



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

DANIELLE CARVALHO PEDROSA

KIM-1 URINÁRIO EM CRIANÇAS SUBMETIDAS A TRATAMENTO
ANTINEOPLÁSICO COM POTENCIAL NEFROTÓXICO: UM ESTUDO DE
COORTE PROSPECTIVO

FORTALEZA
2015

DANIELLE CARVALHO PEDROSA

**KIM-1 URINÁRIO EM CRIANÇAS SUBMETIDAS A TRATAMENTO
ANTINEOPLÁSICO COM POTENCIAL NEFROTÓXICO: UM ESTUDO DE
COORTE PROSPECTIVO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Braga Libório.

FORTALEZA-CE

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

P414k Pedrosa, Danielle Carvalho.
 KIM-1 urinário em crianças submetidas a tratamento antineoplásico com potencial
 nefrotóxico: um estudo de coorte prospectivo/ Danielle Carvalho Pedrosa. – 2015.
51 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina.
Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2015.
Orientação: Prof. Dr. Alexandre Braga Libório.

1. Lesão Renal Aguda. 2. Biomarcadores Farmacológicos. 3. Metotrexato. 4. Platina.
5. Toxicidade. 6. Criança. I. Título.

CDD 616.61

DANIELLE CARVALHO PEDROSA

**KIM-1 URINÁRIO EM CRIANÇAS SUBMETIDAS A TRATAMENTO
ANTINEOPLÁSICO COM POTENCIAL NEFROTÓXICO: UM ESTUDO DE
COORTE PROSPECTIVO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Braga Libório

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Braga Libório (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a Dr^a Klébia M P Castello Branco
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a Dr^a Paula Frassinetti Castello Branco Camurça Fernandes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

À DEUS, que me guiou nessa jornada e tem me proporcionado tantas oportunidades.

Aos pacientes, que aceitaram participar da pesquisa, permitindo o desenvolvimento deste estudo.

Ao professor e orientador Alexandre Braga Libório, pela oportunidade, apoio e por acreditar no meu potencial.

Agradeço também ao meu filho Ian e ao meu esposo Vicente, pela paciência e incentivo nos momentos de dificuldade.

A minha amiga Fernanda, por ter me mostrado o caminho amenizando as dificuldades

Em especial aos meus pais, pelo exemplo, força e inspiração.

“Seja qual for o seu sonho, comece.
Ousadia tem genialidade, poder e magia”
(Johann Goethe)

RESUMO

Lesão Renal Aguda (LRA) é uma complicação importante em crianças com câncer e as drogas nefrotóxicas estão entre as suas causas mais comuns. A prevenção e o diagnóstico precoce são a chave para minimizar ainda mais insultos. Não há nenhum estudo avaliando o potencial do biomarcador renal KIM-1 urinário no diagnóstico precoce de LRA em crianças sob tratamento antineoplásico com drogas nefrotóxicas. Foi realizado um estudo prospectivo em um único centro com crianças submetidas a tratamento antineoplásico com MTX ou derivados de platina. Os pacientes tiveram dosagens de KIM-1 urinário 24 horas após o início da infusão da quimioterapia e creatinina sérica (CrS) dosada um dia antes da infusão da droga e 24, 48, 72, 96 horas, uma, duas semanas e 3 meses após. Um total de 64 crianças foram avaliadas, dessas 21 (32,8%) desenvolveram LRA. A maioria teve LRA estágio 1 (n=12, 57,1%), 8 tiveram LRA estágio 2 (38%) e apenas uma desenvolveu LRA estágio 3 (4,9%). Os valores medianos do KIM-1 urinário foram mais altos nos pacientes com LRA (10,7 IQR 1,6-17,9 vs. 4,3 IQR 1,3-6,1 ng/mg creatinina, $p<0,01$). O KIM-1 urinário teve uma boa discriminação para LRA em pacientes submetidos à quimioterapia nefrotóxica, (AUC-ROC para LRA em até uma semana foi de 0,82, 95%CI: 0,66-0,95). Mesmo dosado apenas 24hs após a infusão da droga, o KIM-1 urinário ainda demonstrou boa discriminação para predizer insuficiência renal persistente após três meses. Pudemos concluir que o KIM-1 urinário dosado 24 horas após o início da droga tem potencial para detectar LRA precocemente nos pacientes submetidos à quimioterapia nefrotóxica.

Palavras-chave: Nefrotoxicidade, lesão renal aguda, biomarcador, metotrexato, derivados de platina, crianças

ABSTRACT

Acute kidney injury (AKI) is a significant complication in patients with cancer and nephrotoxic drugs are among the most common cause of AKI. Prevention and early diagnosis are key to further minimize insults. There are no studies evaluating the potential of renal biomarker urinary KIM-1 in early diagnosis of AKI in children under anticancer treatment with nephrotoxic drugs. Prospective single-center study with children submitted to MTX or platinum-based antineoplastic treatment was conducted. Urinary KIM-1 was measured 24h after chemotherapy infusion and serum creatinine (sCr) was measured prior to drug infusion and 24, 48, 72, 96h, one, two weeks and 3 months after it. A total of 64 children were evaluated and 21 (32.8%) patients developed AKI. The majority had AKI stage 1 (n=12, 57.1%), 8 had AKI stage 2 (38%) and only one developed AKI stage 3 (4.9%). Median values of urinary KIM-1 were higher in patients with AKI (10.7 IQR 1.6-17.9 vs. 4.3 IQR 1.3-6.1 ng/mg creatinine, $p < 0.01$). Urinary KIM-1 had a good discrimination for AKI in patients receiving nephrotoxic chemotherapy, (AUC-ROC for AKI up to one week later was 0.82, 95%CI: 0.66-0.95). Even when measured only 24 hours after drug infusion, urinary KIM-1 still showed good discrimination to predict persistent renal impairment three months later. In conclusion, Urinary KIM-1 measured 24 hours after starting the drug infusion has a potential to detect early AKI in children receiving nephrotoxic chemotherapy.

Keywords: Nephrotoxicity, acute kidney Injury, biomarker, methotrexate, platinum-based antineoplastic treatment, children

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Mecanismo de ação do metotrexato

Figura 2 Mecanismo de ação da cisplatina

Figura 3 Kidney Injury Molecule 1

Figura 4 Clivagem do ecto-domínio do KIM-1 após lesão renal

Figura 5 Liberação do KIM-1 na Urina após Lesão Tubular

Figura 6 Características dos pacientes de acordo com a quimioterapia

Figura 7 Medianas e intervalos interquartis do uKIM-1 nos controles e nos
pacientes com e sem LRA

Figura 8 Capacidade de discriminação do uKIM-1 para LRA em 24hs e 1
semana

LISTA DE TABELAS

1. Critérios KDIGO, AKIN eRIFLE
2. Critérios pRIFLE
3. Características dos pacientes
4. Capacidade de discriminação do uKIM-1 nos diferentes momentos em que a LRA foi diagnosticada.
5. Capacidade diagnóstica do uKIM-1. Valor de ponto de corte de 6,2 ng/mg de creatinina

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKIN	Acute Kidney Injury Network
AUC	Área sob a curva
β-2MB	Beta-2 microglobulina
CrS	Creatinina Sérica
DAMPA	Ácido 2,4- diamino-N ¹⁰ -metilpteroico
DHFR	Dihidrofolato Redutase
DP	Desvio padrão
DRC	Doença Renal Crônica
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assays
IGFBP 7	Urine Insulin-like Growth Factor-binding Protein
IL-18	Interleucina 18
KDIGO	Guideline Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KDOQI	Kidney Disease Outcome Quality Initiative
L-FABP	Fatty Acid-binding Protein
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LRA	Lesão Renal Aguda
MTX	Metotrexato
NAG	N-acetil -B-D-glucosaminidase
OCT	Transportador de Cátions Orgânicos
7-OH-MTX	7-Hidroxi- Metotrexato
OR	Odds ratio
PCR	Proteína C de alta sensibilidade
pRIFLE	RIFLE pediátrico
RAI	Índice de Angina Renal
RIFLE	Risco - “Risk”, Lesão - “Injury” e Falência - “Failure”
ROC	Receiver Operating Characteristic
sCysC	Cistatina C sérica
sKIM-1	Kidney Injury Molecule 1 sérico
uKIM-1	Kidney Injury Molecule 1 urinário
sNGAL	Lipocalina Associada com Gelatinase de Neutrófilos Humanos sérica
TFG	Taxa de Filtração Glomerular

TIMP-2	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase -2
TRS	Terapia renal substitutiva
uCysC	Cistatina C urinária
uNGAL	Lipocalina Associada com Gelatinase de Neutrófilos Humanos urinária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Metotrexato	17
2.1.1 Mecanismo de ação	17
2.1.2 Nefrotoxicidade	18
2.2 Derivados da platina	20
2.2.1 Mecanismo de Ação	20
2.2.2 Nefrotoxicidade	22
2.3 Lesão Renal Aguda: Definição e Critérios Diagnósticos	23
2.4 Creatinina Sérica X Novos Biomarcadores	26
2.5 Kidney Injury Molecule -1	28
3. OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Protocolo do Hospital	35
4.2 Definição de Lesão Renal Aguda e Recuperação Renal	36
4.3 Amostras de Urina e Dosagem de KIM-1	36
4.4 Análise Estatística	37

5. RESULTADOS	38
5.1 Características dos pacientes	38
5.2 LRA após Quimioterapia	39
5.3 KIM-1 urinário e LRA	39
5.4 KIM-1 urinário prediz LRA após quimioterapia nefrotóxica	40
5.5 KIM-1 urinário e prejuízo renal a longo prazo	42
6. DISCUSSÃO	43
7. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	
ANEXO A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
ANEXO B- Roteiro da Coleta de Dados	

1. INTRODUÇÃO

Lesão renal aguda (LRA) é uma complicação importante em pacientes com câncer. Essa síndrome é definida como um declínio súbito da função renal e está associada à elevada morbidade e mortalidade, com um efeito independente sobre o risco de morte (ALGE; ARTHUR, 2015; CHERTOW et al., 2005), além da possível progressão para doença renal crônica (DRC) e dependência de diálise (METNITZ et al., 2002). Em adultos, um aumento de apenas 0,3mg/dl na creatinina sérica (CrS) eleva em 4 vezes a taxa de mortalidade. Em crianças hospitalizadas sem LRA a taxa de mortalidade é de apenas 0,6%, enquanto nas que desenvolvem LRA como complicação durante o internamento, a taxa de mortalidade chega a 15,3% e aumenta para 30-50% quando há a necessidade de diálise. Além disso; 34,5% dessas crianças necessitam de cuidados em UTI (SUTHERLAND et al., 2013). A nefrotoxicidade por drogas é uma das causas mais comuns de LRA, respondendo por 16% de todos os casos (PATZER L, 2008).

Nos pacientes com câncer, LRA pode ocorrer como uma consequência direta ou indireta própria neoplasia (infiltração de células neoplásicas, lise tumoral, obstrução do trato urinário, sepse), ou associada ao tratamento (cirurgia, radioterapia, uso de drogas nefrotóxicas). Nessa população, a presença de LRA leva a uma mortalidade em 3 meses de mais de 30% e em 6 meses de cerca de 73% nos pacientes graves (CHRISTIANSEN et al., 2011). As drogas nefrotóxicas estão entre as causas mais comuns de LRA nesses pacientes, estando o metotrexato (MTX) e os derivados de platina entre as drogas antineoplásicas mais nefrotóxicas (CAMPBELL, 2014; LIBÓRIO, 2011). O risco de nefrotoxicidade ainda dificulta o posterior uso de doses mais elevadas para maximizar os efeitos antineoplásicos.

Os derivados de platina são atualmente usados no tratamento de vários tipos de neoplasia incluindo tumores testiculares, de cabeça e pescoço, ovarianos, e carcinoma pulmonar não-pequenas células (PABLA; DONG, 2008). LRA está presente em 20%-80% das crianças tratadas com cisplatina (FAUGHT et al., 2014).

Os protocolos utilizando MTX em altas doses são usados principalmente no tratamento das leucemias, linfomas de alto risco, linfomas do sistema nervoso central e osteossarcomas (WIDEMANN et al., 2014). O risco de LRA após altas doses de MTX é ainda de aproximadamente 2 % a 10% (WIDANEMN et al., 2014).

Segundo Li et al (2013) LRA é comum, prejudicial, evitável e tratável. A prevenção e diagnóstico precoce são a chave para minimizar ainda mais insultos, e juntamente com uma terapia de suporte adequada e hemodiálise oportuna, estão associados a melhores resultados (Li et al., 2013; ANDRADE, DE FRANCESCO DAHER, SEGURO, 2008). Nesse contexto, o surgimento de novos biomarcadores mais precoces do que a elevação da CrS no diagnóstico de LRA oferece a oportunidade de melhorar o cuidado desses pacientes. Vários estudos demonstraram a capacidade de diversos biomarcadores, sozinhos ou em combinação, de facilitar o diagnóstico precoce e melhorar o diagnóstico diferencial da LRA. Dentre os mais promissores estão: cistatina C (CysC), lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos (NGAL), interleucina 18 (IL18), fatty Acid-binding protein (L-FABP), tissue inhibitor of metalloproteinases -2 (TIMP-2), urine insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP 7), beta-2 microglobulin (β -2M), N-acetyl -B-D-glucosaminidase (NAG) e Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) (ALGE, ARTHUR, 2015; LIBÓRIO, BRANCO, TORRES de MELO BEZERRA, 2014; FORTENBERRY, PADEN, GOLDSTEIN, 2013; MEHTA et al., 2007).

Não há nenhum estudo avaliando o potencial do biomarcador renal KIM-1 urinário em crianças sob tratamento antineoplásico com drogas nefrotóxicas e um único estudo com outro biomarcador (NGAL).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Metotrexato

Devido a importância do folato na síntese de DNA, os antagonistas do ácido fólico foram os primeiros agentes antineoplásicos a serem desenvolvidos. Desde de 1948 esses agentes são usados no tratamento da leucemia linfoblástica aguda (LLA) (FARBER, DIAMOND, 1948). O MTX foi o primeiro fármaco que se mostrou eficaz na cura do câncer quando usado como monoterapia (YARRIS, HUNTER, ROY HERTZ, 2003).

2.1.1 Mecanismo de Ação

Uma célula em divisão utiliza grande quantidade de folatos reduzidos para manter a síntese de purina e timidina, a demanda é ainda maior para as que se dividem rapidamente como as células neoplásicas (WALLING, 2006).

O MTX entra na célula através da mesma proteína transportadora de folatos. Esse transporte é saturável e dependente de energia. Outro mecanismo é através da endocitose mediada por proteínas de ligação do folato que têm sua expressão aumentada nas células neoplásicas em comparação com as normais (RADTKE et al., 2013; WALLING, 2006). Nos tumores com capacidade de transporte reduzida ou ausente, altas concentrações de MTX permitem que o fármaco entre por difusão passiva (ACKLAND, SCHILSKY, 1987).

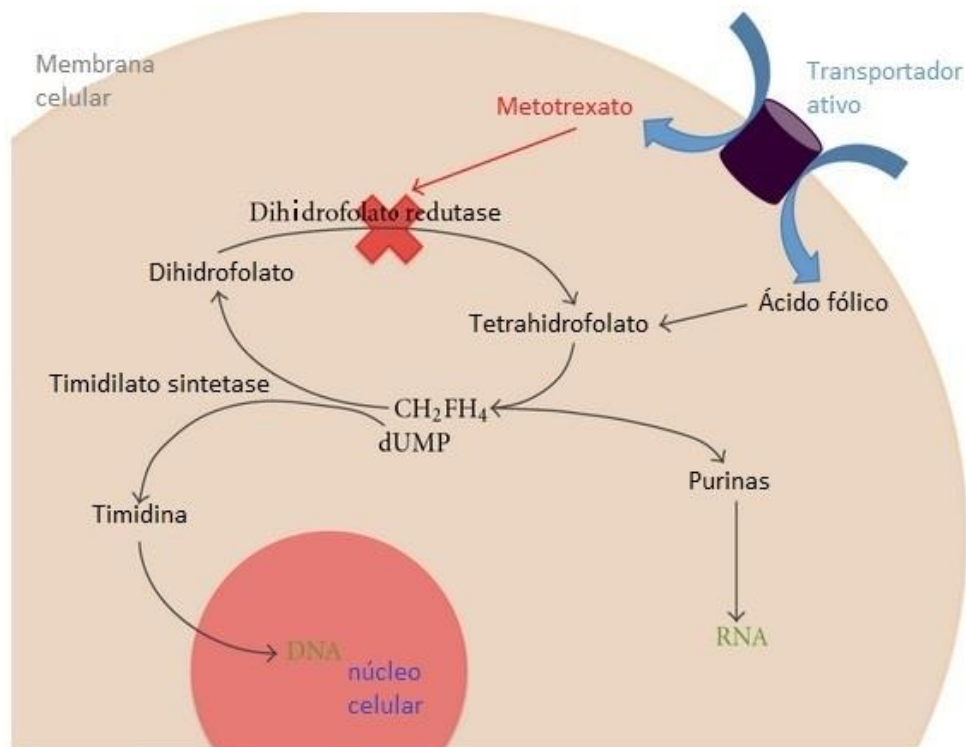
O principal alvo do MTX é a enzima dihidrofolato redutase (DHFR). Essa enzima é responsável pela redução do dihidrofolato (folato natural) à tetraidrofolato (folato reduzido) repondo continuamente o fornecimento de folatos reduzidos às células. Por apresentar maior afinidade pela enzima que os folatos naturais, o MTX é capaz de inibir competitivamente a DHFR sendo esse o seu principal mecanismo de ação (fig.1). O esgotamento dos folatos reduzidos interfere nos mecanismos de síntese e reparo do DNA e replicação celular. O efeito imediato é uma interrupção abrupta na síntese de DNA, com consequente morte celular. Esse processo é acentuado nas células que se dividem rapidamente (aquelas na fase S do ciclo

celular) que necessitam de mais precursores de DNA. Sendo assim o MTX é um fármaco citotóxico específico da fase S (RADTKE et al., 2013; WALLING, 2006).

Há grande excesso de DHFR nas células (WALLING, 2006), além disso a síntese dos folatos reduzidos continua mesmo após a inibição de mais do que 95% da DHFR. Logo são necessários níveis elevados de MTX para competir com sucesso com outros folatos pela ligação com a DHFR (ACKLAND, SCHILSKY, 1987).

Além da ação antiproliferativa, MTX também tem propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras tendo um amplo leque de indicações terapêuticas (WIDEMANN, ADAMSON, 2006).

Figura 1: Mecanismo de ação do metotrexato



2.1.2 Nefrotoxicidade

Os efeitos colaterais do MTX variam muito de acordo com a dose. Os regimes contendo MTX são classificados como de alta dose, baixa dose ou dose intermediária. O termo alta dose é usado para doses $\geq 500\text{mg/m}^2$. As doses entre 50

e 500mg/m² são consideradas intermediárias, e abaixo de 50mg/m² são consideradas doses baixas(WIDEMANN, ADAMSON,2006).

Os protocolos utilizando altas doses de MTX são usados principalmente no tratamento das leucemias, linfomas de alto risco, linfomas do sistema nervoso central e osteossarcomas(WIDEMANN et al., 2014). Essas doses seriam letais em infusão de 4 a 36 horas e necessitam do uso de múltiplas doses de leucovorina para diminuir o efeito tóxico do MTX. Em 1966 foi desenvolvido o conceito de resgate das células normais da toxicidade do MTX através da oferta de folatos reduzidos. Nestes experimentos pioneiros, a administração de leucovorina, também chamada de ácido folínico (N5-formil-tetrahidrofolato) dentro de 24 a 36 horas após a administração de MTX foi capaz de prevenir a toxicidade sem diminuir a atividade antitumoral. A razão pela qual leucovorina resgata seletivamente as células normais, mas não as células neoplásicas, ainda não é completamente compreendida (GOLDIN et al., 1966). Um resgate bem-sucedido pela leucovorina depende de uma rápida eliminação de MTX pelos rins, o que exige uma hidratação agressiva além de alcalinização urinária pré e pós tratamento(WIDEMANN et al., 2014). Acredita-se que a etiologia da disfunção renal induzida por MTX seja mediada pela sua precipitação e de seus metabólitos nos túbulos renais ou por efeitos tóxicos diretos nas células tubulares. Além disso, como mais de 90% do MTX é excretado pelos rins, LRA pode aumentar sua concentração plasmática e aumentar o risco de suas outras toxicidades, principalmente mielosupressão, mucosite, hepatite e dermatite(WIDEMANN, ADAMSON,2006).

Após administração de altas doses de MTX, dois metabólitos são observados no plasma: 7- hidroximetotrexato (7-OH-MTX) e o ácido 2,4- diamino-N10- metilpteroico (DAMPA). Tanto o MTX quanto seus metabólitos são pouco solúveis em pH ácido, sendo seus metabólitos 6 a 10 vezes menos solúveis. Um aumento do pH da urina para 6 a 7 resulta numa solubilidade 5 a 8 vezes maior de MTX e seus metabólitos. Isso justifica a recomendação de hidratação vigorosa (2,5 a 3,5L de líquido por m² por 24 horas, iniciando 12 horas antes do início da infusão de MTX e mantida durante 24 a 48 horas), e a alcalinização da urina (com 40-50mEq de bicarbonato de sódio por litro de fluido IV) antes, durante e após a administração de altas doses de MTX (WIDEMANN, ADAMSON,2006).

A maioria dos pacientes com disfunção renal secundária a altas doses de MTX são inicialmente assintomáticos e tem LRA não oligúrica. A elevação da CrS

durante ou logo após a infusão do MTX indica o desenvolvimento de disfunção renal e pode resultar em elevação importante das concentrações plasmáticas de MTX(WIDEMANN, ADAMSON,2006; WIDEMANN et al 2004). As concentrações plasmáticas de MTX devem ser $\leq 1,0\mu\text{M}$ até 42 horas após a infusão de MTX quando ultrapassam $10\mu\text{M}$, nesse intervalo de tempo, estão associadas a alto risco de toxicidade (RELLING et al., 1994).

Mesmo após o uso rotineiro de leucovorina, hidratação vigorosa, alcalinização da urina e controle das concentrações plasmáticas de MTX para avaliação do resgate, relatos de significativa morbidade e mortalidade secundária a disfunção renal induzida por altas doses de MTX continuam a aparecer na literatura. Apesar dessas medidas o risco de disfunção renal após altas doses de MTX é ainda de aproximadamente 2 % a 10%(WIDEMANN et al., 2014).

Devido à ausência de sintomas clínicos que indiquem o início de disfunção renal, recomenda-se a dosagem rotineira das concentrações plasmáticas de MTX e da CrS após a administração de altas doses de MTX (WIDEMANN et al., 2014).

2.2 Derivados da platina

Desde de sua descoberta acidental há quatro décadas atrás, a cisplatina tem sido amplamente utilizada para quimioterapia, sendo um dos antineoplásicos mais potentes com uma das mais altas taxas de cura (PABLA,DONG, 2008).

2.2.1 Mecanismo de Ação

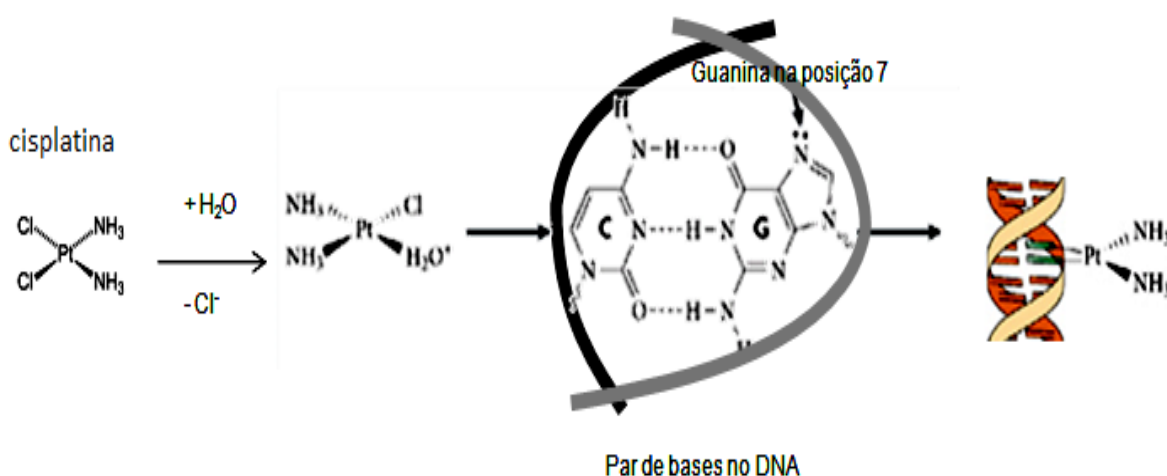
A cisplatina (cis-diaminodicloroplatina II) é uma molécula inorgânica que possui um átomo central de platina envolto por dois átomos de cloro e dois grupos amônia. O fármaco entra nas células por difusão passiva. Entretanto, estudos recentes fornecem evidências de um mecanismo mediado por um transportador que seria responsável por cerca de metade de sua absorção (PABLA,DONG, 2008; GATELY, HOWELL, 1993).Vários estudos sugerem o envolvimento de transportadores de alta afinidade para o cobre (CTR1) na sua captação (KUO et al., 2007; SAFAEI, HOWELL, 2005; ISHIDA et al.,2002).Esses transportadores também estão expressos nas células do túbulo proximal renal, mas seu papel na captação da cisplatina não tem sido estudado em modelos renais(PABLA, DONG, 2008).Por

outro lado, nas células tubulares renais um outro transportador denominado transportador de cátions orgânicos (OCTs) tem sido implicado na captação da cisplatina (LUDWIG et al., 2004; YONEZAWA et al., 2005).

A ativação da cisplatina ocorre dentro da célula por substituição dos íons cloreto por moléculas de água, sendo esta forma muito reativa com o DNA, o RNA, as proteínas e as membranas fosfolipídicas (fig.2). No plasma sanguíneo a concentração de cloreto é alta o que impede a hidrólise dos ligantes cloretos e mantém a cisplatina no estado neutro. Ao entrar na célula, a concentração dos íons cloretos reduz causando rápida hidrólise dos íons cloreto da cisplatina, deixando a platina disponível para qualquer ligação a bases que possam estar presentes (CHO et al., 2008).

O DNA é o alvo biológico primário da cisplatina (NITISS, 2002; PABLA, DONG, 2008). Portanto, sua atividade antitumoral resultaria da sua interação com o DNA. Sua citotoxicidade é atribuída a formação de adutos de cisplatina-DNA, originando ligações cruzadas intracadeias, inter cadeias e DNA- proteína (fig.2) (WOZNIAK, CZECHOWSKA, BLASIAK, 2004). Esses adutos formados interferem com a duplicação do DNA pelo bloqueio da enzima DNA polimerase, inibem a transcrição do RNA, resultando em bloqueio do ciclo celular e ativação das vias de sinalização da apoptose e também à tradução e o reparo do DNA, que quando extensamente lesado não pode ser reparado levando a morte celular (CHO et al., 2008; WOZNIAK, CZECHOWSKA, BLASIAK, 2004; NADIN et al., 2006).

Figura 2: Mecanismo de ação da cisplatina



2.2.2 Nefrotoxicidade

Os derivados de platina são atualmente usados no tratamento de vários tipos de neoplasia incluindo tumores testiculares, de cabeça e pescoço, ovarianos, e carcinoma pulmonar não-pequenas células. Um grande fator limitante para o uso da cisplatina são seus efeitos colaterais que incluem neurotoxicidade, ototoxicidade, nefrotoxicidade, náuseas e vômitos (PABLA, DONG, 2008). Vários análogos da cisplatina foram sintetizados na tentativa de diminuir sua toxicidade, como por exemplo a carboplatina que tem menos efeitos colaterais (PASETTO et al., 2006). Outra estratégia foi a hidratação dos pacientes durante o tratamento (CORNELISON, REED, 1993). Mas apesar disso, os efeitos colaterais continuam a limitar o uso dos derivados de platina, especialmente a nefrotoxicidade, que ocorre em cerca de um terço dos pacientes (PABLA, DONG, 2008).

Vários mecanismos contribuem para a nefrotoxicidade da cisplatina, dentre eles, a toxicidade à célula epitelial tubular, vasoconstrição da microvasculatura renal e efeitos pro inflamatórios (PABLA, DONG, 2008). Mais de 50% da cisplatina infundida é excretada pelos rins durante as primeiras 24 horas após sua administração, e sua concentração no córtex renal é várias vezes maior do que no plasma ou em outros órgãos (LITTERST, LEROY, GUARINO, 1979; SAFIRSTEIN, MILLER, GUTTENPLAN, 1984). O dano ocorre principalmente no segmento S3 do túbulo proximal (DOBYAN et al, 1980).

Conforme visto anteriormente, o mecanismo citotóxico da cisplatina deriva de sua interação com o DNA levando a formação de adutos de cisplatina –DNA que em última análise levam a ativação das vias de sinalização da apoptose e consequente morte celular (CHO et al., 2008; NITISS, 2002; WOZNIAK, CZECHOWSKA, BLASIAK, 2004; NADIN et al., 2006).

Estudos recentes demonstram que quando a cisplatina entra nas células tubulares renais por mecanismos passivos e/ou facilitados, ocorre a ativação de várias vias de sinalização que vão promover morte celular (MAPK, p53, ROS) ou citoproteção (p21) (PABLA, DONG, 2008). Além disso, alterações na expressão dos OCTs no túbulo proximal parecem ter um papel fundamental na nefrotoxicidade mediada pela cisplatina. O aumento da expressão do OCT2 no túbulo proximal levaria a um aumento na captação da cisplatina (YOKOO et al., 2007; FILIPSKI et al., 2008; CHOI, SONG, 2008) que mediaría a diminuição na expressão e na função

nos transportadores de glicose e aminoácidos dependente de sódio (XU et al., 2008) e dos transportadores de magnésio e de água (LITTERST, LEROY, GUARINO, 1979; SAFIRSTEIN, MILLER, GUTTENPLAN, 1984).

A cisplatina também induz a produção de TNF- α nas células tubulares desencadeando uma resposta inflamatória intensa contribuindo ainda mais para a lesão tubular e morte celular. Além disso, pode provocar lesões na microvasculatura renal levando a isquemia e diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) além de gerar espécies reativas de oxigênio (BALIGA et al., 1999; PABLA, DONG, 2008). Juntos esses eventos culminam em LRA.

Clinicamente a nefrotoxicidade mediada pela cisplatina é frequentemente vista após 10 dias da sua administração e se manifesta por redução da TFG, aumento da CrS e redução dos níveis séricos de magnésio e potássio (DOSSANTOS et al., 2012; ARANY, SAFIRSTEIN, 2003; PABLA, DONG, 2008). A longo prazo acredita-se que a cisplatina pode levar a uma permanente redução da TFG (BRILLET, 1994).

2.3 LRA: Definição e Critérios Diagnósticos

LRA é uma desordem complexa, que pode ocorrer em diversos contextos, com manifestações clínicas variando desde uma elevação mínima da CrS à insuficiência renal anúrica (HOSTE, KELLUM, 2006; MEHTA et al., 2007). Recentes estudos demonstram uma grande variedade de etiologias e de fatores de risco, sendo considerada uma complicação comum de doenças graves (WAIKAR et al., 2006).

Tipicamente a CrS e seu clearance são usados para avaliação da função renal. Em 2004 foram publicados os critérios diagnósticos para insuficiência renal aguda em adultos, os critérios RIFLE (Risk–Injury–Failure–Loss–End stage renal disease). Essa classificação define três classes de gravidade da insuficiência renal aguda (risco, lesão e falência) (BELLOMO et al., 2004) (tab 1). O termo LRA foi proposto para definir todo o espectro da síndrome, de sutis alterações na função renal à doença em fase terminal que requeira terapia renal substitutiva (TRS) (MEHTA et al., 2007).

Em 2005 foram propostos os critérios da AKIN (Acute Kidney Injury Network) onde LRA é dividida em 3 estágios de gravidade que correspondem,

respectivamente, aos 3 estágios iniciais dos critérios RIFLE (Risco - “Risk”, Lesão - “Injury” e Falência - “Failure”), enquanto os dois últimos, (Perda – “Loss” e Doença Renal Terminal - “End Stage Kidney Disease”) não foram incluídos nessa proposta, por terem sido considerados desfechos (tab 1) (MEHTA et al., 2007).

A última classificação foi desenvolvida pelo grupo de trabalho Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Esta definição é uma combinação mais ampla a partir dos critérios RIFLE e AKIN e define LRA como um aumento na CrS $\geq 0,3\text{mg/dl}$ dentro de 48hs ou um aumento de 1,5 vezes a CrS basal conhecida ou presumida dentro de 7 dias ou ainda um débito urinário $< 0,5\text{ml/Kg/h}$ por 6 horas e é estagiada de acordo com a severidade (OKUSA, DAVENPORT, 2014). (tab 1)

Em 2007 foi publicada a versão pediátrica dos critérios RIFLE (pRIFLE) que se baseia numa redução no clearance de creatinina estimado (eClCr) e no débito urinário (DU). O eClCr é calculado através do índice de Schwartz que é igual a estatura em cm multiplicada pela constante K ($K = 0,413$) dividido pela CrS (mg/dl) (AKCAN-ARIKAN et al., 2007) (tab 2).

Tabela 1: Critérios KDIGO, AKIN E RIFLE

Estágio de LRA	KDIGO	AKIN	RIFLE	DU (KDIGO/AKIN/RIFLE)
1(R)	1,5-1,9X CrB ou aumento $\geq 0,3$ mg/dl (26 μ mol/l) em 48hs	1,5-2,0X CrB ou aumento $\geq 0,3$ mg/dl (26 μ mol/l)	1,5 X CrB ou diminuição TFG >25%	<0,5ml/Kg/h por 6-12hs
2 (L)	2,0-2,9 X CrB	>2,0- 3 X CrB	2X CrB ou diminuição TFG >50%	<0,5ml/Kg/h por 12hs
3(F)	3 X CrB ou Cr ≥ 4 mg/dl (354 μ mol/l) ou em <18anos eClCr <35ml/min/1,73m ²	3 X CrB ou Cr ≥ 4 mg/dl (354 μ mol/l) com um aumento agudo $\geq 0,5$ mg/dl (44 μ mol/l) ou TSR	3 X CrB ou Cr ≥ 4 mg/dl (354 μ mol/l) com um aumento agudo >0,5mg/dl (44 μ mol/l) ou diminuição TFG >75%	<0,3ml/kg/h por 24hs ou anúria por 12hs

Abreviaturas: CrB, creatinina basal; DU, débito urinário; KADIGO, Kidney Disease: Improving Global Outcomes;

AKIN Acute Kidney Injury Network; RIFLE, Risk–Injury–Failure–Loss–End stage renal disease

FONTE: adaptado de OKUSA, DAVENPORT, 2014

Tabela 2: Critérios pRIFLE

CRITÉRIOS pRIFLE	Clearance de Creatinina Estimado (CICe)	Débito Urinário
Risco	Diminuição de 25% no eCICr	<0.5 ml/kg/ h por 8 hs
Lesão	Diminuição de 50% no eCICr	<0.5 ml/kg/ h por 16 hs
Falência	Diminuição de 75% no CICe ou eCICr <35 ml/min/1.73 m ²	<0.5 ml/kg/ h por 24 hs ou anúria por 12 hs

FONTE: adaptado de AKCAN-ARIKAN et al., 2007

2.4 Creatinina Sérica X Novos Biomarcadores

O termo biomarcador (abreviação de “marcador biológico”) foi introduzido em 1989 como um termo médico, e foi definido como parâmetros biológicos mensuráveis e quantificáveis que servem como índices para avaliação relacionada à saúde e à fisiologia, incluindo risco de doença, diagnóstico de doença, processos metabólicos etc., (MOLITORIS et al., 2008).

A CrS não é um biomarcador ideal para identificar LRA pois seus níveis sofrem variações de acordo com conformação corpórea, sexo, raça ou etnia, presença de hepatopatia, doenças crônicas, dieta, total de água corpórea (geralmente aumentada em pacientes críticos) ou com o uso de medicamentos (STEVENSON et al., 2006). A creatinina é filtrada livremente em todo o glomérulo e não é nem reabsorvida, nem metabolizada pelo rim. No entanto, cerca de 10 a 40 % da creatinina urinária é derivada da secreção tubular nos túbulos proximais (SHEMESH et al., 1985). A acurácia do clearance de creatinina (CICr) é limitado pelo fato de que quando a TFG cai, o aumento na CrS é parcialmente compensada pelo aumento da

secreção tubular de creatinina que chega a aumentar seus níveis urinários em mais de 50% quando a TFG cai para 40 a 80 ml/min (medida por modalidades alternativas) (DOOLAN, ALPEN, THEIL, 1962). Além disso, a CrS simplesmente não é um marcador em tempo real da TFG, pois aumenta lentamente em relação à quantidade de função de filtração perdida e o seu uso para identificar LRA retarda o diagnóstico por 48 a 72 horas (WESTHUYZEN et al., 2003). Neste contexto, estudos demonstram que mesmo pacientes admitidos na UTI com CrS normal podem apresentar diminuição da TFG sugerindo baixa sensibilidade da creatinina para o diagnóstico de disfunção renal (PRAUGHT, SHLIPAK, 2005).

Alterações na TFG ou na CrS ocorrem muitas horas depois da lesão nas células renais. Por isso ao utilizar graus de alteração da função renal tanto para definição quanto para o estadiamento da LRA, o resultado da doença, ou seja, a falência renal, estará sendo usada ao invés de biomarcadores que reflitam o evento mais agudo que seria a lesão do órgão (HAN, BONVENTRE, 2004).

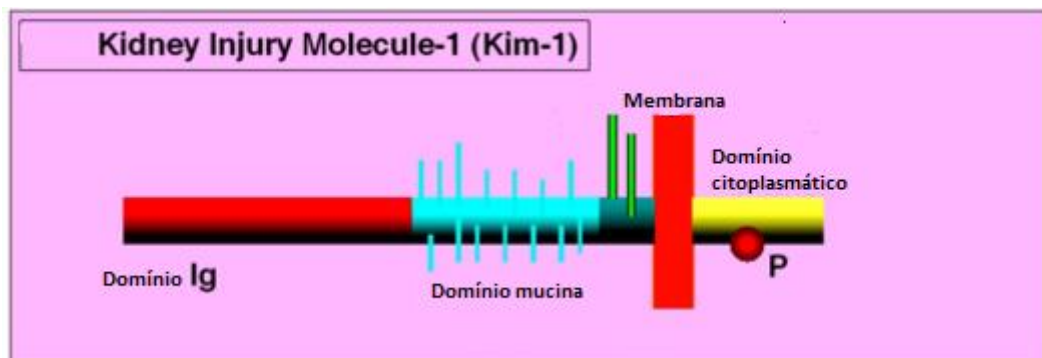
Em virtude de todas essas limitações surgiu a necessidade de novos biomarcadores específicos de injúria renal para serem usados no diagnóstico precoce de LRA, e também de biomarcadores em tempo real de filtração glomerular para termos um controle da função renal durante um episódio de LRA. Esses biomarcadores seriam valiosos em relação ao diagnóstico precoce, à determinação da etiologia e do local da lesão renal com repercussões sobre a conduta prognóstica e acompanhamento destes pacientes (ENDRE, 2008).

Nas últimas décadas, vários biomarcadores precoces promissores de LRA foram identificados. Em diversas situações clínicas, biomarcadores plasmáticos e urinários têm demonstrado potencial no diagnóstico precoce de LRA e como preditor de complicações (necessidade de TRS e disfunção renal a longo prazo) (ALGE, ARTHUR, 2015; LIBÓRIO, BRANCO, TORRES de MELO BEZERRA, 2014; FORTENBERRY, PADEN, GOLDSTEIN, 2013; MEHTA et al., 2007), dentre os mais promissores estão: cistatina C, lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos (NGAL), interleucina 18 (IL18), fatty Acid-binding protein (L-FABP), tissue inhibitor of metalloproteinases -2 (TIMP-2), urine insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP 7), beta-2 microglobulin (β -2M), N-acetil -B-D-glucosaminidase (NAG) e Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) (ALGE, ARTHUR, 2015)

2.5 Kidney Injury Molecule-1

Kidney Injury Molecule 1 é uma glicoproteína transmembrana tipo 1 de 38,7-kD que contém na sua porção extracelular um domínio semelhante a imunoglobulina e um domínio semelhante a mucina, além de um domínio citoplasmático relativamente curto com um local de potencial fosforilação o que indica que KIM-1 pode ser uma molécula de sinalização (ICHIMURA et al., 1998; BAILLY et al., 2002). A estrutura do KIM-1 sugere também que ele possa estar envolvido em interações de adesão pela semelhança com várias proteínas de adesão conhecidas (BAILLY et al., 2002).

Figura 3: Kidney Injury Molecule -1



FONTE: adaptado de ICHIMURA, MOU, 2008

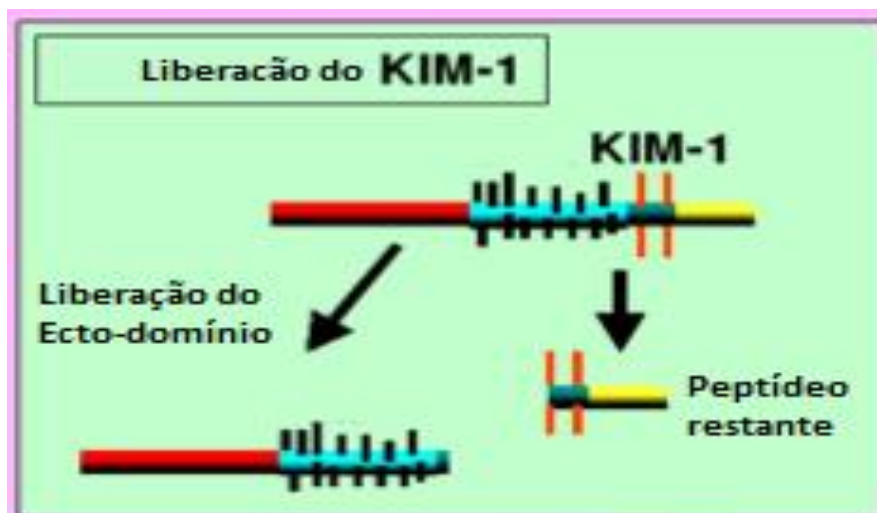
KIM-1 também é conhecido por TIM-1 (T cell immunoglobulin mucin domains-1) pois é expresso em níveis baixos por subpopulações de células T ativadas, assim como também é conhecida por HAVCR-1 (hepatites A vírus celular receptor-1) sendo expresso por hepatócitos (ICHIMURA et al., 2008). O KIM-1 humano apresenta duas variantes (a e b) com domínios extracelulares idênticos diferindo no domínio citoplasmático e na distribuição tecidual. Nos rins há o predomínio do KIM-1b (CHARLTON, PORTILLA, OKUSA, 2014; BAILLY et al., 2002).

Nos rins, KIM-1 é expresso nas células epiteliais indiferenciadas do túbulo proximal em regiões danificadas, especialmente no segmento S3 do túbulo proximal, na medula externa, uma região que é muito susceptível a lesões resultantes de

isquemia e toxinas. Como essa proteína se localiza junto dos marcadores de proliferação propõe-se que KIM-1 desempenhe um papel no processo de regeneração. Foi demonstrado em cultura de células que o domínio extracelular (ectodomínio) do KIM-1 humano é clivado por uma metaloproteína e expresso no meio de cultura. Assim a clivagem do ectodomínio do KIM-1 resulta no aparecimento da sua forma solúvel na urina (fig.1)(CHARLTON, PORTILLA, OKUSA, 2014; BAILLY et al., 2002). A proteína KIM-1 e seu RNAm estão expressos em níveis muito baixos nos rins normais, mas sua expressão aumenta drasticamente na membrana apical das células epiteliais indiferenciadas do túbulo proximal após LRA isquêmica ou nefrotóxica em ratos e humanos (CHARLTON, PORTILLA, OKUSA, 2014; HAN et al., 2002; ICHIMURA et al., 1998).

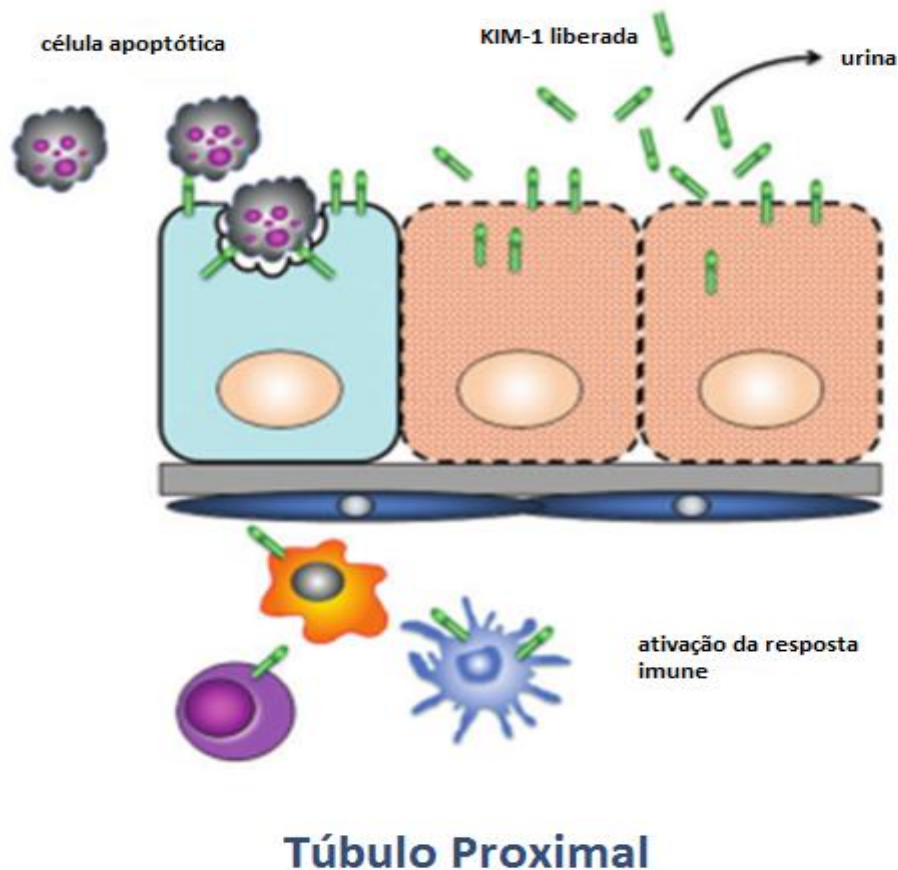
Além de ser um marcador de lesão renal, KIM-1 parece ter um papel funcional na biologia celular e molecular da LRA. A expressão de KIM-1 confere um fenótipo fagocítico em células renais primárias cultivadas através da sua função como receptor de fosfatidilserina que permite promover a fagocitose de corpos apoptóticos e debris necróticos(fig.1) (ICHIMURA et al., 2008). Por isso tem sido proposto que KIM-1 pode ter um papel importante na regeneração tubular após LRA. O KIM 1 aumenta significativamente dentro de 6 a 12 horas após a lesão renal (ICHIMURA et al., 2004; HAN et al., 2008; CHARLTON, PORTILLA, OKUSA, 2014).

Figura 4: Clivagem do ecto-domínio do KIM-1 após lesão renal



FONTE: adaptado de ICHIMURA, MOU, 2008

Figura 5: Liberação do KIM-1 na Urina após Lesão Tubular



FONTE: adaptado de CHARLTON, PORTILLA, OKUSA, 2014

Na população pediátrica, KIM-1 foi avaliado em várias situações clínicas, como após cirurgia cardíaca (ZAPPITELLI et al., 2015), nefropatia obstrutiva (WASILEWSKA, 2011) e na emergência pediátrica (DU et al., 2011). Muitos destes estudos têm demonstrado que KIM-1 é um biomarcador promissor para ser utilizado na prática clínica.

O primeiro estudo sobre KIM -1 como biomarcador de LRA na população pediátrica foi um estudo caso-controlerealizado de janeiro a novembro de 2004 que avaliou os níveis de KIM-1 em amostras de urina de 40 crianças submetidas a correção cirúrgica de cardiopatias congênitas, sendo 20 com LRA e 20 controles. LRA foi definida por um aumento maior do que 50% na CrS nas primeiras 48 horas após a cirurgia. Houve elevação nos níveis de uKIM-1 6 a 12 h após a circulação

extracorpórea (CEC) e estes níveis permaneceram significativamente elevados por até 48 horas. O uso de uKIM-1 para o diagnóstico de LRA nesses pacientes teve AUCs de 0,83, 0,78, e 0,84 às 12, 24 e 36 horas após a CEC respectivamente (HAN et al., 2008).

Em outro estudo prospectivo multicêntrico realizado com 287 crianças submetidas a cirurgia cardíaca, foi avaliada a associação de LRA, definida pelo aumento da CrS e da CysC segundo os critérios KDIGO, com os biomarcadores urinários IL-18, NGAL, L-FABP e KIM-1. As concentrações de uNGAL, uIL-18 e uL-FABP foram mais altas em pacientes com LRA definida tanto pela CrS quanto pela CysC, enquanto as concentrações de uKIM-1 foram mais altas apenas nos pacientes com LRA definida pela CysC. Os níveis urinários de IL-18 e KIM-1 foram mais fortemente associados à LRA definida pela CysC. Nesse estudo o diagnóstico de LRA pela CysC ocorreu em média 1 dia após o diagnóstico pela CrS, o que, segundo os autores, pode significar que os pacientes que tiveram LRA imediatamente após a cirurgia pela definição da CrS, não tiveram uma lesão tubular renal verdadeira, mas apenas um aumento dos níveis de CrS devido à produção, secreção ou metabolismo, já que muitos desses pacientes tinham LRA apenas estágio 1. O estudo conclui que a definição de LRA pela CysC parece levar a associações mais fortes com alguns biomarcadores como o uKIM-1 (ZAPPITELLI et al., 2015).

Em crianças admitidas na emergência pediátrica, foi realizado um estudo prospectivo que testou a capacidade de 5 biomarcadores urinários em prever a presença de LRA e sua severidade. Foram avaliadas 252 crianças no período de janeiro a abril de 2009. Foram obtidas amostras de urina para a dosagem de NGAL, KIM-1, IL-18, β -2M e osteopontina. Das 252 crianças, 142 ficaram internadas, 18 apresentaram LRA (7,1%) pelos critérios pRIFLE sendo 12 classificados como risco (pRIFLE-R) e 6 como injúria (pRIFLE-I). Apenas 1 tinha LRA listado no prontuário como diagnóstico. Dentre as que ficaram internadas, 15 apresentaram LRA (10,6%), dessas 10 foram classificadas como pRIFLE-R e 5 como pRIFLE-I. NGAL, β -2M e KIM-1 urinários demonstraram uma boa acurácia ($AUC > 0.70$ a 0.80) em prever LRA nos pacientes classificados como pRIFLE-I em relação aos classificados como pRIFLE-R ou sem LRA. O estudo conclui que os biomarcadores urinários podem servir bem para diagnosticar LRA com precisão na emergência pediátrica, mesmo em casos em que os níveis de CrS são normais (DU et al., 2011).

DU et al (2014) realizou um estudo prospectivo de janeiro de 2010 a outubro de 2011 que comparou os níveis séricos, urinários e renais de NGAL e KIM-1 em 25 crianças portadoras de púrpura de Henoch –Schönlein com e sem LRA pelos critérios pRIFLE. No rim, a expressão de NGAL foi significativamente mais alta no grupo com LRA e a expressão de KIM-1 também foi positiva nesse grupo. A expressão de NGAL e KIM-1 nesses pacientes ocorreu apenas nos túbulos proximais, não ocorrendo nos túbulos distais nem nos coletores. Os níveis plasmáticos e urinários de NGAL e KIM-1 também foram significativamente mais altos nos pacientes com LRA. Os resultados sugeriram que o aumento dos níveis urinários de NGAL e KIM-1 foi associado com LRA e não com doença renal crônica ou com níveis de proteinúria.

Em crianças com infecção do trato urinário (ITU), um estudo prospectivo avaliou a capacidade de NGAL e KIM-1 em detectar a duração da inflamação e o desenvolvimento de LRA. Os níveis séricos e urinários de NGAL e os níveis urinários de KIM-1 foram dosados em 50 crianças com ITU. Nesse estudo, NGAL não serviu para rastrear a duração da inflamação nessa população e a acurácia de KIM-1 em predizer LRA foi baixa (PETROVIC et al., 2013).

Na UTI pediátrica, foi realizado um estudo prospectivo de dezembro de 2011 a junho de 2012 com 49 crianças menores de 16 anos. O estudo teve por objetivo avaliar a relação entre LRA e os novos biomarcadores (sCysC, sNGAL, uNGAL e uKIM-1) nessa população. Das 49 crianças, 24 (49%) apresentaram LRA pelos critérios pRIFLE. O estudo conclui que sCysC e sNGAL foram os melhores biomarcadores para o diagnóstico de LRA em crianças na UTI. Já uNGAL e uKIM-1 não tiveram bons resultados (MCCAFFREY et al., 2015).

Na UTI neonatal, um estudo avaliou o papel do uKIM-1 na determinação precoce de LRA em prematuros com síndrome do desconforto respiratório (SDR). Quarenta e oito bebês prematuros internados na UTI neonatal foram incluídos no estudo e divididos em três grupos: grupo I, prematuros saudáveis; grupo II, prematuros com SDR sem LRA; grupo III, prematuros com SDR e LRA. Foram dosados o uKIM-1 e a CrS nos dias 1, 3 e 7 de vida. No dia 1, os níveis de uKIM-1 nos bebês com SDR e LRA foram maiores do que nos outros dois grupos. Neste grupo, houve um aumento significativo nos níveis de uKIM-1 no dia 3 ($p = 0,015$). A sensibilidade e especificidade de uKIM-1 foram calculados como 73,3% e 76,9%,

respectivamente. Um uKIM-1 elevado no dia 7 aumentou o risco de morte em 7,3 vezes. O estudo conclui que medidas seriadas de uKIM-1 podem ser usadas como um indicador não invasivo de lesão renal e que o uKIM-1 pode ser um biomarcador ideal de LRA em bebês prematuros (GENC et al., 2013).

Embora estudos *in vitro* (NISHIHARA et al., 2013) e com animais (MCDUFFIE et al., 2013; ICHIMURA et al., 2004) tenham demonstrado que a nefrotoxicidade induzida pelos antineoplásicos está associada ao aumento dos biomarcadores renais, são poucos os trabalhos em humanos avaliando o potencial de biomarcadores urinários em prever LRA em pacientes sob terapia antineoplásica. Apenas três estudos avaliaram o valor discriminatório da NGAL sérica (sNGAL) e urinária (uNGAL) em pacientes em uso de MTX (YLINEN et al., 2014) ou em tratamento com cisplatina (KOS et al., 2013; LIN et al., 2013). Além de demonstrar resultados controversos, apenas um estudo foi realizado na população pediátrica. Já com KIM-1, não há estudos em crianças sob terapia antineoplásica nefrotóxica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

No presente estudo, nosso objetivo foi avaliar a capacidade de diagnóstico do KIM-1 urinário (uKIM-1) na previsão de LRA em pacientes sob quimioterapia nefrotóxica.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar a capacidade discriminatória do uKIM-1 na LRA pediátrica por altas doses de MTX ou derivados de platina.

Avaliar a capacidade discriminatória do uKIM-1 na persistência da disfunção renal em crianças sob quimioterapia nefrotóxica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo de coorte prospectivo em um único centro de maio de 2013 a setembro de 2014 no Centro Pediátrico do Câncer do Hospital Infantil Albert Sabin em Fortaleza, Ceará, Brasil. O Comitê de Ética em Pesquisa da instituição aprovou o estudo e o termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelos responsáveis.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Crianças menores de 18 anos submetidas a tratamento com altas doses de MTX ou quimioterapia baseada em platina

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Redução significativa da função renal (TFG estimada $< 75 \text{ ml/min/1.73m}^2$)
- Diagnóstico de neoplasia renal
- Doença renal crônica, incluindo diálise ou transplante
- História prévia de doença renal
- Uso concomitante de outra droga nefrotóxica conhecida

4.1 Protocolo do Hospital

Os pacientes oncológicos em uso de MTX ou quimioterapia a base de platina tiveram a CrS dosada um dia antes da infusão da medicação e 24, 48, 72, 96 horas, uma; duas semanas e 3 meses após. MTX foi usado na dose de $2\text{-}12\text{g/m}^2$ e foi administrado por 6 horas em infusão contínua. Todos os pacientes que receberam MTX realizaram hidratação venosa antes e durante a infusão da medicação (2500mL/m^2 de solução de bicarbonato) e mais 2500mL/m^2 durante 24 horas. A concentração sérica de MTX foi monitorizada. O pH urinário também foi monitorizado e mantido alcalino ($\text{pH}=7.0$). Além disso, o ácido folínico (15 mg / m^2) foi administrado endovenoso a cada 6 horas começando 36 horas após a infusão de MTX e interrompido apenas após uma concentração MTX $< 0,1 \text{ } \mu\text{mol / L}$. Para o tratamento à base de platina, os pacientes foram hidratados com 4000ml / m^2 durante 24h.

4.2 Definição de LRA e Recuperação Renal

A definição tradicional de LRA baseada na CrS pelos critérios KDIGO foi utilizada. Valor máximo de CrS durante a internação foi dividido pela CrS basal. Pacientes com um aumento na CrS $\geq 50\%$ no prazo de 7 dias ou um aumento de 0,3 mg / dl na CrS basal no prazo de 48hs foram classificados como LRA-estágio 1. Pacientes que duplicaram a CrS foram classificados como estágio 2 e aqueles que triplicaram a CrS, necessitaram de diálise ou com uma TFG estimada $< 35\text{mL/min/1.73m}^2$ foram classificados como estágio 3. Lesão renal persistente foi considerada quando a TFG estimada foi de pelo menos 25% do valor inicial após 3 meses de seguimento. A TFG foi estimada usando o método de Schwartz (SCHWARTZ, G.J. et al., 2009).

4.3 Amostras de Urina e Dosagem de uKIM-1

Amostras de urina foram coletadas 24 horas após o início da infusão da quimioterapia. As amostras foram imediatamente processadas e congeladas a -80°C para posterior dosagem do KIM-1. O uKIM-1 foi dosado como biomarcador de lesão renal através da análise realizada nas amostras de urina por meio da técnica de imunoensaio ligado à enzima (ELISA). Foi utilizado kit comercial da Enzo® Life Sciences. Foram seguidos os procedimentos de acordo com as normas do fabricante. A leitura foi realizada no leitor de ELISA Asys Expert Plus da Biochrom Ltd. Os valores foram expressos em ng/ml. Para a leitura colorimétrica foi utilizado espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm. A variação de detecção para KIM-1 foi de 0,03 - 20 ng/ml e o coeficiente de variação intraensaio e Interensaio foi de $< 10\%$. Os valores urinários foram normalizados pela creatinina urinária. Também foram coletadas amostras de urina de um grupo controle formado por 12 crianças saudáveis com média de idade de $8,4 \pm 5,1$ anos para dosagem do KIM-1 urinário.

4.4 Análise Estatística

As estatísticas descritivas foram expressas como média \pm DP ou mediana [IQR] para as variáveis contínuas, e números absolutos e percentuais para as variáveis de categoria, conforme o caso. Todas as variáveis foram testadas para a distribuição normal, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Foi aplicado o teste t de Student, Mann Whitney, ANOVA one-way ou teste de Kruskal-Wallis para comparar as médias / medianas das variáveis contínuas de acordo com a distribuição dos dados entre pacientes que desenvolveram ou não LRA.

Coeficientes de correlação de Pearson (r) foram utilizadas para determinar correlações ajustadas entre as variáveis analisadas. A capacidade dos níveis de KIM-1 urinária na previsão de LRA foi avaliada através da área sob a curva *Receiver Operating Characteristic* (AUC-ROC). Em relação a uKIM-1, baixos e altos níveis foram definidos de acordo com o mais alto índice de Youden, o qual foi calculado como $[1 - (1 - \text{sensibilidade}) + (1 - \text{especificidade})]$. Este valor foi considerado como o ponto de corte para o cálculo de sensibilidade, especificidade, e outras medidas de acurácia diagnóstica. A análise estatística foi realizada usando SPSS 19.0 para Windows e os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5. RESULTADOS

5.1 Características dos pacientes

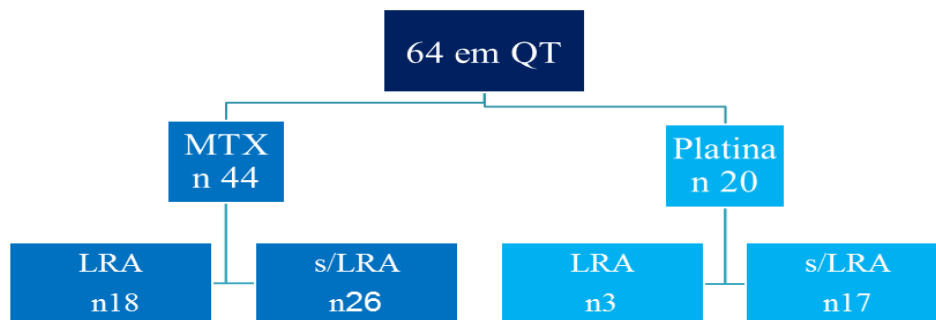
De maio de 2013 a setembro de 2014, 101 crianças receberam tratamento antineoplásico com MTX ou quimioterapia à base de platina. Desses pacientes, 36 crianças foram excluídas por falhar em coletar a amostra de urina do protocolo e uma porque não tinha CrS após receber a quimioterapia. Um total de 64 pacientes permaneceram na análise final. Destes, a maioria era do sexo feminino (n = 38, 59,4%) e a média de idade no início do estudo foi de $9,2 \pm 4,7$ anos. Os principais diagnósticos foram osteossarcoma (n = 23, 35,9%) e leucemia linfoblástica aguda (n = 22, 34,4%) e a maioria dos pacientes (n = 44, 68,8%) receberam quimioterapia baseada em MTX. Uma descrição completa dos pacientes incluídos é demonstrada na tabela 3 e na figura 6.

Tabela 3: Características dos pacientes

	Total (%) (n=64)	Sem LRA (n=43)	LRA (n=21)	p
Idade (anos)	$9,2 \pm 4,7$	$8,1 \pm 4,7$	$11,1 \pm 4,1$	0,023
Gênero (masculino)	26 (40,6)	16 (37,2)	10 (47,6)	0,588
Diagnóstico				
<i>Osteossarcoma</i>	23 (35,9)	18 (41,9)	05 (23,8)	<0,001
<i>LLA</i>	22 (34,4)	11 (25,6)	11 (52,4)	<0,001
<i>Outros</i>	19 (29,7)	14 (32,5)	05 (23,8)	<0,001
eTFG basal (ml/min/1,73m ²)	$147,7 \pm 42,8$	$145,6 \pm 42,3$	$156,8 \pm 43,4$	0,328
LRA				
<i>Estágio 1</i>	12 (18,7)	-	12 (57,1)	-
<i>Estágio 2</i>	08 (12,5)	-	08 (38,0)	-
<i>Estágio 3</i>	01 (1,6)	-	01 (4,9)	-

eTFG: Taxa de filtração glomerular estimada; LLA: Leucemia linfoblástica aguda; LRA: Lesão renal aguda

Figura 6: Características dos pacientes de acordo com a quimioterapia



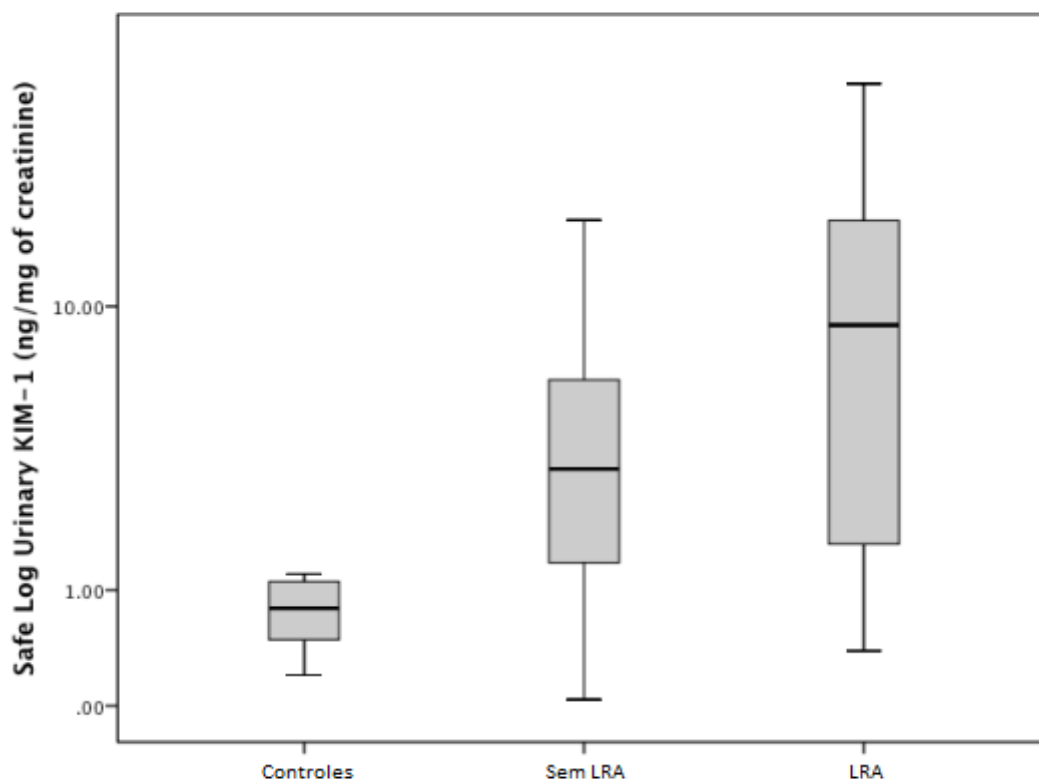
5.2 LRA após Quimioterapia

Até 14 dias após receber a quimioterapia, 21 (32,8%) pacientes desenvolveram LRA. Desses pacientes, a maioria teve LRA estágio 1 (n = 12, 57,1%), 8 tiveram LRA estágio 2 (38%) e apenas 1 (4,9%) desenvolveu LRA estágio 3. Nas crianças que receberam derivados de platina, a LRA ocorreu em pelo menos uma semana, enquanto que, em 80% das crianças em uso de MTX, a LRA ocorreu nas primeiras 96 horas após a administração da droga. Nenhum paciente precisou de TRS.

5.3 KIM-1 urinário e LRA

Após 24 horas da infusão da droga, os valores medianos de uKIM-1 foram maiores nos pacientes com LRA do que nos pacientes sem LRA e nos controles (10,7 IQR 1,6-17,9 vs. 4,3 IQR 1,3-6,1 vs. 0,8 IQR 0,5-1,1, $p < 0,001$ para múltiplas comparações – valores em ng/mg de creatinina)- veja figura 7.

Figura 7:Medianas e intervalos interquartis do uKIM-1 nos controles e nos pacientes com e sem LRA



5.4 KIM-1 urinário prediz LRA após quimioterapia nefrotóxica

A discriminação entre os pacientes que desenvolveram e os que não desenvolveram LRA foi calculada em 24, 48, 72, 96hs, uma e duas semanas após a administração da droga (tab.4 e fig.8). Embora a melhor capacidade de discriminação do uKIM-1 tenha ocorrido quando a LRA foi diagnosticada em até uma semana após a administração da droga, boa capacidade discriminatória foi verificada em toda coorte, com AUC-ROC muito semelhante, nos diferentes momentos em que a LRA foi considerada. O tempo médio para os pacientes apresentarem qualquer aumento na CrS após a quimioterapia foi de 4 dias (IQR2-4), assim o uKIM-1 se elevou pelo menos 24 horas antes dos critérios de LRA na maioria dos pacientes. Entretanto quando a coorte foi dividida de acordo com a quimioterapia utilizada, uKIM-1 não teve uma boa capacidade de discriminação para os pacientes que receberam quimioterapia baseada em platina(AUC-ROC 0,57 95%CI 0,22-0,73).

Para os pacientes que receberam MTX, houve uma correlação direta significativa entre os níveis séricos de MTX 24h após a infusão e uKIM-1 ($r=0,354, p=0,017$), entretanto o MTX sérico teve apenas moderada capacidade de discriminação em prever LRA até 2 semanas após a administração do fármaco (AUC-ROC 0,64 95%CI 0,49-0,83, $p=0,057$).

Foi também determinado o melhor nível de ponto de corte de uKIM-1 com maior capacidade discriminatória em prever LRA que foi de 6,2 ng/mg de creatinina. O desempenho de uKIM-1 como biomarcador de LRA foi validado através do cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, bem como da razão de verossimilhança (LR+ e LR-). Os valores são mostrados na Tabela 5. O uKIM-1 teve uma excelente especificidade e uma boa sensibilidade como biomarcador de LRA nos pacientes que receberam quimioterapia nefrotóxica.

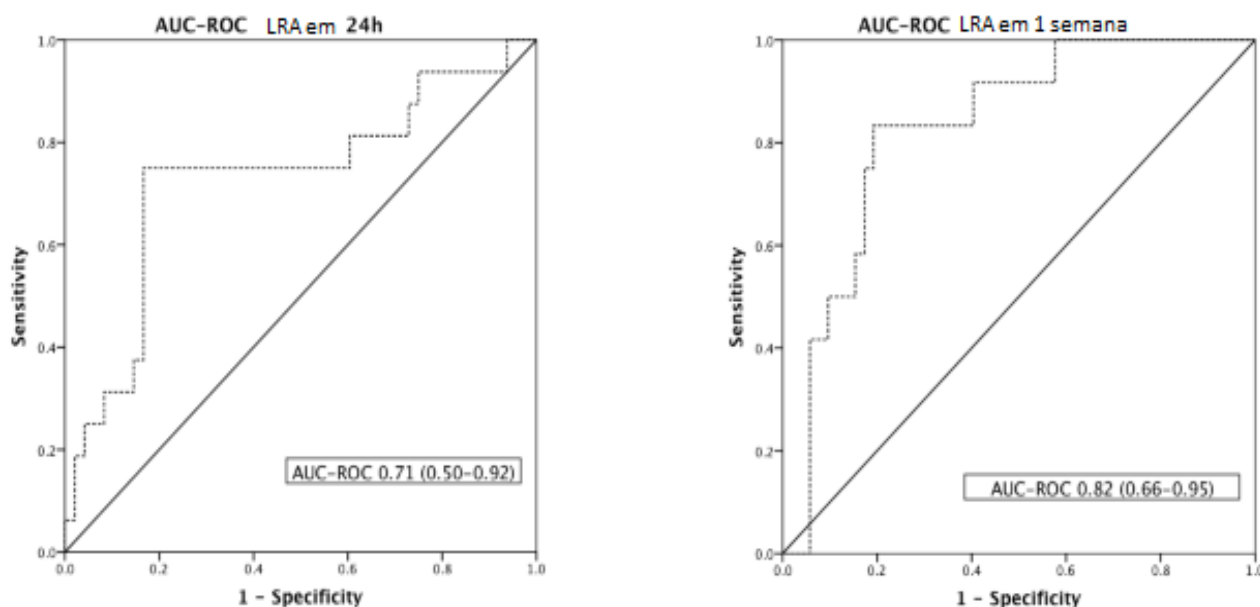
Tabela 4: Capacidade de discriminação do uKIM-1 nos diferentes momentos em que a LRA foi diagnosticada.

Coorte completa		
	AUC-ROC	95%CI
LRA após 24hs	0,71	0,51-0,92
LRA após 48hs	0,74	0,56-0,91
LRA após 72hs	0,74	0,57-0,91
LRA após 96hs	0,73	0,57-0,89
LRA após 1 semana	0,82	0,66-0,95
LRA após 2 semanas	0,75	0,62-0,89

Tabela 5 Capacidade diagnóstica do uKIM-1. Valor de ponto de corte de 6,2 ng/mg de creatinina

Capacidade Diagnóstica	Valor	95% intervalo de confiança
Sensibilidade (%)	73,1	52,2-88,4
Especificidade (%)	92,1	78,6-98,3
Valor preditivo positivo (%)	86,3	65,1-97,1
Valor preditivo negativo (%)	83,3	68,6-93,0
Razão de verossimilhança positiva	9,3	3,1-28,1
Razão de verossimilhança negativa	0,29	0,15-0,55

Figura 8: Capacidade de discriminação do uKIM-1 para LRA em 24hs e 1 semana



5.5 uKIM-1e prejuízo renal a longo prazo

Dos 21 pacientes que desenvolveram LRA, 7 (33,3%) tiveram insuficiência renal persistente após 3 meses de seguimento. Os pacientes com recuperação completa da LRA tiveram menor nível de uKIM-1 no início (15,5 IQR 10,4-17,0 vs. 6,9 IQR 1,7-18,8, $p=0,02$ – valores em ng / mg de creatinina). Mesmo dosado 24 horas após a infusão da droga, uKIM-1 teve uma boa capacidade de discriminação em prever insuficiência renal persistente após três meses (AUC-ROC 0,72 95%CI 0,54-0,91).

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, uKIM-1 foi avaliado em crianças 24 horas após o início da infusão de MTX ou quimioterapia baseada em platina. Foi demonstrado que uKIM-1 teve boa capacidade discriminatória em prever a ocorrência de LRA nos primeiros 14 dias após o tratamento antineoplásico nefrotóxico.

Na última década, os biomarcadores urinários surgiram como uma ferramenta útil na estratificação de risco e no diagnóstico LRA, tornando possível o diagnóstico de lesão renal antes de qualquer elevação da CrS. Em crianças, diversos estudos têm avaliado o papel dos biomarcadores renais plasmáticos e urinários em diferentes ambientes clínicos. Após cirurgia cardíaca, por exemplo, tem sido demonstrado que a sNGAL aumenta 2 horas após a circulação extracorpórea tendo um aumento precoce nos pacientes com LRA (BOJAN et al., 2014). Além disso, NGAL foi capaz de discriminar LRA grave em crianças com sepse na UTI (BASU et al., 2014). Na emergênciapediátrica, NGAL também se mostrou eficaz em prever LRA (DU et al., 2011).

Em crianças com câncer, um estudo prospectivo avaliou 20 pacientes com diagnóstico recente de LLA que receberam altas doses de MTX entre setembro de 2011 e junho de 2013. De acordo com o NOPHO (*The Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology* 2008), MTX foi administrado por via intravenosa em infusão contínua por 24 horas numa dose de $5\text{g} / \text{m}^2$. Os níveis de sNGAL foram dosados 24-48 horas antes do tratamento e 24, 36, 48, e 72 horas após o início da infusão de MTX. Em seguida, foi medida diariamente, até a concentração de MTX ficar abaixo de $0,1\text{ mmol} / \text{L}$. Não ocorreram alterações na CrS durante ou após as infusões MTX. Não houve alterações significativas nos níveis plasmáticos ou urinários de sNGAL durante o tratamento com MTX (YLINEN et al., 2014).

Outro estudo realizado em adultos com câncer avaliou 34 pacientes em uso de quimioterapia (QT) baseada em cisplatina. Os níveis de sNGAL foram dosados antes e após a infusão de cisplatina no primeiro e no terceiro ciclo de QT. Não houve correlação entre os níveis de sNGAL e os níveis de CrS, nem com a função renal estimada através das fórmulas MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) e

Cockcroft-Gault. O estudo conclui que sNGAL não é um bom biomarcador precoce de nefrotoxicidade induzida pela cisplatina (KOS et al., 2013).

Embora atualmente NGAL seja um dos mais promissores biomarcadores renais, quando avaliado em crianças recebendo altas doses de MTX (YLINEN et al., 2014) ou em adultos sob quimioterapia baseada em platina (KOS et al., 2013), não houve diferença nos seus níveis plasmáticos antes e depois dos pacientes receberem o tratamento, limitando o seu uso como uma ferramenta diagnóstica.

Em relação ao uKIM-1 como uma ferramenta diagnóstica de LRA em crianças, os dados são mais limitados. Quando usado no centro de emergência pediátrica, uKIM-1 teve, na melhor das hipóteses, uma capacidade de discriminação modesta na previsão LRA estágio 2 (DU et al., 2011). Após a cirurgia cardíaca, uKIM-1 também parece ser inferior a NGAL na predição de LRA (ZAPPITELLI et al., 2015).

SHAO et al (2014) realizaram uma meta-análise avaliando o valor diagnóstico de uKIM-1 na LRA. Um total de 2.979 pacientes de 11 estudos elegíveis foram incluídos na análise sendo 5 coortes prospectivas, 2 estudos transversais e 4 estudos caso-controle. Dos 11 estudos, 3 foram na população pediátrica (2 na UTI neonatal e 1 após cirurgia cardíaca). Os estudos foram realizados de 2008 a 2013. A sensibilidade estimada de uKIM-1 para diagnóstico de LRA foi de 74 % (IC 95%, 61% -84%) e especificidade foi de 86 % (IC 95%, 74% -93%). A análise SROC mostrou uma AUC de 0,86 (0,83-0,89). Estudos em várias populações diferentes, as diferentes definições de LRA e o uso dos níveis de CrS como padrão podem ter influenciado no diagnóstico de LRA. Além disso, o relativo pequeno número de estudos e a heterogeneidade deles também pode ter afetado a avaliação. Apesar das limitações, o estudo conclui que o uKIM-1 pode ser um promissor biomarcador para a detecção precoce de LRA com considerável valor preditivo.

Nas crianças em tratamento com antineoplásicos nefrotóxicos, a incidência de LRA utilizando as definições do pRIFLE ou do KDIGO é amplamente desconhecida. Alguns estudos, têm sugerido que a infusão de altas doses de MTX tem pouca relevância clínica em comprometer a TFG e que LRA clinicamente significativa esteve presente em apenas 1,8% dos pacientes. (WIEDEMANN et al., 2004). Porém esses estudos usaram diferentes sistemas de classificação de LRA e não levaram a CrS basal em consideração. Por outro lado, no presente estudo, usando a definição do KDIGO, foi detectado que mais de 40% dos pacientes desenvolveram LRA após a infusão de altas doses de MTX. Mesmo em crianças sem

elevação significativa da CrS, o uKIM-1 foi mais elevado do que nos controles, demonstrando que a lesão tubular renal pode ser ainda mais prevalente. Como dito anteriormente, a lesão renal pode piorar o prognóstico não somente pela LRA em si, mas também pela elevação das concentrações plasmática de MTX provocando o aumento das outras toxicidades desse antineoplásico. Em relação a quimioterapia baseada em platina, foi divulgado uma incidência menor, porém não desprezível, de LRA. Para o nosso melhor conhecimento, NGAL tem sido o único biomarcador renal testado em crianças recebendo drogas antineoplásicas nefrotóxicas (YLINEN et al., 2014). Na verdade, não foi possível identificar qualquer outra investigação sobre biomarcadores renais em crianças expostas a drogas nefrotóxicas, incluindo agentes antimicrobianos.

KIM-1 é expressa nas células do túbulo proximal e parece promover a remoção de células apoptóticas e necróticas. Após a lesão, ocorre o aumento da expressão de KIM-1 que é liberada na urina e no espaço extracelular (CHARLTON, PORTILLA, OKUSA, 2014). A nefrotoxicidade induzida pelos derivados de platina está associada a apoptose, necrose e inflamação que ocorrem no túbulo proximal renal (PABLA, DONG, 2008). Essa fisiopatologia de base faz do biomarcador KIM-1 um potencial candidato. Entretanto, no presente estudo, foi divulgado que uKIM-1 não teve uma boa capacidade discriminatória em prever nefrotoxicidade pelos derivados de platina. Como dito anteriormente, não há nenhum estudo em crianças avaliando o potencial de uKIM-1 no diagnóstico precoce de LRA relacionada a nefrotoxicidade. TEKCE et al (2015) realizaram um estudo prospectivo com 22 adultos em uso de cisplatina. Os níveis de sKIM-1 e uKIM-1 foram dosados em 4 diferentes períodos: antes do tratamento, no primeiro, no terceiro e no quinto dia após o tratamento. Os níveis de uKIM-1 no primeiro dia após o tratamento aumentaram significativamente nos pacientes com LRA em relação aos níveis antes do tratamento nesses mesmos pacientes ($P=0,009$) e em relação aos pacientes sem LRA ($P=0,008$). O uKIM-1 no primeiro dia após o tratamento foi preditor de LRA com 87,5% de sensibilidade e 93,3% de especificidade ($AUC = 0,94$). Não houve alterações significativas nas concentrações séricas de KIM-1. O estudo conclui que as concentrações urinárias de KIM-1 podem prever LRA induzida pela cisplatina precocemente com alta sensibilidade e especificidade. O uKIM-1 foi capaz de prever LRA em adultos recebendo cisplatina, provavelmente porque esses autores

tiveram uma incidência de LRA de 40%, quase três vezes maior do que a que foi divulgada em crianças no presente estudo (15%).

Finalmente, foi demonstrado que o uKIM-1 pode também prever recuperação completa ou não da LRA. Esta informação tem valor no planejamento dos protocolos de quimioterapia futuros e no seguimento desses pacientes, tendo em vista as novas descobertas sobre as consequências nefastas a longo prazo da LRA. A detecção precoce dos pacientes em risco de desenvolver LRA submetidos a quimioterapia nefrotóxica pode levar a melhor vigilância clínica, prevenção da toxicidade renal adicional e das complicações relacionadas.

Esse estudo tem várias limitações. Não foi realizada nenhuma comparação com outros biomarcadores, embora estudos prévios demonstraram que NGAL falhou em prever nefrotoxicidade induzida por MTX. Além disso, somente 1 paciente teve LRA severa (estágio 3), impedindo de chegar a qualquer conclusão neste subconjunto específico. Entretanto, a mais importante limitação é o número reduzido de pacientes. Não há a intenção de concluir que o uKIM-1 é um biomarcador válido na nefrotoxicidade induzida por quimioterapia nefrotóxica, mas essa coorte abre novas perspectivas no uso de biomarcadores renais na LRA relacionada à nefrotoxicidade.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, foi demonstrado, no presente estudo, que o KIM-1 urinário, dosado 24 horas após o início da infusão da droga, tem potencial para detectar LRA precocemente nos pacientes submetidos à quimioterapia nefrotóxica. Além disso, foi demonstrado que o uKIM-1 pode também prever recuperação completa ou não da LRA. Esta informação tem valor no planejamento dos protocolos de quimioterapia futuros e no seguimento desses pacientes podendo melhorar a vigilância clínica, prevenção da toxicidade renal adicional e das complicações relacionadas. Essa coorte deve ser vista como um estudo piloto que abre novas perspectivas no uso de biomarcadores renais na LRA relacionada à nefrotoxicidade.

REFERÊNCIAS

ACKLAND, S. P.; SCHILSKY, R. L. High-dose methotrexate: a critical reappraisal. **J Clin Oncol**, v. 5, n. 12, p. 2017-31, Dez 1987.

AKCAN-ARIKAN, A. et al. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. **Kidney Int**, v. 71, n. 10, p. 1028-35, Mai 2007.

ALGE, J. L.; ARTHUR, J. M. Biomarkers of AKI: a review of mechanistic relevance and potential therapeutic implications. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 10, n. 1, p. 147-55, Jan 2015..

ANDRADE, L.; DE FRANCESCO DAHER, E.; SEGURO, A. C. Leptospiral nephropathy. **Semin Nephrol**, v. 28, n. 4, p. 383-94, Jul 2008.

ARANY, I.; SAFIRSTEIN, R. L. Cisplatin nephrotoxicity. **Semin Nephrol**, v. 23, n. 5, p. 460-4, Set 2003.

BAILLY, V. et al. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration. **J Biol Chem**, v. 277, n. 42, p. 39739-48, Out 2002.

BALIGA, R. et al. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. **Drug Metab Rev**, v. 31, n. 4, p. 971-97, Nov 1999.

BASU, R. K. et al. Incorporation of biomarkers with the renal angina index for prediction of severe AKI in critically ill children. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 9, n. 4, p. 654-62, Abr 2014.

BELLOMO, R. 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. **Crit Care**, v. 8, n. 4, p. R204-12, Ago 2004.

BOJAN, M. et al. Predictive performance of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin for dialysis requirement and death following cardiac surgery in neonates and infants. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 9, n. 2, p. 285-94, Fev 2014.

BRILLET, G. et al. Long-term renal effect of cisplatin in man. **Am J Nephrol**, v. 14, n. 2, p. 81-4, 1994.

CAMPBELL, A. W. The War on Cancer: Where Are We After 43 Years? **Altern Ther Health Med**, v. 20, n. S2, p. 4-5, Out 2014.

CHARLTON, J. R.; PORTILLA, D.; OKUSA, M. D. A basic science view of acute kidney injury biomarkers. **Nephrol Dial Transplant**, v. 29, n. 7, p. 1301-11, Jul 2014.

CHERTOW, G. M. et al. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. **J Am Soc Nephrol**, v. 16, n. 11, p. 3365-70, Nov 2005.

CHO, J. M. et al. Role of the Nrf2-antioxidant system in cytotoxicity mediated by anticancer cisplatin: implication to cancer cell resistance. **Cancer Lett**, v. 260, n. 1-2, p. 96-108, Feb 2008.

CHOI, M. K.; SONG, I. S. Organic cation transporters and their pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences. **Drug Metab Pharmacokinet**, v. 23, n. 4, p. 243-53, 2008.

CHRISTIANSEN, C. F. et al. Incidence of acute kidney injury in cancer patients: a Danish population-based cohort study. **Eur J Intern Med**, v. 22, n. 4, p. 399-406, Ago 2011.

CORNELISON, T. L.; Reed, E. Nephrotoxicity and hydration management for cisplatin, carboplatin, and ormaplatin. **Gynecol Oncol**, v. 50, n. 2, p. 147-58, Ago 1993..

DOBYAN, D. C. et al. Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity: II. Morphologic observations. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 213, n. 3, p. 551-6, Jun 1980.

DOOLAN, P. D.; ALPEN, E. L.; THEIL, G. B. A clinical appraisal of the plasma concentration and endogenous clearance of creatinine. **Am J Med**, v. 32, p. 65-79, Jan 1962.

DOS SANTOS, N. A. et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. **Arch Toxicol**, v. 86, n. 8, p. 1233-50, Ago 2012.

DU, Y. et al. Renal neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney injury molecule-1 expression in children with acute kidney injury and Henoch-Schönlein purpura nephritis. **Exp Ther Med**, v. 7, n. 5, p. 1130-1134, Mai 2014.

DU, Y. et al. Urinary biomarkers to detect acute kidney injury in the pediatric emergency center. **Pediatr Nephrol**, v. 26, n. 2, p. 267-74, Feb 2011.

ENDRE, Z. H. Acute kidney injury: definitions and new paradigms. **Adv Chronic Kidney Dis**, v. 15, n. 3, p. 213-21, Jul 2008.

FARBER, S.; DIAMOND, L. K. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid. **N Engl J Med**, v. 238, n. 23, p. 787-93, Jun 1948.

FAUGHT, L. N. et al. Drug-induced Acute Kidney Injury in Children. **Br J Clin Pharmacol**, Nov 2014.

FILIPSKI, K. K. et al. Interaction of Cisplatin with the human organic cation transporter 2. **Clin Cancer Res**, v. 14, n. 12, p. 3875-80, Jun 2008.

FORTENBERRY, J. D.; PADEN, M. L.; GOLDSTEIN, S. L. Acute kidney injury in children: an update on diagnosis and treatment. **Pediatr Clin North Am**, v. 60, n. 3, p. 669-88, Jun 2013.

GATELY, D. P.; HOWELL, S. B. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. **Br J Cancer**, v. 67, n. 6, p. 1171-6, Jun 1993.

GENC, G. et al. Kidney injury molecule-1 as a promising biomarker for acute kidney injury in premature babies. **Am J Perinatol**, v. 30, n. 3, p. 245-52, Mar 2013.

GOLDIN, A. et al. Eradication of leukaemic cells (L1210) by methotrexate and methotrexate plus citrovorum factor. **Nature**, v. 212, n. 5070, p. 1548-50, Dez 1966.

HAN, W. K. et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney Int**, v. 62, n. 1, p. 237-44, Jul 2002.

HAN, W. K.; BONVENTRE, J. V. Biologic markers for the early detection of acute kidney injury. **Curr Opin Crit Care**, v. 10, n. 6, p. 476-82, Dez 2004.

HAN, W. K. et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. **Kidney Int**, v. 73, n. 7, p. 863-9, Abr 2008.

HOSTE, E. A.; KELLUM, J. A. Acute kidney injury: epidemiology and diagnostic criteria. **Curr Opin Crit Care**, v. 12, n. 6, p. 531-7, Dez 2006.

ICHIMURA, T. et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. **J Clin Invest**, v. 118, n. 5, p. 1657-68, Mai 2008.

ICHIMURA, T. et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. **J Biol Chem**, v. 273, n. 7, p. 4135-42, Fev 1998.

ICHIMURA, T. et al. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 286, n. 3, p. F552-63, Mar 2004.

ISHIDA, S. et al. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 22, p. 14298-302, Out 2002.

KUO, M. T. et al. The roles of copper transporters in cisplatin resistance. **Cancer Metastasis Rev**, v. 26, n. 1, p. 71-83, Mar 2007.

LI, P. K. et al. Acute kidney injury: global health alert. **Transplantation**, v. 95, n. 5, p. 653-7, Mar 2013.

LIBÓRIO, A. B. et al. Predicting hospital mortality in critically ill cancer patients according to acute kidney injury severity. **Oncology**, v. 80, n. 3-4, p. 160-6, 2011.

LIBÓRIO, A. B.; BRANCO, K. M.; TORRES DE MELO BEZERRA, C. Acute kidney injury in neonates: from urine output to new biomarkers. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 601568, 2014.

LIN HYL. S. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels predict cisplatin-induced acute kidney injury better than albuminuria or urinary cystatin C levels. *Kaohsiung J Med Sci*. 2013.

LITTERST, C. L.; LEROY, A. F.; GUARINO, A. M. Disposition and distribution of platinum following parenteral administration of cis-dichlorodiammineplatinum(II) to animals. **Cancer Treat Rep**, v. 63, n. 9-10, p. 1485-92, 1979 Set-Out 1979.

LUDWIG, T. et al. Nephrotoxicity of platinum complexes is related to basolateral organic cation transport. **Kidney Int**, v. 66, n. 1, p. 196-202, Jul 2004.

MCCAFFREY, J. et al. Towards a biomarker panel for the assessment of AKI in children receiving intensive care. **Pediatr Nephrol**, Abr 2015.

MCDUFFIE, J. E. et al. Time course of renal proximal tubule injury, reversal, and related biomarker changes in rats following cisplatin administration. **Int J Toxicol**, v. 32, n. 4, p. 251-60, Jul 2013.

MEHTA, R. L. et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. **Crit Care**, v. 11, n. 2, p. R31, 2007.

METNITZ, P. G. et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. **Crit Care Med**, v. 30, n. 9, p. 2051-8, Set 2002.

MOLITORIS, B. A. et al. Technology Insight: biomarker development in acute kidney injury--what can we anticipate? **Nat Clin Pract Nephrol**, v. 4, n. 3, p. 154-65, Mar 2008.

NADIN, S. B. et al. DNA damage and repair in peripheral blood lymphocytes from healthy individuals and cancer patients: a pilot study on the implications in the clinical response to chemotherapy. **Cancer Lett**, v. 239, n. 1, p. 84-97, Jul 2006.

NISHIHARA, K. et al. Urinary chemokine (C-C motif) ligand 2 (monocyte chemotactic protein-1) as a tubular injury marker for early detection of cisplatin-induced nephrotoxicity. **Biochem Pharmacol**, v. 85, n. 4, p. 570-82, Fev 2013.

NITISS, J. L. A copper connection to the uptake of platinum anticancer drugs. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 22, p. 13963-5, Out 2002.

OKUSA, M. D.; Davenport, A. Reading between the (guide)lines--the KDIGO practice guideline on acute kidney injury in the individual patient. **Kidney Int**, v. 85, n. 1, p. 39-48, Jan 2014.

PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. **Kidney Int**, v. 73, n. 9, p. 994-1007, Mai 2008.

PASETTO, L. M. et al. The development of platinum compounds and their possible combination. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 60, n. 1, p. 59-75, Out 2006.

PATZER, L. Nephrotoxicity as a cause of acute kidney injury in children. **Pediatr Nephrol**, v. 23, n. 12, p. 2159-73, Dez 2008.

PETROVIC, S. et al. Clinical application neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney injury molecule-1 as indicators of inflammation persistence and acute kidney injury in children with urinary tract infection. **Biomed Res Int**, v. 2013, p. 947157, 2013.

PRAUGHT, M. L.; SHLIPAK, M. G. Are small changes in serum creatinine an important risk factor? **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 14, n. 3, p. 265-70, Mai 2005.

RADTKE, S. et al. Germline genetic variations in methotrexate candidate genes are associated with pharmacokinetics, toxicity, and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v. 121, n. 26, p. 5145-53, Jun 2013.

RELLING, M. V. et al. Patient characteristics associated with high-risk methotrexate concentrations and toxicity. **J Clin Oncol**, v. 12, n. 8, p. 1667-72, Ago 1994.

SAFAEI, R.; HOWELL, S. B. Copper transporters regulate the cellular pharmacology and sensitivity to Pt drugs. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 53, n. 1, p. 13-23, Jan 2005.

SAFIRSTEIN, R.; MILLER, P.; GUTTENPLAN, J. B. Uptake and metabolism of cisplatin by rat kidney. **Kidney Int**, v. 25, n. 5, p. 753-8, Mai 1984.

SHAO, X. et al. Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e84131, 2014.

SHEMESH, O. et al. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. **Kidney Int**, v. 28, n. 5, p. 830-8, Nov 1985.

STEVENS, L. A. et al. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. **N Engl J Med**, v. 354, n. 23, p. 2473-83, Jun 2006.

SCHWARTZ, G.J. et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 20, n. 30, p. 629-37, Mar 2009.

SUTHERLAND, S. M. et al. AKI in hospitalized children: epidemiology and clinical associations in a national cohort. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 8, n. 10, p. 1661-9, Out 2013.

TEKCE, B. K. et al. Does the kidney injury molecule-1 predict cisplatin-induced kidney injury in early stage? **Ann Clin Biochem**, v. 52, n. Pt 1, p. 88-94, Jan 2015.

WAIKAR, S. S. et al. Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. **J Am Soc Nephrol**, v. 17, n. 4, p. 1143-50, Abr 2006.

WALLING, J. From methotrexate to pemetrexed and beyond. A review of the pharmacodynamic and clinical properties of antifolates. **Invest New Drugs**, v. 24, n. 1, p. 37-77, Jan 2006.

WASILEWSKA, A. et al. KIM-1 and NGAL: new markers of obstructive nephropathy. **Pediatr Nephrol**, v. 26, n. 4, p. 579-86, Abr 2011.

WESTHUYZEN, J. et al. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, n. 3, p. 543-51, Mar 2003.

WIDEMANN, B. C.; ADAMSON, P. C. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. **Oncologist**, v. 11, n. 6, p. 694-703, Jun 2006.

WIDEMANN, B. C. et al. High-dose methotrexate-induced nephrotoxicity in patients with osteosarcoma. **Cancer**, v. 100, n. 10, p. 2222-32, Mai 2004.

WIDEMANN, B. C. et al. Efficacy of glucarpidase (carboxypeptidase g2) in patients with acute kidney injury after high-dose methotrexate therapy. **Pharmacotherapy**, v. 34, n. 5, p. 427-39, Mai 2014.

WOZNIAK, K.; CZECHOWSKA, A.; BLASIAK, J. Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor STI571. **Chem Biol Interact**, v. 147, n. 3, p. 309-18, Abr 2004.

XU, E. Y. et al. Integrated pathway analysis of rat urine metabolic profiles and kidney transcriptomic profiles to elucidate the systems toxicology of model nephrotoxics. **Chem Res Toxicol**, v. 21, n. 8, p. 1548-61, Ago 2008.

YARRIS, J. P.; HUNTER, A. J. ROY HERTZ, M.D. (1909-2002): the cure of choriocarcinoma and its impact on the development of chemotherapy for cancer. **Gynecol Oncol**, v. 89, n. 2, p. 193-8, Mai 2003.

YLINEN, E. et al. Assessment of renal function during high-dose methotrexate treatment in children with acute lymphoblastic leukemia. **Pediatr Blood Cancer**, v. 61, n. 12, p. 2199-202, Dez 2014.

YOKOO, S. et al. Differential contribution of organic cation transporters, OCT2 and MATE1, in platinum agent-induced nephrotoxicity. **Biochem Pharmacol**, v. 74, n. 3, p. 477-87, Ago 2007.

YONEZAWA, A. et al. Association between tubular toxicity of cisplatin and expression of organic cation transporter rOCT2 (Slc22a2) in the rat. **Biochem Pharmacol**, v. 70, n. 12, p. 1823-31, Dez 2005.

ZAPPITELLI, M. et al. Association of Definition of Acute Kidney Injury by Cystatin C Rise With Biomarkers and Clinical Outcomes in Children Undergoing Cardiac Surgery. **JAMA Pediatr**, Abr 2015.