

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

LUIS GUSTAVO LANZONI

AVALIAÇÃO DE PERDA DE MASSA MUSCULAR EM PACIENTE COM INJÚRIA
RENAL AGUDA ATRAVÉS DE BIOMARCADORES SÉRICOS

São Paulo, SP
2019

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

LUIS GUSTAVO LANZONI

AVALIAÇÃO DE PERDA DE MASSA MUSCULAR EM PACIENTE COM INJÚRIA
RENAL AGUDA ATRAVÉS DE BIOMARCADORES SÉRICOS

Dissertação de Mestrado apresentada à
Universidade Nove de Julho para obtenção
do título de Mestre em Medicina.

Orientador: Prof^a Dra. Maria Aparecida
Dalboni.

São Paulo, SP
2019

Lanzoni, Luis Gustavo.

Avaliação de perda de massa muscular em paciente com injúria renal aguda através de biomarcadores séricos. / Luis Gustavo Lanzoni. 2019.

43 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2019.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Dalboni.

1. Perda de massa muscular. 2. Injúria renal aguda. 3. Biomarcadores séricos.

I. Dalboni, Maria Aparecida.

II. Título

CDU 616



São Paulo, 26 de junho de 2019.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno: **LUIZ GUSTAVO LANZONI**

Título da Dissertação: **AVALIAÇÃO DA PERDA DE MASSA MUSCULAR EM PACIENTE COM INJÚRIA RENAL AGUDA ATRAVÉS DE BIOMARCADORES SÉRICOS.**

Presidente: PROFA. DRA. MARIA APARECIDA DALBONI *Maria A. Dalboni*

Membro: PROFA. DRA. ROSILENE MOTTA ELIAS COELHO *Rosilene Motta Elias Coelho*

Membro: PROFA. DRA. LUZIA NAKO SHINOHARA FURUKAWA *Luzia Nakô*

DEDICATÓRIA

Dedico esta pesquisa a todos aqueles que acreditam ser a educação uma forma legítima de se posicionar no mundo e não um privilégio para poucos. Dedico também a todos os meus alunos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à Prof.^a Dr^a Maria Aparecida Dalboni por aceitar um aluno com pouca experiência em pesquisa, mas profundamente interessado no conhecimento e na experiência de se produzir ciência no Brasil. E que permitiu, a meu tempo, concluir este trabalho. Obrigado pela paciência diante dos meus questionamentos e dúvidas, pela forma educada em se tratar um estudante. Muito obrigado.

Aos meus familiares que compreenderam as ausências, mas que nunca deixaram de me apoiar. Minha mãe, irmãs e sobrinhos, muito obrigado.

À Prof.^a Dr^a Fernanda Colombo, que me acolheu nos momentos mais delicados e incentivou com muito carinho a continuar, a despeito dos obstáculos.

À Prof.^a Dr^a. Rosa Moysés por todo conhecimento compartilhado e por me ensinar as duas maiores qualidades de um pesquisador: vontade e humildade.

À Prof.^a Dr^a. Rosilene que participou da banca examinadora e que, em apenas dois encontros, conseguiu esclarecer tanto em tão pouco tempo.

A todos os professores do Programa que compartilharam seu conhecimento, meu profundo respeito e admiração.

À minha amiga Camila Teixeira, que sempre me incentivou da melhor forma possível, me fazendo saber capaz. Meu eterno amor.

À minha amiga de trabalho e de vida Alessandra Santos Vieira, pela compreensão, incentivo e por toda ajuda.

À Universidade Nove de Julho, onde iniciei meus estudos acadêmicos e que segue favorecendo meu crescimento profissional e pessoal.

Aos colegas do programa que me ajudaram e dividiram conhecimento e parceria comigo.

Muito obrigado a todos!

EPÍGRAFE

“O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem...”

(João Guimarães Rosa)

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Dados Epidemiológicos nos Grupos Controle e IRA

Tabela 2 – Marcadores Inflamatórios, Bioquímicos e de Perda de Massa Muscular

Tabela 3 – Correlação entre os níveis séricos de Cistatina C, Creatinina, Albumina, PCR, TNF- α , IGF1, Miostatina, IL-6, IL-10, IL-15, CK, DHL e vitamina D.

Lista de Figuras

Figura 1 – Principais causas da IRA

Figura 2 – Reguladores e Mediadores Inflamatórios

Figura 3 – Desregulação no Balanceamento entre a resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória e impacto na síntese proteica

Figura 4 – Causas da Sarcopenia Urêmica

Figura 5 – Desfechos da Sarcopenia

Figura 6 – Fluxograma do desenho da amostra

Lista de Quadros

Quadro 1 – Escala RIFLE

Quadro 2 – Escala AKIN

Quadro 3 – Critérios para classificação da SIRS

Quadro 4 – Valores de Referência para diagnóstico de perda de massa muscular

Quadro 5 – Descrição dos ensaios de ELISA e suas respectivas sensibilidades

Abreviações

Abreviação ou termo técnico	Explicação
AKIN	Do ingles: <i>Acute Kidney Injury Network</i>
CARS	Síndrome da Resposta Inflamatória Compensatória
CK	Creatina-quinase
CPK-3	Creatina Fosfoquinase -3
Cr	Creatinina
DCV	Doença Cardiovascular
DRC	Doença Renal Crônica
DU	Débito Urinário
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
GH	Hormônio do Crescimento
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IGF-1	Fator de Crescimento Insulina 1
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL10	Interleucina 10
IL-15	Interleucina 15
IRA	Injúria Renal Aguda
DHL	Lactato Desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Na	Sódio
NTA	Necrose Tubular Aguda
PCR	Proteína C Reativa
RIFLE	Do Ingles: <i>Risk, Injury, Failure, Lost and End-Stage</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Fisiopatologia e Causas da Injúria Renal Aguda	15
1.2. Perda de Massa Muscular e Injúria Renal Aguda	19
2. OBJETIVOS	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1. População de Estudo	25
3.2. Métodos	27
3.3. Análise Estatística	28
4. RESULTADOS	29
5. DISCUSSÃO	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
7. ANEXOS	38

RESUMO: A Injúria Renal Aguda (IRA) é um problema grave e prevalente em pacientes em estado crítico e seu desenvolvimento aumenta de modo significativo a mortalidade, o tempo de internação e custos hospitalares. Tem alta taxa de prevalência nos países desenvolvidos, chegando a 45% em pacientes em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e 20% em pacientes em clínica médica. A fisiopatologia da IRA tem caráter inflamatório e é resultado de um balanço entre uma resposta inflamatória e outra anti-inflamatória. O aumento de mediadores inflamatórios e a queda de concentrações de substâncias anabólicas pode resultar em perda de massa muscular. Desta forma, o objetivo deste estudo foi investigar perda de massa muscular através de marcadores séricos em pacientes com IRA. Foram incluídos 77 pacientes graves sem IRA e graves 83 pacientes com IRA, todos admitidos na UTI. Pacientes com IRA foram caracterizados pelos critérios AKIN que usaram um aumento de 0,3 mg/dL na creatinina sérica dentro de sete dias da admissão no hospital. Marcadores séricos de perda de massa muscular: fatores de crescimento como insulina-1 (IGF-1), Miostatina, Interleucina-6 (IL-6), TNF- α e Interleucina-15 (IL-15) e Lactato Desidrogenase (DHL) foram estudados por ensaio imunoenzimático (ELISA). Observamos aumento significativos dos níveis séricos de TNF- α no grupo IRA 7,46 (4,91 – 33,28) vs. CONT 6,96 (4,75 – 11,38) $p = 0,01$; Miostatina 36,95 (5,71-46,5) vs 25,5 (7,14-88) $p = 0,01$; IL-6 17,6 (3,22 – 31,69) vs 10,69 (2,54 - 31,69) $p = 0,03$, DHL 173,5 (52-984) vs 146 (74 - 563) $p = 0,02$. Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de IGF-1 IRA 0,26 (0 – 0,83) vs CONT 0,28 (0,06 – 1,13) $p = 0,66$ e IL-15 4,89 (0,09 – 55,56) vs 4,87 (0,76 – 7,79) $p = 0,41$. Pacientes com IRA apresentaram maior valor dos marcadores inflamatórios e houve aumento significativo nos valores de miostatina no grupo IRA. O estudo sugere que estes marcadores podem ser relevantes para diagnóstico precoce de perda de massa muscular.

ABSTRACT: Acute Kidney Injury (AKI) is a serious and prevalent critical condition and its development significantly increases mortality, length of hospital stay, and hospital costs. It has a high prevalence rate in developed countries, reaching 45% of patients in Intensive Care Units (ICU) and 20% in patients in clinic. Due to the high mortality rate, early diagnosis is important for the outcome. The pathophysiology of AKI is inflammatory and results from a balance between an inflammatory and an anti-inflammatory response. Increased inflammatory mediators and decreased concentrations of anabolic substances may result in loss of muscle mass. The aim of this study was to investigate muscle mass loss through serum markers in patients with AKI. A total of 77 critical patients without AKI and 83 AKI patients, all admitted to the ICU. Patients with AKI were characterized by AKIN criteria that used an increase of 0.3 mg / dL in serum creatinine within seven days starting from hospital admission. Serum markers of muscle loss: growth factors such as insulin-1 (IGF-1), myostatin, interleukin-6 (IL-6), TNF- α and Interleukin-15 (IL-15) and dehydrogenase lactate (DHL) were studied by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). We observed significant increases in serum levels of TNF- α in the AKI group 7,46 (4,91 - 33,28). CONT 6.96 (4,75 -11,38) p 0.01; Myostatin 36,95 (5,71- 46,5) vs. 25,5 (7,14 - 88) p 0,01; IL-6 17.6 (3,22 - 31,69) vs 10.69 (2,54 - 31,69) p 0.03, DHL 173.5 (52 - 984) vs. 146 (74 - 563) p 0.02. There were no significant differences between the level of IGF-1 AKI 0,26 (0 – 0,83) vs CONT 0,28 (0,06 – 1,13) p 0,66 and IL-15 4,89 (0,09 – 55,56) vs 4,87 (0,76 – 7,79) p 0,41. Patients with AKI had higher values of inflammatory markers and there was a significant increase in myostatin values in the AKI group.

1. INTRODUÇÃO

A Injúria Renal Aguda (IRA) tem como características o declínio súbito e rápido da taxa de filtração glomerular (TFG) (1), acompanhada de elevação da Creatinina sérica (Cr), baixo débito urinário, distúrbios hidroeletrólíticos e/ou ácido-básicos e acúmulo de toxinas urêmicas (2) (3), resultando em alta taxa de mortalidade (4) .

Por se tratar de problema grave e frequente em pacientes em estado crítico, seu desenvolvimento aumenta de modo significativo a mortalidade, o tempo de internação e, conseqüentemente, os custos hospitalares. (5)

Em países desenvolvidos as taxas de prevalência de IRA cresceram na última década (6), com 45% em pacientes graves internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e cerca de 20% internados em enfermarias (7).

Durantes décadas houve grande dificuldade em definir a síndrome principalmente devido a não padronização dos critérios de classificação e diagnóstico.

Devido à alta taxa de mortalidade nos pacientes com IRA, o diagnóstico rápido e precoce é de grande importância para o desfecho clínico. Assim, nos últimos anos dois critérios têm sido utilizados para caracterização da IRA. A escala RIFLE (Quadro 1) classifica como: Risco, Injúria, Falência, Perda da Função e Estágio Final da Doença Renal, utilizando como critérios os valores da Cr sérica e da TFG e/ou diminuição do débito urinário. Em 2007 foi publicado artigo na *Critical Care Medicine and Nephrology* sugerindo a escala AKIN, do inglês *Acute Kidney Injury Network* (Quadro 2), propondo um aumento da sensibilidade e especificidade da escala anterior. Em razão da variedade de incidência de IRA, segundo artigo de Ricci *et al* (8) que realizou uma revisão sistemática de pesquisas feitas entre 2004

e 2007 utilizando a escala RIFLE, não houve consenso entre a acurácia de diagnóstico entre as duas escalas. Entretanto, de acordo com o estudo de Joannidis *et al* (9) , observou-se que há uma menor frequência de erros de classificação de estadiamento de IRA quando do uso da escala RIFLE em comparação com o uso da escala AKIN.

Quadro 1 – Escala RIFLE

RIFLE SCORE		
	Critério Creatinina / TFG	Critério Débito Urinário (DU)
RISCO	Aumento Cr x 1,5 ou Diminuição TFG >25%	DU < 0,5 ml/kg/hr x 6 hr
INJÚRIA	Aumento Cr x 2 ou Diminuição TFG >50%	DU < 0,5ml/kg/hr x 12hr
FALÊNCIA	Aumento Cr x 3 ou Diminuição TFG >75% ou Cr > 4mg/dl	DU < 0,3ml/kg/hr x 24hr or anúria x 12hr
PERDA	IRA Persistente = Perda completa da função renal por tempo > 4 semanas	IRA Persistente = Perda completa da função renal por tempo > 4 semanas
EFDR	ESTÁGIO FINAL DA DOENÇA RENAL	ESTÁGIO FINAL DA DOENÇA RENAL

Quadro 2 – Escala AKIN

AKIN SCORE		
	Critério Cr	Critério Débito Urinário (DU)
STAGE 1	Aumento Cr x 1,5 ou $\geq 0,3$ mg/dl	DU < 0,5 ml/kg/hr x 6 hr
STAGE 2	Aumento Cr x 2,0	DU < 0,5ml/kg/hr x 12hr
STAGE 3	Aumento Cr x 3 ou Cr ≥ 4 mg/dl (com aumento agudo $\geq 0,5$ mg/dl)	DU < 0,3ml/kg/hr x 24hr or anúria x 12hr

Para identificarmos a epidemiologia da IRA é necessário compreender as principais causas e principalmente o perfil do doente, o contexto e condições do atendimento prestado.

1.1 Fisiopatologia e Causas da IRA

A fisiopatologia da IRA tem caráter inflamatório, onde a extensão da lesão é resultado do desequilíbrio no balanço entre duas forças: a resposta pró-inflamatória (caracterizada pela SIRS – Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica) na qual ocorre recrutamento de mediadores e células inflamatórias onde se estabeleceu a lesão, e uma resposta anti-inflamatória (CARS – Síndrome da Resposta Inflamatória Compensatória), que visa atenuar a injúria tissular provocada pela lesão promovendo a cicatrização local (10).

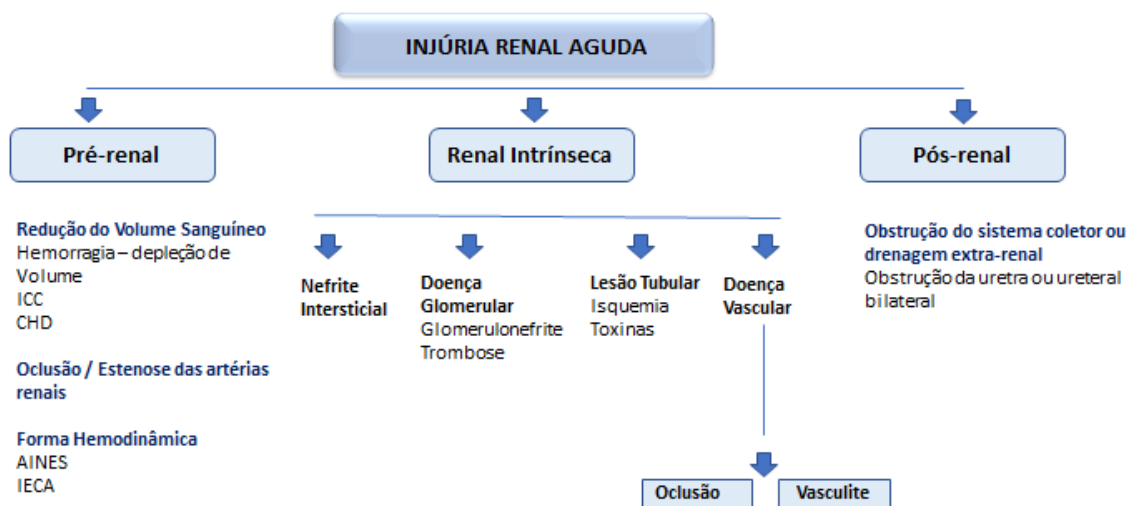
A SIRS é uma resposta orgânica de consequências sistêmicas, resultante de diversos insultos como traumas, queimaduras ou endotoxinas e é diagnosticada por critérios bem definidos em consensos internacionais (Quadro 3) (11). Quando iniciada ou perpetuada por agente infeccioso, caracteriza a Sepse que, sendo acompanhada por disfunção orgânica (Sepse Grave), pode resultar em IRA e apresentar taxa de mortalidade entre 50% - 80%.

Quadro 3 – Critérios para classificação da SIRS

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica está presente quando houver dois ou mais das seguintes condições	
Temperatura	> 38° C ou < 36° C
Frequência cardíaca	> 90 batimentos/minuto
Frequência respiratória	> 20 batimentos/minuto ou pCO ₂ < 32
Contagem de leucócitos	> 12.000 células/mm ³ , < 4.000 células/mm ³ , ou > 10% de células imaturas (bastões)

A IRA, independente da patologia de base, é uma complicação grave e prevalente em pacientes internados em UTI gerando impacto desfavorável no desfecho destes pacientes. Na Figura 1 estão descritas a classificação e principais causas da IRA. Podemos classifica-la em três tipos básicos: IRA Pré-Renal, Renal Intrínseca e Pós-renal.

Figura 1 – Principais causas da IRA. Adaptado de Lameire et al, 2005) (12)



ICC: Insuficiência Cardíaca Congestiva; CHD: Cirrose Hepática Descompensada; AINES: Anti-inflamatórios não esteroidais; IECA: Inibidores de Enzima Conversora de Angiotensina.

A IRA Pré-Renal é uma resposta à diminuição da perfusão renal, resultante de uma hipovolemia ou isquemia renal (13). Desta forma a diminuição do fluxo sanguíneo renal promove como resposta um aumento da reabsorção tubular de Na (Sódio) e a liberação de Catecolaminas e Angiotensina II, objetivando o aumento do volume intravascular (14). Também pode estar relacionada com aterosclerose de artérias renais ou ainda com a desregulação dos mecanismos de controle do fluxo renal (15).

Além destes fatores geradores de hipovolemia, o uso de medicamentos da classe AINE (anti-inflamatórios não-esteroidais), IECA (inibidores de enzima conversora de angiotensina) podem afetar de modo significativo a perfusão renal (16).

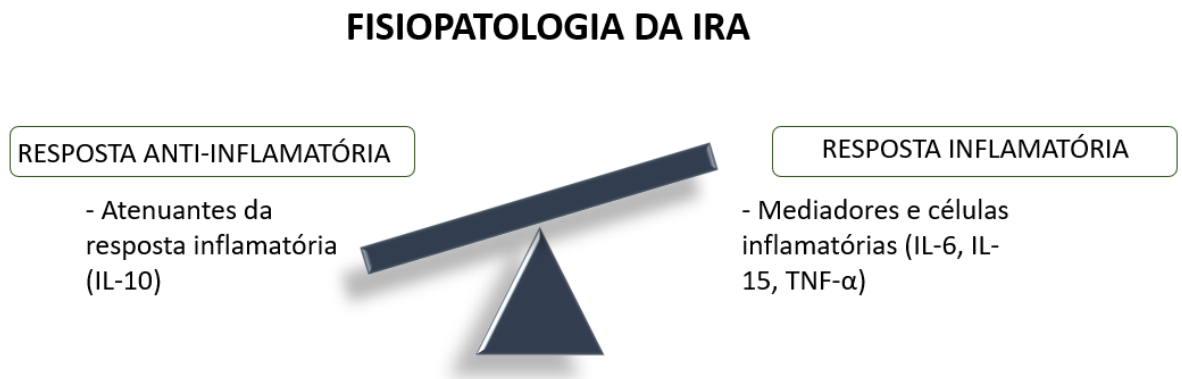
A IRA intrínseca pode ser dividida em quatro eixos de etiologias principais: Nefrite Intersticial, Doença Glomerular, Lesão Tubular e Doença vascular (15).

Na classificação da IRA pós-renal a origem da obstrução pode ter etiologias extra luminais, como nos casos de neoplasia ou fibrose retroperitoneal, ou intraluminais, como nos casos de litíase ou presença de coágulos. (15). As obstruções que causam IRA no trato inferior são mais prevalentes e geralmente estão associadas à hiperplasia benigna da próstata e distúrbios retroperitoneais. O tratamento, nestes casos, é remover a causa da obstrução promovendo uma recuperação da TFG, uma vez que muitas vezes o paciente é oligúrico e não anúrico. (15)

Independentemente da causa, a resposta inflamatória na IRA provoca uma desregulação no equilíbrio entre a resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória podendo provocar impacto sobre mediadores anabólicos e

catabólicos. Na figura 2 demonstra-se esta desregulação, com diminuição de mediadores atenuantes da resposta inflamatória, como IL-10, e aumento de mediadores da resposta inflamatória, como IL-6, IL-15 e TNF- α .

Figura 2 – Reguladores e Mediadores Inflamatórios

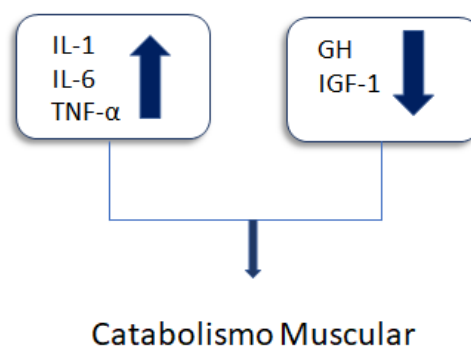


IL-10: Interleucina 10; IL-6: Interleucina 6; IL-15: Interleucina 15; TNF- α ; Fator de Necrose Tumoral-alfa.

O aumento na produção de mediadores inflamatórios como citocinas pró-inflamatórias como Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e a queda nas concentrações séricas de hormônios como GH (*Growth Hormone*) e IGF-1 (*Insulin Like Growth Factor-1*) provocam catabolismo muscular (Figura 3), diminuindo o recrutamento de células satélites no tecido muscular e consequentemente a síntese proteica, contribuindo para o desenvolvimento de perda de massa muscular esquelética e agravando os riscos de mortalidade (17).

O IGF-1 é um fator de crescimento anabólico sintetizado pelo fígado e estimulado principalmente pelo GH, mas poder ser regulado por outros fatores, dentre eles concentração de glicose e a nutrição (18). Estudos realizados em pacientes críticos, sépticos ou traumáticos, evidenciaram que alterações nas concentrações de IGF-1 e GH desencadearam catabolismo proteico (19) (20).

Figura 3 – Desregulação no Balanceamento entre a resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória e impacto na síntese protéica



IL-1: Interleucina 1; IL-6: Interleucina 6; TNF- α : Fator de Necrose Tumoral alfa; GH: Hormônio do Crescimento, do inglês Growth Hormone; IGF-1: Fator de crescimento semelhante a insulina.

1.2. Perda de massa muscular e IRA

A perda de massa muscular esquelética nos pacientes com IRA é multifatorial e também pode ter impacto negativo sobre a sobrevivência do paciente (21). O diagnóstico padrão ouro para avaliação de perda de massa muscular é realizado através da mensuração do índice de musculatura esquelética, aferição da força do punho e velocidade da marcha (22). Em estudos epidemiológicos a mensuração tem sido realizada por outros métodos como *HandGrip*, DEXA (Absorção de energia dupla por feixe de raio X, ressonância magnética e impedância bioelétrica; sendo que a presença de 2 ou mais critérios, confirmam a sarcopenia (Quadro 4) (23).

Entretanto, a detecção desta por DEXA, *Handgrip* ou marcha, pode não ser um procedimento de fácil realização em pacientes críticos internados em UTI devido sua condição clínica e imobilização no leito. Embora a DEXA para avaliação de massa muscular esquelética seja o componente diagnóstico mais relevante, sua prática na clínica pode ser prejudicada em rotinas hospitalares, seja por inexistência do equipamento ou porque pacientes graves internados em UTI, como ocorre com a maioria dos pacientes com IRA

e que têm necessidade de monitorização contínua. Além disso, *Handgrip* ou marcha, também apresentam limitações para avaliação de massa muscular nesta população.

Quadro 4 – Valores de Referência para diagnóstico de perda de massa muscular

Valores de corte frequentemente usados para uma seleção de critérios diagnósticos para sarcopenia		
Massa muscular esquelética (DEXA)	HOMENS <7.26 kg/m ²	MULHERES <5,45 kg/m ²
Handgrip	<30kg	<20Kg
Performance muscular Velocidade de marcha em 4m	<1,0m/s	

A Sarcopenia é uma síndrome caracterizada pela perda progressiva da massa muscular esquelética em idosos, com diminuição da força muscular devido ao enfraquecimento e consequente diminuição do desempenho físico, aumentando os riscos de quedas, incapacitação, hospitalização e mortalidade (24). Está associada com diversas comorbidades, como doenças crônicas, inflamação, inatividade física, anormalidades mitocondriais, diminuição de células satélites, mudanças hormonais e perdas de junções neuromusculares.

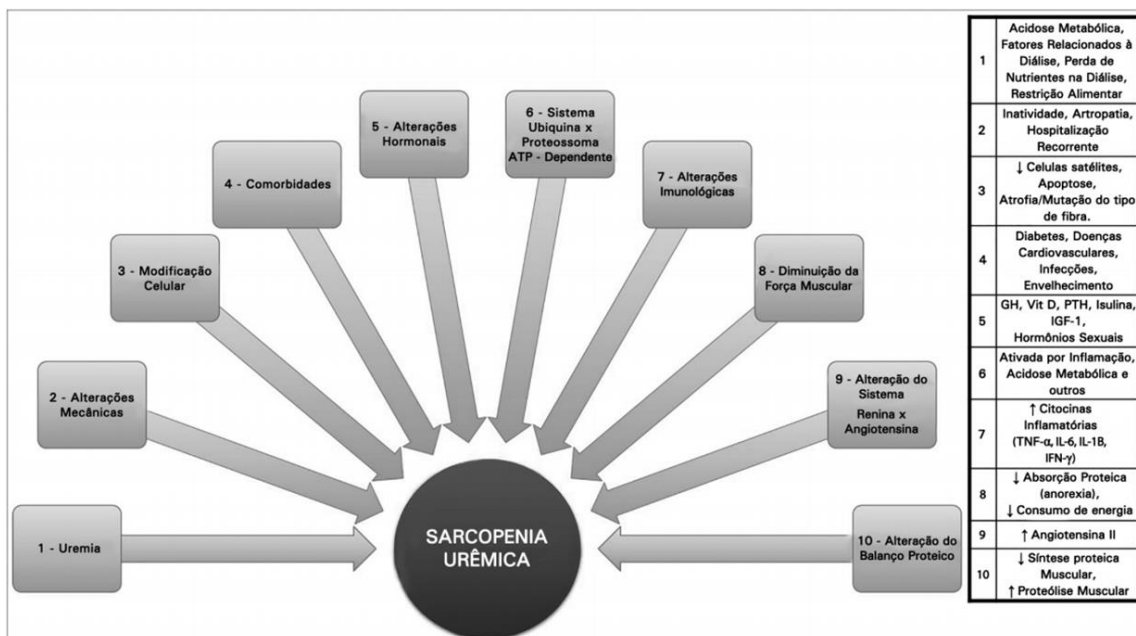
De acordo com o *European Working Group on Sarcopenia in Older People* (OWGSOP) a prevalência de Sarcopenia entre idosos é cerca de 5,3% nos homens e 13,3% nas Mulheres. Um estudo demonstrou também que a prevalência é aumentada em pacientes sob cuidados intensivos (25).

Embora a definição de sarcopenia seja uma síndrome relacionada à perda da massa muscular em idosos, a perda de massa muscular secundária

a outras doenças também tem sido relacionada como sarcopenia (26). Atualmente, têm-se sido descritos como “sarcopênicos” pacientes que apresentam diminuição da massa muscular em decorrência de resposta inflamatória, independentemente da idade. Desta forma, refere-se como sarcopenia por inflamação. Em estudo de Kim *et al*, a prevalência de perda de massa muscular foi cerca de 37% dos pacientes renais idosos em estágio final da doença renal, de acordo com escala RIFLE (27).

Sarcopenia urêmica é sugerido como um termo apropriado para descrever o processo de perda de massa muscular progressivo que ocorre na Doença Renal Crônica (DRC) (Figura 4), constituindo-se, portanto, em um alvo terapêutico com a finalidade de diminuir o impacto na qualidade e sobrevida do paciente com DRC (23).

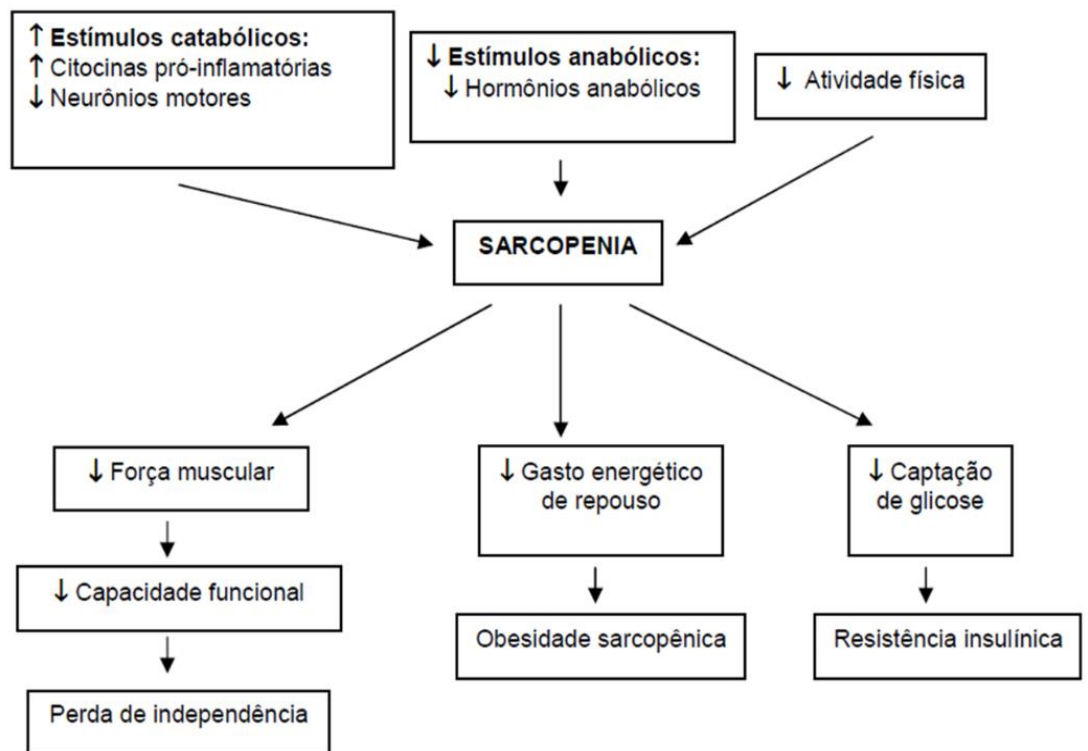
Figura 4 – Causas da Sarcopenia Urêmica



É relevante enfatizar que a uremia é doença progressiva, o que o contribui para o aumento da morbimortalidade, além dos custos hospitalares dos sistemas de saúde (23).

A diminuição da atividade física e estímulos catabólicos, como aumento de citocinas pró-inflamatórias, são elementos que contribuem para a progressão da perda de massa muscular. Na figura 5 observam-se as consequências da perda de massa muscular, de natureza primária ou secundária. A diminuição da massa muscular provoca diminuição de força, capacidade funcional e perda da independência. Já a diminuição do gasto energético de repouso resulta em obesidade, além da diminuição da captação da glicose que pode provocar resistência insulínica (28).

Figura 5 – Desfechos da perda de massa muscular



Além da inflamação, a nutrição desempenha um importante papel, tanto na manifestação quanto na progressão da perda de massa muscular. Desta forma, o *International Working Group on Sarcopenia* recomenda a mensuração de marcadores inflamatórios, nutricionais, de estresse oxidativo e hormonais como biomarcadores de perda de massa muscular (25).

Levando-se em consideração que a perda de massa muscular, independente da causa, pode ter impacto negativo sobre a sobrevivência de pacientes graves, como é o caso de pacientes com IRA, justifica-se a busca de outras estratégias para detecção precoce da perda de massa muscular. Neste aspecto, a utilização de biomarcadores séricos de massa muscular, poderia ser uma alternativa.

Neste contexto, além de marcadores inflamatórios como IL-6, citocina pró-inflamatória, outros também podem estar associados a perda de massa muscular; dentre eles o Fator de Crescimento Semelhante a Insulina 1 (IGF-1), a Miostatina, que compõe a superfamília do fator transformador de crescimento Beta (TGF- β) e Proteína C Reativa (PCR) (29) .

A Miostatina, expressa no músculo e no esqueleto adulto, é sendo secretada pelo músculo e tem papel regulador negativo na miogênese (30). Em estudo realizado com camundongos *Knockout* para Miostatina, observou-se hiperplasia, hipertrofia e aumento no número de fibras musculares (31) (32) (33). A Miostatina, sérica ou localizada no músculo, é também regulada por atividade física e estudos demonstraram que, tanto em humano quanto em animais, a atividade física pode suprimir sua expressão intramuscular e na circulação (34) (35).

Em razão dos limites para o diagnóstico clássico de perda muscular em alguns pacientes críticos, a busca de marcadores séricos nesta população pode auxiliar no tratamento precoce e contribuir para melhor sobrevida.

1. OBJETIVOS

Avaliar marcadores séricos de perda de massa muscular em pacientes com IRA internados em UTI.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. População de estudo

Foram estudados 77 pacientes graves com IRA e 83 pacientes graves sem IRA como grupo controle. Trata-se de um estudo de coorte transversal

retrospectivo. O nível sérico basal de Creatinina foi definido como o nível obtido na admissão na UTI. O soro destes pacientes foi utilizado para análise sérica dos marcadores de perda de massa muscular e marcadores inflamatórios no soro de pacientes admitidos em UTI e que desenvolveram IRA e de pacientes que não desenvolveram IRA. Os soros destes pacientes estavam armazenados e foram coletados para o estudo de estudo de “*Polimorfismo genético de pacientes graves com IRA*”, submetido ao comitê de Ética no.1520/05 da Universidade Federal de São Paulo (Anexo 1) e no. 06/381 do Hospital Israelita Albert Einstein (Anexo 2).

O material coletado estava armazenado em freezer com temperatura à - 80°C com previsão de realização de futuras investigações, conforme termo de consentimento livre e esclarecido.

Grupo Controle – pacientes graves, admitidos até 24hs, internados em UTI que não evoluíram para Injúria Renal Aguda até o 7º dia de internação no CTI.

Grupo IRA – pacientes graves, incidentes, admitidos até 24hs, internados em UTI e que evoluíram para Injúria Renal Aguda até o 7º dia de internação no CTI.

A concentração sérica de creatinina basal foi considerada como a concentração obtida no 1º. dia de admissão no CTI.

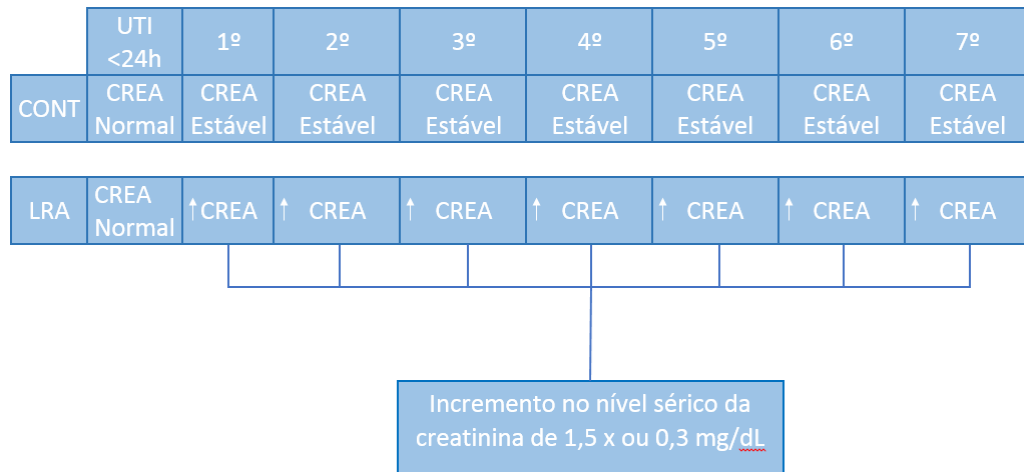
Critérios de Inclusão

Para inclusão no estudo, os indivíduos preencheram os seguintes critérios:

1. Preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, por parte do paciente, ou dos familiares ou responsáveis (somente em casos de impossibilidade do paciente). CEP Einstein 06/381 e CEP UNIFESP 1520/05.

2. Homens e mulheres maiores de 18 anos de idade.
3. Internação em UTI há menos de 24 horas com critérios de SIRS.
4. Pacientes que evoluíram para IRA no máximo em até 7 dias de acordo com os critérios AKIN “Estágio 1” (Quadro 32) e de acordo com o Fluxograma

Figura 6 - Fluxograma do desenho da amostra



O paciente do grupo CONT manteve sua creatinina sérica estável e dentro dos valores de referência, sendo sua amostra coletada no 7º dia. O paciente do grupo LRA teve sua amostra coletada no dia em houve o incremento no nível sérico da creatinina.

Critérios de Exclusão

Quaisquer dos seguintes itens foram considerados critérios de exclusão do estudo:

1. Pacientes terminais não mais considerados para medidas de reanimação.
2. Transplantados renais.
3. Pacientes com DRC.
4. Doenças degenerativas.

5. Impossibilidade de assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou por familiares.

3.2. Métodos

Foram coletados 10 ml de sangue em tubo com gel separador para obtenção de soro e após a coleta o material foi centrifugado a 3.500 rpm por 15 minutos à 4°C. Em seguida o soro foi aliquotado em criotubos e armazenados em freezer -80°C para posterior análise.

Determinação de marcadores da SIRS

A análise das concentrações plasmáticas da Proteína C Reativa (PCR) e da Albumina foram efetuadas através de kit comercial seguindo as recomendações do fabricante.

Ensaio Imuno Enzimático (ELISA) para detecção de Miostatina, IGF-1, TNF- α , IL-6, IL-10, IL-15

Os soros armazenados no freezer -80°C foram utilizados para a realização de ensaios de *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) para detecção de Miostatina, IGF-1, TNF- α , IL-6, Interleucina-15 (IL-15). Os testes de ELISA foram realizados através de Kits comerciais, de acordo com os protocolos dos fabricantes

Quadro 5 – Descrição dos ensaios de ELISA e suas respectivas sensibilidades.

ANALITO	FABRICANTE	CATÁLOGO	SENSIBILIDADE
IGF-1	R&D Systems – USA & Canada	DG100	0,056 ng/mL
TNF- α	R&D Systems – USA & Canada	HSTA00D	0,106 pg/mL
IL-15	R&D Systems – USA & Canada	D1500	2 pg/mL
IL-6	R&D Systems – USA & Canada	HS600B	0,039 pg/mL
IL-10	R&D Systems – USA & Canada	HS100C	0,09 pg/mL

3.3. Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo *software* SPSS for Windows, versão 25. O Teste Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificação da normalidade dos dados. O Teste t de Student foi utilizado para comparação entre os grupos para as variáveis com distribuição paramétrica e os resultados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão. Para testar as diferenças entre os grupos estudados, foi utilizado o Teste ANOVA *one-way* e o teste de Pearson foi utilizado para analisar as correlações entre as variáveis do estudo. Foram consideradas estatisticamente significantes diferenças menores que 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Foram avaliados 160 pacientes sendo estes divididos em dois grupos: Não IRA (n=77) e IRA (n=83). Na tabela 1 estão descritos os dados epidemiológicos dos pacientes. O score de APACHE relaciona-se com a gravidade do paciente, entretanto não foi observada diferença significativa entre os grupos. O score foi avaliado no dia do diagnóstico para o grupo IRA e dia da admissão para o grupo NÃO IRA. Não houve também diferença significativa entre os grupos nas variáveis

Sepse, óbito, HAS (Hipertensão Arterial Sistêmica), DM (Diabetes mellitus) e AVEI (Acidente Vascular Encefálico Isquêmico). Para a variável óbito foi considerado até 15 dias da data de admissão na UTI. É relevante informar que o hospital onde ocorreram as coletas é de grande porte, um dos maiores da América Latina e com avançado suporte tecnológico.

Tabela 1 - Dados epidemiológicos nos grupos controle e IRA			
	Não IRA (n = 77)	IRA (n = 83)	p
Gênero (Feminino)	33 (55%)	47 (45%)	0,11
Idade (anos)	74±14	71±13	0,56
APACHE	19±6	22±7	0,06
SEPSE	21(44%)	27(56%)	0,49
Óbito	8 (47%)	9 (53%)	0,99
HAS	36 (49%)	38 (51%)	0,99
DM	23 (30%)	18 (44%)	0,28
AVEI	12 (67%)	6 (33%)	0,13
HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica; DM: Diabetes Mellitus; AVEI; Acidente Vascular Encefálico Isquêmico.			

Na tabela 2 estão descritos os resultados de marcadores inflamatórios, bioquímicos e para sarcopenia, e observa-se que os pacientes com IRA apresentaram índices significativamente maiores de TNF- α , Miostatina, IL-6, Fósforo, CK, DHL, Cistatina C, PCR (Proteína C-reativa) e Creatinina. Já entre os valores de IGF-1, IL-10, IL-15 e Albumina, não houve diferença significativa.

Tabela 2 - Marcadores inflamatórios, bioquímicos e de sarcopenia

	Não IRA (n = 77)	IRA (n = 83)	p
TNF- α	6,96 (4,75 - 11,38)	7,46 (4,91 - 33,28)	0,01
IGF-1	0,28 (0,06 - 1,13)	0,26 (0 - 0,83)	0,66
Miostatina	25,5 (7,14 - 88)	36,95 (5,71 - 46,5)	0,01
IL-6	10,69 (2,54 - 31,69)	17,6 (3,22 - 31,69)	0,03
IL-10	0,98 (0,83 - 2,39)	1,01 (0,09 - 6,93)	0,9
IL-15	4,87 (0,76 - 7,79)	4,89 (0,09 - 55,56)	0,41
Cálcio	8,3 (4,3 - 9,8)	7,8 (5,4 - 10,5)	0,84
Fósforo	3,6 (2,2 - 7,8)	4,35 (1,6 - 11,6)	0,002
CK	54 (4 - 421)	85 (1 - 3229)	0,01
LDH	146 (74 - 563)	173,5 (52 - 984)	0,02
Vitamina D,	13,1 (4- 28)	13,1 (3 - 37)	0,07
Cistatina C	0,9(0,8-1,2)	1,5(1,1-2,2)	0,01
Albumina	3,1 $\pm$ 0,6	2,9 $\pm$ 0,,5	0,09
PCR	6,2(7,0-19,3)	6,4(1,8-15)	0,01
Creatinina	0,9 $\pm$ 0,5	1,9 $\pm$ 1,3	0,01

Ao realizar a análise de correlação na amostra, observou-se relação entre os marcadores de função renal e inflamação. O aumento de Cistatina C relacionou-se positivamente com os valores de PCR, TNF- α , IL-6, IL-15 e negativamente com o de Vitamina D e os de creatinina também positivamente com PCR, TNF- α e IL-6. A Miostatina relacionou-se positivamente com o LDH e não houve correlação entre as demais variáveis.

Tabela 3 - Tabela de Associação entre os níveis séricos de Cistatina Creatinina, Albumina, PCR, TNF- α , IGF1, Miostatina, IL-6, IL-10, IL-15, CK, LDH e Vitamina D.

		Creat	Alb	PCR	TNF- α	IGF-1	Mio	IL-6	IL-10	IL-15	CK	LDH	Vit D
Cistatina	τ	0,664	-0,79	0,291	0,532	0,155	-0,048	0,268	0,259	0,245	0,18	0,097	-0,317
	ρ	0,0001	0,361	0,001	0,0001	0,77	0,591	0,002	0,003	0,005	0,841	0,27	0,0001
Creatinina	τ	-	0,33	0,176	0,363	0,203	-0,058	0,171	0,13	0,23	0,185	0,151	-0,166
	ρ		0,678	0,028	0,0001	0,13	0,49	0,032	0,108	0,005	0,25	0,065	0,4
Albumina	τ		-	-0,225	-0,065	0,094	0,001	-0,115	-0,118	-0,064	0,002	0,03	0,166
	ρ			0,004	0,418	0,249	0,992	0,148	0,14	0,427	0,981	0,71	0,037
PCR	τ			-	0,322	0,011	-0,113	0,38	0,171	0,188	-0,46	0,007	-0,256
	ρ				0,0001	0,897	0,171	0,0001	0,033	0,019	0,577	0,929	0,001
TNF- α	τ				-	0,121	0,021	0,401	0,353	0,206	0,04	0,197	-0,28
	ρ					0,142	0,802	0,0001	0,0001	0,012	0,636	0,016	0,0001
IGF-1	τ					-	-0,115	0,108	0,062	0,027	0,35	0,162	0,225
	ρ						0,173	0,184	0,45	0,746	0,0001	0,48	0,006
Miostatina	τ						-	-0,069	-0,022	-0,022	0,008	0,354	0,187
	ρ							0,402	0,792	0,793	0,921	0,0001	0,23
IL-6	τ							-	0,257	0,108	0,108	0,202	-0,27
	ρ								0,001	0,182	0,185	0,012	0,001
IL-10	τ								-	0,234	0,13	0,2	-0,113
	ρ									0,004	0,872	0,811	0,163
IL-15	τ									-	0,22	0,122	-0,1
	ρ										0,008	0,136	0,217
CK	τ										-	0,522	0,137
	ρ											0,0001	0,095
LDH	τ											-	0,093
	ρ												0,253

5. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a perda de massa muscular através de biomarcadores que se alteram na presença de perda de massa muscular em pacientes com IRA.

Observou-se que além de mais inflamados, os pacientes com IRA apresentaram índices mais elevados de Miostatina, CK e DHL e se associaram entre si, sugerindo que estes biomarcadores poderiam ser utilizados

precocemente no diagnóstico de perda de massa muscular nesta população. A Miostatina já tem sido descrita como marcador de perda de massa muscular em pacientes com DRC, mas este é o primeiro estudo que a descreve com concentrações aumentadas em pacientes com IRA.

As mudanças no equilíbrio ácido-básico, comum em pacientes com IRA, podem induzir aumento da produção de ácido láctico, resultando em alteração da permeabilidade das membranas das células musculares, o que justificaria o aumento da CK sérica.

De fato, e já esperado, estes pacientes apresentaram maiores concentrações de TNF- α , IL-6, IL-10, IL-15, PCR. Entretanto, surpreendentemente não encontramos associações dos marcadores de inflamação com os biomarcadores de perda de massa muscular, exceto para IL-6 que se associou positivamente com DHL e IL-15 que se associou com CK, mas não com Miostatina. Os valores de DHL foram maiores no grupo IRA, havendo correlação positiva com os valores de Miostatina, IL-6 e CK, porém permaneceram dentro do intervalo de normalidade. O aumento da DHL pode ser em decorrência da perda da massa muscular, mas também pode ser em decorrência da lesão renal, já que esta enzima está presente em vários tecidos e não é específica para nenhum órgão.

A IL-6 é uma interleucina que atua como citocina pró-inflamatória, entretanto é também uma miocina reguladora da resposta de fase aguda no exercício físico. É produzida em maiores concentrações no músculo estriado esquelético. Ela também regula a migração de células-satélites com a finalidade de promover a hipertrofia muscular (36). Embora não seja marcador específico para perda de massa muscular, em estudo retrospectivo com pacientes com DRC após cirurgia cardíaca observou-se aumento significativo dos níveis séricos de IL-6 entre os

pacientes com sarcopenia diagnosticada com Bioimpedância, *Handgrip* e performance física (22).

Provavelmente a expressão de IL-15 no músculo é regulada pelo hormônio do Crescimento (GH) (37). Em estudo realizado com camundongos *Knockout* para o gene que expressa a IL-15 observou-se aumento da concentração no músculo esquelético após inativação do receptor de hormônio do crescimento (38).

O IGF-1, outro marcador catabólico, não foi diferente entre os dois grupos, mas associou-se positivamente com a proteína CK. Esta enzima tem alta concentração no músculo cardíaco e esquelético e seu aumento indica lesão muscular, entretanto a CK é inespecífica.

O fósforo apresentou maior concentração nos pacientes com IRA, como esperado quando há perda da função renal. É importante ressaltar, que o aumento das concentrações de fósforo tem sido associado como mortalidade não somente em pacientes com DRC, mas também em pacientes com IRA (39)

Observamos que ambos os grupos apresentavam hipovitaminose D, possivelmente devido a amostra ser composta por pacientes críticos, inflamados e majoritariamente composta por idosos. Entretanto, os pacientes com IRA apresentaram menor concentração de vitamina D. A atrofia muscular tem sido descrita na deficiência hipovitaminose D e influencia diretamente no fosfato muscular em ratos (40). Estudos também demonstraram que a metabólitos da Vitamina D afetam o metabolismo muscular (41).

Houve correlação negativa entre a variável e os valores de Cistatina C, PCR, TNF- α e IL-6. Embora a busca de biomarcadores séricos de perda de massa muscular ainda sejam inespecíficos, estes podem ser utilizados como instrumento adicional de manejo em pacientes críticos, como é o caso dos pacientes com IRA.

O presente estudo apresenta limitações: 1) É um estudo retrospectivo e, portanto não foi possível avaliar a perda de massa muscular direta por técnicas já padronizadas como BIA, DEXA ou *Handgrip* e 2) Os pacientes foram seguidos somente até o 15º, dia para avaliação da caracterização da IRA e não foram seguidos posteriormente para desfechos como mortalidade.

Em resumo, a IRA é uma comorbidade que está associada a altas taxas de mortalidade. A perda de massa muscular também pode contribuir para piores desfechos nestes pacientes, justificando assim a busca de biomarcadores séricos para o monitoramento da mesma em pacientes com IRA.

6. BIBLIOGRAFIA

1. HILTON R. Defining acute renal failure. *Canadian Medical Association Journal*. 2011; 183: p. 1167-9.
2. Meyer , Hostetter. Uremia. *N Engl J Med*. 2007; 357: p. 1613-1625.
3. Vaziri , Pahl , Crum A, Norris K. Effect of uremia on structure and function of immune system. *J Ren Nutr*. 2012 January; 22(1): p. 149-156.
4. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. *Kidney Int*. 2016; 89(3): p. 555-564.
5. Piccinni P, Cruz , Gramaticopolo S, Garzotto F, Dal Santo M, Aneloni G, et al. Prospective multicenter study on epidemiology of acute kidney injury in the ICU: a critical care nephrology Italian collaborative effort (NEFROINT). *Minerva anestesiologica*. 2011; 77: p. 1072-1083.
6. Mehta RL, Kellum , Shah , et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute. *Crit Care*. 2007; 11(R1).
7. Bellomo R, Kellum , Ronco C. Acute kidney injury. *Lancet*. 2012; 380: p. 756-766.
8. Ricci A, Cruz D, Ronco C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int*. 2008; 73: p. 538-546.
9. Joannidis M, Metnitz B, Bauer P, Schusterschitz N, Moreno R, Druml W, et al. Acute kidney injury in critically ill patients classified by AKIN versus RIFLE using the SAPS 3 database. *Intensive care medicine*. 2009; 35: p. 1692-1702.
10. Ward N, Casserly B, Ayala A. The Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome (CARS) in Critically ill patients. *Clin Chest Med*. 2008; 29(4): p. 617-viii.
11. Biradar V, Moran J. SIRS, Sepsis and Multiorgan Failure. In: Fitridge R, Thompson M, editors. *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. 2011; 17.
12. Lameire N, Vanholder R, Van Biesen W. Acute Renal Failure. In.: WB Saunders ; 2000.
13. Blantz R. Pathophysiology of pre-renal azotemia. *Kidney International*. 1998; 53: p. 521-513.
14. Brady , Brenner BM, Clarkson , Lieberthal W. Acute renal failure. In Brenner , Rector FCJ. *The Kidney*. Philadelphia: WB Saunders; 2000. p. 1201-1262.
15. Agrawal M, Swartz R. Acute Renal failure. *American family physician*. 2000; 61: p. 2077-2088.
16. Rosner M, Okusa M. Drug-associated acute kidney injury in the intensive care unit. In *Clinical Nephrotoxins: Renal Injury from Drugs and Chemicals*.: Springer. 2008;; p. 29-41.
17. Newman AB, Lee JS, Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Tylavsky FA. Weight change and the conservation of lean mass in old age: the Health, Aging and Body Composition Study. *Am J Clin Nutr*. 2005; 15.
18. Hajsadeghi S, Khamseh M, Gholami S, et al. IGF-I concentration and changes in critically ill patients. 2011; 16(2): p. 170-178.
19. Osterziel K, Ranke M, Strohm O, Dietz R. The somatotrophic system in patients with dilated cardiomyopathy: relation of insulin-like growth factor 1 and its alterations during growth hormone therapy to cardiac function. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000; 53(1): p. 61-68.

20. Roth J, Glick S, Yalow R, Berson SA. Secretion of human growth hormone: physiologic and experimental modification. *Metabolism*. 1963; 12: p. 544-579.
21. Basu R. Can an Innovative Approach to Existing and Novel Biomarkers Shift the Paradigm? *Nephron*. 2019.
22. Harada H, Kai H, Shibata R, Niiyama H, Nishiyama Y, Murohara T, et al. New diagnostic index for sarcopenia in. *PLoS ONE*. 2017; 12(5).
23. Souza VA, Oliveira D, Barbosa SR, Correa OdA, Colugnati FAB, Mansur HN, et al. Sarcopenia in patients with chronic kidney disease not yet on dialysis: Analysis of the prevalence and associated factors. *PLOS ONE*. 2017 April; 12(4).
24. Wue Q. The frailty syndrome: Definition and natural history. *Clin Geriatr Med*. 2011; 27: p. 1-15.
25. Cruz-Jentoft A, Baeyens J, Bauer J, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010; 39(4): p. 412-23.
26. Morley J, Kim M, Kevorkian R, Banks W. Frailty and aging male. *Aging male*. 2005; 8: p. 135-140.
27. Kim J, Choi M, Kim S, Lee Y, Noh J, et al. Prevalence of and factors associated with sarcopenia in elderly patients with end-stage renal disease. *Clin Nutr*. 2014; 33(1): p. 64-68.
28. Pierini DT, Nicola M, Oliveira EP. Sarcopenia: metabolic changes and consequences for aging. *R Bras Ci Mov*. 2009; 17(3).
29. Shaap L, Pluijm S, Deeg D, Harris T, Kritchevsky S, Newman A, et al. Higher inflammatory marker level in older persons: associations with 5-year change in muscle mass and muscle strength. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009; 64: p. 1183-1189.
30. Guo B, Zhang Z, Liang C, Li J, Liu J, Lu A, et al. Molecular Communication from Skeletal Muscle to Bone: A Review for Muscle-derived Myokines Regulation Bone Metabolism. *Calcif Tissue Int*. 2017; 100(2): p. 184-192.
31. McPherron A, Lawler A, Lee S. Regulation of Skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta super family member. *Nature*. 1997; 387(6628): p. 83-90.
32. Mosher D, Quignon P, Bustamante C, Sutter N, Mellersh C, Parker H, et al. A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLoS Genet*. 2007; 3(5).
33. Grobet L, Martin L, Poncelet D, Pirottin D, Brouwers B, Riquet J, et al. A deletion in the bovine myostatin genes causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat Genet*. 1997; 17(1): p. 71-74.
34. Saremi A, Gharakhanloo R, Shargi S, Gharaati M, Larijani B, Omidfar K. Effects of oral creatine and resistance training on serum myostatin and GASP-1. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 317(1-2): p. 25-30.
35. Hittel D, Axelson M, Sarna N, Shearer J, Huffman K, Kraus W. Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. *Med Sci Sports Exerc*. 2010; 42(11): p. 2023-2029.
36. Silva F, Macedo D. Physical exercise, inflammatory process and adaptive. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*. 2011; 13(4): p. 320-328.
37. Ye J. Beneficial metabolic activities of inflammatory cytokine. *Front Med*. 2015; 9(2): p. 139-145.

38. Vijayakumar A, Wu Y, Li X, Jeddy Z, Schwartz G, Yakar S, et al. Targeted loss of GHR signaling in mouse skeletal muscle protects against high-fat diet-induced metabolic deterioration. *Diabetes*. 2012; 61(1): p. 94-103.
39. Leaf D, Jacob K, Srivasta A, Chen M, Christov M, Juppner H, et al. Fibroblast Growth Factor 23 Levels Associate with AKI and Death in Critical Illness. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28(6): p. 1877-85.
40. Birge S, Haddad J. 25-Hydroxycholecalciferol stimulation of muscle metabolism. *J Clin Invest*. 1975; 56: p. 1100-1107.
41. Sahota O. Understanding vitamin D deficiency. *Age Ageing*. 2014; 43(5): p. 589-591.
42. Salgado A, Masevicius D, Gianassi S, San-Román JE, Silva L, Gimenez M, et al. Acute renal failure according to the RIFLE and AKIN criteria: a multicenter study. *Medicina intensiva*. 2014; 38(5): p. 271-277.
43. Suarez D, Ferrer R, Artigas A, Azkarate I, Garnacho-Montero J, Goma G, et al. Cost-effectiveness of the surviving sepsis campaign protocol for severe sepsis: a prospective nation-wide study in Spain. *Intensive Care Medicine*. 2011; 37(3): p. 444-452.
44. Salgado G, Landa M, Masevicius D, Gianassi S, San-Roman , Silva L, et al. Acute renal failure according to the RIFLE and AKIN criteria: a multicenter study. *Med Intensiva*. 2014; 38: p. 271-277.
45. Li PK, Chow KM, et al. Asian Chronic Kidney Disease (CKD) Best Practice Recommendations - Positional Statements for Early Detection of CKD from Asian Forum for CKD. *Nephrology (Carlton)*. 2011; 16: p. 633-641.
46. Chronopoulos A, Cruz D, Ronco C. Hospital-acquired acute kidney injury in the elderly. *Nat Rev Nephrol*. 2010; 6: p. 141-149.
47. Urbschat A, Obermüller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals. 2011; 16: p. S22-30.
48. Sousa A, Guerra R, Fonseca , Pichel F , Amaral T. Sarcopenia and length of hospital stay. *Eur J Clin Nutr*. 2016; 70(5): p. 595-601.
49. Hoek F, Kempermen F, Krediet R. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault for the estimation of glomerular filtration rate. 2003; 18: p. 2021-2031.
50. Susantitaphong P, Perianayagam M, Tighiouart H, Liangos O, Bonventre J, Jaber B. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism and severity of acute kidney injury. *Nephron Clin Pract*. 2013; 123(1-1): p. 67-73.
51. Wu X, Ma F, Wang X. Serological diagnostic factors for liver metastasis in patients with colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*. 2010; 16(32).
52. Goyal A, Bhimji SS. Renal Failure, Acute. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2018 Jan.
53. Lameire N, Vanholder R, Van Biesen W. Acute renal failure. *Lancet*. 2005; 365: p. 417-430.

ANEXO 1 – CEP Hospital Israelita Albert Einstein



ALBERT EINSTEIN
INSTITUTO ISRAELITA DE
ENSINO E PESQUISA

São Paulo, 03 de maio de 2006

Ref. CEP/Einstein Nº 06/381

CAAE 0001.0.028.174-06

Título: Polimorfismo genético de Citocinas: interface lípides-inflamação e sua influência na ocorrência de insuficiência renal aguda e no desfecho do paciente grave.

Investigador Principal: Dr. Marcelo Costa Batista

Ilmo. Sr.

Dr. Marcelo Costa Batista

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein **analisou e aprovou** o projeto de pesquisa supracitado, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Aproveitamos a oportunidade para orientar o pesquisador sobre os seguintes itens:

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV. 2d).
- O Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III. 3z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V. 3) que requeiram ação imediata.

ANEXO 2 – CEP UNIFESP



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 7 de julho de 2006.
CEP 1520/05

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) **MARCELO COSTA BATISTA**

Co-Investigadores: Beata Marie Redublo Quinto, Nilberto Moratti de Ávila Rocha, Miguel Cendoroglo Neto, Oscar Fernando Pavão dos Santos, Marcelino de Souza Durão Jr

Disciplina/Departamento: Nefrologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Polimorfismo genético de citocinas: interface lípidos-inflamação e sua influência e na ocorrência de insuficiência renal aguda e no desfecho do paciente grave"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção diagnóstica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: risco mínimo, desconforto leve, envolvendo coleta de sangue.

OBJETIVOS: Analisar o impacto dos polimorfismos de genes do TNF-alfa, IL-6 e IL-10, e da sua interação com o perfil das lipoproteínas, na ocorrência de insuficiência renal aguda e no desfecho do paciente grave. Caracterizar os polimorfismos de genes do TNF-alfa, IL-6 e IL-10 em uma população de pacientes internados no centro de terapia intensiva, comparando-os com uma população controle de indivíduos sem a síndrome da resposta inflamatória sistêmica.

RESUMO: O estudo tem desenho transversal, no qual serão estudados 400 pacientes internados no centro de terapia intensiva do Hospital Israelita Albert Einstein. Haverá um grupo controle constituído por 400 indivíduos da comunidade, pareados para sexo e idade. Será colhido sangue para análise da função renal, perfil lipídico, marcadores da SIRS e para extração do DNA visando estudo dos polimorfismos das citocinas TNF-alfa, IL-6 e IL-10. Para determinação de marcadores da SIRS, serão dosadas proteína C reativa e albumina.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo fundamentado, visando avaliar polimorfismos genéticos de citocinas em pacientes com insuficiência renal aguda.

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos e metodologia empregada..

TCLE: adequado.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento externo - R\$ 71 027,83.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: sem objetivo acadêmico.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 2/7/2007 e 26/6/2008.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo