



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

FERNANDA MACEDO DE OLIVEIRA NEVES

**RELAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTO 23,
BIOMARCADORES ENDOTELIAIS E LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES
CRÍTICOS: UMA ANÁLISE DE MEDIAÇÃO**

FORTALEZA

2018

FERNANDA MACEDO DE OLIVEIRA NEVES

**RELAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTOS 23,
BIOMARCADORES ENDOTELIAIS E LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES
CRÍTICOS: UMA ANÁLISE DE MEDIAÇÃO**

Tese submetida à Coordenação do Programa de Doutorado em Ciências Médicas, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Braga Libório.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- N424r Neves, Fernanda Macedo de Oliveira.
 Relação do fator de crescimento de fibroblasto 23, biomarcadores endoteliais e lesão renal aguda em pacientes críticos: uma análise de mediação / Fernanda Macedo de Oliveira Neves. – 2018.
 85 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2018.
 Orientação: Prof. Dr. Alexandre Braga Libório.
1. Lesão renal aguda. 2. Biomarcadores. 3. Endotélio. 4. Paciente crítico. I. Título.

CDD 610

FERNANDA MACEDO DE OLIVEIRA NEVES

**RELAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTOS 23,
BIOMARCADORES ENDOTELIAIS E LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES
CRÍTICOS: UMA ANÁLISE DE MEDIAÇÃO**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós - Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médicas.

Aprovada em ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof.Dr. Geraldo Bezerra da Silva Júnior
(Universidade de Fortaleza)

Prof. Dr. Flávio de Oliveira Marques
(Universidade de Fortaleza)

Prof. Dr. Ramon Róseo Paula Pessoa Bezerra de Menezes
(Universidade Federal do Ceará)

Prof.Dr. Gdayllon Cavalcante Menezes
(Universidade Federal do Ceará)

A Deus, que nos concede a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aos meus pais, Luiz Antônio e Maria Elisete pelo apoio contínuo, por contribuir na minha formação pessoal e profissional e despertar a importância do estudo. Ao meu marido Anselmo, companheiro de todas as horas, pelo seu apoio nos momentos de dificuldades e incentivo constante. Aos meus filhos Gustavo, Felipe e Laís, que embora não tivessem conhecimento disso, mas são a razão do meu esforço e me ensinaram o significado mais profundo da palavra amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

As minhas irmãs, Flávia e Anelize, que, mesmo as distâncias sempre me apoiaram e torceram por mim.

Ao professor e orientador Alexandre Braga Libório pelos seus ensinamentos, fonte para o enriquecimento dos meus conhecimentos, por sua paciência e confiança em meu trabalho.

Ao meu amigo Gdayllon por estar sempre disponível aos meus questionamento e dúvidas, por compartilhar seus conhecimentos de toda a análise laboratorial do estudo. Obrigada pelo incentivo.

Aos meus amigos: Camila Araújo, Camilla Maroni, e aos alunos Daniele, Bianca, Leonardo e Vivian que de certa forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos pacientes e seus familiares, pessoas fundamentais para desenvolvimento deste estudo.

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para essa conquista, meu sincero agradecimento.

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos”.
(Marcel Proust)

RESUMO

Introdução: Cerca de 2 milhões de pessoas em todo o mundo morrem por ano de lesão renal aguda (LRA). Na unidade de terapia intensiva (UTI), a LRA está associada com o aumento da mortalidade. O fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) e biomarcadores endoteliais têm sido relacionados a disfunções endoteliais e a LRA em pacientes críticos. **Objetivos:** Avaliar a relação entre o biomarcador FGF-23 em pacientes críticos com lesão renal aguda grave e a mediação desta relação por biomarcadores endoteliais. **Metodologia:** Estudo de coorte, prospectivo e observacional com pacientes admitidos na UTI do Hospital Geral de Fortaleza (HGF). Amostras de sangue foram coletadas nas primeiras 24 horas após a admissão. A LRA grave (definida de acordo com o estágio KDIGO 2/3) foi o desfecho analisado. Foram realizadas várias regressões logísticas multivariadas para avaliar a associação entre o FGF-23 e os biomarcadores relacionados ao endotélio com a LRA grave. Análises de mediação foram realizadas com base nos resultados da regressão logística para verificar as relações hipotéticas do FGF-23 e dos biomarcadores relacionados ao endotélio com LRA grave. **Resultados:** Foram incluídos 265 pacientes, sendo 50,6% são do sexo masculino com idade média de 51,4 anos e 30,9% desenvolveram LRA grave. Após ajuste para diversas variáveis, FGF-23, proteína de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), angiopoietina 2 (ANGPT2), syndecan-1 e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) estiveram associados com LRA grave. O ICAM-1 não teve mediação estatisticamente significativa. Quando todos os três biomarcadores relacionados ao endotélio foram incluídos no mesmo modelo de mediação, 47% do efeito total do FGF-23 na LRA grave foi explicado e o efeito direto não foi mais significativo, indicando uma mediação completa. Além disso, em todos os modelos, todas as vias estatisticamente significativas tinham syndecan-1 como o último mediador. **Conclusão:** A associação entre FGF-23 e LRA grave é mediada por biomarcadores relacionados ao endotélio, principalmente VCAM-1 e syndecan-1; os modelos com biomarcadores seriados mostraram que o syndecan-1 parece ser um mediador final entre o FGF-23 e a LRA grave.

Palavras-Chave: Lesão renal aguda. Biomarcadores. Endotélio. Paciente crítico.

ABSTRACT

Background: It is estimated that about 2 million people worldwide die each year from acute kidney injury (AKI). In the intensive care unit (ICU), AKI causes an increase in mortality. Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) and endothelium-related biomarkers have been related to AKI in critically ill patients. Also, FGF-23 is associated with endothelium

dysfunction. **Objectives:** To evaluate the relationship between the FGF-23 biomarker in critically ill patients with severe acute renal injury and the mediation of this relationship by endothelial biomarkers.

Methods: Prospective cohort and observational study with critically ill patients admitted to the ICU. Blood samples were collected within 24 hours of admission. Severe AKI (defined according to the KDIGO 2/3 stage) was the analyzed outcome. Data were evaluated and tested for a normal distribution as mean and standard deviation (SD) or median and interquartile range (IQR; 25th-75th percentiles) when appropriate. For

simple correlations between variables the Spearman coefficient was used.

Several multivariate logistic regressions were performed to evaluate the association between FGF-23 and endothelium-related biomarkers with severe AKI. Mediation analyzes were performed based on logistic regression results to verify the hypothetical relationships of FGF-23 and endothelial-related biomarkers with severe AKI.

Results: We enrolled 265 patients and 30.9% developed severe AKI. After adjustment for several variables, FGF-23, vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-1), angiotensin 2 (AGPT2), syndecan-1 and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were associated with severe AKI. ICAM-1 did not have statistically significant mediation. When all three endothelial-related biomarkers were included in the same mediation model, 47% of the total effect of FGF-23 on severe AKI was explained and the direct effect was no longer significant, indicating complete mediation. Furthermore, in all models, all statistically significant pathways had syndecan-1 as the ultimate mediator.

Conclusion: The association between FGF-23 and severe AKI is mediated by endothelial-related biomarkers, mainly VCAM-1 and syndecan-1; models with serial biomarkers have shown that syndecan-1 appears to be an ultimate mediator between FGF-23 and severe AKI.

Keywords: Acute kidney injury. Biomarkers. Endothelium. Critical illness.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1	Classificação para diagnóstico de lesão renal aguda	22
QUADRO 2	Classificação LRA – KDIGO.....	44
QUADRO 3	Formulário de Classificação APACHE II	82
FIGURA 1	Modelo de LRA	24
FIGURA 2	Características do endotélio	25
FIGURA 3	Proposta da lesão de células endoteliais vasculares e disfunção da lesão durante LRA isquêmica.....	28
FIGURA 4	Esquema estrutural da molécula FGF-23.....	30
FIGURA 5	Interação entre FGF-23 e Klotho.....	31
FIGURA 6	Funções do FGF-23.....	33
FIGURA 7	Princípios e extensão <i>Enzyme-linked Immunosorbent</i> <i>Assays</i> (ELISA) sanduíche.....	42
FIGURA 8	Equação de APACHE II	45
FIGURA 9	Modelo de mediação.....	46
FIGURA 10	Fluxograma dos paciente e critério de exclusão.....	49

FIGURA 11	FGF-23 e biomarcadores endoteliais associam-se a risco aumentado de LRA.....	53
FIGURA 12	Análise de mediação da associação entre FGF-23 e LRA grave. Modelos de trajetórias e análises de mediação descrevem a mediação da relação entre o FGF-23 e a LRA grave por biomarcadores relacionados ao endotélio individualmente	54
FIGURA 13	Regra de três simples.....	55
FIGURA 14	Análises de mediação da associação entre FGF-23 e LRA grave em paralelo.....	56
FIGURA 15	Análise de mediação da associação entre FGF-23 e LRA grave. Modelos de trajetória e análises de mediação descrevem a mediação da relação entre o FGF-23 e a LRA grave por biomarcadores seriados relacionados ao endotélio.....	57
FIGURA 16	Potenciais mecanismos da LRA e o papel do FGF-23 e lesão endotelial.....	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Características basais estratificadas pelo status de LRA...	50
TABELA 2	FGF-23 e correlação de Spearman com biomarcadores endoteliais.....	51
TABELA 3	Associação de biomarcadores minerais com LRA grave....	52
TABELA 4	FGF-23 e biomarcadores endoteliais estratificados pelo status de lesão renal aguda.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LRA	Lesão renal aguda
DRC	Doença renal crônica
TFG	Taxa de filtração glomerular
Cr	Creatinina
ADQI	<i>Acute dialysis quality initiative</i>
RIFLE	<i>Risk, injury, failure, loss of kidney function, end stage disease</i>
AKIN	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
KDIGO	<i>Guideline kidney disease: improving global outcomes</i>
CrS	Creatinina sérica
TSR	Taxa de substituição renal
UTI	Unidade de terapia intensiva
PTT	Trombocitopenia púrpura
NO	Óxido nítrico
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
PGH2	Prostaglandina H2
Ang II	Angiotensina II

ROS	Espécie reativas de oxigênio
ET-1	Endoelina-1
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
VCAM1	Molécula de adesão vascular-1
AGPT2	Angiopietina 2
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
FGF-23	Fator de crescimento de fibroblastos 23
1,25(OH)2D	1,25-dihidroxicalciferol
KL	Klotho
PTH	Hormônio da paratireoide
FGFR	Receptor de fator de crescimento de fibroblasto
NGAL	<i>Neutrophilgelatinase-associatedlipocalin</i>
KIM-1	<i>Kidneyinjury molecule-1</i>
HGF	Hospital geral de Fortaleza
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
APACHE II	<i>Acutephysiologyandchronichealthdiseaseclassification system II</i>
ELISA	<i>Enzyme-linkedimmunosorbentassays</i>
MN	Minneapolis
EUA	Estados Unidos da América
MA	Massachusetts

iPTH	Hormônio da paratireoide intacto
25-vitD	25-hidroxivitamina D
1,25 vitD	1,25 hidroxivitamina D
TFGe	Taxa de filtração glomerular estimada
CKD-EPI	<i>Chronic kidney disease epidemiology collaboration</i>
SPSS	<i>Statistical package for the social sciences</i>
DP	Desvio padrão
IQR	Intervalo inter-quartil
Log	logaritmo
IC	Intervalo de confiança
OR	<i>Odds ratio</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Lesão renal aguda	20
1.1.1	<i>Definição e epidemiologia</i>	20
1.1.2	<i>Classificação da lesão renal aguda</i>	21
1.2	Lesão renal aguda em pacientes críticos	23
1.3	Endotélio e glicocálix	24
1.3.1	<i>Definição e composição</i>	24
1.3.2	<i>Biomarcadores endoteliais</i>	26
1.3.3	<i>Endotélio e LRA</i>	28
1.4	Fator de crescimento de fibroblastos 23	29
1.4.1	<i>Conceito do fator de crescimento de fibroblastos 23</i>	29
1.4.2	<i>FGF23 na doença renal crônica</i>	32
1.4.3	<i>Relação entre FGF23 e LRA</i>	33
1.4.4	<i>FGF23 e endotélio</i>	34
1.4.5	<i>Associação entre FGF 23 e LRA intermediado por endotélio</i>	35

2	OBJETIVOS	38
2.1	Geral	38
2.2	Específicos	38
3	METODOLOGIA	40
3.1	Tipo de estudo	40
3.2	Local do estudo	40
3.3	População do estudo	40
3.4	CrITÉRIOS de inclusão e exclusão	40
<i>3.4.1</i>	<i>CrITÉRIOS de inclusão</i>	<i>40</i>
<i>3.4.2</i>	<i>CrITÉRIOS de exclusão</i>	<i>40</i>
3.5	Coleta de dados e procedimentos do estudo	41
3.6	Análise laboratorial	41
3.7	Avaliao da funo renal	43
3.8	Estudo de subcoorte	44
3.9	ndice de comorbidade de Charlson	44
3.10	EscoreAPACHE II	45
3.11	Análise estatística	45
3.12	Aspectos ticos	47
4	RESULTADOS	49

4.1	Características do estudo	49
4.2	Associação entre o FGF-23 e biomarcadores endoteliais	51
4.3	Metabólito mineral do plasma	51
4.4	FGF-23 e biomarcadores endoteliais associados à LRA grave	52
4.5	Análise de mediação	53
5	DISCUSSÃO	62
6	CONCLUSÃO	68
	REFERÊNCIAS	70
	APÊNDICES	77
	ANEXOS	82

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Lesão renal aguda

1.1.1 Definição e epidemiologia

Apesar dos avanços na compreensão da patogênese da disfunção renal aguda, estima-se que cerca de 2 milhões de pessoas em todo o mundo morrem por ano de lesão renal aguda (LRA)(MURUGAN; KELLUM, 2011; ABD ELHAFEEZ et al., 2017), sendo uma condição que afeta um em cada cinco pacientes hospitalizados em todo o mundo(SUSANTITAPHONG et al., 2013).

A LRA atinge mais de 13 milhões de pessoas por ano globalmente (ABD ELHAFEEZ et al., 2017), ocorre em até 25% dos indivíduos gravemente doentes e está associada a internação prolongada, aumento dos custos da hospitalização e progressão para doença renal crônica (DRC)(BOUCHARD et al., 2015).

Além disso, em pacientes potencialmente graves, está associada a desfechos adversos e altas taxas de morbidade e mortalidade precoce e tardia dos pacientes (NEGI 2018; MITCHELL et al., 2017), e também a aumentos significativos na utilização de recursos de saúde e custos, mesmo com pequenas alterações agudas na função renal(COLLISTER et al., 2017).

As definições atuais para LRA baseiam-se amplamente nas alterações dos valores de creatinina sérica(WALD et al., 2012), retenção de ureia e resíduos metabólicos (azotemia), além da desregulação do volume extracelular e do balanço eletrolítico, manifestados por aumento da creatinina sérica ou redução do volume urinário (KHALIL; MURTY; PALEVSKY, 2008; SRISAWAT; HOSTE; KELLUM, 2010; PRAUGHT; SHLIPAK, 2005).

A perda rápida da função renal e a oligúria, podem estar relacionadas também a terapias médicas e cirúrgicas cada vez mais agressivas em

uma população em grande parte envelhecida, com múltiplas comorbidades (WONNACOTT et al., 2014).

Ainda assim a supressão da função renal é mais facilmente detectada pela medida da creatinina sérica, que é usada para estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) (STEVENS et al., 2006). Porém a creatinina (Cr) não é um marcador ideal para definir a lesão renal aguda, pois, em estágios iniciais pode não apresentar alterações (STEVENS et al., 2006; CHERTOW et al., 2005).

O espectro de LRA engloba desde comprometimento leve da função renal, o que presumivelmente ocorre sem dano real à total falência do órgão quanto altos graus de severidade que provocam danos permanente a este órgão (MURUGAN; KELLUM, 2011). A necessidade de estratégias para reduzir as crescentes consequências da LRA, devem ser direcionada na detecção e tratamento precoce (LI; BURDMANN; MEHTA, 2013), em que a falta de um consenso na própria definição de LRA dificultou, por muito tempo, a realização desta investigação clínica precisa (SRISAWAT; HOSTE; KELLUM, 2010; MEHTA et al., 2007).

1.1.2 Classificação da lesão renal aguda

Nos últimos anos, a associação entre LRA e mortalidade vem se tornando cada vez mais evidente. Entretanto, não havia um consenso para definição de LRA, o que dificultava a comparação de resultados entre diferentes estudos e até mesmo o desenvolvimento de pesquisas (MEHTA; CHERTOW, 2003).

Assim, o grupo *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI) propôs a classificação “*Risk, Injury, Failure, Loss and End-stage Kidney Disease*” (RIFLE) um sistema para diagnóstico baseado em mudanças agudas nas dosagens séricas de creatinina e/ou nas variações da diurese (KELLUM, 2005).

Esta metodologia apresenta três classes de gravidade onde “R” corresponde ao Risco; “I”, Injúria e “F”, Falência e duas classes de evolução “L”, perda e “E”, Doença renal em fase final (BELLOMO et al., 2004). Está associada à diminuição da sobrevida e o aumento do estágio do RIFLE eleva o risco de morte (RICCI; CRUZ; RONCO, 2008; THAKAR et al., 2009; NEGI et al., 2018).

Em 2007, foi proposto a classificação de “*Acute Kidney Injury Network*” (AKIN) que revisou a definição de RIFLE, sugerindo pequenas alterações, baseando-se na redução súbita da função renal (dentro de 48 horas) e determinando

um sistema de estadiamento, na tentativa de definir os graus de disfunção renal no momento do diagnóstico (BELLOMO et al., 2004; MEHTA et al., 2007).

Mais recentemente um grupo interdisciplinar publicou uma nova diretriz para a definição e classificação para LRA, *Kidney Disease Improving Global Outcomes*(KDIGO), que contemplou os critérios das classificações AKIN e RIFLE como alterações de creatinina dentro de 48 horas ou queda do ritmo de filtração glomerular em 7 dias (PALEVSKY et al., 2013). Além disso, acrescentou ao estágio 3 do AKIN indivíduos menores de 18 anos com taxa de filtração glomerular <35mL/min e também aqueles com creatinina sérica >4,0mg/dL em valor absoluto (LEVI et al., 2013). As principais diferenças entre os sistemas de classificação podem ser visualizadas no quadro 1.

Quadro 1 – Classificação para diagnóstico de lesão renal aguda

RIFLE ^a		AKIN ^b		KDIGO ^c	Diurese
Creatinina sérica ou TFG		Creatinina sérica		Creatinina sérica	
Risco	Aumento 1,5 vezes na CrS basal, ou redução TFG em 25%	Estágio 1	Aumento ≥ 0,3 mg/dl ou aumento > 150 -200% da CrS basal	Aumento ≥ 0,3 mg/dl ou aumento de 1,5 - 1,9 da CrS basal	Redução em 0,5 mL/Kg/h por > 6 h
Injúria	Aumento 2,0 vezes na CrS basal, ou redução TFG em 50%	Estágio 2	Aumento > 200-300 % da CrS basal	Aumento de 2,0 – 2,9 da CrS basal	Redução em 0,5 mL/kg/h por >12 h
Falência	Aumento 3,0 vezes na CrS basal, ou redução TFG em 75%	Estágio 3	Aumento > 300 % da CrS basal ou CrS ≥ 4 mg/dl ou TSR ou aumento agudo > 0,5 mg/dl	Aumento de 3,0 na CrS basal ou CrS ≥ 4 mg/dl ou TSR ou aumento agudo > 0,5 mg/dl	Redução em 0,3 mL/kg/h por > 24 h ou anúria por >12 h
Perda	Insuficiência renal aguda persistente = perda completa da função renal > 4 semanas				
Doença renal em fase final	Doença renal em estágio final > 3 meses				

Fonte:(^aRIFLE (KELLUM et al., 2005), ^b AKIN(MEHTA et al., 2007), ^cKDIGO (KDIGO, 2012).

Nota: CrS, creatinina sérica; ml/Kg/h, ml por quilograma de peso por hora; TSR, terapia de substituição renal; TFG, taxa de filtração glomerular.

A LRA está associada a resultados adversos tanto a curto como a longo prazo, sendo a DRC cada vez mais reconhecida como uma seqüela comum desta

patologia. As inadequações no seu manejo são destacadas em múltiplos estudos (KHWAJA, 2012).

Diante do exposto, considera-se somente o valor de creatinina não conduza um tratamento adequado, assim devendo se considerar a taxa de filtração glomerular neste espectro para uma melhor classificação de LRA.

1.2 Lesão renal aguda em pacientes críticos

A LRA é uma complicação comum em pacientes hospitalizados; além disso, sua ocorrência é crescente nas últimas décadas. A associação entre o desenvolvimento da LRA e mortalidade em pacientes hospitalizados é elevado e tem sido conhecida há anos sendo relatados em vários estudos (COCA *et al.*, 2009; HATA *et al.*, 2010).

De acordo com relatórios mais recentes, sua incidência é estimada em 0,25% na população em geral, 18% em pacientes hospitalizados e de 30% a 60% em pacientes criticamente doentes, sendo semelhante ao infarto agudo do miocárdio (KELLUM; BELLOMO; RONCO, 2012).

PICCINNI *et al.* (2011) mostraram que a LRA é acompanhada de altas taxas de mortalidade em unidade de terapia intensiva (UTI), em que dois terços dos casos são diagnosticados dentro de vinte e quatro horas e uma porcentagem significativa desta população foram tratados com terapia de substituição renal (TSR).

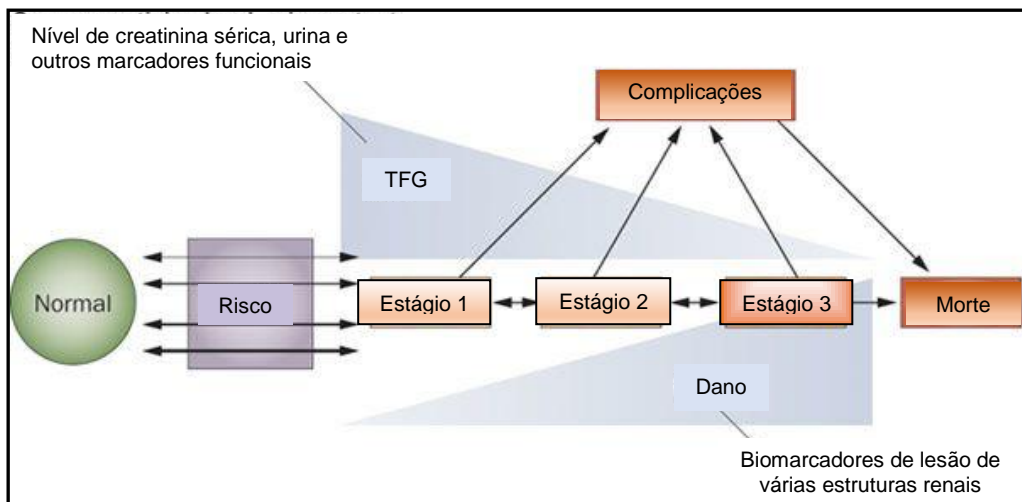
Nas unidades de terapia intensiva, a LRA segundo os critérios AKIN, causa um aumento na mortalidade variando de 36% a 67% (DENNEN; DOUGLAS; ANDERSON, 2010). Estima-se que 5% a 6% dos pacientes internados em UTI necessitem de terapia de substituição renal (HOSTE; KELLUM, 2006).

Taxas mais elevadas de LRA foram observadas em ambientes de cuidados intensivos e após cirurgia cardíaca, identificando essas populações de alto risco com necessidade urgente de intervenções prévias para prognósticos favoráveis (SUSANTITAPHONG *et al.*, 2013).

Apesar dos avanços significativos no manejo e na compreensão da LRA, a mortalidade do paciente permanece inaceitavelmente alta, particularmente quando a lesão aguda é severa o suficiente para progredir para terapia de

substituição renal (NEGI et al., 2018), conforme descrito no modelo de LRA na figura 1.

FIGURA1 - Modelo de LRA



Fonte:(MURUGAN; KELLUM, 2011), adaptado.

Uma vez que a LRA não está associada a nenhum sintoma específico e o diagnóstico é amplamente baseado nas medições dos parâmetros laboratoriais, é essencial que a equipe multiprofissional esteja capacitada para o reconhecimento inicial, intervenção em tempo adequado e acompanhamento efetivo para os riscos do desenvolvimento de lesão renal aguda (LEWINGTON; CERDÁ; MEHTA, 2013).

1.3 Endotélio e glicocálix

1.3.1 Definição e composição

O conceito de endotélio como um órgão extenso mesócrino tornou-se amplamente reconhecido por dados recentes nas consequências da lesão e

disfunção endotelial em várias doenças como sepse, púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), diabetes e hipertensão (SUTTON; FISHER; MOLITORIS, 2002).

O endotélio é considerado um órgão endócrino que reveste o lúmen dos vasos sanguíneos fazendo a interface física e funcional entre o sangue e a parede vascular (DAVEL et al., 2011). Secreta vários mediadores bioativos, em que o equilíbrio entre a multiplicidade de vasodilatadores e vasoconstritores é fundamental para o funcionamento fisiológico ideal do endotélio (NAFISA et al., 2018).

As células endoteliais funcionam como uma barreira contígua em todos os órgãos entre o tecido subjacente e o sangue, prevenindo a trombose por meio de diferentes mecanismos anticoagulantes e antiplaquetários, inflamação local e proliferação celular vascular, limitando a formação de coágulos nas áreas onde a homeostase é necessária para restaurar a integridade vascular (RAJENDRAN et al., 2013).

As junções inter-endoteliais conectam as células endoteliais em uma monocamada adjunta para restringir o transporte de macromoléculas através da barreira endotelial de maneira seletiva. Estas junções mantêm a homeostase dos fluidos teciduais e são compostos por complexo proteico de junções aderentes, junções íntegras e junções comunicantes (KOMAROVA et al., 2017).

O glicocálix endotelial é um gel complexo entre o fluxo de sangue e a parede celular endotelial, interagindo com o plasma, proteínas e lipídios (ALPHONSUS; RODSETH, 2014), como ilustrado na figura 2. Consiste em uma camada da superfície onde os principais constituintes são moléculas carregadas negativamente ligadas à membrana endotelial, incluindo glicoproteínas, proteoglicanos predominantemente o syndecan-1, e glicosaminoglicanos como o ácido hialurônico e o sulfato de heparano (VOYVODIC et al., 2014).

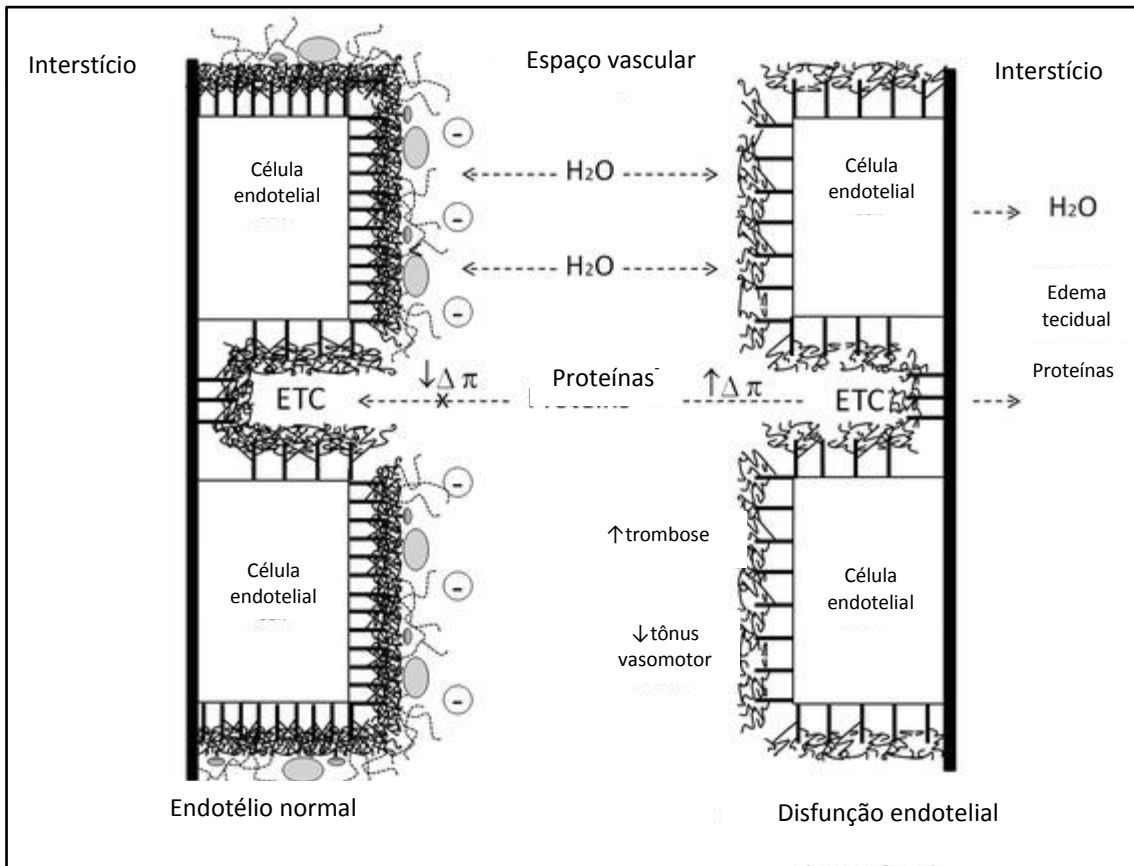


FIGURA 2 – Características do endotélio

Fonte: (CHELAZZI et al., 2015) adaptado. Nota: ETC: fenda endotelial; H₂O: fórmula água.

O papel do endotélio é efetivado pela presença de receptores ligados à membrana para numerosas moléculas, incluindo proteínas, partículas transportadoras de lipídios, metabólitos e hormônios, bem como por meio de proteínas e receptores específicos da junção que controlam as interações celulares (TODA, 2012).

O glicocálix é responsável pela homeostase vascular, regulação do processo de permeabilidade ao longo da parede dos vasos e proteção da adesão de leucócitos e plaquetas inibindo a coagulação (BRETTNER; VON DOSSOW; CHAPPELL, 2017). Além disso, o glicocálix endotelial parece ser um importante mediador para tensão de cisalhamento e regulador da microcirculação regulando a liberação de óxido nítrico (NO) através das sintaxes deste componente endotelial (YEN et al., 2015).

Na lesão renal que geralmente ocorre no contexto de falência múltipla de órgãos, sepse e alterações hemodinâmicas, há o rompimento do citoesqueleto do

glicocálix e alteração das junções inter-endoteliais que resultam no aumento da permeabilidade microvascular (BONVENTRE; YANG, 2011).

Portanto as células endoteliais surgem como uma ferramenta para detecção precoce de doenças agudas, podendo fornecer resultados clínicos mais precisos e proporcionando um tratamento mais adequado e com melhoria do prognóstico.

1.3.2 Biomarcadores endoteliais

A utilização de biomarcadores séricos para avaliação da função endotelial para prognóstico e/ou diagnóstico de doenças vasculares apresenta grandes vantagens devido a especificidade do processo. Contudo ainda está em um estágio inicial de desenvolvimento, apresentando um grande potencial (LE BROCCQ et al., 2008).

Para PAGE; LILES, (2013), um biomarcador endotelial válido deve ser específico para a ativação e disfunção endotelial, que REITSMA et al., (2007) classifica como disfunção, a aumento da permeabilidade vascular e a diminuição no espessamento da camada de glicocálix endotelial e, conseqüentemente um aumento dos biomarcadores no plasma, indicativo de fisiopatologia subjacente da doença, reproduzível em pacientes e populações, útil em uma única medida, e que se correlacione com a atividade da doença ao longo do tempo (PAGE; LILES, 2013).

Uma das substâncias vasodilatadoras mais importantes liberadas pelo endotélio é óxido nítrico(NO), que dependendo da sua concentração pode inibir a inflamação e tem efeitos antiagreganteplaquetário. Reduções nos seus níveis são reportados na presença de função endotelial comprometida (ENDEMANN; SCHIFFRIN, 2004). Também estão incluídos o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e a prostaciclina. Os principais vasoconstritores são a prostaglandina H₂ (PGH₂), tromboxano A₂, a angiotensina II (Ang II), as espécies reativas de oxigênio (ROS) e a endotelina-1 (ET-1) (LANGE et al., 2016).

A E-selectina, que é expressa em células endoteliais ativadas, atua sobre a regulação de molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) favorecendo o deslocamento de leucócitos ao longo da camada endotelial como um prelúdio para a adesão leucocitária sendo portanto moduladores inflamatórios (PAGE; LILES, 2013).

A disfunção endotelial pode ser caracterizada por um aumento na expressão e liberação de moléculas de adesão, em que a expressão de VCAM-1 pode resultar da ativação endotelial, uma vez que aumenta o recrutamento local de monócitos durante a iniciação da formação de lesões ateroscleróticas (STORCH et al., 2017). No entanto o marcador ICAM-1 é normalmente expresso em níveis basais baixos nesta mesma condição (NAGAO, 2007).

A angiopoietina-2 plasmática (AGPT2) é uma citocina pró-inflamatória que pode regular a permeabilidade endotelial demonstrando ser um promissor biomarcador endotelial em doenças críticas, de forma que os níveis de AGPT2 se correlacionam com a gravidade da doença e os desfechos de mortalidade em pacientes com sepse (XU et al., 2018). Além disso é um marcador com elevado potencial na indução da adesão de monócitos em humanos mediando ICAM-1 e VCAM-1 (SCHOLZ; PLATE; REISS, 2015).

Outro marcador conhecido pelo fato de aumentar a permeabilidade vascular o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), que é amplamente conhecido por seu papel na angiogênese, estimulando a proliferação e migração de células endoteliais, além de aumentar a permeabilidade vascular. Esse fator é secretado por vários tipos celulares diferentes, incluindo as células endoteliais (SCHOLZ; PLATE; REISS, 2015).

Syndecan-1 é um proteoglicano do glicocálix sendo um elemento crítico na sinalização mediada por estresse de cisalhamento e regulação em células endoteliais (VOYVODIC et al., 2014) e o seu aumento dos níveis na circulação sanguínea está correlacionado com a espessura reduzida do glicocálix (LARSEN et al., 2013).

Portanto, a lesão inicial do endotélio resulta em aumento da expressão desses marcadores que promovem a adesão de células inflamatórias e a liberação de fatores pró-trombóticos e anti-trombóticos assim como ocorre na resposta à lesão renal aguda (FOGO; KON, 2010). Estudos de validação de biomarcadores endoteliais com maior especificidade e sensibilidade podem ser úteis para ampliar o espectro de detecção precoce de LRA e conseqüentemente prognóstico favorável a longo prazo.

1.3.3 Endotélio e LRA

O comprometimento das funções vitais das células endoteliais durante e após a isquemia renal pode contribuir para o comprometimento da perfusão renal, hipóxia renal continuada e subsequente lesão das células epiteliais e diminuição na taxa de filtração glomerular, que são os sinais da LRA (SUTTON; FISHER; MOLITORIS, 2002), conforme descrição da figura 3 abaixo.

FIGURA 3 - Proposta da lesão de células endoteliais vasculares e disfunção da lesão durante a LRA isquêmica.



Fonte: (SUTTON; FISHER; MOLITORIS, 2002), adaptado.

A ativação e disfunção endotelial subsequente, contribui para a gravidade da doença e sua progressão em que a necessidade de um diagnóstico rápido e intervenção precoce pode potencializar a melhoria dos resultados clínicos em indivíduos em situações de criticidade. Biomarcadores de células de ativação e disfunção endotelial podem, portanto, ser clinicamente úteis para identificar aqueles indivíduos que irão evoluir para uma maior gravidade (PAGE; LILES, 2013).

O endotélio vascular desempenha um papel importante e essencial na regulação da migração sistêmica de leucócitos e é um processo complexo que envolve várias moléculas da superfície da membrana celular endotelial (DE PABLO et al., 2013).

A lesão endotelial pode comprometer a função renal de várias maneiras, influenciando a reatividade vascular, alterando a função da barreira capilar, modulando a função inflamatória e as vias de coagulação; estes podem prolongar o estado de hipoperfusão renal e exacerbar a LRA(BASILE, 2007).

Em pacientes com insuficiência cardíaca descompensada (ICC), o syndecan-1, biomarcador do glicocálix endotelial, foi um preditor precoce da piora da função renal aguda, principalmente nas formas mais severas, e mortalidade hospitalar nesta população(NEVES et al., 2015). Ainda houve uma importante associação entre a lesão endotelial, e a presença da gravidade da lesão renal aguda em pacientes com leptospirose (LIBÓRIO et al., 2015).

Portanto, a disfunção endotelial que está presente no paciente crítico seja na modulação inflamatória ou infecciosa quanto na doença renal, pode desempenhar uma relação bidirecional destas duas condições.

1.4 Fator de crescimento de fibroblastos 23

1.4.1 Conceito do Fator de Crescimento de Fibroblastos 23

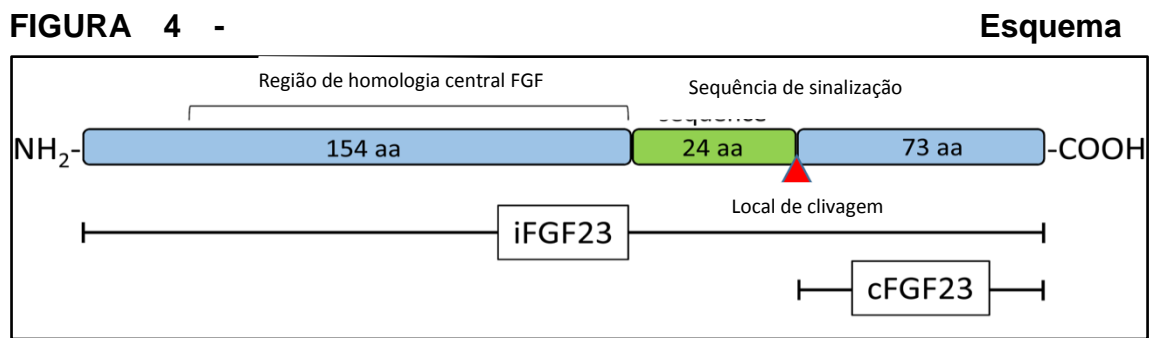
Membros da família de fatores de crescimento de fibroblastos têm diversas atividades biológicas, incluindo papéis na angiogênese, mitogênese, diferenciação celular, desenvolvimento, migração celular e reparo de lesão tecidual. São divididos de acordo com seus mecanismos de ação nos subgrupos intracelular, parácrino e hormonal (KOVESDY; QUARLES, 2016).

O fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) é um hormônio, que atua principalmente como fator fosfatúricoreduzindo a reabsorção de fosfato da urina(SHIMADA et al., 2001) e suprimindo a atividade da 1 α hidroxilase, enzima responsável pela síntese de calcitriol (LIU; QUARLES, 2007). Tal descoberta possibilitou um novo entendimento sobre os mecanismos de controle do fósforo, um elemento associado à mortalidade, especialmente na doença renal crônica(YANG et al., 2016).

O FGF-23 é produzido e secretado principalmente pelos osteócitos e osteoblastos (LIU; QUARLES, 2007).As principais ações fisiológicas do FGF-23 são mediadas através do complexo FGFR- α -klotho nos túbulos renais e incluem a inibição da reabsorção do fosfato tubular proximal via supressão do transportador de

fosfato de sódio e reduções nos níveis circulantes de 1,25-dihidroxicálciferol (1,25(OH)₂D) (QUARLES, 2012).

A descoberta do seu co-receptor Klotho (KL) permitiu o esclarecimento sobre suas funções críticas no metabolismo mineral acelerando o entendimento sobre a regulação do metabolismo de fosfato e vitamina D por essa via (KAWAI, 2016). A ação do FGF-23, em conjunto com seu co-receptor Klotho no rim é diminuir a reabsorção de fosfato e inibir a conversão de 25-hidroxivitamina D a 1,25 hidroxivitamina D pela 1 α -hidroxilase. Também inibe a liberação do hormônio da paratireóide (PTH) pelas glândulas paratireóides, regulando assim o PTH e a vitamina D (WANG et al., 2017). A estrutura molecular do FGF-23 pode ser visualizada na figura 4 com detalhes.

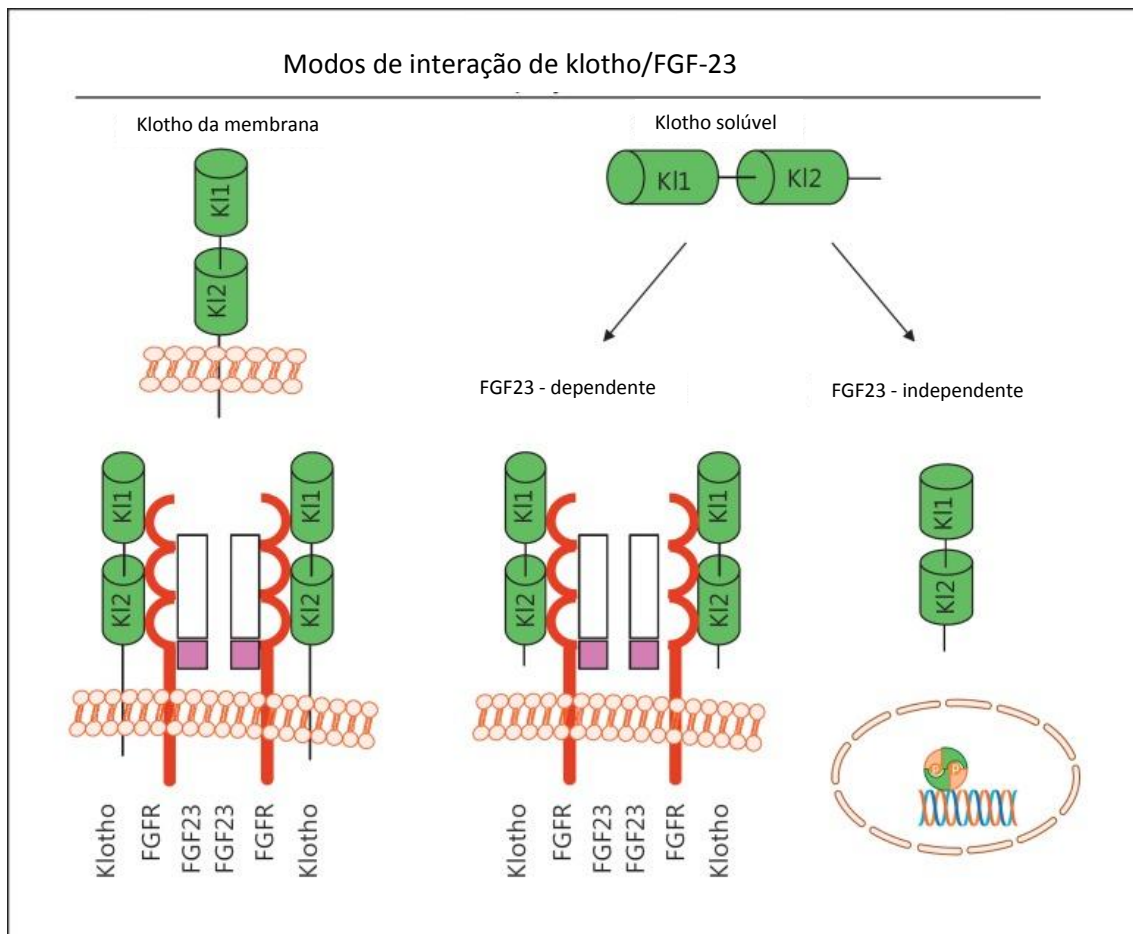


estrutural da molécula FGF-23

Fonte: (ROSSAINT; UNRUH; ZARBOCK, 2017), adaptado.

Nota: A molécula intacta de FGF-23 com 251 aminoácidos de comprimento, composta por um N-terminal com 154 aminoácidos, uma sequência sinalizadora de 24 aminoácidos e um domínio C-terminal com 73 aminoácidos. O FGF-23 pode ser clivado entre os aminoácidos 176 e 178 por proteases.

O Klotho é produzido pelo rim e pode ser um protetor renal através do bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona e outros mecanismos. As proteínas Klotho ancoradas na membrana e solúveis têm diferentes propriedades funcionais demonstrado na figura 5. O Klotho solúvel funciona como um fator endócrino com vários efeitos nos rins e em outros tecidos, enquanto as formas de Klotho nuclear e citoplasmática possuem propriedades benéficas significativas, incluindo funções de antienvhecimento e antiapoptóticas (KALAITZIDIS; DUNI; SIAMOPOULOS, 2016).



**FI
GU
RA
5 –
Int
era
çã
o
ent
re
FG
F-
23
e
klo
tho**
Fon
te:

(LU; HU, 2017)adaptado.

Pesquisas recentes sobre o FGF-23 e Klotho revelaram novas funções importantes da sinalização destes no rim, no coração, nos ossos, nos vasos sanguíneos e na glândula paratireoide, não somente envolvido na homeostase do fósforo, mas também no metabolismo do cálcio e do sódio, na mineralização óssea, bem como no desenvolvimento de hipertrofia cardíaca. Esses novos achados podem ter importantes implicações fisiopatológicas na doença renal crônica, nas doenças cardiovasculares e nos distúrbios da mineralização óssea (ERBEN, 2016).

1.4.2 FGF-23 na doença renal crônica

Os níveis de FGF-23 aumentam precocemente no curso da doença renal crônica e estão associados a desfechos significativamente piores na DRC pré-

dialítica e na doença renal terminal onde os níveis se correlacionam com o grau de hiperfosfatemia e estão associados a aumento da mortalidade (QUARLES, 2012).

Apesar do importante efeito fisiológico do FGF-23 na manutenção da homeostase do fósforo, há evidências crescentes de que níveis mais elevados de FGF-23 são um fator de risco para mortalidade e doença cardiovascular nesta população (HAFFNER; LEIFHEIT-NESTLER, 2017).

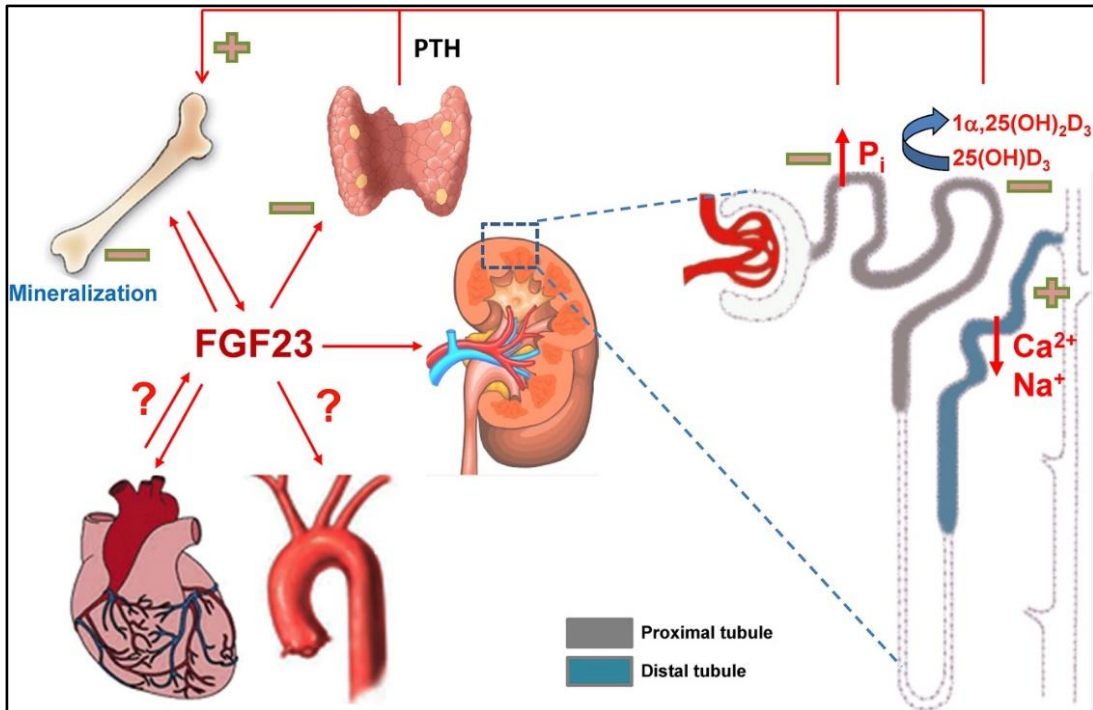
A medida que a elevação de FGF-23 ocorre de forma precoce, nos pacientes com doença renal terminal essa concentração pode atingir cem vezes acima a concentração e os níveis séricos de fósforo são apenas levemente aumentadas ou normais. Portanto, o aumento nas concentrações de FGF-23 parece ser um mecanismo compensatório para manter os níveis séricos de fósforo dentro da normalidade (KENDRICK et al., 2011).

Sendo assim, o FGF-23 pode atuar como um elemento de ajuste fino endógeno que regula e equilibra o metabolismo ósseo e mineral no sentido de um ciclo de retroalimentação na relação fósforo e vitamina D (FUKUMOTO, 2018). É certo que a DRC está associada a desordem do metabolismo mineral ósseo e que estes distúrbios também aumentam com a gravidade da doença (XUE et al., 2017). Possíveis vias moleculares responsáveis pelos aumentos nos níveis de FGF-23 durante a DRC podem incluir diminuição da depuração renal, no entanto, os mecanismos exatos responsáveis pelo aumento abrupto de FGF-23 durante a DRC permanecem desconhecidos (ROSSAINT; UNRUH; ZARBOCK, 2017).

Corroborando com o texto acima, YANG et al., 2016, realizaram uma metanálise mostrando o FGF-23 como preditor de mau prognóstico nesses indivíduos em que os possíveis mecanismos podem incluir que o FGF-23 suprime o metabolismo da vitamina D, estimula o sistema renina-angiotensina-aldosterona e aumenta a produção de marcadores inflamatórios. Além disso, contribui diretamente para a alta prevalência de hipertrofia ventricular esquerda na DRC. A figura 6 ilustra brevemente algumas funções do FGF-23.

Mineralização

FIGURA 6 -Funções do FGF-23



Fonte:(ERBEN, 2016) adaptado.

1.4.3 Relação entre FGF-23 e LRA

Embora o FGF-23 tenha sido extensivamente estudado na DRC, os mecanismos que desencadeiam e perpetuam sua ascensão são pouco compreendidos, menos ainda sobre o FGF-23 no contexto da LRA (HANUDEL et al., 2016).

Estudos realizados na relação entre a elevação dos níveis de FGF-23 e LRA são evidenciados num contexto mais recente. O primeiro estudo publicado sobre FGF-23 e LRA foi um relato de caso de Leaf e colaboradores (LEAF; WOLF; STERN, 2010), assim como (ZHANG et al., 2011) descrevem que pacientes críticos com LRA apresentam níveis elevados de FGF-23 em comparação aos controles gravemente doentes e forte associação a risco aumentado de mortalidade.

Também um estudo com modelo animal para LRA, demonstrou que os níveis circulantes de FGF-23 aumentaram em 1 hora após a indução de LRA, e o fizeram independentemente do fosfato, calcitriol e hormônio da paratireoide (CHRISTOV et al., 2013).

Os níveis de FGF-23 estão aumentados em pacientes críticos com LRA e

com função renal normal, além disso fornecem evidências que sugere uma associação do FGF-23 elevado com maior risco de mortalidade intra-hospitalar e/ou necessidade de terapia de substituição renal (LEAF et al., 2012).

Diante disto, alguns estudos sugerem que o FGF-23 tem ótimas características para ser considerado como biomarcador para identificação precoce de LRA (SHAKER et al., 2018). Em adição, foi demonstrado que o FGF-23 elevado está associado à doença cardiovascular que tem como pior desfecho um aumento na mortalidade, principalmente quando a fração de excreção de fósforo é baixa, sugerindo que o FGF-23 pode refletir também uma disfunção e resistência no túbulo renal identificado pela diminuição da expressão de Klotho e conseqüentemente diminuição do fosfato sérico (DOMINGUEZ et al., 2013), o que poderia identificar indivíduos vulneráveis a LRA.

1.4.4 FGF-23 e endotélio

A disfunção das células endoteliais tem sido implicada na fisiopatologia de diferentes formas da doença cardiovascular incluindo hipertensão, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca crônica, doença arterial periférica, diabetes e na insuficiência renal crônica (ENDEMANN; SCHIFFRIN, 2004). Essa disfunção surge como um marcador de riscos relevantes para eventos cardiovasculares na população em geral, principalmente em indivíduos mais idosos (YEBOAH et al., 2009).

A compreensão da relação de Klotho e FGF-23 apoiam definitivamente a noção de que uma disfunção na relação deste eixo promove a progressão da DRC e conseqüentemente o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (LU; HU, 2017). Assim como CHUNG et al., (2017) demonstraram a expressão ativa relevante da proteína α -Klotho modulando a resposta das células endoteliais ao FGF-23 em cultura de células humanas endoteliais da artéria aórtica.

Os pacientes com níveis elevados de FGF-23 tiveram maiores escores de calcificação aórtica e coronariana do que aqueles com níveis mais baixos de FGF-23 que pode exercer efeitos tóxicos diretos na parede vascular e predizer desfechos cardiovasculares (DESJARDINS et al., 2012).

Assim, o FGF-23 foi previamente associado com mortalidade, risco de terapia de substituição renal e eventos cardiovasculares em que níveis séricos elevados de fósforo estão associados a calcificação vascular e eventos cardiovasculares em indivíduos com doença renal grave (PARKER et al., 2010). Logo, o FGF-23 como hormônio regulador de fosfato e vitamina D, também foi implicado no risco cardiovascular de pacientes tanto com a função renal normal quanto na função renal comprometida (GUTIÉRREZ et al., 2008).

Para ARNLOV et al., (2013), referem que FGF-23 está associado a eventos cardiovasculares incidentes na comunidade, independentemente da taxa de filtração glomerular estimada, da disfunção do metabolismo mineral e das medidas que retratam múltiplas dimensões da patologia cardiovascular.

Portanto fica expresso a relação intrínseca do biomarcador FGF-23 e a disfunção do endotélio vascular podendo refletir aspectos novos e importantes do risco cardiovascular e desfecho de lesão renal aguda quando avaliados em um mesmo contexto clínico, direcionando para uma maior especificidade da prática clínica.

1.4.5 Associação entre FGF-23 e LRA grave intermediado por endotélio

A LRA evolui rapidamente para o dano celular em que a pesquisa de novos biomarcadores aumentou substancialmente sua predição precoce, implicações diagnósticas e prognósticas. Entretanto estes biomarcadores e a sua medição devem ser considerados em situações que agreguem valores aos marcadores disponíveis atualmente (WASUNG; CHAWLA; MADERO, 2015).

WU et al., (2013), demonstraram que o biomarcador FGF-23 apresentou um melhor desempenho na discriminação preditiva de LRA em relação a *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), o *Kidney injury molecule-1* (KIM-1) e a creatinina, predizendo o desfecho dos pacientes críticos, permitindo um melhor estratificação de risco, o poder de prognóstico e o julgamento clínico no momento para iniciar a terapia de substituição renal.

Portanto, diante do exposto, a consolidação de medidas terapêuticas para LRA eficazes na redução da mortalidade em pacientes críticos depende de diagnóstico precoce, quantificação da lesão e compreensão da sua fisiopatologia (SHAKER et al., 2018). Considerando a importância da resposta

inflamatória na fisiopatologia da LRA, sua regulação inadequada implica para o paciente crítico um aumento na mortalidade e um prognóstico mais reservado.

Considerando a detecção inicial de LRA para prognóstico mais efetivo em pacientes críticos, a correlação do FGF-23 como um biomarcador precoce para LRA e preditor de desfechos adversos, surge então a importância da investigação e/ou associação de novos biomarcadores relacionados à LRA.

Sendo assim o estudo de biomarcadores do endotélio associados ao FGF-23 podem fornecer informações adicionais a respeito do desenvolvimento inicial e da evolução da lesão renal aguda nos pacientes críticos.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a relação entre o biomarcador FGF-23 e LRA grave mediada por biomarcadores endoteliais em pacientes críticos.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a relação entre FGF-23 e LRA grave;
- Avaliar a relação de produtos do metabolismo ósseo (fósforo sérico, cálcio sérico, hormônio da paratireoide intacto, 25-vitamina D e 1,25-vitamina D) com FGF-23 e LRA grave;
- Avaliar o papel dos biomarcadores endoteliais, syndecan-1, angiopoietina 2, VCAM-1, ICAM-1 e VEGF na LRA grave e sua relação com o FGF-23;
- Avaliar diferentes vias de mediação entre o FGF-23 com LRA grave mediado pelos biomarcadores endoteliais como syndecan-1, angiopoietina 2, VCAM-1, ICAM-1 e VEGF correlacionando-os.

METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Estudo de coorte, prospectivo e observacional de pacientes admitidos para tratamento na unidade de terapia intensiva adulto.

3.2 Local do estudo

O estudo foi realizado nas UTIs classificadas em três tipos, Amarela, Verde e Azul do Hospital Geral de Fortaleza (HGF), num total de 38 leitos ativos, situado na cidade de Fortaleza-Ceará, durante o período de maio 2015 a junho 2017. A escolha pela UTI do referido hospital para o desenvolvimento do estudo decorreu do fato de ser um serviço caracterizado por grande abrangência em termos de atenção à saúde da população e por tratar-se de um Centro de Referência em Alta Complexidade atendendo casos de pacientes críticos provenientes de diversos estados da região Nordeste do Brasil.

3.3 População do estudo

A população foi composta pelos pacientes críticos admitidos nas UTIs de ambos os sexos e foram acompanhados durante o processo de internação hospitalar num período de sete dias até desfecho final como alta da UTI e óbito.

3.4 Critérios de inclusão e exclusão

3.4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes internados nas UTIs com idade igual ou maior que 18 anos e sem diagnóstico de doença renal crônica dialítica prévia.

3.4.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram:

- Pacientes em UTI com permanência inferior a 24 horas de internação;
- Pacientes com creatinina sérica maior que 4.0mg/dL na admissão na UTI;

- Pacientes ou responsáveis que não preencherem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – (APÊNDICE B);
- Gestantes.

3.5 Coleta de dados e procedimentos do estudo

Os pacientes foram selecionados a partir do primeiro dia de internação na referida instituição, observando os registros do prontuário e os critérios de exclusão. Dados clínicos e laboratoriais foram coletados do prontuário do paciente por meio de um instrumento de coleta de dados padronizado (APÊNDICE A).

Foram registrados dados demográficos, comorbidades prévias, medicamentos utilizados na internação e necessidade de terapia de substituição renal. Para o parâmetro de gravidade nas primeiras 24 horas de permanência na UTI foi utilizado o cálculo da Fisiologia Aguda e Avaliação da Saúde Crônica – APACHE II que também prediz a mortalidade para estes pacientes (ZIMMERMAN; KRAMER, 2014).

Durante os primeiros 7 dias de internação na UTI, a CrS foi medida diariamente e o paciente foi avaliado quanto à necessidade de ventilação mecânica ou uso de drogas vasoativas. A função renal basal foi definida como a menor Cr dentro de 365 dias antes da hospitalização. Se não houvesse valores de Cr disponíveis antes da hospitalização, foi considerada a menor Cr durante a internação, excluindo os valores obtidos após o início da TSR.

As amostras de sangue venoso foram coletadas nas primeiras 24 horas apenas para fim dessa pesquisa. Após a coleta elas foram centrifugadas para obtenção do soro, aliquotadas e mantidas à -80°C para análises bioquímicas e quantificação dos biomarcadores.

3.6 Análise laboratorial

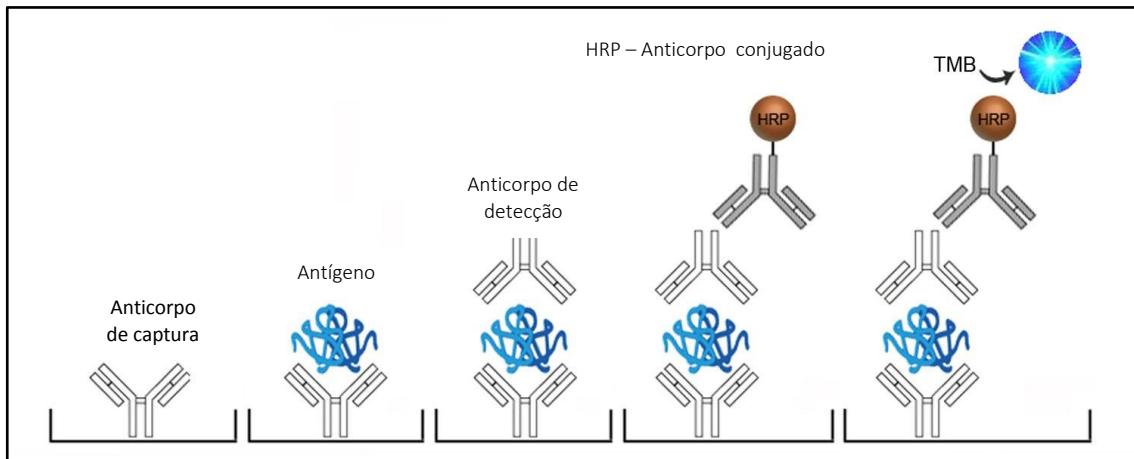
Os biomarcadores endoteliais foram quantificados pela técnica ELISA sanduíche (figura 7). O ELISA é um teste imunoenzimático que permite a detecção do biomarcador através de anticorpo específico fornecido em kits comerciais,

apresentando alta especificidade e sensibilidade e proporcionando um resultado mais eficaz.

A placa de microtitulação fornecida, com 96 poços, é pré-revestida com anticorpo monoclonal específico para o biomarcador. Após a preparação dos reagentes necessários e adicionado 100µL de amostras e do padrão (em várias concentrações para a curva de calibração). Em seguida é adicionado aos poços 50µL de anticorpo de detecção conjugado a biotina. A placa é selada com papel filme e incubada em temperatura ambiente por uma hora. Após esse período, a placa é lavada com tampão apropriado (300µL) e secada cuidadosamente com papel toalha.

Em seguida é adicionado um complexo reacional, tornando-se a incubar por 30 minutos. Passado o tempo necessário, a placa é novamente lavada, três vezes, e então é adicionado o reagente colorimétrico (TMB). A placa é incubada por 15 minutos. Finalmente, é adicionada aos poços a solução de parada e segue-se com a leitura em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 450nm.

FIGURA 7 - Princípios e extensão *Enzyme-linked Immunosorbent Assays*(ELISA) sanduíche



Fonte: <http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-Principle>

Biomarcadores dosados:

- **FGF-23**: foi medido utilizando um kit ELISA R&D Systems® (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA).
- **Syndecan-1**: foi medido como um biomarcador da lesão do glicocálix endotelial. Foi utilizado kit comercial da Abcam® (Abcam, Cambridge, MA, EUA).
- **Molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1)**: um marcador de ativação de células endoteliais, foi medida usando um kit de ensaio imunoenzimático (Abcam, Cambridge, MA, EUA).
- **Proteína de adesão vascular 1 (VCAM-1)**: foi medida usando um kit de ensaio de imunoabsorção enzimática comercialmente disponível Abcam® (Abcam, Cambridge, MA, EUA).
- **Angiopoeína-2 (AGPT2)**: foi medida usando um ensaio imunossorvente ligado a enzima R&D Systems® (R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA).
- **Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)**: uma proteína angiogênica conhecida por causar ativação endotelial e aumentar a permeabilidade microvascular, foi medido por um ensaio imunoenzimático R&D Systems® (R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA).

Os níveis séricos de creatinina, cálcio ionizado e fosfato foram medidos para fins clínicos pelo laboratório do hospital.

3.7 Estudo de subcoorte

Também foram realizadas análises adicionais de subcoorte em caso-controle aleatório de 41 participantes com LRA grave e 41 participantes sem LRA. Os casos foram pareados 1:1 para controles baseados em idade, sexo e função renal basal. Neste subcoorte de caso-controle, foram dosados os níveis plasmáticos de hormônio de paratireoide intacto (iPTH), 25-hidroxivitamina D (25-vitD) e 1,25-hidroxivitamina D (1,25-vitD). O iPTH foi medido utilizando um imunoensaio quimioluminescente (BeckmanCoulter, Fullerton, CA). Já 25-vitD e 1,25-vitD foram dosados por imunofluorescência e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem.

3.8 Avaliação da função renal

Lesão renal aguda foi definida de acordo com a creatinina basal, utilizando as recomendações do *GuidelineKidneyDisease: Improving Global Outcomes (KDIGO)* (KDIGO, 2012). O principal desfecho analisado foi a LRA grave (estágio 2 e 3), conforme quadro a seguir:

QUADRO 02 - Classificação LRA – KDIGO

KDIGO	Creatinina sérica	Fluxo urinário
Estágio 1	aumento de 1,5 a 1,9 vezes a CrS basal ou aumento de $\geq 0,3$ mg/dl	Redução em 0,5 mL/Kg/h por > 6 h
Estágio 2	Aumento de 2 a 2,9 vezes a creatinina de basal	Redução em 0,5 mL/Kg/h por > 12 h
Estágio 3	Aumento de 3,0 na CrS basal ou CrS ≥ 4 mg/dl ou TSR ou aumento agudo $> 0,5$ mg/dl	Redução em 0,3 mL/kg/h por > 24 h ou anúria por > 12 h

Fonte: KDIGO, 2012, elaborado pelo autor.

A taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) foi calculado de acordo com a equação *ChronicKidneyDiseaseEpidemiologyCollaboration*(CKD-EPI); (LEVEY et al., 2009). A creatinina sérica basal assumida foi dentro de um ano antes da admissão hospitalar. Quando esta não estiver disponível, utilizou-se o menor valor creatinina sérica durante a internação, excluindo os valores obtidos após o início da terapia de substituição renal.

3.9 Índice de comorbidade de Charlson

O índice de comorbidade de Charlson é baseado em um número de condições que recebem um peso inteiro de um a seis, com um peso de seis representando a morbidade mais grave. A soma dos escores ponderados de comorbidade resulta em um escore resumido (AUSTIN et al., 2015). Tabela disponível e adaptada do escore de Charlson no apêndice A.

3.10 Escore *AcutePhysiologyandChronic Health Evaluation* (APACHE II)

A pontuação APACHE II é uma forma de avaliar a gravidade de uma

doença através de um índice. É baseada no grau de desvio da função normal dos principais sistemas de órgãos, tem como objetivo a descrição do grau da disfunção orgânica dos pacientes graves, e tal gravidade é traduzida em número (FREITAS, 2010). Knaus em 1985 validou o sistema de variáveis coletadas nas primeiras 24 horas após a admissão do paciente na UTI eo pior resultado de cada variável deve ser considerado (WATERS; NIGHTINGALE; EDWARDS, 1990).

O cálculo da pontuação APACHE II é a soma das variáveis da tabela e para realizar o cálculo da probabilidade de óbito do paciente é necessária a utilização de uma equação (Figura 8) (KNAUS, 1985).

FIGURA 8 – EQUAÇÃO DO APACHE II

$$\ln\left(\frac{R}{1-R}\right) = -3.517 + (Pontuação\ APACHE\ II \times 0.146) \\ + (0.603\ caso\ o\ paciente\ venha\ de\ uma\ cirurgia\ de\ emergência) \\ + (Peso\ da\ categoria\ de\ diagnóstico)$$

Fonte: Adaptado de Knaus(1985).

O Quadro 3 no Anexo B foi uma adaptação feita do formulário de coleta proposto no artigo original, que contém as informações a serem coletadas do paciente, assim como a pontuação de cada uma.

3.11 Análise estatística

A análise foi realizada através do programa SPSS 20.0 para Windows. Os dados foram avaliados e testados para uma distribuição normal como na média e desvio padrão (DP) ou mediana e intervalo interquartil (IQR; percentis 25-75) quando apropriados. As características basais foram comparadas usando um teste t para média de duas amostras ou teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas; e variáveis dicotômicas, com teste χ^2 ou teste exato de Fisher. Correlações simples entre variáveis contínuas foram analisadas usando o coeficiente de correlação de postos de Spearman. As distribuições não normais foram transformadas em log natural para análise adicional.

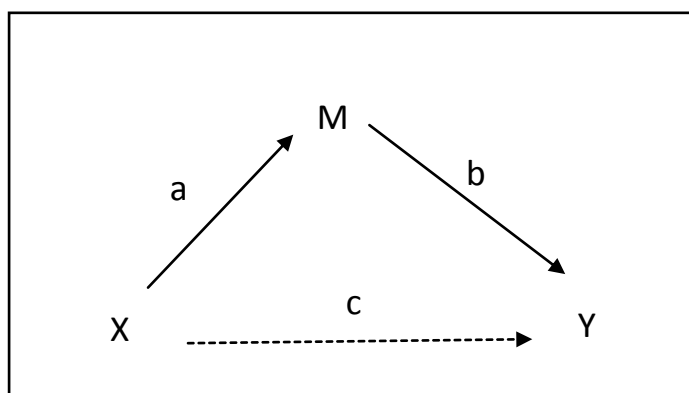
Foram realizadas várias regressões logísticas multivariadas para avaliar a associação entre o FGF-23 e os biomarcadores relacionados ao endotélio com a LRA grave. Todos os modelos foram ajustados para idade, sexo, índice de comorbidade de Charlson, admissão cirúrgica, uso de drogas vasoativas, necessidade de ventilação mecânica e escore de APACHE II na admissão à UTI.

Análises de mediação foram realizadas quando apropriado com base nos resultados da regressão logística para examinar as relações hipotéticas do FGF-23 e dos biomarcadores relacionados ao endotélio com LRA grave.

A mediação é uma maneira pela qual um pesquisador pode explicar o processo ou mecanismo pelo qual uma variável afeta outra. As análises de mediação estão no centro de uma gama de problemas em pesquisas e estudos na psicologia para direcionar o tratamento focado nas intervenções eficazes e eficientes(ZHENG et al., 2015).

Para a seleção de uma variável como potencial mediador alguns critérios precisam ser satisfeitos conforme descrito anteriormente por (BARON; KENNY, 1986)logo, um mediador (M) na relação entre a exposição (X) no desfecho (Y) (caminho c): significativa XM (caminho a) e associações MY (controle para X) (caminho b) e um efeito total significativo de X em Y (caminho c) – figura 9. Não deve haver efeito de X em Y após o controle de M para estabelecer uma mediação completa (JASKULSKI et al., 2018).

FIGURA 9 – Modelo de mediação



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Nota: X = exposição; M = mediador; Y = desfecho.

Para que a análise de mediação possa estimar resultados no intervalo de confiança, covariáveis foram excluídas, sendo consideradas como potencial confundidores dentro do modelo de mediação proposto.

Usamos como fatores confundidores as covariáveis que poderiam alterar estimativas tanto no caminho direto quanto no caminho indireto dos modelos propostos, como idade, sexo, índice de comorbidade de Charlson, admissão cirúrgica, uso de drogas vasoativas, necessidade de ventilação mecânica e escore APACHE II na admissão na UTI.

Especificamente, a análise de mediação foi realizada quando a exposição foi significativamente correlacionada com o mediador e o desfecho (após ajuste para fatores confundidores) e quando o mediador se correlacionou significativamente com o desfecho.

A análise de mediação estatisticamente significativa foi estabelecida quando o efeito indireto é consideravelmente diferente de zero, com mediação completa definida pela atenuação adicional da associação entre variáveis independentes e dependentes em não significância após inclusão da variável ou variáveis mediadoras. Todas as comparações são bicaudais, com $p < 0,05$ considerado significativo.

3.12 Aspectos éticos

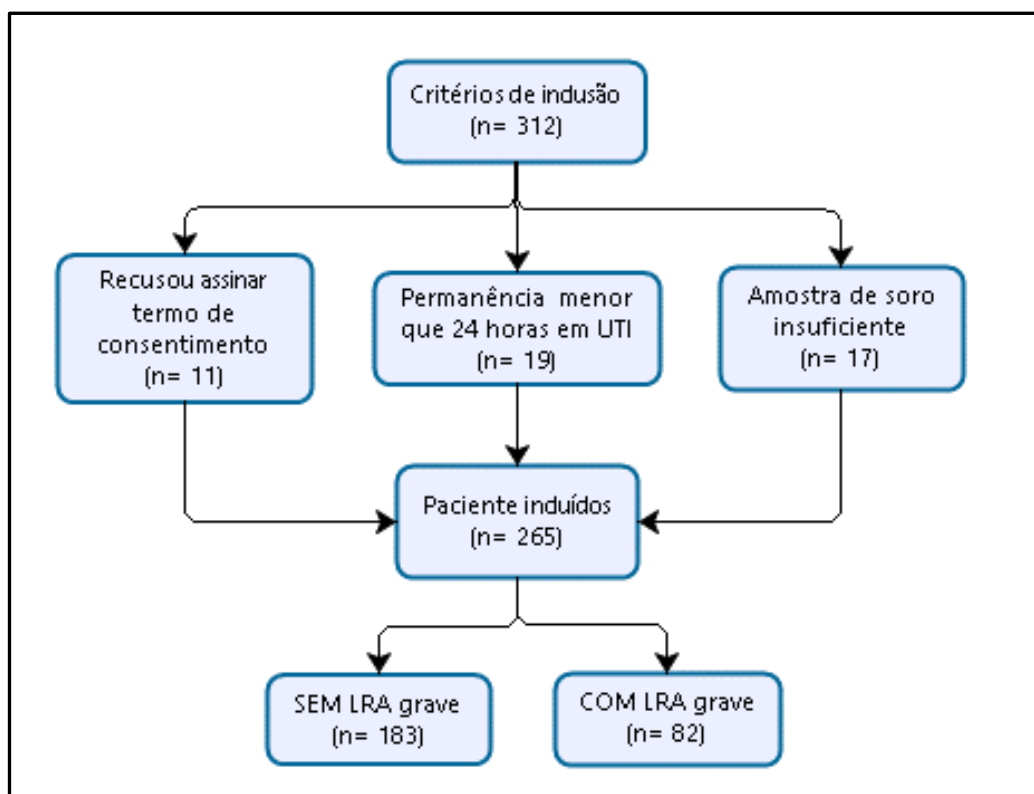
O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Geral de Fortaleza. Foram observados todos os dispostos acerca da ética em pesquisa com seres humanos, conforme preconizado pela Resolução nº. 466/12 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, com parecer favorável sob o número 43445015.7.0000.5040 (Anexo A).

4 RESULTADOS

4.1 Características dos pacientes do estudo

Dos 312 pacientes admitidos na UTI durante o período do estudo, 47 foram excluídos pelas seguintes razões: recusaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (n= 11), amostra insuficiente de plasma para quantificar biomarcadores (n= 17) e uma permanência em UTI menor que 24h (n = 19) - figura 10.

FIGURA 10– Fluxograma dos pacientes e critérios de exclusão



Fonte: Elaborado pelo autor.

Foram então estudados 265 pacientes, sendo 50,6% foram do sexo masculino, com idade média de $51,4 \pm 17,8$ anos. Cento e nove pacientes (41,1%) tinham hipertensão arterial prévia e 50 (18,9%) tinham diabetes mellitus. A mediana (IQR) da pontuação de APACHE II foi de 17 (13-22), destes, 160 (60,4%) necessitaram de ventilação mecânica, e 88 (33,2%) tiveram como tipo de internação

prevalente cirúrgica. Quanto ao desenvolvimento e classificação de LRA, 82 (30,9%) pacientes tiveram LRA grave. Características basais adicionais de acordo com a classificação de LRA grave são mostradas na tabela 1.

TABELA 1 - Características basais estratificadas pela gravidade de LRA.

	Sem LRA grave (n=183)	Com LRA grave (n=82)	p
Dados Demográficos			
Idade	51,2±17,2	51,7±19,1	0,82
Masculino, n (%)	94 (51,4)	40 (48,8)	0,70
Mediana do índice de comorbidade de Charlson (IQR)	1 (1-2)	1 (1-3)	0,52
Função Renal Basal			
Mediana CrS base (IQR)	0,6 (0,4-0,7)	0,9 (0,5-1,7)	<0,001
Mediana TFGe (IQR)	109 (92-124)	85 (49-115)	<0,001
Gravidade da doença			
Sepse, n (%)	48 (26,2)	34 (41,5)	0,015
Paciente cirúrgico	77 (42,1)	11 (13,4)	<0,001
Ventilação mecânica, n(%)	68 (37,2)	52 (63,4)	<0,001
Drogas vasoativas n (%)	49 (26,8)	50 (61,0)	<0,001
Mediana do escore APACHE II (IQR)	15 (11-20)	21 (17-27)	<0,001
Mediana FGF-23 no plasma (IQR)	135,3 (10,4-544,3)	927,1 (197,6-1.232,6)	<0,001

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

LRA: lesão renal aguda; TFGe: taxa de filtração glomerular estimada; CrS: creatinina sérica. Idade em anos; CrS: mg / dL; TFGe: mL / min / 1,73m²; FGF-23: RU / mL; IQR: intervalo interquartil.

4.2 Correlação entre FGF-23 e biomarcadores endoteliais

Associações univariadas de biomarcadores relacionados ao endotélio, em que cada um foi avaliado individualmente, com o FGF-23 são apresentados na tabela 2. Como esperado, houve uma grande inter-relação entre os biomarcadores endoteliais. O FGF-23 correlacionou-se diretamente com todos os biomarcadores endoteliais, exceto com o VEGF. A correlação mais significativa foi de FGF-23 com o biomarcador syndecan-1 ($r_s = 0,412$ com $p < 0,001$).

TABELA 2 – FGF-23 e correlação de Spearman com biomarcadores endoteliais.

n (265)	FGF-23	VCAM-1	AGPT2	Syndecan-1	ICAM-1
VCAM-1	0,365**	-	-	-	-
AGPT2	0,334**	0,510**	-	-	-
Syndecan-1	0,412**	0,444**	0,357**	-	-
ICAM-1	0,297**	0,561**	0,530**	0,329**	-
VEGF	-0,011	0,134*	0,210*	0,079	0,249**

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

FGF-23: fator de crescimento de fibroblastos23; VCAM-1: molécula de adesão vascular-1; AGPT2: angiotensinogênio-2; ICAM-1: molécula de adesão intercelular-1; VEGF: fator de crescimento do endotélio vascular. * $p < 0,05$ ** $p < 0,001$.

4.3 Produtos do metabolismo ósseo séricos

No grupo de subcoorte de caso-controle aleatório pareados 1:1, sendo 41 pacientes sem LRA e 41 pacientes com LRA grave, o FGF-23 correlacionou-se diretamente com o fosfato sérico ($r_s = 0,197$, $p = 0,002$) e inversamente com 1,25-vitD ($r_s = -0,27$, $p = 0,01$). Não observamos correlação significativa entre FGF-23 e 25-vitD ($r_s = 0,10$, $p = 0,33$).

Após ajustes no subcoorte de caso-controle aleatório, não houve associação entre fosfato sérico, cálcio, iPTH e metabólitos da vitamina D com LRA grave –(tabela 3).

TABELA 3 - Associação de produtos do metabolismo ósseo séricos com LRA grave.

	OR (IC 95%)	OR ajustado (IC 95%)
Fósforo sérico	1,17 (0,64-2,18)	1,04 (0,46-2,36)
Cálcio sérico	1,06 (0,72-1,85)	0,92 (0,64-1,73)
iPTH*	1,12 (0,63-1,88)	0,97 (0,46-2,1)
25-vitamina D *	1,02 (0,53-1,62)	1,07 (0,6-2,03)
1,25-vitamina D *	0,82 (0,32-1,48)	0,91 (0,7-2,22)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

*Subcoorte de caso-controle (n = 82).

Nota: ajustado por idade (por ano), sexo, principais comorbidades, taxa de filtração glomerular estimada inicial, hemoglobina sérica, necessidade de drogas vasoativas, ventilação mecânica, sepse e exposição a nefrotoxina. iPTH: hormônio de paratireoide intacto.

4.4 Níveis FGF 23 e biomarcadores endoteliais associados à LRA grave

Os valores médios dos biomarcadores endoteliais, de acordo com o estado de LRA grave, são mostrados na tabela 4.

TABELA 4–FGF-23 e biomarcadores endoteliais estratificados pelo status de

	Sem LRA grave (n=183)	Com LRA grave (n=82)	p
FGF-23 (ng/mL)	135,3 (10,4 – 544,3)	927,1 (197,6 – 1.232,6)	<0,001
VCAM-1(ng/mL)	379 (247-586)	667 (357-855)	<0,001
AGPT2(pg/mL)	7,250 (3,180-17,050)	14,845 (6,920-28,755)	<0,001
Syndecan-1 (ng/mL)	62,2 (43,3-11,1)	142,7 (55,9-355,8)	<0,001
ICAM-1 (ng/mL)	644 (462-794)	687 (501-998)	0,020
VEGF (pg/mL)	114,1 (69,9-201,1)	136 (74-246)	0,157

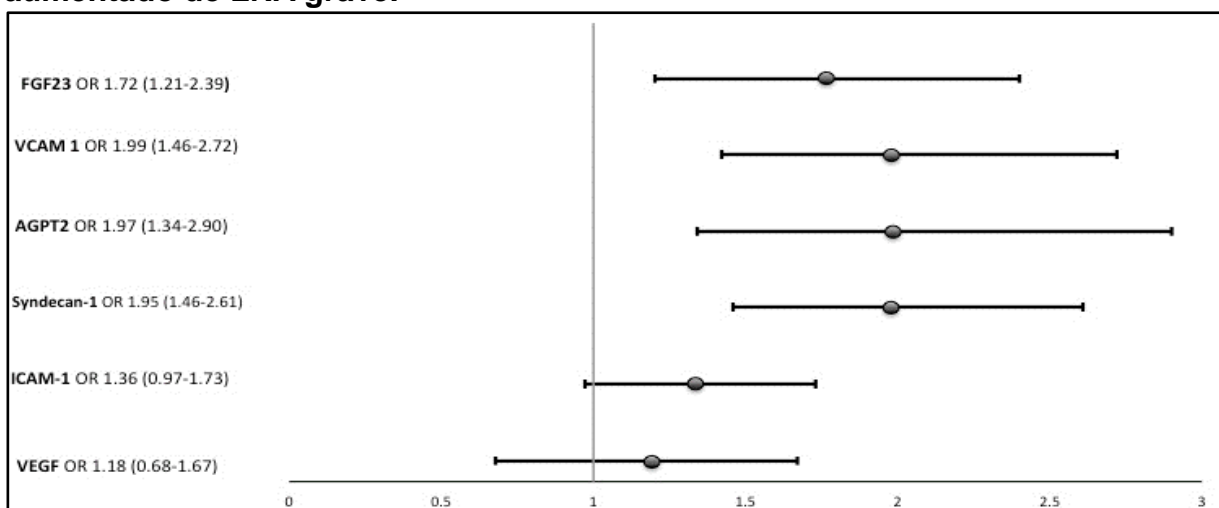
LRA.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

VCAM-1: molécula de adesão vascular-1; AGPT2: angiopoietina-2; ICAM-1: molécula de adesão intercelular-1; VEGF: fator de crescimento do endotélio vascular.

Todos os biomarcadores medidos, exceto o VEGF, foram significativamente maiores em pacientes com LRA grave. A figura 11 mostra as associações ajustadas de biomarcadores individuais com LRA grave. FGF-23, syndecan-1, VCAM-1 e Angiopoetina-2 estiveram fortemente associados com LRA grave ($p < 0,001$). O ICAM-1 teve apenas uma tendência estatisticamente significativa na associação com LRA grave.

FIGURA 11—FGF-23 e biomarcadores endoteliais associam-se a risco aumentado de LRA grave.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

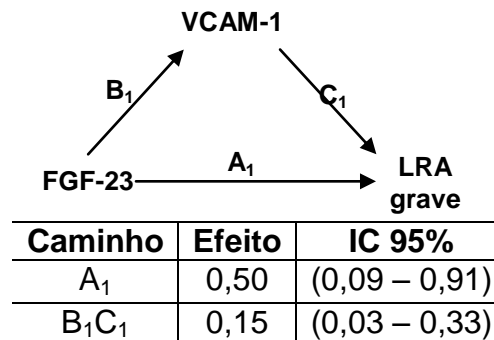
Nota: após ajuste por idade, sexo, índice de comorbidade de Charlson, admissão cirúrgica, uso de drogas vasoativas, necessidade de ventilação mecânica e escore APACHE II na admissão na UTI. ORs são mostrados por 1 unidade DP de valores transformados em log para cada biomarcador.

4.5 Análise de mediação

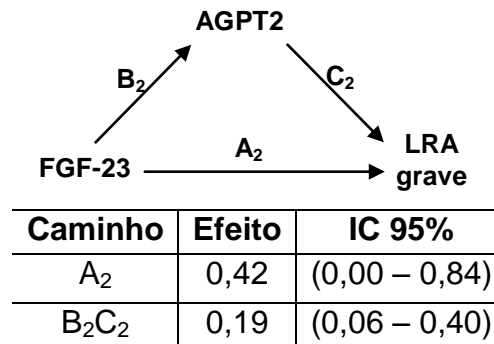
Os resultados das análises de mediação estão resumidos nas figuras 12 e 13. A relação entre FGF-23 e LRA permaneceu significativa após a inclusão individual de cada biomarcador relacionado ao endotélio; a exclusão de qualquer biomarcador relacionado ao endotélio individualmente é responsável pela mediação total de tal associação. No entanto, testamos se a relação entre FGF-23 e LRA grave foi parcialmente mediada por VCAM-1, AGPT2, syndecan-1 e ICAM-1 individualmente (modelos AaD, respectivamente).

FIGURA 12- Análise de mediação da associação entre FGF-23 e LRA grave. Modelos de trajetórias e análises de mediação descrevem a mediação da relação entre o FGF-23 e a LRA grave por biomarcadores relacionados ao endotélio individualmente.

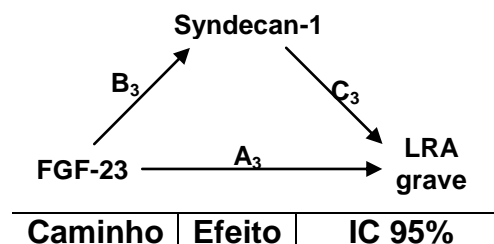
MODELO - A



MODELO - B

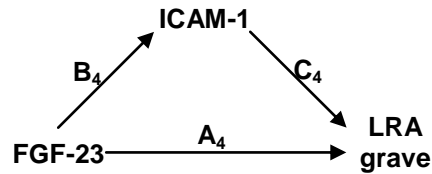


MODELO - C



A ₃	0,44	(0,02 – 0,86)
B ₃ C ₃	0,21	(0,05 – 0,43)

MODELO - D



Caminho	Efeito	IC 95%
A ₄	0,51	(0,10 – 0,82)
B ₄ C ₄	0,09	(-0,04 – 0,29)

Nota: Os efeitos dos caminhos são relatados como escala *Odds-ratio* de valores de biomarcadores transformados em log natural. Os modelos foram ajustados por idade, sexo, índice de comorbidade de Charlson, internação cirúrgica, uso de drogas vasoativas, necessidade de ventilação mecânica e escore APACHE II na admissão na UTI. Os efeitos diretos residuais são rotulados como caminho A em cada modelo e os efeitos indiretos são rotulados como letras B e C.

Como os metabólitos do VEGF e da vitamina D não tiveram associação independente com LRA grave, esses biomarcadores não foram testados no modelo de mediação. O ICAM-1 (modelo D) não teve mediação significativa na associação entre o FGF-23 e a LRA grave, por isso não foi utilizado depois em outros modelos testados. Em relação aos outros biomarcadores, os efeitos indiretos individuais de VCAM-1 (modelo A), AGPT2 (modelo B) e syndecan-1 (modelo C) foram significativos, mas não eliminaram a significância do efeito direto residual de FGF-23 na LRA grave.

O efeito indireto em cada modelo foi explicado em 23% pelo VCAM-1, 31% pelo AGPT2 e 32% pelo syndecan-1 do efeito total observado. O cálculo para cada porcentagem é feito por uma regra de três simples direta onde a soma do efeito em A e BC representam 100% (efeito total) e BC será a porcentagem que queremos obter dentro do modelo (efeito indireto). Descrito melhor abaixo na figura 13.

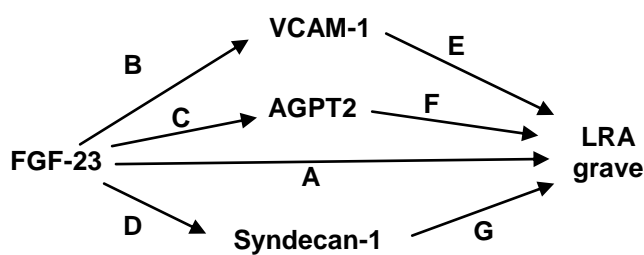
FIGURA 13 – Regra de três simples

A + BC ----- 100%
BC ----- X
$X = \frac{BC \times 100\%}{A + BC}$

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Foram testados também várias mediações em série usando VCAM-1, AGPT2 e syndecan-1 no mesmo modelo de mediação. Primeiro, foi realizado teste com todos os três biomarcadores mediando-se em paralelos - figura 14.

FIGURA 14 - Análises de mediação da associação entre FGF-23 e LRA grave em paralelo.



Caminho	Efeito	IC 95%
A	0,341	-0,097 a 0,778
BE	0,020	-0,149 a 0,201
CF	0,152	-0,023 a 0,358
DG	0,157	-0,041 a 0,430
Total indireto	0,329	0,096 a 0,600

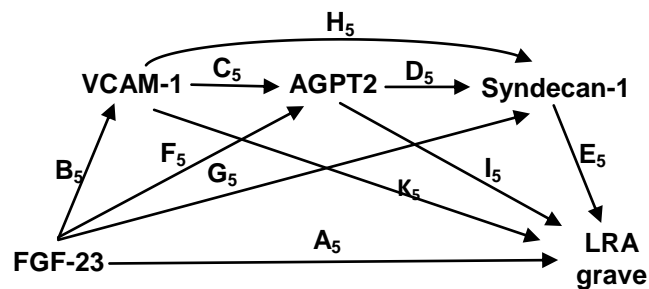
Nota: Modelos de trajetória e análises de mediação descrevem a mediação da relação entre FGF-23 e LRA grave por biomarcadores paralelos relacionados ao endotélio.

Os efeitos do caminho são relatados como escala *odds-ratio* de valores de biomarcadores transformados em log natural. Os modelos são ajustados por idade, sexo, índice de comorbidade de Charlson, internação cirúrgica, uso de drogas vasoativas, necessidade de ventilação mecânica e escore APACHE II na admissão na UTI. Os efeitos diretos residuais (FGF-23 e LRA grave) são rotulados como caminho A em cada modelo e os efeitos indiretos são rotulados com agrupamentos

relevantes de letras B – G conforme necessário – figura 14. O modelo acima explicou 49% do efeito indireto.

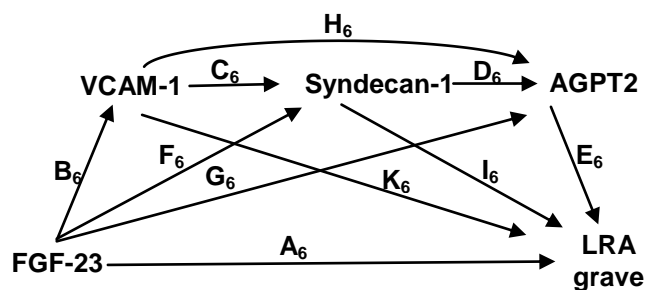
FIGURA 15 - Análise de mediação da associação entre FGF-23 e LRA grave. Modelos de trajetória e análises de mediação descrevem a mediação da relação entre o FGF-23 e a LRA grave por biomarcadores seriados relacionados ao endotélio.

MODELO - E



Caminho	Efeito	IC 95%
A ₅	0,261	-0,127 a 0,558
B ₅ K ₅	0,038	-0,061 a 0,175
B ₅ C ₅ I ₅	0,032	-0,005 a 0,099
B₅C₅D₅E₅	0,008	0,013 a 0,027
F ₅ I ₅	0,014	-0,017 a 0,108
B₅H₅E₅	0,049	0,009 a 0,118
F ₅ D ₅ E ₅	0,003	-0,004 a 0,029
G₅E₅	0,086	0,015 a 0,206
Total indireto	0,231	0,087 a 0,424

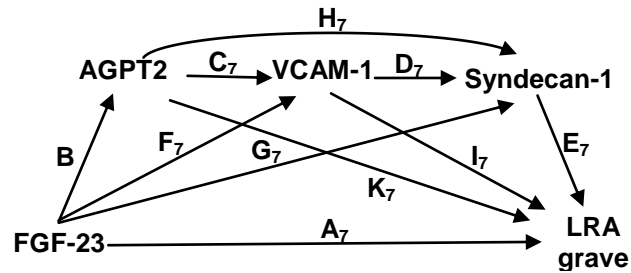
MODELO - F



Caminho	Efeito	IC 95%
A ₆	0,261	-0,127 a 0,558
B ₆ K ₆	0,038	-0,066 a 0,166
B₆C₆I₆	0,057	0,011 a 0,135

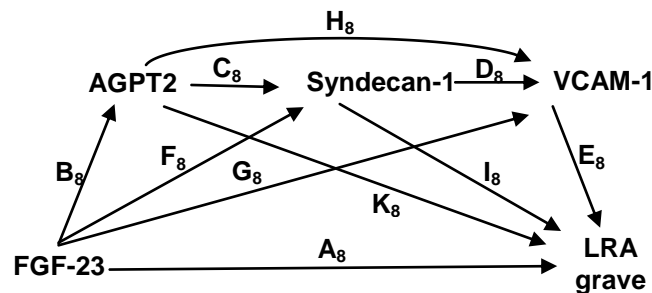
$B_6C_6D_6E_6$	0,072	-0,001 a 0,028
F_6I_6	0,090	0,014 a 0,202
$B_6H_6E_6$	0,024	-0,003 a 0,090
$F_6D_6E_6$	0,011	-0,001 a 0,044
G_6E_6	0,002	-0,040 a 0,068
Total indireto	0,231	0,087 a 0,424

MODELO - G



Caminho	Efeito	IC 95%
A ₇	0,261	-0,127 a 0,558
B ₇ K ₇	0,045	-0,010 a 0,157
B ₇ C ₇ I ₇	0,001	-0,014 a 0,057
B₇C₇D₇E₇	0,012	0,001 a 0,379
F ₇ I ₇	0,286	-0,048 a 0,139
B₇H₇E₇	0,012	0,001 a 0,485
F₇D₇E₇	0,036	0,007 a 0,010
G₇E₇	0,086	0,016 a 0,202
Total indireto	0,231	0,089 a 0,418

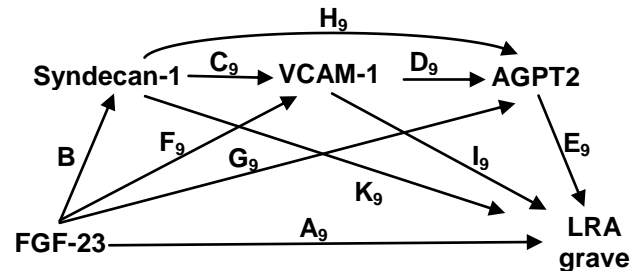
MODELO - H



Caminho	Efeito	IC 95%
A ₈	0,261	-0,127 a 0,558
B ₈ K ₈	0,045	-0,006 a 0,171
B₈C₈I₈	0,025	0,003 a 0,078
B ₈ C ₈ D ₈ E ₈	0,004	-0,004 a 0,020
F₈I₈	0,123	0,025 a 0,274

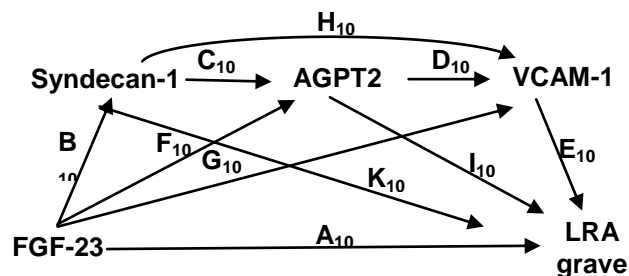
$B_8H_8E_8$	0,007	-0,010 a 0,040
$F_8D_8E_8$	0,016	-0,028 a 0,071
G_8E_8	0,012	-0,016 a 0,084
Total indireto	0,231	0,093 a 0,421

MODELO - I



Caminho	Efeito	IC 95%
A_9	0,261	-0,127 a 0,558
B_9K_9	0,147	0,030 a 0,310
$B_9C_9I_9$	0,024	-0,039 a 0,106
$B_9C_9D_9E_9$	0,015	-0,002 a 0,052
F_9I_9	0,014	-0,017 a 0,095
$B_9H_9E_9$	0,019	-0,002 a 0,069
$F_9D_9E_9$	0,009	-0,002 a 0,043
G_9E_9	0,003	-0,041 a 0,072
Total indireto	0,231	0,090 a 0,424

MODELO - J



Caminho	Efeito	IC 95%
A_{10}	0,261	-0,127 a 0,558
$B_{10}K_{10}$	0,147	0,027 a 0,314
$B_{10}C_{10}I_{10}$	0,034	-0,007 a 0,100

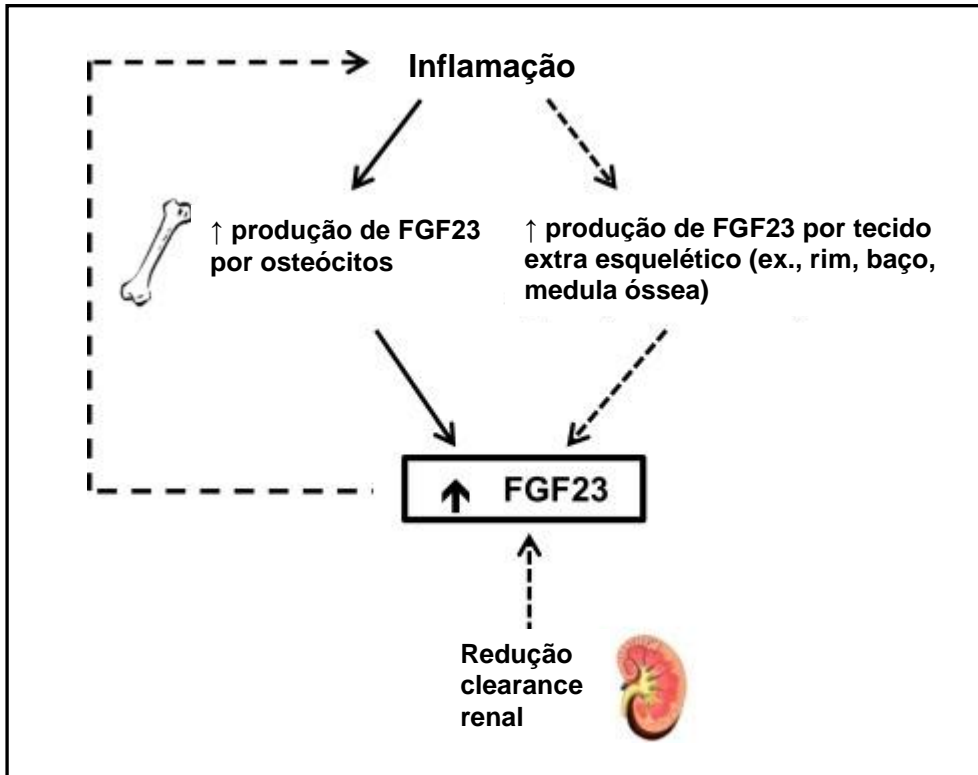
B ₁₀ C ₁₀ D ₁₀ E ₁₀	0,005	-0,008 a 0,024
F ₁₀ I ₁₀	0,012	-0,023 a 0,102
B ₁₀ H ₁₀ E ₁₀	0,020	-0,034 a 0,088
F ₁₀ D ₁₀ E ₁₀	0,016	-0,004 a 0,029
G ₁₀ E ₁₀	0,012	-0,015 a 0,090
Total indireto	0,231	0,090 a 0,420

Nota: Os efeitos do caminho são relatados como escala *Odds-ratio* de valores de biomarcadores transformados em log natural. Os modelos são ajustados por idade, sexo, índice de comorbidade de Charlson, internação cirúrgica, uso de drogas vasoativas, necessidade de ventilação mecânica e escore APACHE II na admissão na UTI. Os efeitos diretos residuais são rotulados como caminho A em cada modelo, e os efeitos indiretos são rotulados com agrupamentos relevantes de letras B – K conforme necessário.

Embora o efeito indireto total tenha sido significativo, nenhum biomarcador individualmente teve uma mediação significativa como demonstrado na figura 12 comparado ao FGF-23. Também foi realizado testes em várias vias de biomarcadores em eventos sequenciais hipotéticos (figura 15). Cada modelo explicou 47% do efeito total do FGF-23 na LRA grave um adicional de 15% em comparação com o melhor modelo de mediador único que foi o syndecan-1 com 32%.

Isto pode justificar o efeito direto do FGF-23 na LRA grave, corroborando assim com os nossos achados, estudos pré-clínicos descritos anteriormente em seres humanos e modelos animais, mostraram que os níveis circulantes de FGF-23 aumentam na LRA. Ainda, múltiplas fontes podem contribuir para o aumento dos níveis circulantes de FGF-23 na lesão renal aguda grave incluindo a inflamação (CHRISTOV, MARTA et al., 2018) como demonstrado na figura 16.

Figura 16 - Potenciais mecanismos da LRA e o papel do FGF-23 e lesão endotelial.



Fonte: (CHRISTOV, MARTA et al., 2018) adaptado.

Nota: regula positivamente a produção de FGF-23 nos osteócitos e nos tecidos extra esqueléticos, bem como reduz a depuração renal. O FGF-23, por sua vez, também pode aumentar a inflamação, resultando em um ciclo de feedback positivo. Caminhos menos bem estabelecidos são mostrados em linhas pontilhadas.

DISCUSSÃO

5DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliamos a associação do biomarcador FGF-23 com LRA grave (estágio 2 e 3) em pacientes críticos com modelos variados de mediação por biomarcadores do endotélio/glicocálix como ICAM-1, VCAM-1, AGPT2, VEGF e syndecan-1. Foi demonstrado inicialmente a correlação estatisticamente significativa entre FGF-23 e LRA em ambos os grupos estratificados com e sem lesão grave, correlação entre FGF-23 e os biomarcadores endoteliais e também a associação entre FGF-23 e LRA grave e produtos dos metabólitos ósseos séricos.

Níveis elevados de FGF-23 vem sendo explorados em diferentes estudos na DRC e estão associados a mortalidade (YANG et al., 2016; KENDRICK et al., 2011), eventos cardiovasculares (GUTIÉRREZ et al., 2008; SCIALLA; WOLF, 2014) e inicialização da terapia renal substitutiva (KENDRICK et al., 2011). Mais recentemente o FGF-23 esteve associado à lesão renal aguda (ZHANG et al., 2011; CHRISTOV et al., 2013), sendo estabelecido como um fator de risco para progressão de LRA grave em pacientes críticos (LEAF et al., 2017; SHAKER et al., 2018).

Em nosso estudo, confirmamos associação independente entre FGF-23 e LRA grave. Foram demonstrados em estudos anteriores já relataram essa associação como níveis elevados de FGF-23 em um paciente com LRA induzida por rabiomólise (LEAF; WOLF; STERN, 2010). Outro estudo também demonstrou que os níveis plasmáticos de FGF-23 também estiveram elevados em pacientes críticos e associados independentemente à LRA e fatores de risco aumentado para mortalidade (LEAF et al., 2017).

Muitos mecanismos explicam o aumento do nível de FGF-23 em LRA, dentre essas funções destacamos o aumento da produção de osteócitos e possivelmente osteoblastos, via efeitos inibitórios na ativação do metabólito da vitamina D (SHIMADA et al., 2003); em processos inflamatórios sistêmicos tanto na lesão renal aguda (CHRISTOV et al., 2013), quanto na DRC (MUNOZ MENDOZA et al., 2012); disfunção tubular resultando em resistência ao FGF-23 (HASSAN et al.,

2016). Logo não é possível descartar outros mecanismos relacionados ao FGF-23 além da disfunção do endotélio identificada no nosso estudo.

Sequencialmente, foram realizadas correlações entre FGF-23 e biomarcadores endoteliais, onde somente VEGF não se correlacionou com FGF-23 e o syndecan-1 apresentou a correlação mais significativa seguidos pelos biomarcadores VCAM-1, AGPT2 e ICAM-1.

Há uma proposição de que a relação klotho/FGF-23 em células endoteliais propiciam a instabilidade endotelial. O excesso de FGF-23 promove o estresse oxidativo nessas células, causando disfunção endotelial, mas este mecanismo ainda é pouco elucidado e necessita de estudos mais abrangentes. Além disso, a co-expressão de Klotho/FGF-23 provavelmente define a especificidade tecidual dos efeitos do FGF-23 sendo amplamente expresso no rim (KUROSU et al., 2006).

Avaliamos também a correlação entre FGF-23, LRA grave e produtos do metabolismo ósseo séricos como fosfato sérico, metabólitos da vitamina D, cálcio sérico e iPTH. O biomarcador FGF-23 correlacionou-se com o fosfato sérico e inversamente com 1,25 vitamina D, entretanto não houve associação entre fosfato sérico, cálcio, iPTH e metabólitos da vitamina D com LRA grave. Já no estudo (ZHANG et al., 2011) as concentrações de fosfato sérico em pacientes com LRA estavam elevadas, porém não se correlacionaram com FGF-23.

Corroborando com nosso estudo LEAF et al., (2012);CHRISTOV et al., (2013);LEAF et al., (2017)demonstraram que o fosfato correlacionou-se diretamente com FGF-23 e 1,25 vitamina D, embora não tenham encontrado uma associação entre qualquer um dos metabólitos da vitamina D e o risco de LRA. É possível que o FGF-23, mesmo contribuindo para a disfunção do endotélio (BAI et al., 2016), tenha contribuído para ativação e degradação dos metabólitos da vitamina D, ou ainda, a redução severa da TFG tenha contribuído para a diminuição da atividade da 1 α -hidroxilase renal(LEAF et al., 2012).

No presente estudo, na relação entre os biomarcadores endoteliais e LRA estratificados por sua gravidade, mantivemos os mesmos parâmetros significativos estatisticamente para AGPT2, VCAM-1 e syndecan-1, contudo ICAM-1 teve somente uma tendência estatisticamente significativa. O VEGF não apresentou forte associação à LRA grave e não foi, portanto, contemplado nos modelos de mediações elaborados.

Biomarcadores endoteliais já foram avaliados anteriormente associados a LRA. Estudos demonstraram a correlação do syndecan-1 com LRA grave em pacientes com ICC e com leptospirose (NEVES et al., 2015; LIBÓRIO et al., 2015). Ainda em crianças pós cirurgia cardíaca, syndecan-1 demonstrou-se como marcador precoce e preditor de LRA grave (CAVALCANTE et al., 2016). Os níveis de AGPT2 apresentaram-se aumentados em pacientes que desenvolveram LRA após cirurgia cardíaca, em comparação a controles pareados (JONGMAN et al., 2015). Contudo, num estudo avaliando diversos biomarcadores endoteliais em pacientes com sepse, VCAM-1 e ICAM-1 não se correlacionaram com LRA (POWELL et al., 2014).

Em nosso estudo na análise de mediação, entre FGF-23 e LRA grave sendo mediada pelos biomarcadores plasmáticos relacionados com o endotélio houve uma associação com VCAM-1 (efeito 0,15), AGPT2 (efeito 0,19) e syndecan-1 (efeito 0,21), contudo não foram suficientes para eliminar a significância de FGF-23 com LRA grave diretamente. Em outro modelo de mediação contendo todos esses três biomarcadores relacionados ao endotélio dispostos paralelamente, os achados nos demonstram que também não houve mediação significativa comparado ao efeito direto de FGF-23 e LRA grave.

Em adição aos modelos já descritos, testamos uma mediação com os biomarcadores endoteliais seriados, entre a associação de FGF-23 e LRA grave que não se mostrou mais significativa e, curiosamente; todas as vias significativas tinham syndecan-1, um biomarcador de desarranjo do glicocálix endotelial, como um mediador final de maneira significativa. Nossos achados podem fornecer evidências em apoio à hipótese de que um aumento de FGF-23 poderá levar à LRA grave por lesão endotelial/glicocálix.

Ainda que existam dados biológicos escassos sobre a sequência de eventos de células endoteliais/glicocálix quando estas estruturas estão sob estresse severo e porque isso provavelmente ocorre em uma via bidirecional (ZHANG et al., 2018), é interessante observar que todas as vias estatisticamente significativas tiveram syndecan-1 como o último mediador. Além disso, quando os três mediadores foram incluídos no mesmo modelo, as vias indiretas totais foram sempre significativas e a via direta não foi mais significativa, indicando uma mediação completa.

Estatisticamente, foram tentadas várias análises de mediação seriada. Quando foi testado se algum efeito indireto do FGF-23 na LRA grave através da

syndecan-1 foi subsequentemente mediado por AGPT2 ou VCAM-1 (modelos I e J), não se observou nenhuma via estatisticamente significativa. Quando a análise de mediação foi testada com VCAM-1 ou AGPT2 (modelos E, F, G e H) como um primeiro mediador, foram encontradas várias vias significativas e todas elas tinham syndecan-1 como o último mediador dos efeitos do FGF-23 na LRA grave.

Nosso estudo apresenta algumas limitações, mas pelo menos duas devem ser abordadas. Primeiramente, neste estudo apesar de termos como metodologia coorte e prospectivos, a dosagem dos biomarcadores foi realizada transversalmente e, portanto, não pode mostrar uma causalidade. A análise da mediação fornece evidências que apoiam potenciais caminhos causais que devem ser confirmados em estudos intervencionais apropriados em modelos animais ou ensaios clínicos. Embora tenhamos ajustado os modelos para vários potenciais confundidores conhecidos, é possível que os efeitos descritos possam ser atribuídos a variáveis desconhecidas.

Além disso, a nossa sequência proposta de mediadores de biomarcadores relacionados ao endotélio (isto é, a VCAM-1 a primeira e a syndecan-1 o mediador final) foi apenas estatisticamente baseada e a confirmação biológica desta hipótese é necessária.

O segundo ponto a ser considerado é que não medimos o FGF-23 intacto, foram realizadas dosagens somente de FGF-23 C-terminal, no entanto, outros estudos demonstraram que a associação de FGF-23 C-terminal com LRA é semelhante ou até maior que o ensaio de FGF-23 intacto (LEAF et al., 2016).

Embora a natureza transversal das dosagens dos nossos biomarcadores do estudo exclua a prova direta dos mecanismos causais que propomos, a mediação estatística fornece uma estrutura na qual podemos testar formalmente os dados observados quanto à evidência de tais mecanismos. A mediação pode mostrar se algum ou todo o significado da associação entre uma exposição e um resultado estatisticamente é explicado pela influência da exposição no potencial mediador.

A análise também fornece uma estimativa da quantidade do efeito observado da exposição no resultado que pode ser explicado pela ação da exposição através do mediador, se o mecanismo hipotético existir. Mesmo que essa evidência seja necessariamente circunstancial, ela ainda pode fornecer apoio e motivação importante para investigações mais definitivas em futuros estudos.

Ao contrário de outros marcadores, podemos sugerir que FGF-23 pode ser um marcador de gravidade da doença ou pode contribuir diretamente para resultados adversos. Esta é uma questão fundamental que ainda não pode ser respondida por estudos observacionais anteriores ou atuais; mas além dos danos no endotélio, existem outros possíveis mecanismos que explicam os efeitos adversos agudos do FGF-23 na função renal.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, níveis circulantes de FGF-23 foram encontrados tanto em modelos animais e humanos associados à LRA segundo estudos especificados anteriormente. Essas relações foram associadas as lesões renais mais graves, como demonstrado em nosso estudo.

A associação entre FGF-23 e LRA grave, é mediada por biomarcadores relacionados ao endotélio, principalmente VCAM-1 e syndecan-1; no modelo estatístico de mediação individual, contudo ambos não eliminaram a significância do efeito direto entre FGF-23 e LRA grave. Os níveis do VEGF quantificados não se correlacionaram com LRA grave, portanto não foi possível realizar sua mediação com FGF-23 e LRA grave.

A relação entre FGF-23 e produtos do metabolismo ósseo, foi demonstrada somente entre o fosfato sérico e 1,25-vitamina D, entretanto não houve correlação entre os produtos do metabolismo ósseo com LRA grave.

Os modelos estatísticos com os biomarcadores seriados mostraram que o syndecan-1, um biomarcador da disfunção do glicocálix endotelial, parece ser um mediador final entre o FGF-23 e a LRA grave.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABD ELHAFEEZ, S. et al. Risk, Predictors, and Outcomes of Acute Kidney Injury in Patients Admitted to Intensive Care Units in Egypt. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 17163, 7 dez. 2017.

ALPHONSUS, C. S.; RODSETH, R. N. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier. **Anaesthesia**, v. 69, n. 7, p. 777–784, jul. 2014.

AUSTIN, S. R. et al. Why Summary Comorbidity Measures Such As the Charlson Comorbidity Index and Elixhauser Score Work: **Medical Care**, v. 53, n. 9, p. e65–e72, set. 2015.

BAI, X. et al. CYP24 inhibition as a therapeutic target in FGF23-mediated renal phosphate wasting disorders. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 2, p. 667–680, fev. 2016.

BARON, R. M.; KENNY, D. A. The moderator–mediator variable distinction in social psychological research: Conceptual, strategic, and statistical considerations. **Journal of Personality and Social Psychology**, v. 51, n. 6, p. 1173–1182, 1986.

BONVENTRE, J. V.; YANG, L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 11, p. 4210–4221, nov. 2011.

BOUCHARD, J. et al. A Prospective International Multicenter Study of AKI in the Intensive Care Unit. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 10, n. 8, p. 1324–1331, 7 ago. 2015.

BRETTNER, F.; VON DOSSOW, V.; CHAPPELL, D. The endothelial glycocalyx and perioperative lung injury. **Current Opinion in Anaesthesiology**, v. 30, n. 1, p. 36–41, fev. 2017.

CAVALCANTE, et al. Syndecan-1 improves severe acute kidney injury prediction after pediatric cardiac surgery. **J Thorac Cardiovasc Surg.**, v.1, n.152, p. 178-186, jul. 2016.

CHELAZZI, C. et al. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular

permeability. **Critical Care (London, England)**, v. 19, p. 26, 28 jan. 2015.

CHRISTOV, M. et al. Plasma FGF23 levels increase rapidly after acute kidney injury. **Kidney International**, v. 84, n. 4, p. 776–785, out. 2013.

CHUNG, C.-P. et al. α -Klotho expression determines nitric oxide synthesis in response to FGF-23 in human aortic endothelial cells. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. e0176817, 2 maio 2017.

COLLISTER, D. et al. Health Care Costs Associated with AKI. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 12, n. 11, p. 1733–1743, 7 nov. 2017.

DESJARDINS, L. et al. FGF23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. **Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, v. 23, n. 7, p. 2017–2025, jul. 2012.

DOMINGUEZ, J. R. et al. Fractional Excretion of Phosphorus Modifies the Association between Fibroblast Growth Factor-23 and Outcomes. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 24, n. 4, p. 647–654, 1 abr. 2013.

ERBEN, R. G. Update on FGF23 and Klotho signaling. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 432, p. 56–65, 5 set. 2016.

FREITAS, Eliane Regina Ferreira Sernache de. Perfil e gravidade dos pacientes das unidades de terapia intensiva: aplicação do score APACHE II. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, 2010, vol.18, n. 3, ISSN 0104-1169.

FUKUMOTO, S. Targeting Fibroblast Growth Factor 23 Signaling with Antibodies and Inhibitors, Is There a Rationale? **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 48, 2018.

GUTIÉRREZ, O. M. et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. **The New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 6, p. 584–592, 7 ago. 2008.

HAFFNER, D.; LEIFHEIT-NESTLER, M. Extrarenal effects of FGF23. **Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)**, v. 32, n. 5, p. 753–765, maio 2017.

HANUDEL, M. R. et al. Effects of acute kidney injury and chronic hypoxemia on fibroblast growth factor 23 levels in pediatric cardiac surgery patients. **Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)**, v. 31, n. 4, p. 661–669, abr. 2016.

HASSAN, A. et al. The fibroblast growth factor receptor mediates the increased FGF23 expression in acute and chronic uremia. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, v. 310, n. 3, p. F217-221, 1 fev. 2016.

JASKULSKI, S. et al. Circulating enterolactone concentrations and prognosis of postmenopausal breast cancer: Assessment of mediation by inflammatory markers:

Enterolactone and breast cancer survival. **International Journal of Cancer**, 4 jul. 2018.

JONGMAN, R. M. et al. Angiotensin/Tie2 Dysbalance Is Associated with Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery Assisted by Cardiopulmonary Bypass. **PLOS ONE**, v. 10, n. 8, p. e0136205, 26 ago. 2015.

KALAITZIDIS, R. G.; DUNI, A.; SIAMOPOULOS, K. C. Klotho, the Holy Grail of the kidney: from salt sensitivity to chronic kidney disease. **International Urology and Nephrology**, v. 48, n. 10, p. 1657–1666, out. 2016.

KAWAI, M. The FGF23/Klotho axis in the regulation of mineral and metabolic homeostasis. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v. 28, n. 1, p. 55–67, 1 out. 2016.

KELLUM, J. A. et al. Consensus development in acute renal failure: The Acute Dialysis Quality Initiative. **Current Opinion in Critical Care**, v. 11, n. 6, p. 527–532, dez. 2005.

KELLUM, J. A.; LAMEIRE, N.; FOR THE KDIGO AKI GUIDELINE WORK GROUP. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). **Critical care (London, England)**, v. 17, n. 1, p. 204, 4 fev. 2013.

KENDRICK, J. et al. FGF-23 Associates with Death, Cardiovascular Events, and Initiation of Chronic Dialysis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 10, p. 1913–1922, 1 out. 2011.

KHWAJA, A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. **Nephron. Clinical Practice**, v. 120, n. 4, p. c179–c184, 2012.

KOMAROVA, Y. A. et al. Protein Interactions at Endothelial Junctions and Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability. **Circulation Research**, v. 120, n. 1, p. 179–206, 6 jan. 2017.

KOVESDY, C. P.; QUARLES, L. D. FGF23 from bench to bedside. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, v. 310, n. 11, p. F1168-1174, 1 jun. 2016.

KUROSU, H. et al. Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 10, p. 6120–6123, 10 mar. 2006.

LANGE, C. et al. Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. **Nature Reviews. Neurology**, v. 12, n. 8, p. 439–454, 2016.

LE BROCCQ, M. et al. Endothelial dysfunction: from molecular mechanisms to measurement, clinical implications, and therapeutic opportunities. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 10, n. 9, p. 1631–1674, set. 2008.

LEAF, D. E. et al. FGF-23 levels in patients with AKI and risk of adverse outcomes. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 7, n. 8, p.

1217–1223, ago. 2012.

LEAF, D. E. et al. Fibroblast growth factor 23 levels are elevated and associated with severe acute kidney injury and death following cardiac surgery. **Kidney International**, v. 89, n. 4, p. 939–948, abr. 2016.

LEAF, D. E. et al. Fibroblast Growth Factor 23 Levels Associate with AKI and Death in Critical Illness. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 28, n. 6, p. 1877–1885, jun. 2017.

LEAF, D. E.; WOLF, M.; STERN, L. Elevated FGF-23 in a patient with rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 25, n. 4, p. 1335–1337, abr. 2010.

LEVEY, A. S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of internal medicine**, v. 150, n. 9, p. 604–612, 5 maio 2009.

LEVI, T. M. et al. Comparison of the RIFLE, AKIN and KDIGO criteria to predict mortality in critically ill patients. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 25, n. 4, 2013.

LEWINGTON, A. J. P.; CERDÁ, J.; MEHTA, R. L. Raising awareness of acute kidney injury: a global perspective of a silent killer. **Kidney International**, v. 84, n. 3, p. 457–467, set. 2013.

LI, P. K. T.; BURDMANN, E. A.; MEHTA, R. L. Acute kidney injury: global health alert. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation: an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia**, v. 24, n. 2, p. 345–350, mar. 2013.

LIBÓRIO, A. B. et al. Endothelial glycocalyx damage is associated with leptospirosis acute kidney injury. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 3, p. 611–616, mar. 2015.

LIU, S.; QUARLES, L. D. How Fibroblast Growth Factor 23 Works. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 6, p. 1637–1647, 18 maio 2007.

LU, X.; HU, M. C. Klotho/FGF23 Axis in Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease. **Kidney Diseases (Basel, Switzerland)**, v. 3, n. 1, p. 15–23, jul. 2017.

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

MEHTA, R. L.; CHERTOW, G. M. Acute renal failure definitions and classification: time for change? **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 14, n. 8, p. 2178–2187, ago. 2003.

MITCHELL, T. et al. Acute kidney injury is under-recognised and under-reported in

hospitalised patients in Australia. **Internal Medicine Journal**, v. 47, n. 12, p. 1451–1454, dez. 2017.

MUNOZ MENDOZA, J. et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Inflammation in CKD. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 7, n. 7, p. 1155–1162, 1 jul. 2012.

NAFISA, A. et al. Endothelial function and dysfunction: Impact of metformin. **Pharmacology & Therapeutics**, jul. 2018.

NEGI, S. et al. Acute kidney injury: Epidemiology, outcomes, complications, and therapeutic strategies. **Seminars in Dialysis**, 8 maio 2018.

NEVES, F. M. DE O. et al. Syndecan-1 in Acute Decompensated Heart Failure--Association With Renal Function and Mortality. **Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society**, v. 79, n. 7, p. 1511–1519, 2015.

PAGE, A. V.; LILES, W. C. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. **Virulence**, v. 4, n. 6, p. 507–516, 15 ago. 2013.

PALEVSKY, P. M. et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. **American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation**, v. 61, n. 5, p. 649–672, maio 2013.

PARKER, B. D. et al. The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. **Annals of Internal Medicine**, v. 152, n. 10, p. 640–648, 18 maio 2010.

POWELL, T. C. et al. Association of inflammatory and endothelial cell activation biomarkers with acute kidney injury after sepsis. **SpringerPlus**, v. 3, p. 207, 2014.

QUARLES, L. D. Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: implications in chronic kidney disease. **Experimental Cell Research**, v. 318, n. 9, p. 1040–1048, 15 maio 2012.

RAJENDRAN, P. et al. The Vascular Endothelium and Human Diseases. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 10, p. 1057–1069, 2013.

REITSMA, S. et al. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 454, n. 3, p. 345–359, 9 maio 2007.

RICCI, Z.; CRUZ, D.; RONCO, C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. **Kidney International**, v. 73, n. 5, p. 538–546, mar. 2008.

ROSSAINT, J.; UNRUH, M.; ZARBOCK, A. Fibroblast growth factor 23 actions in inflammation: a key factor in CKD outcomes. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant**

Association - European Renal Association, v. 32, n. 9, p. 1448–1453, 1 set. 2017.

SCHOLZ, A.; PLATE, K. H.; REISS, Y. Angiopoietin-2: a multifaceted cytokine that functions in both angiogenesis and inflammation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1347, p. 45–51, jul. 2015.

SCIALLA, J. J.; WOLF, M. Roles of phosphate and fibroblast growth factor 23 in cardiovascular disease. **Nature Reviews. Nephrology**, v. 10, n. 5, p. 268–278, maio 2014.

SHAKER, A. M. et al. Fibroblast growth factor-23 as a predictor biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation: An Official Publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia**, v. 29, n. 3, p. 531–539, jun. 2018.

SHIMADA, T. et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 11, p. 6500–6505, 22 maio 2001.

SHIMADA, T. et al. FGF-23 Is a Potent Regulator of Vitamin D Metabolism and Phosphate Homeostasis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 19, n. 3, p. 429–435, 29 dez. 2003.

STORCH, A. S. et al. Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, 2017.

SUSANTITAPHONG, P. et al. World incidence of AKI: a meta-analysis. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 8, n. 9, p. 1482–1493, set. 2013.

SUTTON, T. A.; FISHER, C. J.; MOLITORIS, B. A. Microvascular endothelial injury and dysfunction during ischemic acute renal failure. **Kidney International**, v. 62, n. 5, p. 1539–1549, nov. 2002.

THAKAR, C. V. et al. Incidence and outcomes of acute kidney injury in intensive care units: a Veterans Administration study. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 9, p. 2552–2558, set. 2009.

TODA, N. Age-related changes in endothelial function and blood flow regulation. **Pharmacology & therapeutics**, v. 133, n. 2, p. 159–176, fev. 2012.

VOYVODIC, P. L. et al. Loss of Syndecan-1 Induces a Pro-Inflammatory Phenotype in Endothelial Cells with a Dysregulated Response to Atheroprotective Flow. **The Journal of biological chemistry**, 19 fev. 2014.

WALD, R. et al. Risk of Chronic Dialysis and Death Following Acute Kidney Injury. **The American Journal of Medicine**, v. 125, n. 6, p. 585–593, jun. 2012.

WANG, J. et al. A Case of Hyperphosphatemia and Elevated Fibroblast Growth Factor 23: A Brief Review of Hyperphosphatemia and Fibroblast Growth Factor 23

Pathway. **Kidney International Reports**, v. 2, n. 6, p. 1238–1242, nov. 2017.

WASUNG, M. E.; CHAWLA, L. S.; MADERO, M. Biomarkers of renal function, which and when? **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 438, p. 350–357, 1 jan. 2015.

WATERS, M.; NIGHTINGALE, P.; EDWARDS, J. D. A critical study of the APACHE II scoring system using earlier data collection. **Archives of Emergency Medicine**, v. 7, n. 1, p. 16–20, mar. 1990.

WONNACOTT, A. et al. Epidemiology and Outcomes in Community-Acquired Versus Hospital-Acquired AKI. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 9, n. 6, p. 1007–1014, 6 jun. 2014.

WU, V.-C. et al. In acute kidney injury, indoxyl sulfate impairs human endothelial progenitor cells: modulation by statin. **Angiogenesis**, v. 16, n. 3, p. 609–624, jul. 2013.

XU, Z. et al. Predictive Value of Combined LIPS and ANG-2 Level in Critically Ill Patients with ARDS Risk Factors. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, p. 1739615, 2018.

XUE, C. et al. Fibroblast Growth Factor 23 Predicts All-Cause Mortality in a Dose-Response Fashion in Pre-Dialysis Patients with Chronic Kidney Disease. **American Journal of Nephrology**, v. 45, n. 2, p. 149–159, 2017.

YANG, H. et al. Prognostic value of FGF23 among patients with end-stage renal disease: a systematic review and meta-analysis. **Biomarkers in Medicine**, v. 10, n. 5, p. 547–556, 2016.

YEBOAH, J. et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. **Circulation**, v. 120, n. 6, p. 502–509, 11 ago. 2009.

YEN, W. et al. Endothelial surface glycocalyx can regulate flow-induced nitric oxide production in microvessels in vivo. **PloS One**, v. 10, n. 1, p. e0117133, 2015.

ZHANG, M. et al. FGF-23 and PTH levels in patients with acute kidney injury: A cross-sectional case series study. **Annals of Intensive Care**, v. 1, n. 1, p. 21, 2011.

ZHANG, X. et al. Endothelial cell dysfunction and glycocalyx - A vicious circle. **Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology**, 1 fev. 2018.

ZHENG, C. et al. Causal Models for Mediation Analysis: An Introduction to Structural Mean Models. **Multivariate Behavioral Research**, v. 50, n. 6, p. 614–631, 2 nov. 2015.

ZIMMERMAN, J. E.; KRAMER, A. A. A history of outcome prediction in the ICU. **Current Opinion in Critical Care**, v. 20, n. 5, p. 550–556, out. 2014.

APÊNDICE A - FICHA DE COLETA DE DADOS PARA PESQUISA

Prontuário: _____ Data coleta: ___/___/___

PACIENTE: _____ Idade: _____

Data de nascimento: ___/___/___ Sexo: () M () F

Data admissão UTI: _____ Data alta UTI: _____

Internação: () clínica () cirúrgica

Raça: () branca () parda () negra () outra

Procedência: () Fortaleza () Interior Ceará () outro estado

Diagnóstico Inicial:

Desfecho: () Óbito () Alta enfermaria

Co-morbidades: Escore Charlson

IAM	1	Diabetes	1
Insuficiência cardíaca	1	Hemiplegia	2
Doença vascular periférica	1	DRC	2
Doença cerebrovascular	1	Diabetes com lesão órgãos	2
Demência	1	Tumor, leucemia, linfoma	2
Doença pulmonar crônica	1	Hepatopatia crônica/severa	3
Doença tecido conjuntivo (lúpus/artrite reumatoide)	1	Tumor sólido metastático	6
Úlcera péptica	1	AIDS	6
Hepatopatia crônica leve	1	TOTAL	

Medicações em uso domiciliar:

Primeiras 24 horas - valores

Escala Glasgow		Leucócitos	
Bilirrubina		Plaquetas	
Temperatura (maior)		pH	
Creatinina		PAS (menor)	
FC (maior)		PaO ₂	
FiO ₂			

1) Sedação: () sim () não Início: ___/___/___ Fim: ___/___/___

APENDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES RENAIS E ENDOTELIAIS EM PACIENTES COM LESÃO RENAL AGUDA EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

Pesquisadores: Alexandre Braga Libório

Prezado (a) participante,

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos. Este estudo pretende avaliar pacientes críticos e suas alterações nos rins que estão internados no serviço de Terapia Intensiva deste hospital. Trata-se de uma pesquisa de observação, significando que seu tratamento não será alterado de forma alguma pela sua participação na pesquisa. Para tanto peço autorização para que você participe deste estudo.

Ao participar desta pesquisa você será convidado a responder algumas questões que buscam caracterizar o ambiente que você vive, seu passado médico e medicações em uso. Também serão coletados dados da sua história como exames laboratoriais anteriores, dados sobre sua doença e por seguinte será coletada uma amostra de sangue (5ml – uma colher de sopa) e uma amostra de urina (5ml – uma colher de sopa) que serão armazenadas para posterior realização de exames (amostra de soro: hemograma completo, ureia, creatinina, albumina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio gasometria venosa, syndecan-1, VCAM-1, ICAM-1 e trombomodulina solúvel. Nas amostras de urinas, serão analisadas as seguintes variáveis: proteinúria de 24h, sódio, potássio, cloro, creatinina, KIM-1, NGAL, FABP-1 e NAG). Esses exames que serão realizados não são da prática médica do dia a dia e tem a finalidade de avaliar lesões nos rins em estágios bem iniciais.

A amostra de sangue será processada e guardada uma amostra de soro (sangue sem as células). Essa amostra de soro e de urina serão guardadas em um congelador especial (-80°C) e será utilizada para a pesquisa da qual você está fazendo parte. O armazenamento em biorrepositório e descarte do material seguirá normas do Laboratório de Pesquisa em Nefrologia e Doenças Tropicais da Universidade Federal do Ceará.

O material armazenado será identificado por código, sendo mantido o seu sigilo e o seu acesso ao material guardado será garantido através do contato com o pesquisador que se encontra abaixo.

Por esse termo, você pode optar pela:

() cessão dos direitos sobre o material armazenado aos sucessores ou outros por ele indicado, em caso de óbito ou condição incapacitante.

() não-cessão dos direitos sobre o material armazenado aos sucessores ou outros por ele indicado, em caso de óbito ou condição incapacitante

Após um período de dois anos, o material será descartado de forma apropriada. Essas amostras pertencem a você e apenas ficarão sob nossa guarda durante o período necessário para realizar a pesquisa. Lembramos que a sua participação é voluntária, sem remuneração e você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado a resposta dos questionários, sem nenhum prejuízo para você.

Haverá risco mínimo para você ao participar dessa pesquisa. Poderá sentir desconforto durante a picada da agulha para a coleta do sangue e qualquer constrangimento será evitado mantendo-se o sigilo da sua pessoa.

A sua participação possibilitará o levantamento de informações sobre a sua saúde e favorecerá o estabelecimento de estratégias para melhorar o atendimento prestado nessa instituição.

As informações serão utilizadas em trabalhos, divulgadas em congressos ou publicadas em revista científica, sem permitir que você seja identificado. Acredita-se que a realização deste estudo terá como benefícios a melhoria da qualidade da assistência nesta instituição, atendendo-o de forma individualizada, conforme as reais necessidades do paciente.

Você poderá ter acesso às informações e poderá tirar dúvidas sobre este trabalho em qualquer momento. Você terá a liberdade de desistir de participar, sem que isso lhe cause problemas no seu acompanhamento na instituição. Caso o Sr. (a) aceite participar da pesquisa NÃO receberá pagamento ou gratificação pela participação no estudo. Este termo será realizado em duas vias, permanecendo uma com o (a) senhor (a) e outra com a pesquisadora.

Estaremos à disposição para dar informações sobre o nosso trabalho. Caso o senhor (a) precise entrar em contato com a gente, nosso endereço e telefone estão abaixo:

<p>Endereço da responsável pela pesquisa ALEXANDRE BRAGA LIBÓRIO Universidade Federal do Ceará (UFC)</p>

Endereço: Rua: Monsenhor Furtado, s/n Rodolfo Teófilo
 Telefone para contato: (85) 9149-5241
 Horário de atendimento: segunda – sexta das 8:00 às 17:00 horas.

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIMENTO

Eu, _____, portador (a) da cédula de identidade _____, declaro que, após leitura detalhada do TCLE, tive oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa.

E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza, _____ de _____ de _____

Assinatura do participante	Assinatura do responsável pela coleta de dados	DIGITAL
Assinatura da testemunha	Assinatura do Pesquisador	

ANEXO A

HOSPITAL GERAL DE
FORTALEZA/SUS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES RENAIIS E ENDOTELIAIS EM PACIENTES COM LESÃO RENAL AGUDA EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

Pesquisador: Fernanda Macedo de Oliveira Neves

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 43445015.7.0000.5040

Instituição Proponente: Hospital Geral de Fortaleza/SUS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.032.914

Data da Relatoria: 09/04/2015

Apresentação do Projeto:

Estudo de coorte prospectivo a ser realizado na unidade de terapia intensiva do Hospital Geral de Fortaleza durante o período de Janeiro 2015 à Janeiro 2016. Serão avaliados paciente internados na UTI com idade igual ou maior que 18 anos sem diagnósticos de doença renal crônica dialítica prévia, onde serão analisados as seguintes dosagens no sangue: hemograma completo, ureia, creatinina, albumina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio gasometria venosa, syndecan-1 trombosmodulina, VCAM-1 e ICAM-1. Nas amostras de urinas, serão analisados as seguintes variáveis: proteinúria de 24h, sódio, potássio, cloro, KIM-1, NGAL, NAG, FABP-1. Essas dosagens serão realizadas nas primeiras 24 e 72h de internação na UTI. Este pacientes selecionados serão acompanhados prospectivamente durante o período de um ano quanto aos desfechos predeterminados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar biomarcadores endoteliais e renais na lesão renal aguda em pacientes críticos e sua correlação com complicação metabólicas, hídrica e necessidade dialítica. Objetivo Secundário: • Avaliar o papel dos biomarcadores renais (Kim-1, NGAL, FABP-1, NAG) como método diagnóstico precoce da lesão renal aguda em pacientes críticos;• Avaliar o papel dos biomarcadores endoteliais (Syndecan-1, ICAM-1, VCAM-1 e trombosmodulina solúvel) como

Endereço:	Rua Avila Goulart, nº 900	CEP:	60.155-290
Bairro:	Papicú	Município:	FORTALEZA
UF:	CE	Telefone:	(85)3101-7078
		Fax:	(85)3101-3163
		E-mail:	cep@hgf.ce.gov.br

Página 01 de 03

HOSPITAL GERAL DE
FORTALEZA/SUS



Continuação do Parecer: 1.032.914

método diagnóstico precoce da lesão renal aguda em pacientes críticos;• Avaliar a correlação de IRA e desfechos clínicos (complicações metabólicas, balanço hídrico, necessidade de terapias de substituição renal, tempo de permanência hospitalar e mortalidade).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

*Riscos: O pesquisador relata que haverá risco ou desconforto durante a picada da agulha para a coleta do sangue e que qualquer constrangimento será evitado mantendo-se o sigilo da sua pessoa.

*Benefícios: Sendo a função renal um o fator importante no prognóstico de pacientes críticos, o estudo pretende: Determinar os correlatos entre biomarcadores funcionais (creatinina) e de danos (KIM-1/NGAL/FABP-1/NAG) que podem proporcionar uma oportunidade para identificar pacientes com IRA que estão em risco para um prognóstico menos favorável em termos de agravamento de danos ou novos declínios na função renal, otimizando o tratamento e diminuindo os custos para o SUS; Verificar os biomarcadores ICAM-1, VCAM-1, syndecan 1 e trombosmodulina solúvel conhecido como importante marcadores de lesão endotelial, em sua expressiva taxa de mortalidade nesta população com um pior prognóstico acrescido à insuficiência renal sugerindo a correlação entre novos biomarcadores renais para proporcionar uma melhor qualidade de vida aos pacientes;

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante e factível de grande contribuição para a comunidade científica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Anexou todos os termos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

Apresentar relatório final da pesquisa ao CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Avila Goulart, nº 900	CEP: 60.155-290
Bairro: Papicú	
UF: CE	Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3101-7078	Fax: (85)3101-3163
	E-mail: cep@hgf.ce.gov.br

Página 02 de 03

HOSPITAL GERAL DE
FORTALEZA/SUS



Continuação do Parecer: 1.032.914

Considerações Finais a critério do CEP:

FORTALEZA, 23 de Abril de 2015

Assinado por:
Ilvana Lima Verde Gomes
(Coordenador)

ANEXO B - Formulário de classificação APACHE II

Quadro 3 – Formulário de classificação APACHE II

Variáveis Fisiológicas	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura (C)	> 41	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	< 29,9
Pressão artéria média mmHg	> 160	139-159	110-129		70-109		50-69		< 40
Frequência cardíaca bpm	> 180	140-179	110-139		70-109	55-69	40-54	< 39	
Frequência respiratória ipm (ventilados ou não)	> 50	35-49	25-34	12-24	10-11	6-9		<5	
Oxigenação A-aDO ₂									
a) FiO ₂ > 0,5 A-aDO ₂	> 500	350-499	200-349		< 200				
b) FiO ₂ < 0,5 A-aDO ₂					> 70	61-70		55-60	< 55
Ph Arterial	> 7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	< 7,15
Sódio sérico (mEq/L)	> 180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	< 110
Potássio sérico (mEq/L)	> 7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		< 2,5
Creatinina sérica (mg/dL) dobrar pontos se IRA	> 3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		< 0,6		
Hematócrito (%)	> 60		50-50,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		< 20
Número de leucócitos	> 40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		< 1
Escala de Glasgow para o coma (CGS)									
(A) Total do escore fisiológico agudo (APS) = soma dos valores									
Bicarbonato sérico (mEq/L) (usar se não coletar gasometria)	> 52	41-51,9		32-40,9	22-31,9		18-21,9	15-17,9	< 15
(B) Pontos por idade	(C) Pontos por doença crônica Se o paciente tem uma história de insuficiência grave de órgão ou é imunocomprometido; assinale pontos como se segue: a) para pacientes não-cirúrgicos ou pós-operatórios de emergência: 5 pontos								

Idade (anos)	Pontos
≤ 44	0
45-54	2
55-64	3
65-74	5
≥ 75	6

Pontuação Apache = (A) + (B) + (C)

b) para pacientes de pós-operatórios eletivos: 2 pontos

Definições

A insuficiência de órgão ou o estado de imunodepressão deve ser evidente antes da admissão hospitalar e deve obedecer ao seguinte critério:

Fígado: Cirrose comprovada por biópsia, hipertensão portal documentada; episódios passados de hemorragia gastrointestinal atribuídos à hipertensão portal; episódios anteriores de insuficiência hepática, encefalopatia ou coma.

Cardiovascular: New York Association classe IV.

Respiratória: Doença crônica restritiva, obstrutiva ou vascular resultando em grave restrição ao exercício, isto é, incapaz de subir escadas ou fazer serviços domésticos; hipóxia crônica documentada, hipercapnia, policitemia secundária, hipertensão pulmonar grave (> 40mmHg); dependência de prótese ventilatória.

Renal: Recebendo diálise cronicamente.

Imunocomprometido: Paciente tem recebido terapia que suprime a resistência à infecção, isto é, imunossuppressores, quimioterapia, radioterapia, corticoides cronicamente ou recente em altas doses; doença que é suficientemente avançada para suprimir a resistência à infecção, isto é, leucemia, linfoma, AIDS.