in patients with acute coronary syndrome or heart failure undergoing coronary angiography</i>	Espanha	Prospectivo	Submetidos a angiografia e cirurgias cardíacas	RIFLE	193	35	
WYBRANIEC et al., 2017	<i>Prediction of contrast-induced acute kidney injury by early post-procedural analysis of urinary biomarkers and intra-renal Doppler flow indices in patients undergoing coronary angiography</i>	Itália	Prospectivo observacional	Doenças cardiovasculares	AKIN	95	9	
ZENG et al., 2014	<i>Performance of urinary NGAL and L-FABP in predicting acute kidney injury and subsequent renal recovery: a cohort study based on major surgeries</i>	China	Coorte prospectivo observacional	Internados para cirurgia de grande porte	AKIN	199	37	

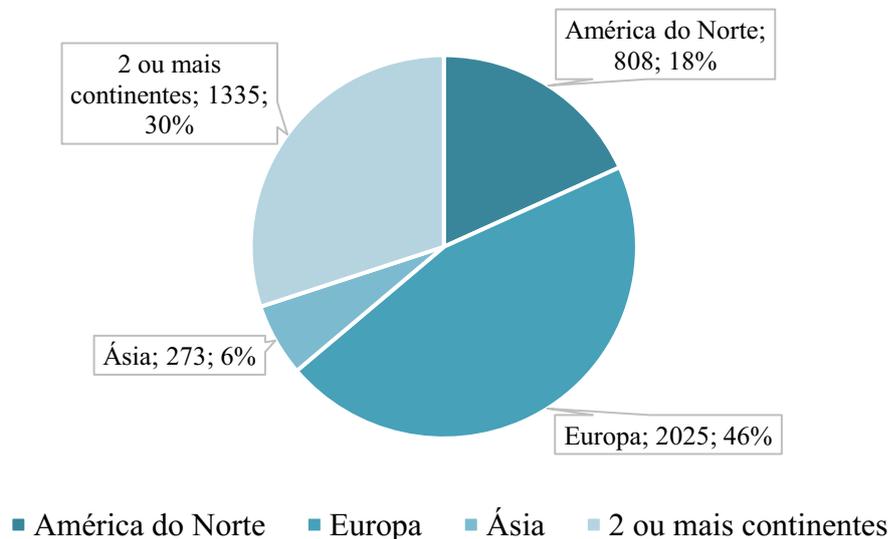
Fonte: Próprio autor (2020)

### 5.2.2 Características gerais dos estudos selecionados para a revisão dos biomarcadores IGFBP7 e TIMP-2

Após a leitura do texto completo, restaram 23 artigos para serem analisados e suas características gerais estão descritas na Tabela 3, presente no final deste tópico.

O quantitativo total de pacientes incluídos nessa revisão foi 4441, sendo que destes, 1467 desenvolveram LRA. Em relação a distribuição intercontinental dos pacientes incluídos nessa revisão, pode-se observar, na Figura 8, que 46% fazem parte do continente Europeu, 18% da América do Norte, 6% da Ásia e 30% fazem parte de ambos continentes, Europeu e Americano (Os estudos foram multicêntricos, incluindo, portanto, pacientes de diversas regiões dos continentes Europeu e Americano). Igualmente ao biomarcador L-FABP, as pesquisas sobre o papel de TIMP2 e IGFBP7 no diagnóstico de LRA foram desenvolvidas em continentes cuja maioria dos países são considerados desenvolvidos. Nações em desenvolvimento carecem desse tipo de análise. Não há nesta revisão pesquisas oriundas de países da Oceania e América do Sul.

Figura 8. Distribuição do número total de pacientes de acordo com o continente onde foi realizada a pesquisa para os biomarcadores TIMP2 e IGFBP7.

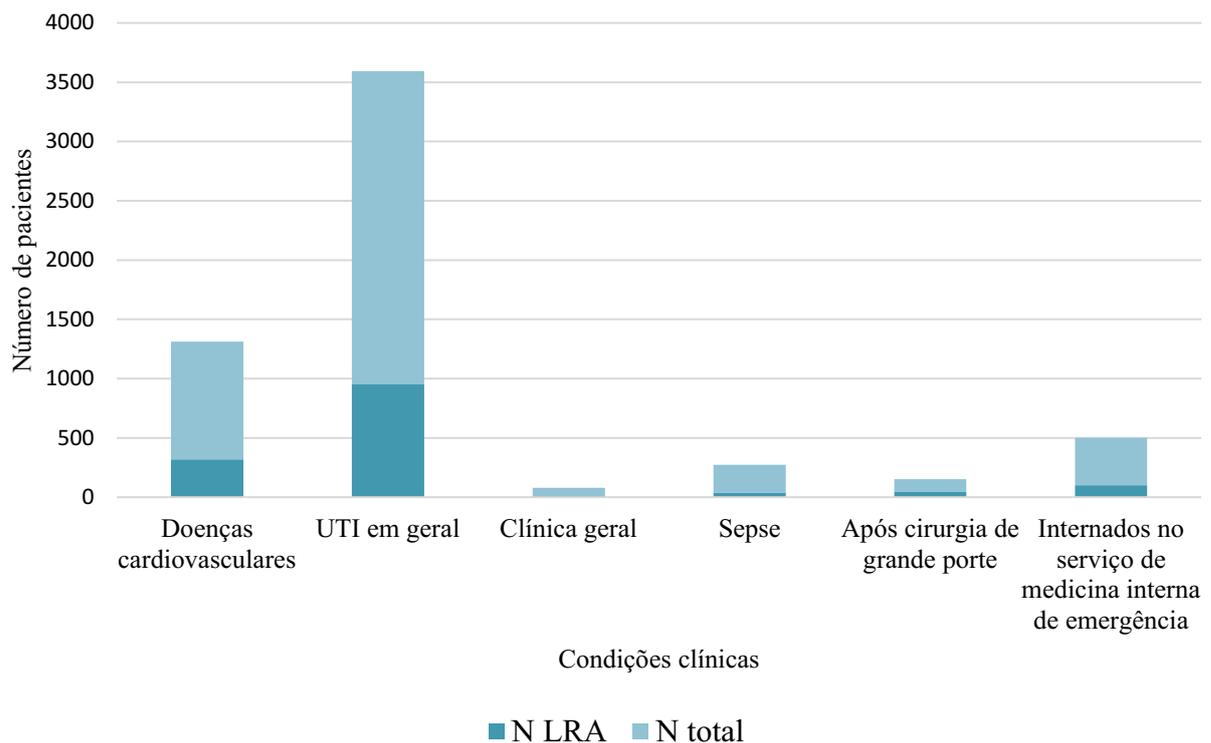


Fonte: Próprio autor (2020)

Considerando as condições clínicas da população estudada, observa-se que 11 estudos avaliaram pacientes com problemas cardiovasculares, que passaram ou não por procedimento

cirúrgico cardíaco, 9 estudos analisaram pacientes admitidos em UTIs em geral, além de 4 outros estudos que individualmente avaliaram pacientes após sepse, após cirurgia de grande porte não cardíaca, internados em serviço de medicina interna de emergência e admitidos em clínica geral hospitalar. A quantidade de pacientes que desenvolveu LRA de acordo com as condições clínicas pode ser observada na Figura 9.

Figura 9. Condições clínicas da população estudada para IGFBP7 e TIMP-2.



Fonte: Próprio autor (2020)

Uma característica que ficou em evidência é que todos os artigos incluídos na revisão desses 2 biomarcadores utilizaram o critério KDIGO para definição da LRA. Essa diferença em relação a análise da L-FABP se justifica, pois, a descoberta dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 foi descrita por KASHANI et al., 2013, no ano seguinte da consolidação do critério KDIGO, que aconteceu em 2012, conforme descrito no item 1.3.

Em relação aos tipos de estudo incluídos, a grande maioria foram estudos de coorte prospectivos de centro único, alguns multicêntricos e também análises de subgrupo do subconjunto de pacientes de alguns desses estudos de coorte, além de um sub-estudo de um ensaio clínico.

Tabela 3. Características gerais dos estudos selecionados para a revisão dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7.

Referência	Título	Local	Tipo do estudo	População/Condição clínica	Definição LRA	N total	N LRA
ADLER et al., 2018	<i>TIMP-2/IGFBP7 predicts acute kidney injury in out-of-hospital cardiac arrest survivors</i>	Alemanha	Prospectivo em centro único com um pequeno tamanho de amostra	Internados na UTI cardíaca	KDIGO	48	31
AYDOGDU et al., 2016	<i>A promising marker in early diagnosis of septic acute kidney injury of critically ill patients: urine insulin like growth factor binding protein-7</i>	Turquia	Coorte prospectivo em centro único	Internados em UTI	KDIGO	118	43
BELL et al., 2015	<i>Assessment of Cell-Cycle Arrest Biomarkers to Predict Early and Delayed Acute Kidney Injury</i>	Suécia	Coorte prospectivo em centro único	Em estado crítico sem evidência de LRA na admissão na UTI	KDIGO	94	19
BIHORAC et al., 2014	<i>Validation of Cell-Cycle Arrest Biomarkers for Acute Kidney Injury Using Clinical Adjudication</i>	EUA	Multicêntrico prospectivo	Internados em UTI	KDIGO	408	71
CUMMINGS et al., 2019	<i>Intraoperative prediction of cardiac surgery-associated acute kidney injury using urinary biomarkers of cell cycle arrest</i>	EUA	Coorte prospectivo	Submetidos a cirurgia cardíaca	KDIGO	400	91
DAUBIN et al., 2017	<i>Urinary Biomarkers IGFBP7 and TIMP-2 for the Diagnostic Assessment of Transient and Persistent Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients Predicting Acute Kidney Injury in Intensive Care Unit Patients: The Role of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2 and Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-7 Biomarkers</i>	França	Observacional, prospectivo e de centro único	Adultos internados em UTI	KDIGO	101	41
DI LEO et al., 2018	<i>Early prediction of acute kidney injury after transapical and transaortic aortic valve implantation with urinary G1 cell cycle arrest biomarkers</i>	Itália	Coorte prospectivo em centro único	Adultos internados em UTI	KDIGO	719	389*
DUSSE et al., 2015	<i>Early prediction of acute kidney injury after transapical and transaortic aortic valve implantation with urinary G1 cell cycle arrest biomarkers</i>	Alemanha	Observacional prospectivo	Submetidos a TAVI	KDIGO	40	15

Continua

Continua

Referência	Título	Local	Tipo do estudo	População/Condição clínica	Definição LRA	N total	N LRA
FINGE et al., 2017	<i>Interest of Urinary [TIMP-2] × [IGFBP-7] for Predicting the Occurrence of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Gray Zone Approach</i>	França	Prospectivo em centro único	Submetidos a cirurgia cardíaca com CEC	KDIGO	93	34
GOCZE et al., 2015	<i>Urinary Biomarkers TIMP-2 and IGFBP7 Early Predict Acute Kidney Injury after Major Surgery</i>	Alemanha	Prospectivo	Após grande cirurgia não cardíaca	KDIGO	107	45
GUNNERSON et al., 2016	<i>TIMP2•IGFBP7 biomarker panel accurately predicts acute kidney injury in high-risk surgical patients</i>	Europa e América do Norte	Análise de subgrupo pré-planejada	Pós-cirúrgicos adultos em risco de LRA internados em UTI	KDIGO	375	35
HODGSON et al., 2018	<i>Improving Clinical Prediction Rules In Acute Kidney Injury With The Use of Biomarkers of Cell Cycle Arrest: A Pilot Study.</i>	Reino Unido	Piloto, prospectivo de centro único	Adultos em clínica geral	KDIGO	69	9
HONORE et al., 2016	<i>Urinary Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 and Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 7 for Risk Stratification of Acute Kidney Injury in Patients With Sepsis</i>	Europa e América do Norte	Análise de subgrupo pré-planejada	Sepse	KDIGO	232	40
KASHANI et al., 2013	<i>Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury</i>	Europa e América do Norte	Três estudos de coorte de centro único + um estudo de coorte prospectivo multicêntrico	Internados em UTI	KDIGO	728	312
KIMMEL et al., 2016	<i>Association of Renal Stress/Damage and Filtration Biomarkers with Subsequent AKI during Hospitalization among Patients Presenting to the Emergency Department</i>	Alemanha	Coorte	Internados no serviço de medicina interna de emergência	KDIGO	400	101

							Conclusão	
Referência	Título	Local	Tipo do estudo	População/Condição clínica	Definição LRA	N total	N LRA	
MAYER et al., 2017	<i>Urine biomarker of tubular renal cell damage for the prediction of acute kidney injury following cardiac surgery – A pilot study</i>	Suíça	Coorte prospectivo observacional	Submetidos à cirurgia cardíaca eletiva com CEC.	KDIGO	110	9	
MEERSCH et al., 2014	<i>Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as Early Biomarkers of Acute Kidney Injury and Renal Recovery following Cardiac Surgery</i>	Alemanha	Prospectivo	Internados para cirurgia cardíaca com CEC.	KDIGO	50	26	
SCHANZ et al., 2017	<i>Urinary [TIMP-2] × [IGFBP7] for risk prediction of acute kidney injury in decompensated heart failure</i>	Alemanha	Análise de subgrupo do subconjunto de pacientes	Internados com insuficiência cardíaca descompensada	KDIGO	40	19	
WANG et al., 2017	<i>Urinary TIMP-2 and IGFBP7 for the prediction of acute kidney injury following cardiac surgery</i>	China	Coorte observacional prospectivo	Chineses que realizaram cirurgias cardíacas	KDIGO	57	20	
WETZ et al., 2015	<i>Quantification of urinary TIMP-2 and IGFBP-7: an adequate diagnostic test to predict acute kidney injury after cardiac surgery?</i>	Alemanha	Sub-estudo de um ensaio clínico	Pós cirurgia cardíaca com uso de CEC.	KDIGO	42	16	
YAMASHITA et al., 2014	<i>Evaluation of urinary tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in acute kidney injury: a prospective observational study</i>	Japão	Prospectivo observacional	>20 anos que foram internados em UTI	KDIGO	98	42	
ZAOUTER et al., 2017	<i>New markers for early detection of acute kidney injury after transcatheter aortic valve implantation</i>	França	Coorte observacional prospectivo de centro único	Internados submetidos à TAVI.	KDIGO	62	22	
ZAOUTER et al., 2018	<i>A combined approach for the early recognition of acute kidney injury after adult cardiac surgery</i>	França	Coorte observacional prospectivo de centro único	Submetidos à cirurgia cardíaca	KDIGO	50	37	

\*O autor descreve como NephroCheck positivos

CEC: Circulação extracorpórea. TAVI: implante transcater de válvula aórtica

Fonte: Próprio autor (2020)

### 5.3 O PAPEL DOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO DA LRA

Nesta seção serão apresentados os resultados da análise dos biomarcadores em sua capacidade de diagnosticar a LRA, utilizando os dados fornecidos de AUC-ROC, sensibilidade e especificidade. Para fins de análise, considera-se que uma AUC-ROC com valores entre 0,90 - 1,0 indica que o biomarcador apresentou capacidade (performance) diagnóstica excelente, valores de 0,80 - 0,89 indicam boa capacidade diagnóstica, valores de 0,70 - 0,79 indicam performance razoável, de 0,60 - 0,69 indica performance ruim e, finalmente, uma AUC-ROC de 0,50 - 0,59 indica que o biomarcador não apresentou valor útil para diagnóstico da condição clínica analisada (MATSUI et al., 2012).

#### 5.3.1 L-FABP no diagnóstico da LRA

Conforme o exposto na Tabela 4, a maior parte dos ensaios realizados para quantificação da L-FABP nos estudos selecionados utilizou a técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) que permite a detecção de antígenos (Ag) ou anticorpos (Ac) em fluidos corporais. Nesta reação existe a participação de uma enzima que se liga ao substrato e causa a oxidação de um cromógeno incolor, que leva ao surgimento de uma coloração que é dependente da concentração de Ag ou Ac pesquisados. O outro método de ensaio utilizado foi a imunoturbidimetria com látex, cuja técnica envolve a utilização de partículas de látex poliestireno revestido com anticorpos anti-proteína. A aglutinação entre estas partículas é provocada pela interação da proteína presente na amostra com os anticorpos anti-proteína sensibilizados nas partículas de látex. O nível de aglutinação, que pode ser medido por turbidimetria (detecção óptica de soluções coloidais ou de partículas muito pequenas suspensas em um líquido), é diretamente proporcional à quantidade de proteína da amostra analisada.

A amostra mais utilizada foi a urina, com exceção de uma análise de plasma realizada por ISSHIKI et al., 2018. A vantagem da utilização de urina se dá pelo fato de ser uma amostra de fácil obtenção, na maioria das vezes, através de metodologia não invasiva, que não oferece, portanto, riscos ao paciente. Vale ressaltar que a urina também pode ser coletada por punção supra púbica ou cateter, geralmente em pacientes internados em hospitais, nas UTIs.

Tabela 4. Análise do papel do biomarcador L-FABP como ferramenta de diagnóstico para a LRA

Continua

Referência	População/Condição clínica	Metodologia de ensaio	Tipo de amostra	AUC-ROC (95% CI)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Cut off
BELCHER et al., 2014	Cirrose	ELISA	Urina	0,76 (0,66–0,85)	67	81	21 ng/mL
BELCHER et al., 2014	Cirrose	Imunoturbidimetria com látex	Urina	0,69 (0,57–0,80)	**	**	25 ng/mL
COCA et al., 2016	Submetidos a cirurgia cardíaca em alto risco de LRA pós-operatória	Imunoturbidimetria com látex	Urina	0,62	**	**	**
ISSHIKI et al., 2018	Maiores de 18 anos internados na UTI	ELISA	Plasma e urina	Urinária: 0,78 (0,68–0,88) Plasmática: 0,64 (0,52–0,76) *	**	**	**
KATAGIRI et al., 2012	Após cirurgia cardíaca	ELISA	Urina	0,76 (0,62–0,86) *	64,3	78,8	51,6 ng/mL
KATOH et al., 2013	Após o uso de contraste	ELISA	Urina	0,92	100	81,8	19,0 µg/g Cr
LI et al., 2012	Doença hepática terminal que realizarão cirurgia de transplante hepático	ELISA	Urina	0,76	72,7	71,4	3451,75 ng/mg Ucr
MATSUI et al., 2012	Adultos submetidos a cirurgia cardíaca	ELISA	Urina	Após: 0,86 (0,78–0,94) *	77	92	54,59 µg/g Cr
MOLENDINA et al., 2017	Doadores de rim	Imunoturbidimetria com látex	Urina	0,56 (0,50–0,61)	16	88	171 ng/mL
NARUSE et al., 2018	Internados em UTIs médicas cardíacas	Imunoturbidimetria com látex	Urina	0,794	**	**	**
PARR et al., 2015	Internados nas 4 UTIs (médica, cardíaca, cirúrgica e trauma)	ELISA	Urina	0,79 (0,70–0,86)	**	**	**
SIEW et al., 2013	Internados nas 4 UTIs (médica, cardíaca, cirúrgica e trauma)	ELISA	Urina	0,59 (0,52–0,65)	**	**	**

Conclusão

Referência	População/Condição clínica	Metodologia de ensaio	Tipo de amostra	AUC-ROC (95% CI)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Cut off
TORREGROSA et al., 2014	Submetidos a angiografia (A) e pacientes submetidos à cirurgias cardíacas (CC)	ELISA	Urina	A: 0,642 (0,527–0,757) CC: 0,743 (0,588–0,898)	**	**	A: 20.7 ng/mg CrS CC: 17.86 ng/mg CrS
WYBRANIEC et al., 2017	Problemas cardiovasculares	ELISA	Urina	0,62*	55,6	79.4	0.34 ng/mL
ZENG et al., 2014	Internados para cirurgia de grande porte	ELISA	Urina	0,85 (95% CI 0,77–0,93)	73	93,7	2630 µg/g Cr

\*Os autores disponibilizaram resultados de outras medidas em horários distintos, porém optou-se pelo valor de AUC-ROC mais elevado para realizar as análises. Mais detalhes foram descritos no texto. Os valores de sensibilidade, especificidade e *cut off* são os correspondentes ao valor de AUC-ROC apresentado.

\*\*Informação não fornecida pelos autores

CI: Intervalo de confiança; A: Pacientes submetidos a angiografia; CC: Pacientes submetidos a cirurgia cardíaca; CrS: Creatinina Sérica; Cr: Creatinina; Ucr: Creatinina urinária.

Fonte: Próprio autor (2020)

Em relação à performance da proteína L-FABP, de maneira geral, observou-se, que na maioria dos estudos, houve aumentos significativos nos níveis do biomarcador nas amostras de pacientes com LRA, comparado aos indivíduos que não desenvolveram a lesão renal. As concentrações de L-FABP foram significativamente mais altas no grupo de pacientes que tiveram piora da LRA e morte, quando comparados aos pacientes sem progressão (BELCHER et al., 2014). Analisando-se os valores de AUC-ROC, podemos observar valores de 0,56 a 0,92, indicando uma variação na acurácia diagnóstica do mesmo, de sem valor diagnóstico a excelente valor diagnóstico. Quanto aos valores de sensibilidade e especificidade, observa-se uma sensibilidade variando de 16%, no estudo de Molendina et al., 2017, até 100% no estudo de Katoh et al., 2013 e a especificidade, em geral, foi acima de 70% nos estudos que a citaram.

Belcher et al., 2014 traz os resultados de pacientes com cirrose hepática, cujos dados de concentração de CrS não são possíveis de serem utilizados para refletir a presença ou severidade da lesão, já que nesses pacientes ocorre uma diminuição da produção de creatinina secundária a atrofia muscular e disfunção renal. Em seu estudo ele obteve resultados de AUC-ROC ruins (0,69) quando utiliza a técnica de imunoturbidimetria com látex com *cut off* de 25 ng/ml e resultados razoáveis (0,76) utilizando ELISA com um *cut off* de 21 ng/ml. Esses resultados se assemelham ao que Li et al., 2012 obteve ao estudar os pacientes com doença hepática terminal que iriam realizar o transplante hepático.

No grupo dos pacientes com problemas cardiovasculares, Matsui et al., 2012 obteve o resultado mais elevado de AUC-ROC, 0,86, atingindo 92% de especificidade e 77% de sensibilidade, considerando, portanto, a L-FABP como um bom marcador de diagnóstico de LRA em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca. Torregrosa et al., 2014 e Katagiri et al., 2012 obtiveram um resultado um pouco menos satisfatório no grupo submetido à cirurgia cardíaca, com uma AUC-ROC de 0,74 e 0,76, respectivamente.

Parr et al., 2015 apresentou dados de pacientes internados em UTIs com uma AUC-ROC de 0,79, resultado semelhante ao que Isshiki et al., 2018 obteve em sua análise de amostra urinária (0,78). A concentração de L-FABP urinária pode ser melhor na detecção de LRA pós sepse (PARR et al., 2015 apud DOI et al 2010), o que justificaria um bom resultado de AUC-ROC no estudo de Parr et al., 2015, no qual grande parte da população de UTI estudada estava em situação de sepse.

Ao contrário dos estudos anteriores, Siew et al., 2013 obteve uma AUC-ROC de 0,59, ou seja, sem valor útil para o diagnóstico de LRA em pacientes em UTI. Dentre as justificativas

para um valor ruim, encontra-se o uso da CrS como padrão de referência para definir LRA, que até o momento é o mais viável disponível.

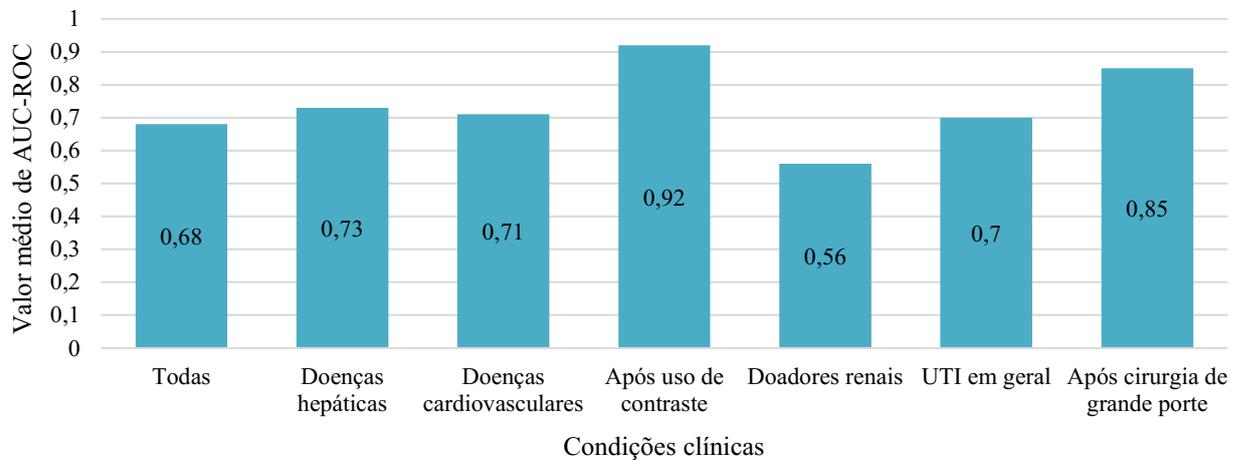
Katoh et al., 2013 estudou pacientes após a administração de contraste e obteve uma AUC-ROC de 0.92 (considerada excelente), alcançando 100% de sensibilidade e 81,8% de especificidade. Seu estudo concorda com o estudo de Nakamura et al., 2006, que afirmava que a LFABP urinária pode ser preditora de LRA induzida por contraste. Porém um fator limitante desse estudo é que o número de pacientes analisado é extremamente baixo, sendo necessário, portanto, outros estudos com uma amostragem maior para comprovar esses resultados.

Ao verificar a L-FABP como biomarcador de diagnóstico de LRA nos pacientes submetidos a cirurgias de grande porte, Zeng et al., 2014 obteve um bom resultado de AUC-ROC, 0.85, com sensibilidade de 73% e especificidade de 93.7%. Por outro lado, Molendina et al., 2017 descreveu resultados insatisfatórios da análise de L-FABP no diagnóstico de LRA no grupo de doadores renais, pois obteve uma AUC-ROC sem valor útil para diagnóstico. Uma das razões para obtenção desse resultado foi relativa ao uso de dados de doadores falecidos, cujos dados não podem ser generalizados, já que a morte cerebral afeta várias funções neuroendócrinas, incluindo diminuição de liberação de hormônio antidiurético (ADH), levando a um quadro de poliúria que afeta a concentração dos biomarcadores na urina (MOLENDINA et al., 2017).

Analisando a média das AUC-ROC de todos os estudos incluídos nessa revisão da L-FABP, conforme ilustrado na Figura 10, observa-se que o biomarcador seria considerado ruim para o diagnóstico de LRA, pois obteve-se o valor de 0,68. Porém, a variedade de condições clínicas analisadas nesta revisão pode gerar uma interpretação duvidosa dos resultados, sendo que o biomarcador apresenta uma variação de média de AUC-ROC quando dividimos os grupos de acordo com a condição clínica, como pode-se observar na Figura 10.

Vale ressaltar ainda que os melhores resultados de AUC-ROC, do grupo de pacientes após o uso de contraste e do grupo após cirurgia de grande porte, assim como o pior resultado, do grupo dos doadores renais são relativos a trabalhos únicos, ou seja, apenas 1 trabalho de cada grupo foi incluído nessa revisão, portanto, é interessante analisar com cautela esses resultados. Nos demais grupos, que compreendem doenças hepáticas, cardiovasculares e pacientes de UTI em geral, observamos que o biomarcador é considerado razoável como biomarcador de diagnóstico de LRA, de acordo com o critério de avaliação descrito no item 5.3.

Figura 10. Média da AUC-ROC do biomarcador LFABP em relação às condições clínicas dos pacientes incluídos na revisão.



Fonte: Próprio autor (2020)

Um fator importante que dificulta a análise dos estudos incluídos na revisão é o fato de que cada autor utiliza um valor de *cut off* diferente para a L-FABP. Muitos estudos expressam o valor obtido para a dosagem do biomarcador em ng/mL. Já outros estudos expressam esse valor corrigido pela creatinina urinária, como por exemplo no estudo de Katoh et al., 2013. A creatinina é o biomarcador mais utilizado para o diagnóstico atualmente, porém tem limitações que motivam a busca desses novos biomarcadores, seria interessante, portanto, que esses novos biomarcadores pudessem ser dosados e avaliados por valores de referência que não necessitem da dosagem da creatinina. Embora muitos pesquisadores tenham avaliado biomarcadores de lesão como ferramentas para superar as limitações de definição de LRA baseada em CrS, quase todos se baseiam na concentração de CrS para definir a LRA (MOLENDINA et al., 2017 apud WAIKAR et al., 2011). Além disso, é importante mencionar que estas discrepâncias em relação aos valores de *cut off* para o biomarcador podem ocorrer devido a uma falta de padronização das metodologias empregadas para as análises do mesmo. Para a implementação de um novo biomarcador na prática clínica, é indispensável que se definam diretrizes de padronização de métodos de análise laboratorial, bem como, valores de referência a serem considerados para a tomada de decisão.

Outro fator que limita a análise de um biomarcador de diagnóstico é o fato de que a população que desenvolve LRA é muito heterogênea e determinados grupos de patologias aparentam ter resultados melhores ou piores em relação às demais. Além dos fatores mencionados anteriormente, a variedade do número de amostra (N) também dificulta as

análises, pois o resultado excelente ou ruim pode ser decorrente do baixo valor do N estudado, não elucidando, portanto, a realidade.

Apesar da literatura mostrar um papel promissor da proteína L-FABP como biomarcador de LRA, ainda existem discrepâncias importantes entre os estudos, as quais limitam uma análise mais abrangente do seu real papel na clínica. Desta forma, é importante que mais estudos sejam desenvolvidos abrangendo grande número de pacientes em diferentes situações clínicas para que a L-FABP possa, então, ser implementada como marcador de LRA na prática clínica.

### **5.3.2 TIMP-2 e IGFBP7 no diagnóstico da LRA**

Conforme as informações contidas na Tabela 5, observa-se que entre os métodos de ensaio mais utilizados para a análise destes biomarcadores está o NephroCheck<sup>®</sup>, um imunoenensaio fluorescente descrito por Kashani et al., 2013 e comercializado por Astute Medical, Inc.. É um dispositivo de diagnóstico *in vitro* que mede quantitativamente TIMP-2 e IGFBP7 de maneira simultânea e seus resultados são gerados em até 20 minutos. O teste é realizado utilizando 100 µl do conjugado e 100 µl de urina, que são homogeneizados e adicionados ao cartucho, de uso individual. Esse cartucho é colocado em um analisador automático de bancada, o Astute140 Meter<sup>®</sup>, que converte o sinal fluorescente de cada um dos dois testes de biomarcadores, TIMP-2 e IGFBP-7, contidos no cartucho de teste em um único resultado numérico. O Astute 140 Meter<sup>®</sup> multiplica as concentrações dos dois biomarcadores juntos e divide este produto por 1.000 para relatar um único resultado de teste numérico com unidades de  $(\text{ng/mL})^2/1.000$ .

Outro método também utilizado foi o ELISA, descrito no item 5.3.1, o qual foi empregado nos estudos de Aydogdu et al., 2016 e Yamashita et al., 2014, quando estes analisaram individualmente os marcadores IGFBP7 e TIMP-2, respectivamente.

Todos os autores incluídos nesta revisão utilizaram amostras de urina para realização de seus estudos. Como já mencionado anteriormente, a amostra de urina apresenta vantagens pois é fácil de ser obtida e, na maioria dos casos, não é necessária uma técnica invasiva para a coleta.

Tabela 5. Análise do papel dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 como ferramenta de diagnóstico para a LRA.

Continua

Referência	População/Condição clínica	Metodologia de ensaio	Tipo de amostra	Biomarcador	AUC-ROC (95% CI)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Cut Off
ADLER et al., 2018	Admitidos na UTI cardíaca após parada cardíaca extra-hospitalar	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,97 (0,90–1,00)	96,8	94,1	0,24 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
AYDOGDU et al., 2016	Internados na UTI	ELISA	Urina	IGFBP7	0,79	72	70	2,5 ng/mL
BELL et al., 2015	Em estado crítico sem evidência de LRA na internação em UTI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,40 (0,24–0,57)	*****	*****	*****
BIHORAC et al., 2014	Internados em UTI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,82 (0,76-0,88)	92 e 37**	46 e 95**	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000 2,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
CUMMINGS et al., 2019	Adultos submetidos à cirurgias cardíacas	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,78 (0,58-0,93) *	73	64	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
DAUBIN et al., 2017	Adultos internados na UTI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,62(0,44-0,80) *	*****	*****	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
DI LEO et al., 2018	Adultos internados na UTI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,633 (0,588-0,678)	64	56	0,37 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
DUSSE et al., 2015	Submetidos a implante transcater de válvula aórtica (TAVI)	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,971 (0,914-1,0)*	100	90	1,03 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
FINGE et al., 2017	Submetidos a cirurgia cardíaca com CEC	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,73 (0,62-0,83)	76	64	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000

Continua

Referência	População/Condição clínica	Metodologia de ensaio	Tipo de amostra	Biomarcador	AUC-ROC (95% CI)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Cut Off
GOCZE et al., 2015	Após grande cirurgia não cardíaca	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,85 (0,78-0,93)	*****	*****	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
GUNNERSON et al., 2016	Pós-cirúrgicos adultos em risco de LRA internados em UTI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,84 (0,76–0,90)	89 e 40**	49 e 94**	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000 2,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
HODGSON et al., 2018	Adultos em clínica geral	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,78 (0,57-0,98)	78	89	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
HONORE et al., 2016	Sepse	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,84 (0,77–0,90)	95, 77,5 e 60***	37,5, 75 e 89,1***	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000, 1,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000 2,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
KASHANI et al., 2013	Internados em UTI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	IGFBP7: 0,78 TIMP-2: 0,79 [TIMP-2]·[IGFBP7]: 0,80	*****	*****	*****
KIMMEL et al., 2016	Internados no serviço de medicina interna de emergência	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,76 (0,68-0,84)	76 e 30**	53 e 94**	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000 e 2,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
MAYER et al., 2017	Submetidos à cirurgia cardíaca eletiva com circulação extracorpórea (CEC)	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,78 (0,67–0,83)*	77,8	64,1	0,41 (ng/mL) <sup>2</sup> /1000
MEERSCH et al., 2014	Internados para cirurgia cardíaca com CEC	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,81 (0,68–0,93)	80	83	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000

Conclusão

Referência	População/Condição clínica	Metodologia de ensaio	Tipo de amostra	Biomarcador	AUC-ROC (95% CI)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Cut Off
SCHANZ et al., 2017	Internados com insuficiência cardíaca descompensada	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,84 (0,72-0,93)	86 e 43**	73 e 95**	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000 2,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
WANG et al., 2017	Chineses que realizaram cirurgias cardíacas	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,80 (0,68–0,91)*	75 e 20**	70 e 100**	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000 2,0 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
WETZ et al., 2015	Pós cirurgia cardíaca com uso de CEC	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,71	46,67	96,15	1,1 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
YAMASHITA et al., 2014	>20 anos internados em UTI	ELISA	Urina	TIMP-2	0,75 (0,63-0,84)*****	*****	*****	*****
ZAOUTER et al., 2017	Internados submetidos à TAVI	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,71 (0,55–0,83)	57	83	0,35(ng/mL) <sup>2</sup> /1,000
ZAOUTER et al., 2018	Submetidos à cirurgia cardíaca	NephroCheck®	Urina	TIMP-2/IGFBP7	0,69 (0,53–0,84)	65	62	0,3 (ng/mL) <sup>2</sup> /1,000

\*Os autores disponibilizaram resultados de outras medidas em horários distintos, porém optou-se pelo valor de AUC-ROC mais elevado para realizar as análises. Os valores de sensibilidade e especificidade são os correspondentes a AUC-ROC selecionada.

\*\*Para valor de *cut off* 0.3 e 2.0 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000, respectivamente.

\*\*\* Para valor de *cut off* 0.3, 1.0 e 2.0 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000, respectivamente.

\*\*\*\*Os autores disponibilizaram a AUC para estágio 1 de LRA e outra para estágio 2 e 3. Utilizou-se o valor referente a estágio 1.

\*\*\*\*\* Informação não fornecida pelos autores.

TAVI: Implante transcaterter de válvula aórtica; CEC: Circulação extra-corpórea

Fonte: Próprio autor (2020)

A descoberta e a validação biomarcadores IGFBP7 e TIMP-2 para diagnóstico de LRA foram descritas por Kashani et al., 2013. Ao estudar uma população de pacientes internados em UTI, observou-se que a AUC-ROC do produto dos dois biomarcadores, identificado como [TIMP-2]·[IGFBP7], foi de 0,80 para desenvolvimento de LRA (estágios 2 e 3) dentro de 12 horas, sendo considerado, portanto, que o produto dos dois biomarcadores apresentava uma boa capacidade diagnóstica. Neste mesmo estudo, Kashani e colaboradores também analisaram os biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 individualmente, os quais apresentaram valores de AUC-ROC de 0,79 e 0,76, respectivamente. Com base nesses resultados, os autores concluíram que a análise de ambos os biomarcadores em conjunto ([TIMP-2]·[IGFBP7]) apresentava uma melhor capacidade diagnóstica que a análise dos mesmos de maneira isolada. Devido a este fato, a maioria dos autores que realizaram suas pesquisas após a publicação da descoberta e validação do teste, fizeram as análises do produto dos dois biomarcadores, utilizando o NephroCheck® e por isso há uma certa carência de dados das análises individuais desses biomarcadores. Na nossa revisão foram incluídos apenas dois artigos, que tratam dos biomarcadores de forma individual. Aydogdu et al., 2016 analisou os pacientes internados em UTI e obteve uma AUC-ROC de 0,79 na análise de IGFBP7, valor semelhante ao descrito por Kashani et al., 2013. Já Yamashita et al., 2014 ao analisar o TIMP-2 em pacientes na mesma condição clínica obteve uma AUC-ROC de 0,75, que também está de acordo com os resultados individuais de Kashani et al., 2013 para o mesmo biomarcador. Foi constatado que o TIMP-2, individualmente analisado, detecta LRA severa com performance equivalente (todos com  $AUC-ROC \geq 0,80$ ) à NGAL plasmática e a NAG urinária (YAMASHITA et al., 2014). Além disso, foi observado que o marcador IGFBP7 é melhor que o TIMP-2 para predição de LRA em pacientes pós cirúrgicos; por outro lado, TIMP-2 é melhor na predição de LRA pós sepse (KASHANI et al., 2013).

Ao comparar os resultados das pesquisas subsequentes, após o processo de validação, utilizando o produto dos dois biomarcadores em pacientes internados em UTI, é possível observar que Gunnerson et al., 2016 e Bihorac et al., 2014 obtiveram resultados bons (AUC-ROC de 0,84 e 0,82 respectivamente), Aydogdu et al., 2016 obteve um resultado razoável (AUC-ROC de 0,79), Daubin et al., 2017 e Di Leo et al., 2018 apresentaram resultados ruins (AUC-ROC de 0,62 e 0,63, respectivamente) e Bell et al., 2015 obteve um resultado de que esses dois biomarcadores não tem valor útil para diagnóstico (AUC-ROC de 0,40). Uma justificativa para essa grande variação de resultados em um grupo de pacientes com a mesma condição clínica, pode ser devido à grande discrepância no número total de amostras analisadas,

logo, estudos multicêntricos como os desenvolvidos por Kashani et al., 2013, Gunnerson et al., 2016 e Bihorac et al., 2014, com maior número de amostras, podem trazer resultados que condizem mais com a realidade deste grupo analisado, além disso, vale ressaltar que a população internada em UTI é bem heterogênea, e as causas da internação não foram consideradas na comparação dos resultados.

Uma outra população bastante estudada foi a de pacientes com problemas cardiovasculares, que necessitaram ou não da realização de procedimentos cirúrgicos. Um dos autores que apresentou os melhores resultados de capacidade diagnóstica desse biomarcador foi Adler et al., 2018, que obteve uma AUC-ROC de 0,97, atingindo excelentes resultados de 96,8% de sensibilidade e 94,1% de especificidade ao estudar pacientes que sofreram parada cardíaca. O mesmo resultado de AUC-ROC foi obtido por Dusse et al., 2015, porém segundo ele, os biomarcadores alcançaram 100% de sensibilidade e 90% de especificidade, quando utilizado um *cut off* de 1,03 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000.

Os autores que estudaram os pacientes pós cirurgia cardíaca com uso de circulação extra corpórea (CEC) obtiveram resultados razoáveis, variando de 0,71-0,81 na AUC-ROC. Cummings et al., 2019 demonstrou que nos pacientes em uso de CEC, a primeira elevação dos biomarcadores ocorre durante o procedimento cirúrgico e ocorre uma segunda elevação 6 horas após o procedimento. Além disso, o grupo de pacientes que não desenvolveu a LRA não teve nenhum aumento. Em outro estudo incluído na revisão, o aumento acontece 1 hora após o início da CEC e se mantém dentro das primeiras 12 horas, enquanto outro biomarcador bem conhecido, a NGAL, se eleva em aproximadamente 48 horas, o que reforça a rapidez diagnóstica de [TIMP-2].[IGFBP7] (MAYER et al., 2017; WASUNG et al., 2015). Meersch et al., 2014 também compara os biomarcadores com a NGAL e conclui que a AUC-ROC do [TIMP-2].[IGFBP7] é maior que a da NGAL, obtendo portanto, uma melhor acurácia diagnóstica.

Já nos pacientes que foram submetidos a implante transcater de válvula aórtica (TAVI), os resultados da análise dos biomarcadores foram discrepantes, sendo que Zaouter et al., 2017 obteve resultado razoável (AUC-ROC = 0,71) e Dusse et al., 2015 obteve um resultado excelente (AUC-ROC = 0,97) ao analisar pacientes com a condição clínica semelhante, porém seu estudo possui algumas limitações, dentre elas um baixo valor de N total e o fato de a diurese ser afetada pelos medicamentos e fluidos intravenosos administrados no pós operatório.

Gocze et al., 2015 estudou pacientes após grande cirurgia não cardíaca e obteve bons resultados (AUC-ROC = 0,85) na análise dos biomarcadores para diagnóstico de LRA.

Hodgson et al., 2018 e Kimmel et al., 2016 analisaram o biomarcador em pacientes de clínica geral e no serviço de medicina interna de emergência, respectivamente, ambos obtendo resultados razoáveis de AUC-ROC de 0,78 e 0,76, respectivamente.

Honore et al., 2016 foi o único autor incluído nessa revisão que buscou avaliar os biomarcadores de diagnóstico de LRA em população que sofreu sepse. Os autores obtiveram um resultado de AUC-ROC considerado bom, e sua sensibilidade foi 95% utilizando o *cut off* de 0,3 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000 e a especificidade foi de 89,1% com o *cut off* 2,0 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000.

Outro fator interessante observado na revisão é que vários autores utilizaram diferentes valores de *cut off* em suas pesquisas, porém, ao contrário do que aconteceu com o biomarcador L-FABP, para esses dois biomarcadores foram validados 2 valores de *cut off*: 0,3 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000 e 2,0 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000, sendo o primeiro mais sensível, e o segundo, mais específico (KASHANI et al., 2013). Vale ainda ressaltar que pacientes que obtiveram resultado maior que 0,3 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000 apresentam alto risco de desenvolver LRA e aqueles com resultados maiores do que 2,0 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000 apresentam risco ainda maior de desenvolver a LRA (HOSTE et al., 2014). Por este fato é que na tabela 5, são mostrados mais de um valor de sensibilidade e especificidade, quando os autores trabalharam com mais de um *cut off*. Isso também facilita a comparação entre os dados publicados por diferentes autores.

Um dos estudos foi realizado de maneira que a capacidade diagnóstica dos biomarcadores estava sendo analisada para prever diagnóstico de LRA em estágio 1 e diagnóstico de LRA estágio 2 e 3. Nesse estudo revela-se que os biomarcadores tem um melhor potencial de prever os estágios 2 e 3, mais graves, com uma AUC-ROC de 0,81 (YAMASHITA et al., 2014). Da mesma forma, Dusse et al., 2016 revelou que o aumento da CrS e a diminuição da TFG ocorre no segundo dia do pós operatório, já [TIMP-2].[IGFBP7] aumenta no primeiro dia do pós operatório, sendo portanto mais rápidos na detecção de LRA estágio 2 e 3. Já Wang et al., 2017 ressalta que o aumento do biomarcador ocorre entre 2-6 horas após admissão na UTI nos pacientes que desenvolvem a LRA e que [TIMP-2].[IGFBP7] tem boa predição de todos os estágios de LRA e não só dos estágios 2 e 3.

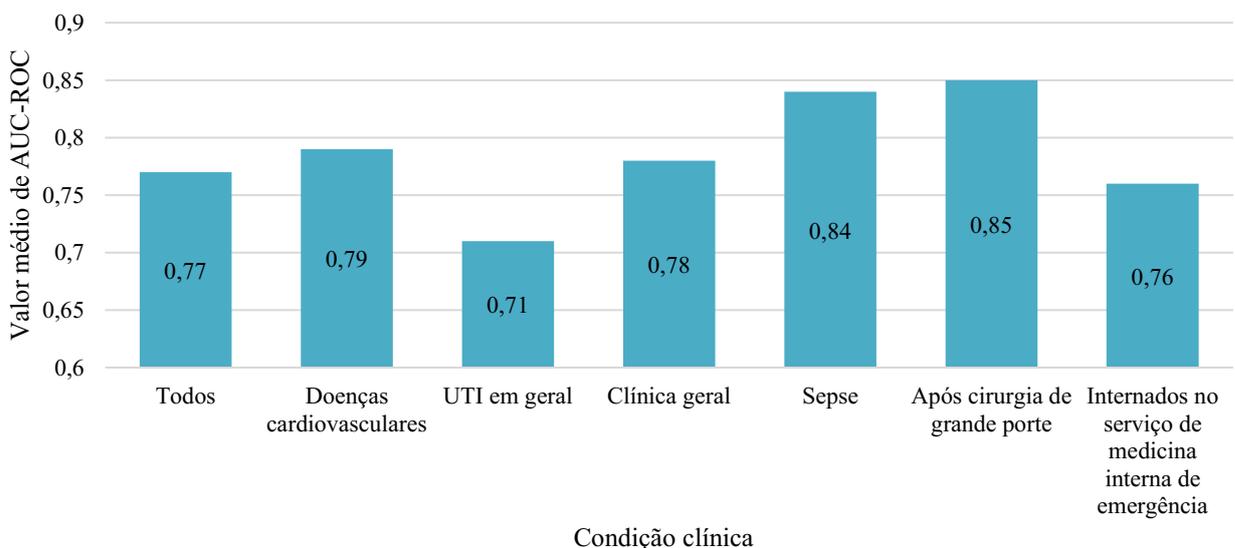
Em geral, o aumento dos biomarcadores está associado ao desenvolvimento de LRA pós-operatório. [TIMP-2].[IGFBP7] fornece uma excelente precisão diagnóstica, superior à da creatinina sérica (DUSSE et al., 2016) e da NGAL (MAYER et al., 2017). Seu aumento ocorre mais rapidamente que o aumento da CrS e a diminuição da TFG (DUSSE et al., 2016) e a performance de [TIMP-2].[IGFBP7] é melhor do que a de todos os outros biomarcadores já

avaliados para predição de LRA em estágio 2 e 3 dentro do período de 12 horas (KASHANI et al., 2013).

Conforme o observado na Figura 11, a média de todas as AUC-ROC dos estudos incluídos na revisão foi de 0,77, considerando o marcador, portanto, como razoável para diagnóstico de LRA. De uma maneira geral, os biomarcadores TIMP-2 e IGFBP-7, quando analisados em conjunto, apresentam uma boa capacidade de diagnóstico de LRA, particularmente para pacientes submetidos a cirurgias de grande porte e pacientes que tiveram sepse, de acordo com a média dos valores de AUC-ROC apresentados na Figura 11. Nas demais condições clínicas (Doenças cardiovasculares, UTI em geral, clínica geral e internados no serviço de medicina interna de emergência) os biomarcadores foram considerados razoáveis para o diagnóstico de LRA.

Vale ressaltar que apesar de tentar minimizar os erros de interpretação de resultados ao dividirmos os pacientes de acordo com suas condições clínicas, dentro dos grupos ainda há uma certa variação, por exemplo, dentro do grupo de doenças cardiovasculares, há pacientes que realizaram tipos diferentes de cirurgias e procedimentos, e existe uma variação de valores entre esses grupos, que já foi discutida anteriormente.

Figura 11. Média da AUC-ROC dos biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 em relação às condições clínicas dos pacientes incluídos na revisão.



Fonte: Próprio autor (2020)

Ambos os biomarcadores e também seu produto aparentam ser ferramentas promissoras de diagnóstico de LRA, porém mais estudos que compreendam uma população mais variada, com outras condições clínicas, com um número de participantes maior, são ainda necessários para avaliar a acurácia diagnóstica desses biomarcadores em relação ao desenvolvimento de LRA.

## 6 CONCLUSÃO

A LRA é uma doença que acomete principalmente pessoas hospitalizadas, podendo levar à perda da função renal e morte dos pacientes. A creatinina continua sendo utilizada como principal biomarcador de diagnóstico, principalmente por ser um exame mais simples e mais barato, em relação aos demais. Por ser um biomarcador tardio, o prognóstico dos pacientes é prejudicado, pois o tratamento também é iniciado tardiamente. Neste cenário, novos biomarcadores de LRA se mostram promissores, pois tem a capacidade de prever a lesão antes de ela acontecer, como é o caso dos biomarcadores de parada do ciclo celular IGFBP7 e TIMP-2, ou diagnosticar a lesão de forma mais rápida que a creatinina, como acontece com a L-FABP.

Dos 15 artigos revisados para o biomarcador L-FABP, observa-se que a maioria não segue um padrão de valores de *cut off* e de metodologia de análise, dificultando a comparação entre os estudos. Além disso, há estudos com baixo valor de N total, cujos resultados podem não corresponder à realidade da população estudada. A média das AUC-ROC dos artigos incluídos na revisão (0,68) descreve a L-FABP como um biomarcador ruim no diagnóstico da LRA. Na análise individual, levando em consideração a condição clínica dos pacientes, observa-se que o biomarcador se mostra promissor em pacientes que fizeram uso de contraste e pós-cirúrgicos. Em relação a metodologia de análise, são utilizados ELISA e imunoturbidimetria em látex, com valores de *cut off* que variam conforme o estudo. Devido às limitações dos artigos citadas anteriormente, são necessários mais estudos, que tragam uma noção melhor do comportamento da L-FABP na LRA nas diferentes condições clínicas e que tragam uma padronização referente aos valores de *cut off* que devem ser utilizados para o diagnóstico da LRA.

Em relação ao TIMP-2 e IGFBP7, foram incluídos na revisão 23 artigos, onde a maioria utilizou a mesma metodologia de análise do biomarcador em amostras de urina, com valores de *cut off* semelhantes, o que facilitou a comparação entre os resultados obtidos nos estudos. Dentre as limitações dos estudos, também há uma ampla variação no N total de pacientes incluídos nas pesquisas, e a condição clínica dos pacientes também pode causar interferências nos resultados. A média das AUC-ROC para esses biomarcadores foi igual a (0,77), o que nos faz considerar o TIMP-2 e o IGFBP7 como razoáveis biomarcadores de LRA. Analisando individualmente em relação à condição clínica, ambos se mostraram melhores em pacientes com sepse e após cirurgias de grande porte (alguns estudos em cirurgias cardíacas mostraram um aumento muito rápido e uma AUC-ROC excelente). Sua análise se dá pelo uso

de ELISA e pelo Nephrocheck, utilizando *cut off* de 0,3 e 2,0 (ng/ml)<sup>2</sup>/1,000, sendo o primeiro mais sensível, e o segundo, mais específico na maior parte dos estudos. No caso desses biomarcadores, assim como para a L-FABP, ainda são necessários mais estudos para avaliar melhor seu papel no diagnóstico de LRA em diferentes situações clínicas.

Outro fato que chama a atenção na análise dos biomarcadores é a escassez de pesquisas nos continentes latino-americano e Oceania, pois todos os trabalhos incluídos nessa revisão foram realizados na Europa, Ásia e EUA. Isso pode se justificar pela escassez de recursos das nações em desenvolvimento, já que os métodos empregados para a dosagem dos biomarcadores são relativamente mais caros do que os métodos de análise da creatinina, o que pode inviabilizar essas pesquisas em países menos desenvolvidos, como o Brasil.

O desenvolvimento de novas ferramentas para diagnóstico de LRA é de extrema importância, visto que a creatinina sérica, o marcador tradicional para diagnóstico de LRA, apresenta marcantes limitações. Entretanto, para validação de um biomarcador para utilização na prática clínica, deve-se considerar as características distintas e específicas de cada biomarcador, de modo que os resultados obtidos reflitam de maneira precisa a situação clínica de cada paciente.

De maneira geral, os dados dos estudos avaliados nesta revisão indicam que L-FABP, TIMP-2 e IGFBP7 apresentam grande potencial como biomarcadores precoces de LRA. Entretanto, por serem biomarcadores recentemente descobertos, ainda é necessário o desenvolvimento de estudos futuros, que envolvam um grande número de pacientes, com outras condições clínicas e em diferentes países, que possam traduzir melhor a realidade da população em nível mundial e a acurácia diagnóstica desses biomarcadores.

## REFERÊNCIAS

ADLER, Christoph et al. TIMP-2/IGFBP7 predicts acute kidney injury in out-of-hospital cardiac arrest survivors. **Critical Care**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 1-9, 12 maio 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-018-2042-9>.

AYDOĞDU, Müge et al. A promising marker in early diagnosis of septic acute kidney injury of critically ill patients: urine insulin like growth factor binding protein-7. : urine insulin like growth factor binding protein-7. **Scandinavian Journal Of Clinical And Laboratory Investigation**, [s.l.], v. 76, n. 5, p. 402-410, 31 maio 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00365513.2016.1187765>.

BELCHER, Justin M. et al. Kidney biomarkers and differential diagnosis of patients with cirrhosis and acute kidney injury. **Hepatology**, [s.l.], v. 60, n. 2, p. 622-632, 26 jun. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.26980>.

BELCHER, Justin M. et al. Urinary Biomarkers and Progression of AKI in Patients with Cirrhosis. **Clinical Journal Of The American Society Of Nephrology**, [s.l.], v. 9, n. 11, p. 1857-1867, 2 set. 2014. American Society of Nephrology (ASN). <http://dx.doi.org/10.2215/cjn.09430913>.

BELL, Max et al. Assessment of Cell-Cycle Arrest Biomarkers to Predict Early and Delayed Acute Kidney Injury. **Disease Markers**, [s.l.], v. 2015, p. 1-9, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/158658>.

BELLOMO, Rinaldo; A KELLUM, John; RONCO, Claudio. Acute kidney injury. *The Lancet*, [S.L.], v. 380, n. 9843, p. 756-766, ago. 2012. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)61454-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(11)61454-2)

BELLOMO, Rinaldo et al. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. **Critical Care**, [s.l.], v. 8, n. 4, p.204-212, 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/cc2872>.

BIHORAC, Azra et al. Validation of Cell-Cycle Arrest Biomarkers for Acute Kidney Injury Using Clinical Adjudication. **American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine**, [s.l.], v. 189, n. 8, p. 932-939, 15 abr. 2014. American Thoracic Society. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201401-0077oc>.

BRAGA, Ana Cristina da Silva. **Curvas ROC: Aspectos funcionais e aplicações**. 2000. 267 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Produção e Sistemas, Universidade do Minho, Braga, 2000.

BRITO, Tereza Neuma de Souza; OLIVEIRA, Arthur Renan de Araújo; SILVA, Adrielly Karingy Chaves da. Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Natal, v. 48, n. 1, p. 7-12, 03 fev. 2016.

BRUNZEL, Nancy A; **Fundamental of urine & body fluids analysis**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2018. 429 p. Cap. 8 – Renal and Metabolic Disease (page 218).

COCA, Steven G. et al. First Post-Operative Urinary Kidney Injury Biomarkers and Association with the Duration of AKI in the TRIBE-AKI Cohort. **Plos One**, [s.l.], v. 11, n. 8, p. 1-11, 18 ago. 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0161098>.

CRISTIANO, Mariana Bordalo. **Sensibilidade e Especificidade na Curva ROC Um Caso de Estudo**. 2017. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Gestão de Sistemas de Informação Médica, Universidade do Porto, Leiria, 2017.

CUMMINGS, Jared J. et al. Intraoperative prediction of cardiac surgery–associated acute kidney injury using urinary biomarkers of cell cycle arrest. **The Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgery**, [s.l.], v. 157, n. 4, p. 1545-1553, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2018.08.090>.

DAUBIN, Delphine et al. Urinary Biomarkers IGFBP7 and TIMP-2 for the Diagnostic Assessment of Transient and Persistent Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients. **Plos One**, [s.l.], v. 12, n. 1, p. 1-13, 13 jan. 2017. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0169674>.

DI LEO, Laura et al. Predicting Acute Kidney Injury in Intensive Care Unit Patients: the role of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 and insulin-like growth factor-binding protein-7 biomarkers. **Blood Purification**, [s.l.], v. 45, n. 1-3, p. 270-277, 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000485591>.

DIAPHARMA. L-FABP urinary excretion within proximal tubule cytoplasm. Disponível em: <https://diapharma.com/product/metabolic-syndrome/diabetes/high-sensitivity-human-urinary-l-fabp-elisa-kit/#!mechanismofl-fabpexcretion>. Acesso em: 26 maio 2020.

DOI, Kent et al. Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new biomarker of sepsis complicated with acute kidney injury\*. **Critical Care Medicine**, [S.L.], v. 38, n. 10, p. 2037-

2042, out. 2010. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ccm.0b013e3181eedac0>.

DUSSE, Fabian et al. Early prediction of acute kidney injury after transapical and transaortic aortic valve implantation with urinary G1 cell cycle arrest biomarkers. **Bmc Anesthesiology**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 1-12, dez. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12871-016-0244-8>.

FAN, Weixuan et al. Current understanding and future directions in the application of TIMP-2 and IGFBP7 in AKI clinical practice. **Clinical Chemistry And Laboratory Medicine (cclm)**, [s.l.], v. 57, n. 5, p. 567-576, 24 abr. 2019. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2018-0776>.

FINGE, Toufic et al. Interest of Urinary [TIMP-2] × [IGFBP-7] for Predicting the Occurrence of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery. **Anesthesia & Analgesia**, [s.l.], v. 125, n. 3, p. 762-769, set. 2017. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1213/ane.0000000000002116>.

GLEN, Stephanie. **ROC Curve Explained in One Picture**. 2019. Disponível em: <https://www.datasciencecentral.com/profiles/blogs/roc-curve-explained-in-one-picture>. Acesso em: 04 maio 2020.

GOCZE, Ivan et al. Urinary Biomarkers TIMP-2 and IGFBP7 Early Predict Acute Kidney Injury after Major Surgery. **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 3, p. 1-11, 23 mar. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120863>.

GUNNERSON, Kyle J. et al. TIMP2•IGFBP7 biomarker panel accurately predicts acute kidney injury in high-risk surgical patients. **Journal Of Trauma And Acute Care Surgery**, [s.l.], v. 80, n. 2, p. 243-249, fev. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ta.0000000000000912>.

HODGSON, Luke E. et al. Improving clinical prediction rules in acute kidney injury with the use of biomarkers of cell cycle arrest: a pilot study. : a pilot study. **Biomarkers**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 23-28, 9 dez. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1354750x.2018.1493617>.

HONORE, Patrick M. et al. Urinary Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 and Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 7 for Risk Stratification of Acute Kidney Injury in Patients With Sepsis. **Critical Care Medicine**, [s.l.], v. 44, n. 10, p. 1851-1860, out. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ccm.0000000000001827>.

HOSTE, Eric A.j. et al. Derivation and validation of cutoffs for clinical use of cell cycle arrest biomarkers. **Nephrology Dialysis Transplantation**, [s.l.], v. 29, n. 11, p. 2054-2061, 18 set. 2014. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfu292>.

ISSHIKI, Rei et al. Modest Impact of Serial Measurements of Acute Kidney Injury Biomarkers in an Adult Intensive Care Unit. **Nephron**, [s.l.], v. 139, n. 3, p. 243-253, 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000488219>.

KASHANI, Kianoush et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. **Critical Care**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 1-12, 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/cc12503>.

KASHANI, Kianoush; CHEUNG PASITPORN, Wisit; RONCO, Claudio. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. **Clinical Chemistry And Laboratory Medicine (ccim)**, [s.l.], v. 55, n. 8, p.1074-1089, 26 jul. 2017. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/ccim-2016-0973>.

KATAGIRI, Daisuke et al. Combination of Two Urinary Biomarkers Predicts Acute Kidney Injury After Adult Cardiac Surgery. **The Annals Of Thoracic Surgery**, [s.l.], v. 93, n. 2, p. 577-583, fev. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.10.048>.

KATOH, Hiromasa et al. Elevation of urinary liver-type fatty acid-binding protein as predicting factor for occurrence of contrast-induced acute kidney injury and its reduction by hemodiafiltration with blood suction from right atrium. **Heart And Vessels**, [s.l.], v. 29, n. 2, p. 191-197, 20 abr. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00380-013-0347-9>.

KDIGO, Section 2: AKI Definition. **Kidney International Supplements**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.19-36, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/kisup.2011.32>.

KIMMEL, Martin et al. Association of Renal Stress/Damage and Filtration Biomarkers with Subsequent AKI during Hospitalization among Patients Presenting to the Emergency Department. **Clinical Journal Of The American Society Of Nephrology**, [s.l.], v. 11, n. 6, p. 938-946, 29 mar. 2016. American Society of Nephrology (ASN). <http://dx.doi.org/10.2215/cjn.10551015>.

KOZA, Yavuzer. Acute kidney injury: Current concepts and new insights. **Journal Of Injury And Violence Research**, [s.l.], p.58-62, 1 jan. 2014. Journal of Injury and Violence Research. <http://dx.doi.org/10.5249/jivr.v8i1.610>.

LEVEY, Andrew S.; JAMES, Matthew T.. Acute Kidney Injury. **Annals Of Internal Medicine**, [s.l.], v. 167, n. 9, p.65-84, 7 nov. 2017. American College of Physicians. <http://dx.doi.org/10.7326/aitc201711070>.

LI, Philip Kam Tao; BURDMANN, Emmanuel A.; MEHTA, Ravindra L.. Acute Kidney Injury: a global alert. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, [s.l.], v. 35, n. 1, p.1-5, 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5935/01012800.20130001>.

LI, Yi et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and L-type fatty acid binding protein as diagnostic markers of early acute kidney injury after liver transplantation. **Biomarkers**, [s.l.], v. 17, n. 4, p. 336-342, 29 mar. 2012. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/1354750x.2012.672458>.

LOGAN, Brent. **ROC Curves and the C statistic**. Datum, Wisconsin, v. 19, n. 4, p. 1-5, dez. 2013.

LOPES, José António; JORGE, Sofia. The RIFLE and AKIN classifications for acute kidney injury: a critical and comprehensive review. **Clinical Kidney Journal**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.8-14, 30 jan. 2013. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ckj/sfs160>.

MATSUI, Katsuomi et al. Usefulness of Urinary Biomarkers in Early Detection of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery in Adults. **Circulation Journal**, [s.l.], v. 76, n. 1, p. 213-220, 2012. Japanese Circulation Society. <http://dx.doi.org/10.1253/circj.cj-11-0342>.

MAYER, Tanja et al. Urine Biomarkers of Tubular Renal Cell Damage for the Prediction of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery—A Pilot Study. **Journal Of Cardiothoracic And Vascular Anesthesia**, [s.l.], v. 31, n. 6, p. 2072-2079, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2017.04.024>.

MEERSCH, Melanie et al. Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as Early Biomarkers of Acute Kidney Injury and Renal Recovery following Cardiac Surgery. **Plos One**, [s.l.], v. 9, n. 3, p. 1-9, 27 mar. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0093460>.

MEHTA, Ravindra L et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. **Critical Care**, [s.l.], v. 11, n. 2, p. 31-39, 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/cc5713>.

METZ, C. E. Statistical Analysis of ROC Data in Evaluating Diagnostic Performance. **Multiple Regression Analysis: Applications in the Health Sciences**, n.13, P 365-384. American Institute of Physics, 1986.

MOLEDINA, Dennis G. et al. Performance of Serum Creatinine and Kidney Injury Biomarkers for Diagnosing Histologic Acute Tubular Injury. **American Journal Of Kidney Diseases**, [s.l.], v. 70, n. 6, p. 807-816, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.06.031>.

NAKAMURA, Tsukasa et al. Urinary Excretion of Liver-Type Fatty Acid–Binding Protein in Contrast Medium–Induced Nephropathy. **American Journal Of Kidney Diseases**, [s.l.], v. 47, n. 3, p. 439-444, mar. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.11.006>.

NARUSE, Hiroyuki et al. Predicting acute kidney injury using urinary liver-type fatty-acid binding protein and serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in patients treated at medical cardiac intensive care units. **Critical Care**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 1-10, 18 ago. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-018-2120-z>.

ORTEGA, Luis M.; HEUNG, Michael. The use of cell cycle arrest biomarkers in the early detection of acute kidney injury. Is this the new renal troponin? **Nefrología** (english Edition), [s.l.], v. 38, n. 4, p. 355-361, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2018.06.008>

PARR, Sharidan K. et al. Urinary L-FABP predicts poor outcomes in critically ill patients with early acute kidney injury. **Kidney International**, [s.l.], v. 87, n. 3, p. 640-648, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2014.301>.

PERES, Luis Alberto Batista et al. Biomarkers of acute kidney injury. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.229-236, 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5935/0101-2800.20130036>.

PERES, Luis Alberto Batista; WANDEUR, Vanessa; MATSUO, Tiemi. Predictors of acute kidney injury and mortality in an Intensive Care Unit. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.38-46, 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5935/0101-2800.20150007>.

PONCE, Daniela et al. Injúria renal aguda em unidade de terapia intensiva: estudo prospectivo sobre a incidência, fatores de risco e mortalidade. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.321-326, set. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-507x2011000300010>.

RICCI, Zaccaria; ROMAGNOLI, Stefano. Acute Kidney Injury: Diagnosis and Classification in Adults and Children. **Contributions To Nephrology**, [s.l.], p.1-12, 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000484956>.

RIELLA, Miguel Carlos. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólitos. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 1247 p.

RONCO, Claudio; BELLOMO, Rinaldo; A KELLUM, John. Acute kidney injury. **The Lancet**, [s.l.], v. 394, n. 10212, p.1949-1964, nov. 2019. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)32563-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(19)32563-2).

SANTOS, Reginaldo Passoni dos et al. An epidemiologic overview of acute kidney injury in intensive care units. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 65, n. 8, p.1094-1101, ago. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.65.8.1094>.

SCHANZ, Moritz et al. Urinary [TIMP-2] × [IGFBP7] for risk prediction of acute kidney injury in decompensated heart failure. **Clinical Cardiology**, [s.l.], v. 40, n. 7, p. 485-491, 10 mar. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/clc.22683>.

SCHREZENMEIER, E. V. et al. Biomarkers in acute kidney injury - pathophysiological basis and clinical performance. **Acta Physiologica**, [s.l.], v. 219, n. 3, p. 556-574, 25 ago. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/apha.12764>.

SIEW, Edward D. et al. Distinct injury markers for the early detection and prognosis of incident acute kidney injury in critically ill adults with preserved kidney function. **Kidney International**, [s.l.], v. 84, n. 4, p. 786-794, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2013.174>.

SINGBARTL, Kai; KELLUM, John A.. AKI in the ICU: definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes. **Kidney International**, [s.l.], v. 81, n. 9, p.819-825, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2011.339>.

SIROTA, Jeffrey C.; KLAWITTER, Jelena; EDELSTEIN, Charles L.. Biomarkers of Acute Kidney Injury. **Journal Of Toxicology**, [s.l.], v. 2011, p.1-10, 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/328120>.

SRISAWAT, Nattachai; KELLUM, John A.. The Role of Biomarkers in Acute Kidney Injury. **Critical Care Clinics**, [s.l.], v. 36, n. 1, p. 125-140, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccc.2019.08.010>.

TORREGROSA, Isidro et al. Urinary KIM-1, NGAL and L-FABP for the diagnosis of AKI in patients with acute coronary syndrome or heart failure undergoing coronary

angiography. **Heart And Vessels**, [s.l.], v. 30, n. 6, p. 703-711, 3 jul. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00380-014-0538-z>.

VAZ, Adelaide José; MARTINS, Joilson de Oliveira; TAKEI, Kioko; BUENO, Ednéia Casagrande. **Imunoensaios: Fundamentos e aplicações**. [S.l: s.n.], 2018.

WAIKAR, Sushrut S. et al. Imperfect Gold Standards for Kidney Injury Biomarker Evaluation. *Journal Of The American Society Of Nephrology*, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 13-21, 21 out. 2011. American Society of Nephrology (ASN). <http://dx.doi.org/10.1681/asn.2010111124>.

WANG, Yimei et al. Urinary TIMP-2 and IGFBP7 for the prediction of acute kidney injury following cardiac surgery. **Bmc Nephrology**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 1-7, 30 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12882-017-0592-8>.

WYBRANIEC, Maciej T. et al. Prediction of contrast-induced acute kidney injury by early post-procedural analysis of urinary biomarkers and intra-renal Doppler flow indices in patients undergoing coronary angiography. **Journal Of Interventional Cardiology**, [s.l.], v. 30, n. 5, p. 465-472, 6 jul. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/joic.12404>.

XU, Xin et al. Epidemiology and Clinical Correlates of AKI in Chinese Hospitalized Adults. **Clinical Journal Of The American Society Of Nephrology**, [s.l.], v. 10, n. 9, p.1510-1518, 31 jul. 2015. American Society of Nephrology (ASN). <http://dx.doi.org/10.2215/cjn.02140215>.

XU, Yao; XIE, Yuanyuan; SHAO, Xinghua; NI, Zhaohui; MOU, Shan. L-FABP: A novel biomarker of kidney disease. **Clinica Chimica Acta**, [s.l.], v. 445, p.85-90, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2015.03.017>.

YAMASHITA, Tetsushi et al. Evaluation of urinary tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in acute kidney injury: a prospective observational study. : a prospective observational study. **Critical Care**, [s.l.], v. 18, n. 6, p. 1-9, dez. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-014-0716-5>.

ZAOUTER, Cédric et al. A combined approach for the early recognition of acute kidney injury after adult cardiac surgery. **Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 335-341, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.accpm.2018.05.001>.

ZAOUTER, Cédric et al. New markers for early detection of acute kidney injury after transcatheter aortic valve implantation. **Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 319-326, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.accpm.2017.10.004>.

ZENG, Xian-fei et al. Performance of urinary NGAL and L-FABP in predicting acute kidney injury and subsequent renal recovery: a cohort study based on major surgeries. : a cohort

study based on major surgeries. **Clinical Chemistry And Laboratory Medicine**, [s.l.], v. 52, n. 5, p. 671-678, 1 jan. 2014. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2013-0823>.