

CÉLIO GERALDO DE OLIVEIRA GOMES

**ASPECTOS CLÍNICOS E ESTUDO DO PAPEL DE  
BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DE  
PACIENTES CIRRÓTICOS COM INJÚRIA RENAL AGUDA**

**Universidade Federal de Minas Gerais**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do  
Adulto**

**Belo Horizonte - MG**

**2016**

Gomes, Célio Geraldo de Oliveira.  
G633a Aspectos clínicos e estudo do papel de biomarcadores na avaliação prognóstica de pacientes cirróticos com injúria renal aguda [manuscrito]. / Célio Geraldo de Oliveira Gomes. - - Belo Horizonte: 2016.  
58f.: il.  
Orientador (a): Eduardo Garcia Vilela.  
Coorientador (a): Marcus Vinícius Melo de Andrade.  
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Cirrose Hepática. 2. Biomarcadores. 3. Prognóstico. 4. Lesão Renal Aguda. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Vilela, Eduardo Garcia. II. Andrade, Marcus Vinícius Melo de. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WI 725

# **CÉLIO GERALDO DE OLIVEIRA GOMES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Garcia Vilela  
Co-orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Melo de Andrade

**Belo Horizonte, MG**

**2016**

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

### **Reitor**

Jaime Arturo Ramirez

### **Vice-Reitora**

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

### **Pró-Reitora de Pós-Graduação**

Profa. Denise Maria Trombert de Oliveira

### **Pró-Reitora de Pesquisa**

Profa. Adelina Martha dos Reis

## **FACULDADE DE MEDICINA**

### **Diretor**

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

### **Chefe do Departamento de Clínica Médica**

Profa. Valéria Maria Augusto

## **PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO**

### **Coordenador**

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

### **Subcoordenador**

Profa. Suely Meireles Rezende

### **Colegiado**

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Prof. Paulo Caramelli

Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade

Profa. Rosângela Teixeira

Profa. Gilda Aparecida Ferreira

Profa. Suely Meireles Rezende

Mônica Maria Teixeira (Discente Titular)



Dedico este trabalho aos meus pais, Célio e Rosa,  
meus eternos mestres, que sempre me apoiaram  
incondicionalmente em todos os momentos da  
minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Meus sinceros agradecimentos ao meu orientador e, sobretudo, amigo, Prof. Dr. Eduardo Garcia Vilela, a quem admiro e sou eternamente grato pela vivência do aprendizado, confiança e cordialidade singular.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Marcus Vinicius Melo de Andrade, pela disponibilidade, orientação e apoio nas dosagens das citocinas inflamatórias.

Aos professores, preceptores, colegas e amigos do Instituto Alfa de Gastroenterologia, pela agradável convivência e pela contribuição direta ou indireta a este trabalho, e em especial ao Prof. Dr. Aloísio Sales de Cunha e Prof. Dra. Maria de Lourdes de Abreu Ferrari, pelos ensinamentos recebidos durante a minha residência em Gastroenterologia.

Aos residentes de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, Ludmila, Henrique, Roberto e Fernando, pela colaboração na seleção dos casos no Pronto Atendimento e nas enfermarias.

Aos acadêmicos Guilherme, Natália e Thayana, pela dedicação e disponibilidade para a coleta, processamento e armazenamento das amostras de sangue dos pacientes.

Aos pacientes que participaram desse estudo, em especial aqueles que doaram as amostras sanguíneas para as dosagens das citocinas.

“Concede-me a acuracidade para entender, a capacidade de reter, a sutileza de relevar, a facilidade de aprender, a graça abundante de falar e de escrever. Ensina-me a começar, regeme a continuar e perseverar até o término. Vós que sois verdadeiro Deus e verdadeiro homem, que vive e reina pelos séculos dos séculos”.

São Tomás de Aquino

## **Lista de abreviaturas e siglas**

ACLF – Acute on Chronic Liver Failure

AKI – Acute Kidney Injury

AKIN – Acute Kidney Injury Network

CLIF-SOFA – Chronic Liver Failure - Sequential Organ Failure Assessment

HMGB1 – High Mobility Group Box 1

ICA – International Club of Ascites

IL- 6 – Interleucina 6

IRA – Injúria Renal Aguda

MELD – Model for End Stage Liver Disease

PMAD – Padrões Moleculares Associados a Dano

PMAP – Padrões Moleculares Associados a Patógenos

RRP – Receptores de Reconhecimento de Padrões

TLR-4 – Receptor Toll-like 4

## SUMÁRIO

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| 1. TÍTULO .....                                              | 11  |
| 2. CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....                              | 11  |
| 2.1. Introdução .....                                        | 11  |
| 2.2. Revisão da Literatura.....                              | 11  |
| 2.3. Referências Bibliográficas .....                        | 14  |
| 3. OBJETIVOS .....                                           | 17  |
| 3.1. Objetivo Geral .....                                    | 17  |
| 3.2. Objetivos Específicos.....                              | 17  |
| 4. PACIENTES E MÉTODOS.....                                  | 17  |
| 4.1. Desenho do Estudo .....                                 | 17  |
| 4.2 Definição de Cirrose .....                               | 19  |
| 4.3 Definição da Injúria Renal Aguda .....                   | 19  |
| 4.4. Causas de Injúria Renal Aguda .....                     | 20  |
| 4.4.1. Infecções .....                                       | 20  |
| 4.4.2. Hipovolemia .....                                     | 20  |
| 4.4.3. Nefropatia parenquimatosa.....                        | 20  |
| 4.4.4. Síndrome hepatorenal .....                            | 21  |
| 4.4.5. Miscelânea .....                                      | 21  |
| 4.4.6. Causas Mistas .....                                   | 21  |
| 4.5. Dosagens da HMGB1 e IL-6 .....                          | 21  |
| 4.6. Análise Estatística.....                                | 21  |
| 5. ARTIGO 1 .....                                            | 23  |
| 6. ARTIGO 2.....                                             | 41  |
| 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....                                 | 43  |
| APÊNDICES.....                                               | 598 |
| Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido..... | 598 |

## 1. TÍTULO

Aspectos Clínicos e Estudo do Papel de Biomarcadores na Avaliação Prognóstica de Pacientes Cirróticos com Injúria Renal Aguda.

## 2. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### 2.1. Introdução

A injúria renal aguda (IRA), complicação frequente da cirrose hepática, acomete cerca de 20% dos pacientes cirróticos internados (1). A mortalidade estimada desses pacientes é em torno de 60% em um mês e de 65% em um ano (2). A IRA também se constitui em fator predisponente importante para outros eventos e se relaciona à redução da sobrevida em pacientes submetidos ao transplante hepático, quando comparados àqueles sem IRA (3, 4). No nosso meio, os dados referentes à incidência e ao prognóstico da IRA ainda são escassos (5).

A principal causa de IRA na cirrose são as infecções bacterianas, que acentuam a disfunção circulatória do cirrótico por meio da indução de resposta inflamatória sistêmica exacerbada (1, 6). Entre os mediadores inflamatórios desse processo, destacam-se a *High Mobility Group Box 1* (HMGB1) e a interleucina 6 (IL-6) (7, 8). Entretanto, o papel desses biomarcadores no prognóstico de pacientes cirróticos com IRA ainda não é conhecido.

### 2.2. Revisão da Literatura

O conceito de IRA tem sido utilizado por diversas sociedades de Nefrologia e Terapia Intensiva com o intuito de descrever todo o espectro da insuficiência renal aguda, permitindo aos pacientes que, mesmo com pequenos incrementos nos níveis séricos de creatinina, possam ser abordados de maneira adequada e precoce. Nesse sentido, em 2007, um grupo de trabalho formado por pesquisadores internacionais denominado de *Acute Kidney Injury Network* (AKIN) redefiniu o conceito da IRA com o objetivo de se uniformizar os critérios diagnósticos da doença (9). Por meio de pequenas modificações da classificação de RIFLE (*R-Risk, I-Injury, F-Failure, L-Loss, E-End-stage*) (10), definiu-se a IRA como aumento da creatinina de pelo menos 0,3mg/dL ou elevação de 50% de seu valor basal, ocorrido em um

período de 48h, ou redução do débito urinário a valores inferiores a 0,5mL/kg/h por, pelo menos, 6 horas. Além disso, foi dividida em três estágios, AKIN 1, 2 e 3, de acordo com o grau de disfunção renal. Apesar dos critérios de RIFLE terem sido previamente validados como bons preditores de sobrevida na população geral e em pacientes cirróticos em unidade de terapia intensiva (11, 12), o novo conceito de IRA passou a ser aplicado nos pacientes cirróticos em geral, sobretudo a partir de 2011, após publicação do consenso do *International Club of Ascites* (ICA) (13), que fez pequenas alterações na definição da IRA, incluindo a eliminação do débito urinário como critério diagnóstico. Desde então, vários estudos correlacionaram o diagnóstico de IRA com a sobrevida de pacientes cirróticos externos e internados, sendo a mortalidade diretamente proporcional à progressão para estágios maiores de disfunção renal (5, 14-17). Entretanto, apesar dos critérios da AKIN terem sido incorporados no manuseio do paciente cirrótico, persistiam questionamentos acerca de qual creatinina basal seria considerada para seu diagnóstico (18). Nesse sentido, em 2015, o ICA revisou os critérios diagnósticos da IRA na cirrose e definiu o nível sérico da creatinina basal como um valor estável de creatinina nos sete dias anteriores ao suposto diagnóstico da IRA ou, na ausência desse, como qualquer valor nos últimos três meses, acrescentando, também, os conceitos de progressão e regressão de estágios, e de resposta ao tratamento (Tabela 1)(19).

Tabela 1. Classificação e Definições da IRA segundo ICA-AKI

| Estágio ICA-AKI                                                                                                  | Creatinina Sérica                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Estágio 1                                                                                                        | Aumento $\geq$ 0,3mg/dL ou uma elevação de 1,5 a 2 vezes o seu valor basal                                                                      |
| Estágio 2                                                                                                        | Aumento > que 2 vezes até 3 vezes o seu valor basal                                                                                             |
| Estágio 3                                                                                                        | Aumento > que 3 vezes o seu valor basal ou um valor $\geq$ 4mg/dL após uma elevação de pelo menos 0,5mg/dL, ou necessidade de terapia dialítica |
| <b>Progressão:</b> passagem para um estágio maior ou necessidade de hemodiálise                                  |                                                                                                                                                 |
| <b>Regressão:</b> passagem para um estágio menor                                                                 |                                                                                                                                                 |
| <b>Resposta ao tratamento:</b>                                                                                   |                                                                                                                                                 |
| Completa: retorno para um valor de creatinina inferior a 0,3mg/dL da basal                                       |                                                                                                                                                 |
| Incompleta: regressão de um estágio ICA-AKI com a redução de um valor de creatinina superior a 0,3mg/dL da basal |                                                                                                                                                 |
| Ausente: sem regressão da IRA.                                                                                   |                                                                                                                                                 |

IRA = Injúria Renal Aguda; ICA = International Club of Ascites;  
AKI = Acute Kidney Injury

A IRA está diretamente associada à disfunção circulatória do cirrótico, fenômeno cujo principal fator desencadeante é a vasodilatação arterial esplâncnica secundária à hipertensão portal (20). Para compensar a perda inicial da volemia arterial efetiva, sistemas neuro-hormonais contrarreguladores são ativados e produzem substâncias tais como renina, angiotensina, aldosterona, adrenalina, noradrenalina e hormônio antidiurético. Dessa maneira, ocorre tentativa de restaurar o volume intravascular por meio da retenção de sódio e de líquidos, aumento da resistência vascular periférica e do débito cardíaco, caracterizando-se, assim, a circulação hiperdinâmica da cirrose (21). Entretanto, à medida que a doença e a disfunção circulatória progridem, os mesmos mecanismos contrarreguladores não somente perdem a capacidade de compensar a vasodilatação esplâncnica e sistêmica, como também se tornam responsáveis pelas complicações da cirrose avançada, por meio da retenção exagerada de líquidos, manifestada por ascite, pela hipoperfusão tecidual acentuada em diversos órgãos, resultante da ativação dos sistemas vasoconstritores, e pela insuficiência cardíaca de alto débito (21, 22). Neste estágio de evolução da doença, pode ocorrer, além da IRA, insuficiência hepática crônica agudizada, encefalopatia hepática, dismotilidade intestinal e insuficiência adrenal aguda (23).

Ainda que a evolução para níveis mais avançados de disfunção renal na cirrose possa ocorrer sem fatores predisponentes pontuais, a hipovolemia, na maioria das vezes secundária à hemorragia digestiva e ao uso de diuréticos, e a vasodilatação secundária às infecções bacterianas, que acentuam a perda da volemia arterial efetiva e a hipoperfusão renal, habitualmente estão presentes (21, 24). A expressão máxima da disfunção renal no paciente cirrótico é denominada síndrome hepatorenal, forma especial de injúria renal pré-renal que não responde à expansão volêmica (20, 25).

A circulação hiperdinâmica, entretanto, não deve ser considerada um fenômeno isolado na fisiopatologia da disfunção renal (7). De fato, a IRA, assim como outras formas de disfunção orgânica na cirrose, podem acontecer mesmo sem a progressão da disfunção circulatória porque resultam, também, da interação complexa entre o sistema imune inato e componentes bacterianos – também chamados de padrões moleculares associados a patógenos (PMAPs) – translocados do lúmen intestinal, e antígenos provenientes de células apoptóticas – padrões moleculares associados a dano (PMADs) (26, 27). Uma vez ligados aos receptores de reconhecimento de padrões (RRPs), os PMAPs e PMADs ativam várias cascatas de sinalização intracelular e extracelular, produzindo respostas pró-inflamatórias que, quando excessivas ou crônicas, podem causar dano tecidual (7, 28). Assim, deve-se interpretar a IRA

na cirrose como uma complicação resultante não somente da vasodilatação arterial, mas também de inflamação sistêmica exacerbada (7).

Entre os diversos mediadores de estados inflamatórios agudos ou crônicos que acentuam a vasodilatação sistêmica e que se associam com a IRA, destacam-se a HMGB1 e a IL-6 (29). A HMGB1, um tipo de PMAD, é proteína nuclear pró-inflamatória secretada ativamente por células do sistema imune inato e liberada durante fenômenos de apoptose, incluindo hepatócitos em processo de morte celular (30). Ao interagir com o receptor *toll-like* 4 (TLR-4) – um tipo de RRP transmembrana –, em uma de suas várias vias de sinalização, a HMGB1 induz a ativação do fator nuclear kappa B, produzindo respostas imunoestimulantes por meio da transcrição de genes pró-inflamatórios, incluindo o fator de necrose tumoral, a interleucina-1 e, por fim, a IL-6 (31). Da mesma forma, a HMGB1 pode se acumular no tecido renal e na urina, estimulando a produção de citocinas inflamatórias, incluindo a IL-6, por meio da interação com receptores TLR-4 (32). Níveis elevados de receptores TLR-4 são encontrados em células tubulares renais de pacientes cirróticos com IRA (33), sugerindo que esses receptores possam mediar injúria renal no contexto de infecção ou inflamação sistêmica.

### 2.3. Referências Bibliográficas

1. Garcia-Tsao G, Parikh CR, Viola A. Acute kidney injury in cirrhosis. *Hepatology*. 2008;48(6):2064-77.
2. Fede G, D'Amico G, Arvaniti V, Tsochatzis E, Germani G, Georgiadis D, et al. Renal failure and cirrhosis: a systematic review of mortality and prognosis. *J Hepatol*. 2012;56(4):810-8.
3. Weismuller TJ, Prokein J, Becker T, Barg-Hock H, Klempnauer J, Manns MP, et al. Prediction of survival after liver transplantation by pre-transplant parameters. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43(6):736-46.
4. Sharma P, Schaubel DE, Guidinger MK, Merion RM. Effect of pretransplant serum creatinine on the survival benefit of liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009;15(12):1808-13.
5. de Carvalho JR, Villela-Nogueira CA, Luiz RR, Guzzo PL, da Silva Rosa JM, Rocha E, et al. Acute kidney injury network criteria as a predictor of hospital mortality in cirrhotic patients with ascites. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46(3):e21-6.
6. Martin-Llahi M, Guevara M, Torre A, Fagundes C, Restuccia T, Gilabert R, et al. Prognostic importance of the cause of renal failure in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*. 2011;140(2):488-96 e4.
7. Bernardi M, Moreau R, Angeli P, Schnabl B, Arroyo V. Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. *J Hepatol*. 2015;63(5):1272-84.

8. Arroyo V, Moreau R, Jalan R, Gines P, Study E-CCC. Acute-on-chronic liver failure: A new syndrome that will re-classify cirrhosis. *J Hepatol.* 2015;62(1 Suppl):S131-43.
9. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care.* 2007;11(2):R31.
10. Kellum JA, Mehta RL, Angus DC, Palevsky P, Ronco C, Workgroup A. The first international consensus conference on continuous renal replacement therapy. *Kidney Int.* 2002;62(5):1855-63.
11. Cholongitas E, Calvaruso V, Senzolo M, Patch D, Shaw S, O'Beirne J, et al. RIFLE classification as predictive factor of mortality in patients with cirrhosis admitted to intensive care unit. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24(10):1639-47.
12. Ricci Z, Cruz D, Ronco C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. *Kidney Int.* 2008;73(5):538-46.
13. Wong F, Nadim MK, Kellum JA, Salerno F, Bellomo R, Gerbes A, et al. Working Party proposal for a revised classification system of renal dysfunction in patients with cirrhosis. *Gut.* 2011;60(5):702-9.
14. Scott RA, Austin AS, Kolhe NV, McIntyre CW, Selby NM. Acute kidney injury is independently associated with death in patients with cirrhosis. *Frontline Gastroenterol.* 2013;4(3):191-7.
15. Belcher JM, Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Bhogal H, Lim JK, Ansari N, et al. Association of AKI with mortality and complications in hospitalized patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2013;57(2):753-62.
16. Tsien CD, Rabie R, Wong F. Acute kidney injury in decompensated cirrhosis. *Gut.* 2013;62(1):131-7.
17. Wong F, O'Leary JG, Reddy KR, Patton H, Kamath PS, Fallon MB, et al. New consensus definition of acute kidney injury accurately predicts 30-day mortality in patients with cirrhosis and infection. *Gastroenterology.* 2013;145(6):1280-8 e1.
18. Wong F. The evolving concept of acute kidney injury in patients with cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;12(12):711-9.
19. Angeli P, Gines P, Wong F, Bernardi M, Boyer TD, Gerbes A, et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *J Hepatol.* 2015;62(4):968-74.
20. Arroyo V, Colmenero J. Ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis: pathophysiological basis of therapy and current management. *J Hepatol.* 2003;38 Suppl 1:S69-89.
21. Ruiz-del-Arbol L, Monescillo A, Arocena C, Valer P, Gines P, Moreira V, et al. Circulatory function and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology.* 2005;42(2):439-47.
22. Wong F. Cirrhotic cardiomyopathy. *Hepatol Int.* 2009;3(1):294-304.

23. Arroyo V, Fernandez J. Management of hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7(9):517-26.
24. Wong F. Recent advances in our understanding of hepatorenal syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(7):382-91.
25. Salerno F, Gerbes A, Gines P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut.* 2007;56(9):1310-8.
26. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010;11(5):373-84.
27. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol.* 2011;30(1):16-34.
28. Medzhitov R, Schneider DS, Soares MP. Disease tolerance as a defense strategy. *Science.* 2012;335(6071):936-41.
29. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. *Kidney Int.* 2016;89(3):555-64.
30. Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(4):331-42.
31. Park JS, Svetkauskaite D, He Q, Kim JY, Strassheim D, Ishizaka A, et al. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem.* 2004;279(9):7370-7.
32. Zheng S, Pan Y, Wang C, Liu Y, Shi M, Ding G. HMGB1 Turns Renal Tubular Epithelial Cells into Inflammatory Promoters by Interacting with TLR4 During Sepsis. *J Interferon Cytokine Res.* 2016;36(1):9-19.
33. Shah N, Mohamed FE, Jover-Cobos M, Macnaughtan J, Davies N, Moreau R, et al. Increased renal expression and urinary excretion of TLR4 in acute kidney injury associated with cirrhosis. *Liver Int.* 2013;33(3):398-409

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Estudar fatores associados ao prognóstico de pacientes cirróticos com IRA, internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- ✓ Avaliar a sobrevida em 30 dias e em três meses;
- ✓ Identificar fatores clínicos e laboratoriais associados à mortalidade;
- ✓ Avaliar o comportamento da IL-6 e da HMGB-1 como biomarcadores da evolução clínica e mortalidade.

### **4. PACIENTES E MÉTODOS**

#### **4.1. Desenho do Estudo**

Trata-se de estudo prospectivo, observacional, em que foram incluídos pacientes cirróticos com idade superior a 18 anos, internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que apresentaram diagnóstico de IRA à admissão ou em qualquer momento da sua internação (ver definições). Os critérios de exclusão foram: tratamento dialítico anterior à admissão, transplante renal ou hepático prévio e malignidade (exceto carcinoma hepatocelular).

Foram selecionados 52 pacientes, entre outubro de 2011 e setembro de 2015. Três foram excluídos na análise de sobrevida por terem sido submetidos ao transplante hepático durante o período de acompanhamento. Assim, 49 pacientes foram incluídos na análise de sobrevida em um mês. Um deles perdeu o seguimento e não foi incluído na análise de sobrevida em três meses (figura 1). Os pacientes que foram selecionados a partir de abril de 2014 foram submetidos às dosagens de HMGB1 e IL-6, totalizando 25 casos.

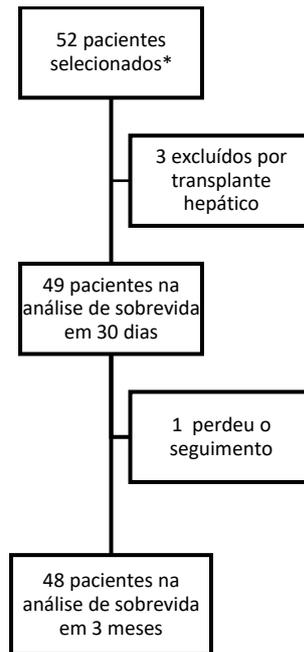


Figura 1. Universo amostral, exclusões, perdas e número final de participantes

\*Vinte e cinco pacientes foram submetidos às dosagens de HMGB1 e IL-6.

Uma vez identificada IRA, os pacientes eram submetidos à revisão cuidadosa da história clínica, exame físico completo, coleta de exames laboratoriais (hemograma, sódio, potássio, cloro, magnésio, glicose, enzimas hepáticas, albumina, bilirrubinas, atividade de protrombina com RNI, tempo de tromboplastina parcial ativada, sódio urinário, creatinina urinária, uréia urinária e urina rotina, além de hemocultura, urocultura e estudo do líquido ascítico, se presente, por meio da realização da citometria com contagem diferencial de leucócitos, dosagem de lactato desidrogenase, albumina, proteínas totais e cultura em balão de hemocultura) e realização de ultrassonografia de abdome total, no intuito de se estabelecer sua etiologia. O manejo da IRA seguiu o protocolo de atendimento utilizado pelo Serviço de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que incluía as seguintes condutas: (1) suspensão de todas as drogas que pudessem estar relacionadas ao quadro de IRA, especialmente os diuréticos; (2) expansão volêmica de acordo com a causa e o grau de disfunção renal (pacientes com IRA ICA-AKI 1 receberam cloreto de sódio 0,9%, na dose de 40 a 60ml/kg por dia, ou albumina humana 20%, na dose de 0,5g/kg/dia, por 48h, e aqueles com ICA-AKI 2 e 3 receberam albumina humana 20%, na dose de 1g/kg/dia, também por 48 horas, ou concentrado de hemácias se a hemoglobina estivesse em valores abaixo de 7 ou 8g/dL, nos casos de hemorragia digestiva); (3) na

presença de infecção, antibióticos eram administrados; (4) ao diagnóstico de síndrome hepatorenal do tipo 1, além da albumina humana 20%, no total de 30 gramas/dia, os pacientes também recebiam terlipressina ou noradrenalina.

Durante o período de internação, dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram coletados para a investigação dos fatores preditivos de mortalidade. As variáveis demográficas incluíram idade e gênero; as variáveis clínicas, os escores de Child-Pugh, MELD, MELD-Na, estágio ICA-AKI, resposta ao tratamento e a presença de ascite e encefalopatia hepática. As variáveis laboratoriais foram a creatinina, albumina, bilirrubina total, RNI, proteína C reativa e sódio, além da HMGB1 e IL-6, todas coletadas em amostras de sangue no momento do diagnóstico da IRA.

O desfecho primário foi a mortalidade em 30 dias e em 3 meses.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais e os pacientes que aceitaram participar do trabalho assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

## 4.2 Definição de Cirrose

O diagnóstico de cirrose baseou-se na biópsia hepática, quando disponível, ou pela combinação de achados clínicos, laboratoriais, endoscópicos e de imagem compatíveis com a doença.

## 4.3 Definição da Injúria Renal Aguda

Para a definição da IRA, foram adotados os critérios propostos pela *Acute Kidney Injury Network (AKIN)*<sup>1</sup>, que foram revisados posteriormente pelo *International Club of Ascites (ICA)*<sup>2</sup>(Tabela 1). O estágio 1 foi ainda subdividido em 1a e 1b, para valores de creatinina menores ou iguais a 1,5mg/dL e maiores do que 1,5mg/dL, respectivamente, conforme proposto por Fagundes *et al.*<sup>3</sup> Apenas os valores de creatinina sérica foram considerados para o diagnóstico, uma vez que a mensuração do débito urinário estava

---

<sup>1</sup> Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.

<sup>2</sup> Angeli P, Gines P, Wong F, Bernardi M, Boyer TD, Gerbes A, et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *J Hepatol*. 2015;62(4):968-74.

<sup>3</sup> Fagundes C, Barreto R, Guevara M, Garcia E, Sola E, Rodriguez E, et al. A modified acute kidney injury classification for diagnosis and risk stratification of impairment of kidney function in cirrhosis. *J Hepatol*. 2013;59(3):474-81.

frequentemente indisponível. A presença de dois valores de creatinina, com uma diferença de pelo menos 0,3mg/dL, em 48h, ou elevação de pelo menos 50% do seu valor basal foram utilizados para o diagnóstico de IRA. A creatinina basal foi definida como o valor mais recente e estável, anteriormente à admissão hospitalar, em um intervalo máximo de três meses. Portanto, a despeito de o estudo ter se iniciado em 2011, foi utilizado como critério diagnóstico de IRA o valor da creatinina basal conforme proposto pelo Consenso mais recente do ICA.

#### **4.4. Causas de Injúria Renal Aguda**

Os pacientes foram classificados, sob o ponto de vista etiológico da IRA, em seis grupos.

##### **4.4.1. Infecções**

A peritonite bacteriana espontânea foi definida pela presença de pelo menos 250 leucócitos polimorfonucleares por mm<sup>3</sup> na análise do líquido ascítico, na ausência de fonte de infecção da cavidade peritoneal. A bacteremia espontânea foi definida na vigência de hemoculturas positivas e na ausência de fonte de infecção. Pneumonia, infecção do trato urinário, infecção de pele e partes moles foram definidas segundo critérios diagnósticos já bem determinados na prática clínica.

##### **4.4.2. Hipovolemia**

A IRA foi considerada secundária à hipovolemia quando os pacientes apresentavam história compatível com perda de fluidos corporais nos dias anteriores ao diagnóstico, como, por exemplo, uso de diuréticos em doses maiores que as habituais, paracentese de alívio e hemorragia digestiva, na ausência de outras causas possíveis, associado a pelo menos um destes critérios: elevação da relação entre os níveis séricos de uréia e creatinina a valores maiores que 40, sódio urinário menor que 10mEq/L, fração de excreção do sódio urinário menor que 1% e fração de excreção da uréia menor que 35%.

##### **4.4.3. Nefropatia parenquimatosa**

A nefropatia foi definida pela presença de relação proteína/creatinina maior que 0,3, ou sedimento urinário anormal com mais do que 50 hemácias por campo de grande aumento, ou por achados anormais à ultrassonografia renal.

#### **4.4.4. Síndrome hepatorenal**

A síndrome hepatorenal foi definida segundo os critérios propostos pelo ICA, em 2007<sup>4</sup>: cirróticos com ascite; creatinina superior a 1,5mg/dL; ausência de resposta à expansão volêmica com albumina, na dose de 1g/kg por pelo menos 48h; ausência de choque; ausência do uso de drogas nefrotóxicas e de nefropatia parenquimatosa. Esses critérios foram utilizados ao invés dos critérios mais recentes do referido grupo de estudos<sup>5</sup> porque os últimos foram publicados quando a maior parte dos pacientes já havia sido incluída no presente estudo.

#### **4.4.5. Miscelânea**

Esse grupo incluiu as causas da IRA que não puderam ser enquadradas em nenhuma das categorias anteriores.

#### **4.4.6. Causas Mistas**

Os pacientes eram incluídos nesse grupo quando apresentaram mais de uma causa de IRA.

### **4.5. Dosagens da HMGB1 e IL-6**

As coletas de sangue periférico para as dosagens da HMGB1 e da IL-6 foram realizadas ao diagnóstico da IRA. Os dois biomarcadores foram dosados pelo método de ELISA (HMGB1 ELISA ST51011, IBL International GmbH, Alemanha, e Human IL-6 DuoSet ELISA, R&D Systems, Estados Unidos). As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -80°C.

### **4.6. Análise Estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS para Windows versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). As variáveis numéricas foram avaliadas quanto à normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) para a seleção da apresentação dos dados. As variáveis categóricas foram apresentadas sob a forma de percentuais. As variáveis foram comparadas utilizando-se o teste t de Student ou Mann-Whitney (de acordo com a distribuição dos dados) e qui-quadrado (ou teste exato de Fisher, quando apropriado). Foi realizada a

---

<sup>4</sup> Salerno F, Gerbes A, Gines P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. Gut. 2007;56(9):1310-8.

<sup>5</sup> Angeli P, Gines P, Wong F, Bernardi M, Boyer TD, Gerbes A, et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. J Hepatol. 2015;62(4):968-74.

análise univariada para determinar os fatores associados com a mortalidade em 30 dias e em 3 meses. As variáveis com  $p < 0,2$  obtidas por meio da análise univariada foram incluídas nas análises de regressão de Cox. O ajuste do modelo de regressão de Cox foi verificado pelo teste de Deviance ( $p > 0,05$ ). O nível de significância foi fixado em 5%. As curvas de sobrevida foram obtidas a partir da análise de Kaplan-Meier.

## 5. ARTIGO 1

### **Aspectos Clínicos e Avaliação Prognóstica de Pacientes Cirróticos Internados com Injúria Renal Aguda**

Célio Geraldo de Oliveira Gomes<sup>1</sup>; Marcus Vinicius Melo de Andrade<sup>2</sup>; Ludmila Resende Guedes<sup>2</sup>, Henrique Carvalho Rocha<sup>2</sup>, Roberto Gardone Guimarães<sup>2</sup>, Fernando Antônio Castro Carvalho<sup>2</sup>, Eduardo Garcia Vilela<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

<sup>2</sup> Instituto Alfa de Gastroenterologia, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

#### **Correspondência para:**

Célio Geraldo de Oliveira Gomes

Rua Sergipe, 472, apto 705, Centro, Belo Horizonte –MG. CEP 30130-170

Telefone: (31)3409 9403

E-mail: celiogog@hotmail.com

## Resumo

**Introdução:** A injúria renal aguda (IRA) acomete cerca de 20% dos cirróticos a nível hospitalar. A mortalidade estimada desses pacientes é em torno de 60% em um mês e de 65% em um ano. A IRA também se constitui em fator predisponente importante para outros eventos e se relaciona à redução da sobrevida em pacientes submetidos ao transplante hepático, quando comparados àqueles sem IRA. **Objetivos:** avaliar a sobrevida em 30 dias e em três meses de pacientes cirróticos hospitalizados com IRA, identificando fatores clínicos e laboratoriais associados à mortalidade. **Métodos:** foram incluídos 49 pacientes cirróticos com idade superior a 18 anos, internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que apresentaram IRA, segundo os critérios do International Club of Ascites (ICA-AKI), à admissão ou em qualquer momento da sua internação. Dados clínicos e laboratoriais foram coletados ao diagnóstico entre outubro de 2011 e setembro de 2015. **Resultados:** a média de idade foi de 54,7 ( $\pm 10,8$ ) anos e 69,4% eram do gênero masculino. A média dos escores MELD, MELD-Na e de Child-Pugh foi de 21,7 ( $\pm 7,2$ ), 24,4 ( $\pm 6,9$ ) e 10,1 ( $\pm 2,2$ ), respectivamente. Vinte e oito pacientes (57,1%) apresentaram-se em IRA estágio 1, 16 (32,7%) em estágio 2 e cinco (10,2%) em estágio 3. Entre as causas de IRA, as infecções foram responsáveis por 21 (42,9%) casos, a hipovolemia por 15 (30,6%), a síndrome hepatorenal por quatro (8,2%), causas mistas por quatro (8,2%) e nefropatia parenquimatosa por dois (4,1%). A mortalidade foi de 28,6% em 30 dias e de 44,9% em três meses. Na análise multivariada, as variáveis que foram associadas de maneira independente à mortalidade foram a ausência de resposta ao tratamento expansor e o escore de Child-Pugh. A mortalidade foi de 93,3% em três meses entre os não respondedores, contra 28,6% entre os que responderam à expansão volêmica ( $p < 0,0001$ ). **Conclusão:** a IRA na cirrose tem mau prognóstico em curto e em médio prazo, especialmente nos pacientes com cirrose avançada e naqueles que não respondem à expansão volêmica.

**Palavras-chave:** cirrose hepática; injúria renal aguda; prognóstico.

## Introdução

A injúria renal aguda (IRA), complicação frequente da cirrose hepática, acomete cerca de 20% dos pacientes cirróticos internados (1). A mortalidade estimada destes pacientes é em torno de 60% em um mês e de 65% em um ano (2). A IRA também se constitui em fator de mau prognóstico em cirróticos hospitalizados em unidades de terapia intensiva (3) e ambulatoriais (4), e se relaciona à redução da sobrevida em pacientes submetidos ao transplante hepático, quando comparados àqueles sem IRA (5, 6). Quando associada a outras complicações, como infecções, hemorragia digestiva e hepatite alcoólica, a IRA também confere pior prognóstico (7-9). No nosso meio, os dados referentes à prevalência e ao prognóstico da IRA ainda são escassos (10).

Este estudo tem como objetivo avaliar fatores associados ao prognóstico da IRA nos pacientes cirróticos internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

## Métodos

Trata-se de estudo prospectivo, observacional, em que foram incluídos pacientes cirróticos com idade superior a 18 anos, internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que apresentaram diagnóstico de IRA à admissão ou em qualquer momento da sua internação. Os critérios de exclusão foram: tratamento dialítico anteriormente à admissão, transplante renal ou hepático prévio e malignidade (exceto carcinoma hepatocelular).

O diagnóstico de cirrose baseou-se na biópsia hepática, quando disponível, ou pela combinação de achados clínicos, laboratoriais, endoscópicos e de imagem compatíveis com a doença.

Para a definição de IRA, foram adotados os critérios propostos pela *Acute Kidney Injury Network* (AKIN) (11), que foram revisados posteriormente pelo *International Club of Ascites* (ICA) (12) (tabela 1). O estágio 1 foi ainda subdividido em 1a e 1b, considerando valores de creatinina menores ou iguais a 1,5mg/dL e maiores do que 1,5mg/dL, respectivamente, conforme proposto por Fagundes *et al* (13). A presença de dois valores de creatinina, com uma diferença de pelo menos 0,3mg/dL, ou a elevação de pelo menos 50% do

seu valor basal foram utilizados para o diagnóstico de IRA. A creatinina basal foi definida como o valor mais recente e estável, anteriormente à admissão hospitalar, em um intervalo máximo de três meses. Portanto, a despeito de o estudo ter se iniciado em 2011, foi utilizada para o critério diagnóstico de IRA o valor da creatinina basal conforme proposto pelo Consenso mais recente do ICA (12).

Tabela 1. Classificação e Definições da IRA segundo ICA-AKI

| Estágio ICA-AKI | Creatinina Sérica                                                                                                                                        |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Estágio 1       | Aumento maior ou igual a 0,3mg/dL ou uma elevação de 1,5 a 2 vezes o seu valor basal                                                                     |
| Estágio 2       | Aumento maior que 2 vezes até 3 vezes o seu valor basal                                                                                                  |
| Estágio 3       | Aumento maior que 3 vezes o seu valor basal, ou um valor superior a 4mg/dL após uma elevação de pelo menos 0,5mg/dL, ou necessidade de terapia dialítica |

**Progressão:** passagem para um estágio maior ou necessidade de hemodiálise  
**Regressão:** passagem para um estágio menor  
**Resposta ao tratamento:**  
 Completa: retorno para um valor de creatinina inferior a 0,3mg/dL da basal  
 Incompleta: regressão de um estágio ICA-AKI ou a redução de um valor de creatinina superior a 0,3mg/dL da basal  
 Ausente: sem regressão da IRA.

IRA = Injúria Renal Aguda; ICA = International Club of Ascites;  
 AKI = Acute Kidney Injury

Os pacientes foram classificados, sob o ponto de vista etiológico, em seis grupos: aqueles que se apresentaram com infecção (a peritonite bacteriana espontânea foi definida como a presença pelo menos de 250 leucócitos polimorfonucleares por mm<sup>3</sup> na análise do líquido ascítico, na ausência de fonte de infecção da cavidade peritoneal; a bacteremia espontânea foi definida como a presença de hemoculturas positivas na ausência de fonte de infecção; pneumonia, infecção do trato urinário, infecção de pele e partes moles foram definidas segundo critérios diagnósticos já bem determinados na prática clínica); hipovolemia (quando os pacientes apresentavam história compatível com perda de fluidos corporais nos dias anteriores ao diagnóstico, por exemplo, uso de diuréticos em doses maiores que as habituais, paracentese de alívio e hemorragia digestiva, na ausência de outras causas possíveis, associado a pelo menos um destes critérios: elevação da taxa entre os níveis séricos de uréia e creatinina a valores maiores que 40, sódio urinário menor que 10mEq/L, fração de

excreção do sódio urinário menor que 1% e fração de excreção da uréia menor que 35%); nefropatia parenquimatosa, definida pela presença de relação proteína/creatinina maior que 0,3 ou sedimento urinário anormal com mais do que 50 hemácias por campo de grande aumento, ou por achados anormais à ultrassonografia renal; síndrome hepatorenal, definida segundo os critérios propostos pelo ICA, em 2007 (14) (esses critérios foram utilizados ao invés dos critérios mais recentes do referido grupo de estudos (12) porque os últimos foram publicados quando a maior parte dos pacientes já havia sido incluída no estudo); miscelânea, quando a causa da IRA não foi enquadrada em nenhuma das categorias anteriores, e mista, quando foi identificada mais de uma causa para a IRA.

Uma vez identificado possível caso de IRA, os pacientes eram submetidos à revisão cuidadosa da história clínica, exame físico completo, coleta de exames laboratoriais (hemograma, sódio, potássio, cloro, magnésio, glicose, enzimas hepáticas, albumina, atividade de protrombina com RNI, tempo de tromboplastina parcial ativada, sódio urinário, creatinina urinária, uréia urinária e urina rotina, além de hemocultura, urocultura e estudo do líquido ascítico, se presente, por meio da realização da citometria com contagem diferencial de leucócitos, dosagem de lactato desidrogenase, albumina, proteínas totais e cultura em balão de hemocultura) e ultrassonografia de abdome total, no intuito de se estabelecer sua etiologia. O manejo da IRA seguiu o protocolo de atendimento utilizado pelo Serviço de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que incluía as seguintes condutas: (1) suspensão de medicamentos que poderiam estar relacionados ao quadro de IRA, especialmente diuréticos; (2) expansão volêmica de acordo com a causa e o grau de disfunção renal (pacientes com IRA ICA-AKI 1 receberam solução de cloreto de sódio a 0,9% na dose de 40 a 60ml/kg por dia ou albumina humana a 20%, na dose de 0,5g/kg/dia, por 48h; aqueles com ICA-AKI 2 e 3 receberam albumina humana a 20% na dose de 1g/kg/dia também por 48 horas, ou concentrado de hemácias se a hemoglobina estivesse em valores abaixo de 7 ou 8g/dL, nos casos de hemorragia digestiva); (3) na presença de infecção, antibióticos eram administrados; (4) ao diagnóstico de síndrome hepatorenal do tipo 1, além da albumina humana 20 a 30 gramas/dia, os pacientes recebiam terlipressina ou noradrenalina.

Durante o período de internação, dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram coletados para a investigação dos fatores preditivos de mortalidade. As variáveis demográficas incluíram idade e gênero; as variáveis clínicas, os escores de Child-Pugh, Model for End-Stage Liver Disease (MELD), MELD sódio (MELD-Na), estágio ICA-AKI,

resposta ao tratamento e a presença de ascite e encefalopatia hepática. As variáveis laboratoriais foram creatinina, albumina, bilirrubina total, RNI, proteína C reativa e sódio, todas coletadas em amostras de sangue no momento do diagnóstico da IRA.

O desfecho primário foi a mortalidade em 30 dias e em 3 meses.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais e os pacientes que aceitaram participar do trabalho assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **Amostra e análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS para Windows versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). As variáveis numéricas foram avaliadas quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para a seleção da apresentação dos dados. E as variáveis categóricas foram apresentadas sob a forma de percentuais. A comparação entre as mesmas foi realizada utilizando-se o teste t de Student ou Mann-Whitney (de acordo com a distribuição dos dados) e qui-quadrado (ou teste exato de Fisher quando apropriado). Foi realizada a análise univariada para determinar os fatores associados à mortalidade em 30 dias e em três meses. As variáveis com  $p < 0,2$  obtidas por meio da análise univariada foram incluídas nas análises de regressão de Cox. O ajuste do modelo de regressão de Cox foi verificado pelo teste de Deviance ( $p > 0,05$ ). O nível de significância foi fixado em 5%. As curvas de sobrevida foram obtidas a partir da análise de Kaplan-Meier.

### **Resultados**

Foram selecionados 52 pacientes, entre outubro de 2011 e setembro de 2015. Três foram excluídos na análise de sobrevida por terem sido submetidos ao transplante hepático durante o período de acompanhamento. Assim, 49 pacientes participaram da análise de sobrevida em um mês. Um deles perdeu o seguimento e não foi incluído na análise de sobrevida em três meses (Figura 1). A média de idade foi de 54,7 ( $\pm 10,8$ ) anos e 69,4% eram do gênero masculino. Entre as causas de cirrose hepática, a etanólica foi a mais comum (30,8%), seguida pela viral (hepatites B e C com 10,2% e 16,3%, respectivamente) e causas mistas (10,2%). A cirrose criptogênica correspondeu a 20,4% dos casos. A ascite e a encefalopatia estavam presentes em 85,7% e 28,6% dos pacientes, respectivamente.

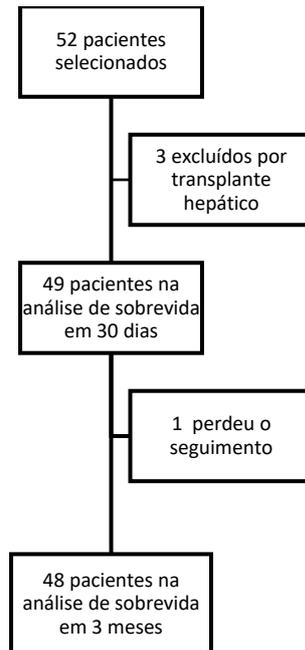


Figura 1. Universo amostral, exclusões, perdas e número final de participantes

Dos 49 pacientes, 28 (57,1%) apresentaram-se em estágio 1, segundo ICA-AKI, 16 (32,7%) em estágio 2 e cinco (10,2%) em estágio 3. Entre as causas de IRA, as infecções foram responsáveis por 21 (42,9%) casos, a hipovolemia por 15 (30,6%), síndrome hepatorenal por quatro (8,2%), causas mistas por quatro (8,2%) e nefropatia parenquimatosa por dois (4,1%). A peritonite bacteriana espontânea foi a causa mais comum de infecção, estando presente em nove casos (42,8%); infecção do trato urinário e pneumonia estiveram presentes em 3 casos cada (14,3%); infecções de pele/partes moles, bacteremia espontânea e sepse de foco indefinido em 2 casos cada (9,5%). A hipovolemia deveu-se mais frequentemente ao uso de diuréticos (46,6%) e hemorragia digestiva (40%). Entre as causas mistas, todos os casos tinham o diagnóstico de nefropatia prévia e haviam desenvolvido IRA na vigência de infecções ou uso de diuréticos. No grupo miscelânea, foram observados um caso de pancreatite aguda, um de hepatite alcoólica e um abdome agudo inflamatório.

Tabela 2. Dados clínicos e laboratoriais dos 49 pacientes cirróticos com IRA

| Características<br>(n=49)           | n (%)                     |
|-------------------------------------|---------------------------|
| Escore Child-Pugh (Média)           | 10,1(±2,2)                |
| Classificação Child-Pugh (A/B/C)    | 1(2%)/19(38,8%)/29(59,2%) |
| MELD (Média)                        | 21,7(±7,2)                |
| MELD-Na (Média)                     | 24,4(±6,9)                |
| Estágios ICA-AKI                    |                           |
| 1                                   | 28(57,1%)                 |
| 2                                   | 16 (32,7%)                |
| 3                                   | 5(10,2%)                  |
| Causas da IRA                       |                           |
| Infecção                            | 21(42,9%)                 |
| Hipovolemia                         | 15(30,6%)                 |
| Síndrome hepatorenal                | 4(8,2%)                   |
| Nefropatia                          | 2(4,1%)                   |
| Miscelânea                          | 3(6,1%)                   |
| Mista                               | 4(8,2%)                   |
| Creatinina (mg/dL) (Média)          | 2,09 (±0,9)               |
| Bilirrubina total(mg/dL) (Mediana)  | 2,47(0,3-23,9)            |
| Albumina (g/dL) (Média)             | 2,5(±0,5)                 |
| RNI (Mediana)                       | 1,7(1,0-6,9)              |
| Sódio (mEq/L) (Média)               | 133,7 (±5,1)              |
| Proteína C Reativa (mg/L) (Mediana) | 30(5-287)                 |

IRA, injúria renal aguda; ICA-AKI, International Club of Ascites – Acute Kidney Injury

As variáveis clínicas e laboratoriais foram comparadas entre sobreviventes e não sobreviventes em 30 dias e 3 meses (tabelas 3 e 4), assim como a variável resposta ao tratamento, conforme definição do ICA (tabela 1). Aqueles pacientes que estavam vivos ao final do primeiro mês apresentavam os escores de Child-Pugh, MELD, MELD-Na, dosagem de bilirrubinas e RNI menores, quando comparados aos não sobreviventes (9,9 versus 11,3,  $p=0,019$ ; 20,4 versus 25,1,  $p = 0,034$ ; 23,1 versus 27,6,  $p=0,037$ ; 1,72mg/dL versus 6mg/dL,  $p=0,028$ ; 1,5 versus 2,  $p=0,012$ ; respectivamente). Os pacientes que apresentaram resposta ao tratamento também se diferiram do grupo que não respondeu à terapêutica ( $p = 0,001$ ). Ao final do terceiro mês, as mesmas variáveis, com exceção do RNI, foram menores no grupo de pacientes que sobreviveram e a resposta ao tratamento também diferenciou o grupo sobrevivente do grupo não sobrevivente ( $p<0,0001$ ). Os níveis de creatinina não diferiram de

maneira significativa entre os sobreviventes e os não sobreviventes em três meses (2,0mg/dL vs. 2,2mg/dL,  $p=0,52$ ).

Tabela 3. Comparação das variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais entre os pacientes que estavam vivos e aqueles que não estavam vivos ao final do primeiro mês

|                                       | Sobreviventes (n=35) | Não sobreviventes (n = 14) | Valor de p |
|---------------------------------------|----------------------|----------------------------|------------|
| <b>Demográficas</b>                   |                      |                            |            |
| Idade                                 | 54,6 (±11,6)         | 55 (±8,7)                  | 0,915      |
| Homens                                | 24 (68,6%)           | 10 (71,4%)                 | 0,845      |
| Mulheres                              | 11 (31,4%)           | 4 (28,6%)                  |            |
| <b>Clínicas</b>                       |                      |                            |            |
| Child-Pugh                            | 9,9(±2,1)            | 11,3(±1,5)                 | 0,019      |
| MELD                                  | 20,4 (±6,0)          | 25,1 (±8,7)                | 0,034      |
| MELD-Na                               | 23,1 (±6,4)          | 27,6 (±7,3)                | 0,037      |
| Estágio ICA-AKI                       |                      |                            | 0,269      |
| 1                                     | 20 (57,1%)           | 8 (57,1%)                  |            |
| 2                                     | 10 (28,6%)           | 6 (42,9%)                  |            |
| 3                                     | 5 (14,3%)            | 0                          |            |
| Subdivisão do estágio 1 (n=28)        |                      |                            | 0,791      |
| 1a                                    | 6 (30%)              | 2 (25%)                    |            |
| 1b                                    | 14 (70%)             | 6 (75%)                    |            |
| Causas de IRA                         |                      |                            | 0,609      |
| Infecção                              | 14 (40%)             | 7 (50%)                    |            |
| Hipovolemia                           | 11 (31,4%)           | 4 (28,6%)                  |            |
| Síndrome hepatorenal                  | 2 (5,7%)             | 2 (14,3%)                  |            |
| Nefropatia                            | 2 (5,7%)             | 0                          |            |
| Miscelânea                            | 2 (5,7%)             | 1 (7,1%)                   |            |
| Mista                                 | 4 (11,4%)            | 0                          |            |
| Resposta ao tratamento com expansores |                      |                            | 0,001      |
| Completa                              | 24 (68,6%)           | 4 (28,6%)                  |            |
| Parcial                               | 7 (20%)              | 1 (7,1%)                   |            |
| Ausente                               | 4 (11,4%)            | 9 (64,3%)                  |            |
| Encefalopatia                         |                      |                            | 1,0        |
| Presente                              | 10 (28,6%)           | 4 (28,6%)                  |            |
| Ausente                               | 25 (71,4%)           | 10 (71,4%)                 |            |
| Ascite                                |                      |                            | 0,366      |
| Presente                              | 29 (82,9%)           | 12 (92,9%)                 |            |
| Ausente                               | 6 (17,1%)            | 1 (7,1%)                   |            |
| <b>Laboratoriais</b>                  |                      |                            |            |
| Creatinina (mg/dL)                    | 2,2(±1,0)            | 1,8(±0,6)                  | 0,165      |
| Bilirrubina total (mg/dL)             | 1,72 (0,3-19,4)      | 6 (1,1-23,9)               | 0,028      |
| Albumina (g/dL)                       | 2,5 (±0,5)           | 2,4 (±0,5)                 | 0,567      |
| RNI                                   | 1,5 (1,0-3,0)        | 2,0 (1,1-6,0)              | 0,012      |
| Sódio (mEq/L)                         | 133,2 (±5,4)         | 134,8 (±4,3)               | 0,329      |
| Proteína C Reativa (mg/L)             | 30 (5-287)           | 31(13-197)                 | 0,748      |

IRA, injúria renal aguda; ICA-AKI, International Club of Ascites – Acute Kidney Injury.

Tabela 4. Comparação das variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais entre os pacientes que estavam vivos e aqueles que não estavam vivos em 3 meses

|                                | Sobreviventes (n =26) | Não sobreviventes (n = 22) | Valor de p |
|--------------------------------|-----------------------|----------------------------|------------|
| <b>Demográficas</b>            |                       |                            |            |
| Idade                          | 55,3 (±12,1)          | 54,1 (±9,5)                | 0,726      |
| Homens                         | 17 (65,4%)            | 16 (72,7%)                 | 0,584      |
| Mulheres                       | 9 (34,6%)             | 6 (33,3%)                  |            |
| <b>Clínicas</b>                |                       |                            |            |
| Child-Pugh                     | 9,7(±2,1)             | 10,9(±1,8)                 | 0,046      |
| MELD                           | 19,3 (±6,1)           | 24,6 (±7,6)                | 0,012      |
| MELD-Na                        | 21,7 (±6,6)           | 27,5 (± 6,2)               | 0,03       |
| Estágio ICA-AKI                |                       |                            | 0,259      |
| 1                              | 17 (65,4%)            | 10 (56,3%)                 |            |
| 2                              | 6 (23,1%)             | 10 (45,5%)                 |            |
| 3                              | 3 (11,5%)             | 2 (9,1%)                   |            |
| Subdivisão do estágio 1 (n=28) |                       |                            | 0,678      |
| 1a                             | 5 (29,4%)             | 2 (20%)                    |            |
| 1b                             | 12 (70,6%)            | 8 (80%)                    |            |
| Causas de IRA                  |                       |                            | 0,058      |
| Infecção                       | 10 (38,5%)            | 10 (45,5%)                 |            |
| Hipovolemia                    | 9 (34,6%)             | 6 (27,3%)                  |            |
| Síndrome hepatorenal           | 0                     | 4 (18,2%)                  |            |
| Nefropatia                     | 2 (7,7%)              | 0                          |            |
| Miscelânea                     | 1 (3,8%)              | 2 (9,1%)                   |            |
| Mista                          | 4 (15,4%)             | 0                          |            |
| Resposta ao tratamento         |                       |                            | <0,0001    |
| Completa                       | 20 (76,9%)            | 7 (31,8%)                  |            |
| Parcial                        | 5 (19,2%)             | 3 (13,6%)                  |            |
| Ausente                        | 1 (3,8%)              | 12 (54,5%)                 |            |
| Encefalopatia                  |                       |                            | 0,361      |
| Presente                       | 6 (23,1%)             | 7 (31,8%)                  |            |
| Ausente                        | 20 (76,9%)            | 15 (68,2%)                 |            |
| Ascite                         |                       |                            | 0,532      |
| Presente                       | 21 (80,8%)            | 12 (90,9%)                 |            |
| Ausente                        | 5 (19,2%)             | 2 (9,1%)                   |            |
| <b>Laboratoriais</b>           |                       |                            |            |
| Creatinina (mg/dL)             | 2,0(±0,9)             | 2,2(±2,2)                  | 0,525      |
| Bilirrubina total (mg/dL)      | 1,6 (0,3-15,2)        | 5 (0,4-23,9)               | 0,020      |
| Albumina (g/dL)                | 2,4 (±0,5)            | 2,6 (±0,5)                 | 0,368      |
| RNI                            | 1,5(1-3)              | 1,9(1,1-7)                 | 0,067      |
| Sódio (mEq/L)                  | 134,1 (±5,2)          | 133,4 (±5,2)               | 0,681      |
| Proteína C Reativa (mg/L)      | 30,4 (5-278)          | 31,6(5-278)                | 0,869      |

ICA-AKI, International Club of Ascites – Acute Kidney Injury.

Em relação à sobrevida destes pacientes, a mortalidade foi de 28,6% em 30 dias e de 44,9% em três meses (figura 2). Quando foi feita a análise de Kaplan-Meier baseada na classificação ICA-AKI, entre os 48 pacientes nos quais foi possível fazer a análise de sobrevida, aqueles que preencheram critérios para o estágio 2 de ICA-AKI apresentaram tendência a maior mortalidade, quando comparados com os pacientes do estágio 1 (37,5% vs. 62,5%,  $p=0,10$ ). No final do terceiro mês, não foi observada diferença de sobrevida entre os três estágios ( $p=0,21$ ) (Figura 3). Quando se comparou a sobrevida do estágio 1 com a dos estágios 2 e 3, também não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $p=0,194$ ). Além disso, não observamos diferença estatisticamente significativa de mortalidade em três meses entre os pacientes com IRA nos dois subestágios (28,6% vs. 40%, respectivamente,  $p=0,61$ ).

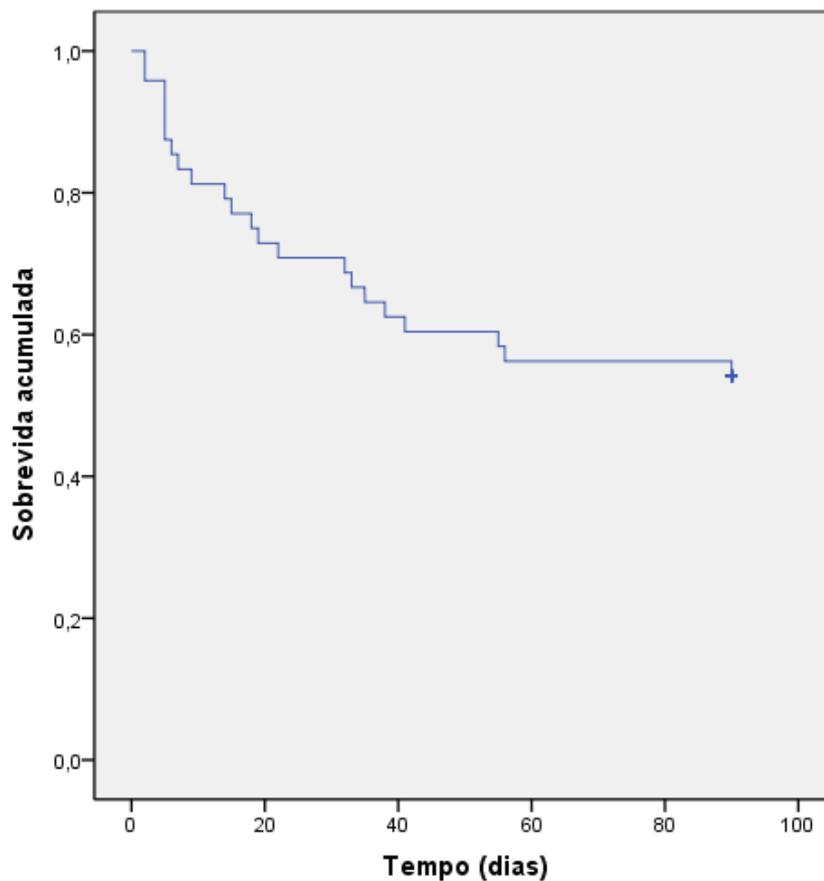


Figura 2. Probabilidade de sobrevida em três meses dos pacientes cirróticos internados com injúria renal aguda (n=49).

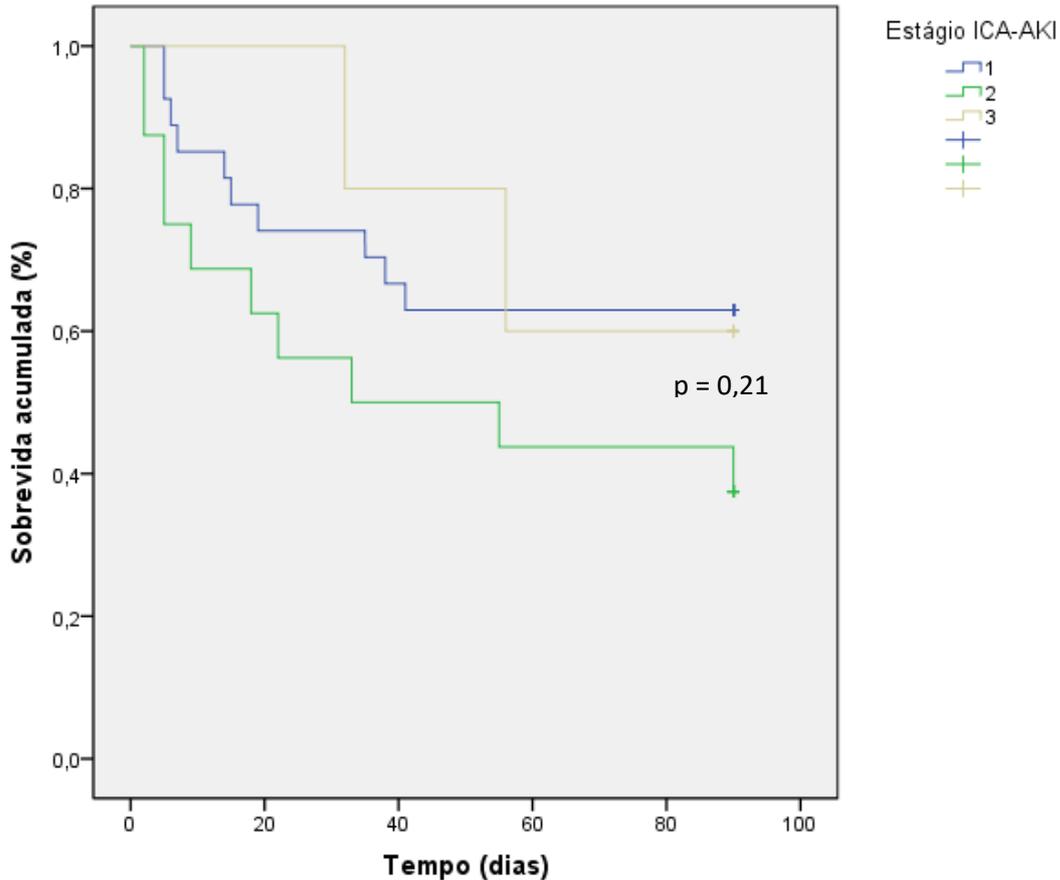


Figura 3. Probabilidade de sobrevivência em três meses dos pacientes cirróticos internados com injúria renal aguda, segundo os estágios ICA-AKI. ICA-AKI, International Club of Ascites – Acute Kidney Injury.

Para a análise dos vários preditores de mortalidade, foi elaborado o modelo de regressão de Cox. Na análise multivariada para avaliar a mortalidade em 30 dias, foram incluídas, inicialmente, as variáveis que apresentaram valor de  $p$  menor que 0,2, a saber, Child-Pugh, MELD, MELD-Na, bilirrubina total, RNI e resposta ao tratamento. Para a segunda análise, ao final do tempo de observação de três meses, foram incluídas as mesmas variáveis que entraram no modelo inicial do tempo de 30 dias, além da variável causa de IRA. Os resultados estão apresentados nas tabelas 5 e 6. Após tratamento estatístico, as variáveis que se mantiveram associadas à mortalidade foram resposta ao tratamento e escore Child-Pugh, para os dois modelos de regressão. Em relação à primeira, aqueles que apresentaram resposta à terapêutica expansora tiveram diminuição de 74% de evolução para o óbito em um mês e de 75% em três meses. De fato, a mortalidade dos que não responderam à expansão volêmica foi de 92,3% (12/13 pacientes), enquanto que apenas 28,6% dos respondedores

(parciais ou completos) evoluíram para óbito (10/35 pacientes) ( $p < 0,0001$ ). A sobrevida foi semelhante entre aqueles que tiveram resposta parcial e completa. Para variável Child-Pugh, por sua vez, foi evidenciado que, para cada aumento em um ponto do escore, ocorreu elevação da mortalidade de 63% em 30 dias e 49% em três meses.

Tabela 5. Análise de Regressão de Cox – Modelo Final (um mês)

|                        | Odds Ratio | 95% IC    | Valor p |
|------------------------|------------|-----------|---------|
| Resposta ao tratamento | 0,26       | 0,13-0,52 | <0,0001 |
| Escore Child-Pugh      | 1,63       | 1,2-2,21  | 0,001   |

IC, intervalo de confiança.

Tabela 6. Análise de Regressão de Cox – Modelo Final (três meses)

|                        | Odds Ratio | 95% IC    | Valor p |
|------------------------|------------|-----------|---------|
| Resposta ao tratamento | 0,25       | 0,14-0,45 | <0,0001 |
| Escore Child-Pugh      | 1,49       | 1,18-1,89 | 0,001   |

IC, intervalo de confiança.

## Discussão

Tal como tem sido relatado na literatura, este estudo também evidenciou que pacientes cirróticos com IRA possuem prognóstico reservado em curto e em médio prazo. Cerca de um terço e aproximadamente 45% dos pacientes evoluíram para o óbito em 30 dias e em três meses após o diagnóstico, respectivamente. Belcher *et al* (15), em estudo prospectivo multicêntrico envolvendo 192 pacientes cirróticos admitidos em hospitais com IRA, diagnosticada de acordo os critérios da AKIN, constataram 26% de mortalidade intra-hospitalar. A sobrevida se correlacionou com o estágio da IRA no momento do diagnóstico, sendo menor em estágios mais avançados de IRA. Além disso, a progressão de estágio IRA foi fator independente associado à mortalidade. De forma semelhante, Scott *et al* (16), em uma coorte de 162 cirróticos, nos quais 110 tinham o diagnóstico de IRA e 52 eram controles,

relataram mortalidade intra-hospitalar de 31,8%, versus 3,8% nos controles ( $p < 0,001$ ). A mortalidade foi proporcional ao estágio da IRA ao diagnóstico (13,5% estágio 1, 37,8% estágio 2 e 43,2% estágio 3;  $p < 0,001$ ) e, na análise multivariada, a IRA também foi fator independente associado à mortalidade. Wong *et al* (17), ao avaliarem prospectivamente 166 cirróticos infectados com IRA, observaram mortalidade em 30 dias de 34%. Em outro estudo prospectivo que envolveu 120 pacientes com cirrose e IRA (18), também baseada na classificação da AKIN, a taxa de mortalidade foi de 46% em três meses, bastante semelhante a esta casuística.

Embora a mortalidade dos cirróticos com IRA permaneça elevada, tem-se observado melhora do prognóstico desses pacientes, especialmente no curto prazo. Em extensa revisão sistemática, que incluiu mais de oito mil pacientes cirróticos com disfunção renal oriundos de 74 estudos conduzidos entre 1977 e 2010 (2), a taxa de mortalidade em um mês e três meses foi de 58% e 71%, respectivamente, superior à do presente trabalho e a de outros estudos recentes que avaliaram o prognóstico da IRA em cirróticos (15-18).

Desde que o ICA adotou os critérios de IRA na cirrose (19), no sentido de uniformizar o diagnóstico, e, simultaneamente, fazê-lo mais precocemente, a sua estratificação em estágios permitiu detectar os casos mais graves. Isso possivelmente contribuiu com a redução da mortalidade em pacientes cirróticos com IRA. Entre os 48 pacientes nos quais foi possível fazer a análise de sobrevivência, aqueles que preencheram critérios para o estágio 2 de ICA-AKI apresentaram tendência a maior mortalidade, quando comparados com os pacientes do estágio 1 (37,5% vs. 62,5%,  $p = 0,10$ ). Contudo, não foi evidenciada esta tendência na comparação entre os estágios 2 e 3 (62,5% vs. 40%,  $p = 0,307$ ). Possivelmente, isto ocorreu pelo número reduzido de casos no estágio 3 ( $n = 5$ ). Outro dado relevante e que também pode explicar esse achado refere-se ao fato que dois dos cinco pacientes com IRA estágio 3, ou seja, 40% dos casos, apresentaram-se ou com IRA secundária à nefropatia parenquimatosa ou com IRA de causas mistas. Segundo Martin-Llahi *et al* (20), a nefropatia parenquimatosa tem melhor prognóstico quando comparada a outras causas de IRA, tais como infecções, hipovolemia e síndrome hepatorenal. Isto foi corroborado por nosso estudo. A mortalidade em três meses para a IRA associada à síndrome hepatorenal, infecções e hipovolemia foi de 100%, 50% e 40%, respectivamente. Entre os pacientes com diagnóstico de IRA associada à nefropatia, não ocorreram óbitos.

Ainda que valores de creatinina sérica superiores a 1,5mg/dL estejam associados à chance maior de progressão da IRA, assim como à mortalidade mais elevada entre os pacientes com IRA estágio 1, sugerindo-se, portanto, a sua subdivisão em estágios 1a e 1b (13, 21), não observamos, no nosso estudo, diferença estatisticamente significativa de mortalidade em três meses entre os pacientes com IRA nos dois subestágios (28,6% vs. 40%, respectivamente,  $p=0,61$ ).

Com base em dados de literatura, as variáveis mais associadas ao prognóstico de pacientes cirróticos com IRA em estudos que fizeram a análise univariada foram idade, encefalopatia, escore de Child-Pugh, bilirrubina total, tempo de protrombina, sódio sérico e urinário e a resposta à terlipressina (2). Em nosso trabalho, além do escore Child-Pugh, bilirrubinas, RNI, escores MELD e MELD-Na e a variável resposta ao tratamento foram associadas à mortalidade

Em estudos que fizeram análise multivariada, por sua vez, os escores de Child-Pugh e MELD, e seus componentes, tais como albumina, bilirrubina, tempo de protrombina, encefalopatia e idade foram as variáveis que mais se relacionaram ao prognóstico (2, 22). No presente estudo, o escore Child-Pugh e, sobretudo, a resposta ao tratamento, foram associados de forma independente com a mortalidade em 30 dias e em três meses. De fato, a mortalidade dos que não responderam à expansão volêmica foi de 92,3% (12/13 pacientes), enquanto que apenas 28,6% dos respondedores (parciais ou completos) evoluíram para óbito (10/35 pacientes) ( $p<0,0001$ ). A sobrevida foi semelhante entre aqueles que tiveram resposta parcial e completa. No estudo de Belcher *et al* (15), a redução dos níveis séricos de creatinina foi significativamente mais comum nos sobreviventes que nos não sobreviventes (42% e 22%, respectivamente;  $p=0,01$ ); ao contrário, nos cirróticos que progrediram de estágio da IRA, a mortalidade observada atingiu 70%. Wong *et al* (17), por sua vez, relataram mortalidade de 80% entre os que não recuperaram a função renal, superior àquela dos pacientes que tiveram resposta parcial (40%) ou completa (15%) ao tratamento com albumina, associada ou não a midodrina e octreotida ( $p<0,0001$ ). Esses achados vão ao encontro do último Consenso do ICA (12), que propõe o uso precoce de vasoconstritores para os cirróticos com IRA que não respondem ao tratamento com cristaloides ou albumina, especialmente na IRA estágio 1 com creatinina superior a 1,5mg/dL e nos estágios 2 e 3, grupos cuja mortalidade é sabidamente mais elevada. A principal vantagem dessa abordagem é permitir o tratamento precoce dos pacientes com a síndrome hepatorenal do tipo 1 – agora denominada SHR-AKI – sem a necessidade de se estabelecer o ponto de corte de 2,5mg/dL para o diagnóstico. Dos 13

pacientes não respondedores no nosso trabalho, 9, isto é, 69% não preenchiam os critérios antigos para o diagnóstico da síndrome hepatorenal do tipo 1 por possuírem níveis de creatinina abaixo do referido valor.

O escore de Child-Pugh, por sua vez, é um indicador prognóstico bem conhecido em pacientes cirróticos. Embora não inclua um marcador de disfunção renal, o escore é diretamente proporcional aos níveis séricos de angiotensina e aldosterona, ao débito cardíaco e ao gradiente de pressão venosa portal, que são medidas objetivas da disfunção circulatória do cirrótico, além de se correlacionar inversamente com a perfusão renal (23, 24). No estudo de Scott *et al* (16), a mortalidade entre os pacientes cirróticos com IRA se correlacionou com a piora da função hepática, segundo a classificação de Child-Pugh (3,1% estágio A, 23,6% estágio B e 32,8% estágio C;  $p=0,006$ ), sendo os estágios B e C fatores independentes associados à mortalidade. Em revisão sistemática que incluiu 118 estudos, o escore Child-Pugh foi o preditor independente de mortalidade mais frequentemente encontrado (22).

Foi conduzido, portanto, o primeiro estudo prospectivo que avaliou o prognóstico da IRA na cirrose em nosso meio e que associou a mortalidade da IRA à ausência de resposta ao tratamento expansor, conforme a definição do último Consenso do ICA (12), e que confirmou o prognóstico ruim da IRA em pacientes cirróticos, em curto e médio prazo, segundo os critérios ICA-AKI recentemente descritos. O principal preditor de mortalidade foi a ausência de resposta ao tratamento expansor. Novos estudos são necessários para se investigar o impacto do novo conceito dinâmico da IRA e do tratamento precoce na melhora dos desfechos desses pacientes.

### **Referências Bibliográficas**

1. Garcia-Tsao G, Parikh CR, Viola A. Acute kidney injury in cirrhosis. *Hepatology*. 2008;48(6):2064-77.
2. Fede G, D'Amico G, Arvaniti V, Tsochatzis E, Germani G, Georgiadis D, et al. Renal failure and cirrhosis: a systematic review of mortality and prognosis. *J Hepatol*. 2012;56(4):810-8.
3. Pan HC, Chien YS, Jenq CC, Tsai MH, Fan PC, Chang CH, et al. Acute Kidney Injury Classification for Critically Ill Cirrhotic Patients: A Comparison of the KDIGO, AKIN, and RIFLE Classifications. *Sci Rep*. 2016;6:23022.

4. Tsien CD, Rabie R, Wong F. Acute kidney injury in decompensated cirrhosis. *Gut*. 2013;62(1):131-7.
5. Weismuller TJ, Prokein J, Becker T, Barg-Hock H, Klempnauer J, Manns MP, et al. Prediction of survival after liver transplantation by pre-transplant parameters. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43(6):736-46.
6. Sharma P, Schaubel DE, Guidinger MK, Merion RM. Effect of pretransplant serum creatinine on the survival benefit of liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009;15(12):1808-13.
7. Terra C, Guevara M, Torre A, Gilabert R, Fernandez J, Martin-Llahi M, et al. Renal failure in patients with cirrhosis and sepsis unrelated to spontaneous bacterial peritonitis: value of MELD score. *Gastroenterology*. 2005;129(6):1944-53.
8. Altamirano J, Fagundes C, Dominguez M, Garcia E, Michelena J, Cardenas A, et al. Acute kidney injury is an early predictor of mortality for patients with alcoholic hepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(1):65-71 e3.
9. Cardenas A, Gines P, Uriz J, Bessa X, Salmeron JM, Mas A, et al. Renal failure after upper gastrointestinal bleeding in cirrhosis: incidence, clinical course, predictive factors, and short-term prognosis. *Hepatology*. 2001;34(4 Pt 1):671-6.
10. de Carvalho JR, Villela-Nogueira CA, Luiz RR, Guzzo PL, da Silva Rosa JM, Rocha E, et al. Acute kidney injury network criteria as a predictor of hospital mortality in cirrhotic patients with ascites. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46(3):e21-6.
11. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.
12. Angeli P, Gines P, Wong F, Bernardi M, Boyer TD, Gerbes A, et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *J Hepatol*. 2015;62(4):968-74.
13. Fagundes C, Barreto R, Guevara M, Garcia E, Sola E, Rodriguez E, et al. A modified acute kidney injury classification for diagnosis and risk stratification of impairment of kidney function in cirrhosis. *J Hepatol*. 2013;59(3):474-81.
14. Salerno F, Gerbes A, Gines P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut*. 2007;56(9):1310-8.
15. Belcher JM, Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Bhogal H, Lim JK, Ansari N, et al. Association of AKI with mortality and complications in hospitalized patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2013;57(2):753-62.
16. Scott RA, Austin AS, Kolhe NV, McIntyre CW, Selby NM. Acute kidney injury is independently associated with death in patients with cirrhosis. *Frontline Gastroenterol*. 2013;4(3):191-7.

17. Wong F, O'Leary JG, Reddy KR, Patton H, Kamath PS, Fallon MB, et al. New consensus definition of acute kidney injury accurately predicts 30-day mortality in patients with cirrhosis and infection. *Gastroenterology*. 2013;145(6):1280-8 e1.
18. Allegretti AS, Ortiz G, Wenger J, Deferio JJ, Wibecan J, Kalim S, et al. Prognosis of Acute Kidney Injury and Hepatorenal Syndrome in Patients with Cirrhosis: A Prospective Cohort Study. *Int J Nephrol*. 2015;2015:108139.
19. Wong F, Nadim MK, Kellum JA, Salerno F, Bellomo R, Gerbes A, et al. Working Party proposal for a revised classification system of renal dysfunction in patients with cirrhosis. *Gut*. 2011;60(5):702-9.
20. Martin-Llahi M, Guevara M, Torre A, Fagundes C, Restuccia T, Gilabert R, et al. Prognostic importance of the cause of renal failure in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*. 2011;140(2):488-96 e4.
21. Piano S, Rosi S, Maresio G, Fasolato S, Cavallin M, Romano A, et al. Evaluation of the Acute Kidney Injury Network criteria in hospitalized patients with cirrhosis and ascites. *J Hepatol*. 2013;59(3):482-9.
22. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006;44(1):217-31.
23. Dincer D, Besisk F, Demirkol O, Demir K, Kaymakoglu S, Cakaloglu Y, et al. Relationships between hemodynamic alterations and Child-Pugh Score in patients with cirrhosis. *Hepatogastroenterology*. 2005;52(65):1521-5.
24. Wadhawan M, Dubey S, Sharma BC, Sarin SK, Sarin SK. Hepatic venous pressure gradient in cirrhosis: correlation with the size of varices, bleeding, ascites, and child's status. *Dig Dis Sci*. 2006;51(12):2264-9.

## 6. ARTIGO 2

### **Avaliação dos Biomarcadores HMGB1 e IL-6 como Preditores de Mortalidade em Pacientes Cirróticos com Injúria Renal Aguda**

Célio Geraldo de Oliveira Gomes<sup>1</sup>; Marcos Vinicius Melo de Andrade<sup>2</sup>; Ludmila Resende Guedes<sup>2</sup>, Henrique Carvalho Rocha<sup>2</sup>, Roberto Gardone Guimarães<sup>2</sup>, Fernando Antônio Castro Carvalho<sup>2</sup>, Eduardo Garcia Vilela<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

<sup>2</sup> Instituto Alfa de Gastroenterologia, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

#### **Correspondência para:**

Célio Geraldo de Oliveira Gomes

Rua Sergipe, 472, apto 705, Centro, Belo Horizonte – MG. CEP 30130-170

Telefone: (31)3409 9403

E-mail: celiogog@hotmail.com

## Resumo

**Introdução:** A injúria renal aguda (IRA) acomete cerca de 20% dos pacientes cirróticos internados e a mortalidade é em torno de 60% em um mês. A principal causa são as infecções bacterianas, que acentuam a disfunção circulatória por meio de inflamação sistêmica. Entre os mediadores inflamatórios desse processo, destacam-se a High Mobility Group Box 1 (HMGB1) e a interleucina 6 (IL-6). Entretanto, o papel desses biomarcadores como preditores de morbimortalidade nesse grupo de pacientes ainda não é conhecido. **Objetivos:** avaliar o comportamento da HMGB-1 e da IL-6 como biomarcadores de evolução clínica e mortalidade. **Métodos:** trata-se de estudo prospectivo, observacional, no qual foram incluídos 25 pacientes cirróticos com idade superior a 18 anos que apresentaram IRA à admissão ou em qualquer momento da sua internação. Dados clínicos e laboratoriais, incluindo dosagens de HMGB1 e IL-6, foram coletados ao diagnóstico. **Resultados:** a média de idade foi de 55,1 anos ( $\pm 9,9$ ) e 68% eram do sexo masculino. A média dos escores MELD, MELD-Na e de Child-Pugh foi de 22,4 ( $\pm 7,4$ ), 26,5 ( $\pm 7,3$ ) e 10,7 ( $\pm 1,8$ ), respectivamente. Dezesesseis (64%) pacientes foram classificados como ICA-AKI estágio 1, sete (28%) como estágio 2 e dois como 3. Entre as causas de IRA, as infecções foram responsáveis por 14 (56%) casos, hipovolemia por nove (28,8%) e nefropatia por dois (9,6%). As medianas da HMGB1 e IL-6 foram 1697pg/mL (0,1-6851,8pg/mL) e 47,6ng/mL (0,1-1107,3ng/mL), respectivamente. A mortalidade foi de 17,4% em 30 dias e de 30% em três meses. Os níveis de HMGB1 foram menores nos sobreviventes em relação aos não sobreviventes em um mês (1174,2pg/mL versus 3338,5pg/mL,  $p=0,035$ ), ao contrário do que aconteceu no final do terceiro mês (1540pg/mL versus 2352pg/mL,  $p=0,243$ ). Em relação aos níveis séricos de IL-6, os valores foram de 43,3pg/mL versus 87,9pg/mL ( $p=0,061$ ) no primeiro mês e de 35,8pg/mL versus 87,9pg/mL ( $p=0,071$ ) no final do terceiro mês. A área sob a curva ROC do nível sérico de HMGB1 foi de 0,842 e a curva ROC da IL-6 foi de 0,803 para discriminar os não sobreviventes em um mês e 0,657 e 0,743 em três meses. Na análise multivariada, a variável que esteve associada de maneira independente à mortalidade foi a resposta ao tratamento com expansores plasmáticos (odds ratio 5,7; IC 0,27-0,41;  $p = 0,012$ ). **Conclusão:** níveis séricos elevados de HMGB1 foram associados a menor sobrevida de pacientes cirróticos e este biomarcador apresentou bom desempenho na curva ROC. A resposta ao tratamento com expansores foi a variável independente de mortalidade nestes pacientes.

**Palavras-chave:** cirrose hepática; injúria renal aguda; biomarcadores; prognóstico.

## Introdução

A injúria renal aguda (IRA) é uma das complicações mais graves da cirrose, acometendo cerca de 20% dos pacientes internados (1). Cerca de 60% evoluem para óbito em 90 dias (2). A disfunção renal constitui um dos principais critérios definidores da doença hepática crônica agudizada (ACLF, do inglês *acute on chronic liver failure*), síndrome há muito reconhecida, mas recentemente bem definida e caracterizada por descompensação aguda da hepatopatia associada à disfunção orgânica, possuindo, também, elevada mortalidade em curto e em médio prazo (3, 4). A inflamação sistêmica exacerbada, em resposta a um fator precipitante – infecções bacterianas e alcoolismo ativo, por exemplo –, tem papel importante no desenvolvimento da ACLF (3). Entre os vários mediadores inflamatórios desse processo, estão incluídos a interleucina 6 (IL-6) e a *High Mobility Group Box 1* (HMGB1) (3, 5). Entretanto, o papel desses biomarcadores como preditores de mau prognóstico em pacientes cirróticos ainda não é conhecido.

Este estudo tem como objetivo avaliar o papel da IL-6 e da HMGB-1 como preditores de mortalidade em pacientes cirróticos com IRA internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

## Métodos

Trata-se de um estudo prospectivo, observacional, no qual foram incluídos pacientes cirróticos com idade superior a 18 anos, internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que apresentaram diagnóstico de IRA à admissão ou em qualquer momento da sua internação. Os critérios de exclusão foram: tratamento dialítico anteriormente à admissão, transplante renal ou hepático prévio e malignidade (exceto carcinoma hepatocelular).

Para a definição da IRA, foram adotados os critérios propostos pela *Acute Kidney Injury Network* (AKIN) (6), que foram revisados posteriormente pelo *International Club of Ascites* (ICA) (7). A presença de dois valores de creatinina sérica, com uma diferença de pelo menos 0,3mg/dL foi utilizado para o diagnóstico de IRA. A creatinina basal foi definida como o valor mais recente e estável, anteriormente à admissão hospitalar, em um intervalo máximo de três meses.

Os pacientes foram classificados, sob o ponto de vista etiológico, em quatro grupos: infecção, hipovolemia, nefropatia parenquimatosa e síndrome hepatorenal. Uma vez identificado o possível caso de IRA, os pacientes eram submetidos à revisão cuidadosa da história clínica, exame físico completo, coleta de exames laboratoriais que incluía hemograma, sódio, potássio, cloro, magnésio, glicose, enzimas hepáticas, albumina, bilirrubinas, atividade de protrombina com RNI, tempo de tromboplastina parcial ativada, sódio urinário, creatinina urinária, uréia urinária e urina rotina, além de hemocultura, urocultura e estudo do líquido ascítico, se presente, por meio da realização da citometria com contagem diferencial de leucócitos, dosagem de lactato desidrogenase, albumina, proteínas totais e cultura em balão de hemocultura) e ultrassonografia de abdome total, no intuito de se estabelecer sua etiologia. O manejo da IRA seguiu o protocolo de atendimento utilizado pelo Serviço de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais: (1) suspensão de medicamentos que poderiam estar relacionados ao quadro de IRA, especialmente diuréticos; (2) expansão volêmica de acordo com a causa e o grau de disfunção renal (pacientes com IRA ICA-AKI 1 receberam solução de cloreto de sódio a 0,9% na dose de 40 a 60mL/kg por dia ou albumina humana a 20%, na dose de 0,5g/kg/dia, por 48h, quando apresentavam creatinina sérica maior que 1,5mg/dL; aqueles com ICA-AKI 2 e 3 receberam albumina humana a 20% na dose de 1g/kg/dia também por 48 horas, ou concentrado de hemácias se a hemoglobina estivesse em valores abaixo de 7g/dL, nos casos de hemorragia digestiva); (3) na presença de infecção, tratamento antimicrobiano; (4) ao diagnóstico de síndrome hepatorenal do tipo 1, além da albumina humana 20 a 30 gramas/dia, os pacientes recebiam terlipressina ou noradrenalina.

As coletas de sangue periférico para as dosagens da HMGB1 e da IL-6 foram realizadas ao diagnóstico da IRA. Os dois biomarcadores foram dosados pelo método de ELISA (HMGB1 ELISA ST51011, IBL International GmbH, Alemanha, e Human IL-6 DuoSet ELISA, R&D Systems, Estados Unidos). As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -80°C.

Durante o período de internação, dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram coletados para a investigação dos fatores preditivos de mortalidade. As variáveis demográficas incluíram idade e sexo; as variáveis clínicas, os escores de Child-Pugh, MELD e MELD-Na, estágio ICA-AKI, resposta ao tratamento e a presença de ascite e encefalopatia hepática. As variáveis laboratoriais foram a creatinina, albumina, bilirrubina total, RNI, proteína C reativa e sódio, além das dosagens de HMGB1 e IL-6.

O desfecho foi a mortalidade em 30 dias e em 3 meses.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais e os pacientes que aceitaram participar do trabalho assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **Amostra e análise estatística**

Foi utilizado o programa SPSS para Windows versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) para realização das análises estatísticas. A distribuição quanto a normalidade foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. As variáveis categóricas foram apresentadas sob a forma de percentuais. A associação entre as variáveis foi analisada por meio do teste t de Student ou Mann-Whitney (de acordo com a distribuição dos dados) ou qui-quadrado (ou teste exato de Fisher quando apropriado). A análise univariada foi utilizada para determinar os fatores associados a mortalidade em 30 dias e em três meses. Variáveis com  $p < 0,2$  foram incluídas nas análises de regressão de Cox. O ajuste do modelo de regressão de Cox foi verificado pelo teste de Deviance. Valores dos níveis séricos de HMGB1 e IL-6 que melhor representaram a acurácia em prever a mortalidade foram obtidos por meio da curva ROC. As curvas de sobrevida de Kaplan-Meier para os dois biomarcadores foram elaboradas e o tratamento estatístico feito pelo Teste de Log-Rank. O valor de  $p$  adotado foi menor que 0,05.

### **Resultados**

Foram selecionados 25 pacientes. Dois foram excluídos na análise de sobrevida por terem sido submetidos ao transplante hepático durante o período de acompanhamento. Assim, 23 pacientes participaram da análise de sobrevida em um mês. Um deles perdeu o seguimento e não foi incluído na análise de sobrevida em três meses (figura 1). A média de idade foi de 55,1 anos ( $\pm 9,9$ ) e 68% eram do sexo masculino. As variáveis clínicas e laboratoriais dos pacientes estão listadas na tabela 1.

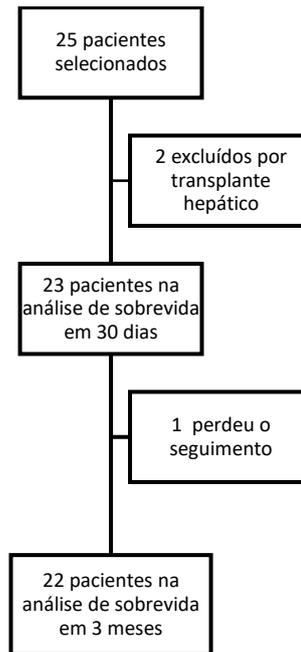


Figura 1. Universo amostral, exclusões, perdas e número final de participantes.

Tabela 1. Variáveis clínicas e laboratoriais dos 25 pacientes cirróticos com IRA

| Características<br>(n=25) | Média/<br>Mediana/<br>n (%) |
|---------------------------|-----------------------------|
| Child-Pugh                | 10,7(±1,8)                  |
| MELD                      | 22,4(±7,4)                  |
| MELD-Na                   | 26,5(±7,3)                  |
| Estágios da IRA           |                             |
| 1                         | 16 (64%)                    |
| 2                         | 7 (28%)                     |
| 3                         | 2 (8%)                      |
| Causas da IRA             |                             |
| Infecção                  | 14 (56%)                    |
| Hipovolemia               | 9 (36%)                     |
| Síndrome hepatorenal      | 0                           |
| Nefropatia                | 2(8%)                       |
| HMGB1 (pg/mL)             | 1697,2 (0,1-6851,8)         |
| IL-6 (pg/mL)              | 47,6 (0,1-1107,3)           |
| Creatinina (mg/dL)        | 2,12 (±0,9)                 |
| Bilirrubina total(mg/dL)  | 4,6(0,4-16)                 |
| Albumina (g/dL)           | 2,5 (±0,4)                  |
| RNI                       | 1,6 (1,0-5,0)               |
| Sódio (mEq/L)             | 133,6 (±4,8)                |
| Proteína C Reativa (mg/L) | 35 (9-287)                  |

IRA, injúria renal aguda

Dos 25 pacientes, 16 (64%), sete (28%) e dois (8%) foram classificados nos estágios 1, 2 e 3, respectivamente, segundo ICA-AKI. Entre as causas de IRA, as infecções foram responsáveis por 14 (56%) casos, a hipovolemia por nove (28,8%) e a nefropatia por dois (9,6%). A peritonite bacteriana espontânea foi a causa mais comum de infecção (6 pacientes – 42,8%); infecção do trato urinário, pneumonia, bacteremia e sepse de foco indefinido estiveram presentes em dois casos cada (8%). A hipovolemia esteve associada, mais frequentemente, ao uso de diuréticos (seis pacientes – 66%), hemorragia digestiva (dois pacientes – 22%) e diarreia (1 paciente – 11%).

Variáveis clínicas e laboratoriais foram comparadas entre sobreviventes e não sobreviventes, em 30 dias e em três meses (tabelas 2 e 3). Aqueles pacientes que estavam vivos no final do primeiro mês apresentavam os escores de Child-Pugh, MELD e MELD-Na, e níveis de RNI e HMGB1 menores, quando comparados aos não sobreviventes (10,3 versus 12,7,  $p=0,019$ ; 20,2 versus 31,5,  $p = 0,05$ ; 23,1 versus 27,6,  $p=0,015$ ; 1,5 versus 3,1,  $p=0,009$ ; 1174,2pg/mL versus 3338,5pg/mL,  $p=0,035$ ; respectivamente). Em relação aos níveis séricos de IL-6, os valores foram 43,3pg/mL versus 87,9pg/mL ( $p=0,061$ ). Os pacientes que apresentaram resposta ao tratamento também se diferiram do grupo que não respondeu à terapêutica ( $p = 0,005$ ). Ao final do terceiro mês, o escore MELD-Na foi significativamente menor no grupo de pacientes que sobreviveu (22,3 versus 29,4;  $p=0,044$ ). Além disso, o estágio ICA-AKI também diferenciou o grupo sobrevivente do grupo não sobrevivente ( $p=0,045$ ). Neste período de tempo, níveis de HMGB1 não diferiram sobreviventes de não sobreviventes (1540pg/mL versus 2352pg/mL,  $p=0,243$ ). Em relação aos níveis séricos de IL-6, seus valores foram 35,8pg/mL versus 87,9pg/mL ( $p=0,071$ ). A taxa de mortalidade nesta casuística foi de 17,4% em 30 dias e de 30% em três meses.

Tabela 2. Comparação das variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais entre os pacientes que estavam vivos e aqueles que não estavam vivos no final do primeiro mês

|                                              | Sobreviventes (n=19) | Não sobreviventes (n = 4) | Valor de p |
|----------------------------------------------|----------------------|---------------------------|------------|
| <b>Demográficas</b>                          |                      |                           |            |
| Idade                                        | 56,1 (±10,4)         | 54 (±7,7)                 | 0,709      |
| Homens                                       | 14 (73,7%)           | 2 (50%)                   | 0,349      |
| Mulheres                                     | 5 (26,3%)            | 2 (50%)                   |            |
| <b>Clínicas</b>                              |                      |                           |            |
| Child-Pugh                                   | 10,3(±1,7)           | 12,7(±1,5)                | 0,019      |
| MELD                                         | 20,2 (±6,1)          | 31,5 (±8,6)               | 0,05       |
| MELD-Na                                      | 23,1 (±6,4)          | 27,6 (±7,3)               | 0,015      |
| <b>Estágio ICA-AKI</b>                       |                      |                           |            |
| 1                                            | 13 (68,4%)           | 2 (50%)                   | 0,609      |
| 2                                            | 5 (26,3%)            | 2 (50%)                   |            |
| 3                                            | 1 (5,3%)             | 0                         |            |
| <b>Causas de IRA</b>                         |                      |                           |            |
| Infecção                                     | 11 (57,9%)           | 2 (50%)                   | 0,822      |
| Hipovolemia                                  | 7 (36,8%)            | 2 (50%)                   |            |
| Síndrome hepatorenal                         | 0                    | 0                         |            |
| Nefropatia                                   | 1 (5,3%)             | 0                         |            |
| <b>Resposta ao tratamento com expansores</b> |                      |                           |            |
| Completa                                     | 12 (63,2%)           | 1 (25%)                   | 0,005      |
| Parcial                                      | 7 (36,8%)            | 1 (25%)                   |            |
| Ausente                                      | 0                    | 2 (50%)                   |            |
| <b>Encefalopatia</b>                         |                      |                           |            |
| Presente                                     | 6 (31,6%)            | 2 (50%)                   | 0,589      |
| Ausente                                      | 13 (68,4%)           | 2 (50%)                   |            |
| <b>Ascite</b>                                |                      |                           |            |
| Presente                                     | 17 (89,5%)           | 4 (100%)                  | 0,497      |
| Ausente                                      | 2 (17,1%)            | 0                         |            |
| <b>Laboratoriais</b>                         |                      |                           |            |
| HMGB1 (pg/mL)                                | 1174,2 (0,1-6665)    | 3338,5 (2273-6851,8)      | 0,035      |
| IL-6 (pg/mL)                                 | 43,3 (0,1-135,6)     | 153,3(21,1-1107)          | 0,061      |
| Creatinina (mg/dL)                           | 2,0(±0,7)            | 1,8(±0,1)                 | 0,663      |
| Bilirrubina total (mg/dL)                    | 1,7 (0,4-15,3)       | 6 (4,6-8,0)               | 0,168      |
| Albumina (g/dL)                              | 2,5 (±0,4)           | 2,4 (±0,6)                | 0,481      |
| RNI                                          | 1,5 (1,0-2,4)        | 3,1 (2,0-3,09)            | 0,009      |
| Sódio (mEq/L)                                | 133,2 (±5,4)         | 134,8 (±4,3)              | 0,427      |
| Proteína C Reativa (mEq/L)                   | 34 (9-287)           | 28(18-46)                 | 0,626      |

ICA-AKI, International Club of Ascites – Acute Kidney Injury.

Tabela 3. Comparação das variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais entre os pacientes que estavam vivos e aqueles que não estavam vivos em três meses

|                                              | Sobreviventes (n =15) | Não sobreviventes (n = 7) | Valor de p |
|----------------------------------------------|-----------------------|---------------------------|------------|
| <b>Demográficas</b>                          |                       |                           |            |
| Idade                                        | 55,3 (±11,6)          | 53,9 (±5,7)               | 0,528      |
| Homens                                       | 17 (65,4%)            | 16 (72,7%)                | 0,584      |
| Mulheres                                     | 9 (34,6%)             | 6 (33,3%)                 |            |
| <b>Clínicas</b>                              |                       |                           |            |
| Child-Pugh                                   | 10,3(±1,7)            | 11,6(±2,1)                | 0,134      |
| MELD                                         | 20,1 (±6,1)           | 26,9 (±9,8)               | 0,061      |
| MELD-Na                                      | 22,3 (±7,0)           | 29,4 (± 7,5)              | 0,044      |
| Estágio ICA-AKI                              |                       |                           | 0,045      |
| 1                                            | 12 (80%)              | 2 (28,6%)                 |            |
| 2                                            | 3 (20%)               | 4 (57,1%)                 |            |
| 3                                            | 0 (11,5%)             | 1 (14,3%)                 |            |
| <b>Causas de IRA</b>                         |                       |                           |            |
| Infecção                                     | 8 (53,3%)             | 4 (57,1%)                 | 0,783      |
| Hipovolemia                                  | 6 (40%)               | 4 (42,9%)                 |            |
| Síndrome hepatorenal                         | 0                     | 0                         |            |
| Nefropatia                                   | 1 (6,7%)              | 0                         |            |
| <b>Resposta ao tratamento com expansores</b> |                       |                           |            |
| Completa                                     | 10 (66,7%)            | 2 (28,6%)                 | 0,059      |
| Parcial                                      | 5 (33,3%)             | 3 (42,9%)                 |            |
| Ausente                                      | 0                     | 2 (28,6%)                 |            |
| <b>Encefalopatia</b>                         |                       |                           |            |
| Presente                                     | 4 (26,7%)             | 3 (42,9%)                 | 0,387      |
| Ausente                                      | 11 (73,3%)            | 4 (57,1%)                 |            |
| <b>Ascite</b>                                |                       |                           |            |
| Presente                                     | 13 (86,7%)            | 7 (100%)                  | 0,455      |
| Ausente                                      | 2 (13,3%)             | 0 (9,1%)                  |            |
| <b>Laboratoriais</b>                         |                       |                           |            |
| HMGB1 (pg/mL)                                | 1540 (0,1-6665)       | 2352 (53,2-6851,8)        | 0,243      |
| IL-6 (pg/mL)                                 | 35,8 (0,1-113,5)      | 87,9 (4,4-1107,3)         | 0,071      |
| Creatinina (mg/dL)                           | 1,9(±0,6)             | 2,4(±0,8)                 | 0,086      |
| Bilirrubina total (mg/dL)                    | 1,7 (0,8-15,3)        | 5,37 (0,4-8,3)            | 0,573      |
| Albumina                                     | 2,5 (±0,4)            | 2,6 (±0,6)                | 0,525      |
| RNI                                          | 1,5(1-2,24)           | 2,0(1,2-5,0)              | 0,341      |
| Sódio (mEq/L)                                | 133,3 (±4,4)          | 132,8 (±5,5)              | 0,829      |
| Proteína C Reativa (mg/L)                    | 30,8 (5-278)          | 31,6(5-287)               | 0,860      |

ICA-AKI, International Club of Ascites – Acute Kidney Injury.

Para estudo dos vários preditores de mortalidade, foi elaborado o modelo de regressão de Cox. Na análise do desfecho em 30 dias, as variáveis que apresentaram valor de p menor

que 0,2 foram Child-Pugh, MELD, MELD-Na, resposta, bilirrubina total, RNI, IL-6 e HMGB1. Para o desfecho 90 dias as variáveis inicialmente incluídas no modelo Cox foram Child-Pugh, MELD, MELD-Na, resposta, estágio ICA-AKI, creatinina, e IL-6. Após tratamento estatístico, o modelo não identificou variáveis com valor de  $p < 0,05$  que se relacionaram à mortalidade em 1 mês. Na análise de predição de mortalidade no terceiro mês, a variável que se manteve associada à mortalidade foi a resposta ao tratamento com expansores (odds ratio 5,7; IC 0,27-0,41;  $p = 0,012$ ).

Uma vez realizadas as curvas ROC, os pontos de corte dos valores séricos das citocinas que apresentaram melhor acurácia para predizer a mortalidade em um mês foram 2.168pg/mL e 73pg/mL para a HMGB1 e IL-6, respectivamente. Tais valores associaram-se a taxas de sensibilidade e especificidade de 100% e 74%, para nível sérico de HMGB1 e de 75% e 79%, respectivamente para nível sérico de IL-6. A área sob a curva foi de 0,842 para a HMGB1 e de 0,803 para a IL-6. Na análise da mortalidade em três meses, o valor de HMGB1 foi o mesmo, e o de IL-6 foi de 45pg/mL. A sensibilidade e a especificidade foram de 71% e 73% para HMGB1 e de 71 e 60% para IL-6, com as áreas sob as curvas de 0,657 e 0,743, respectivamente.

## **Discussão**

A IRA está diretamente associada à disfunção circulatória do cirrótico, fenômeno cujo principal fator desencadeante é a vasodilatação arterial esplâncnica secundária à hipertensão portal (9). Para compensar a perda inicial da volemia arterial efetiva, sistemas neuro-hormonais contrarreguladores são ativados e produzem substâncias tais como renina, angiotensina, aldosterona, adrenalina, noradrenalina e hormônio antidiurético. Dessa maneira, ocorre tentativa de restaurar o volume intravascular por meio da retenção de sódio e de líquidos e secreção de substâncias que atuam no sentido de aumentarem a resistência vascular periférica e o débito cardíaco, por meio do aumento da frequência cardíaca (principal determinante do débito cardíaco) caracterizando-se, assim, a circulação hiperdinâmica do cirrótico (10).

Entretanto, a circulação hiperdinâmica não deve ser considerada um fenômeno isolado na fisiopatologia da disfunção renal. De fato, a IRA, assim como outras formas de disfunção orgânica na cirrose, podem acontecer mesmo sem a progressão da disfunção circulatória, porque resultam, também, da interação complexa entre o sistema imune inato e componentes

bacterianos – também chamados de padrões moleculares associados a patógenos (PMAPs) – translocados do lúmen intestinal, e antígenos provenientes de células apoptóticas – padrões moleculares associados a dano (PMADs) (11-13). Uma vez ligados aos receptores de reconhecimento de padrões (RRPs), os PMAPs e PMADs ativam várias cascatas de sinalização intracelular e extracelular, produzindo respostas pró-inflamatórias que, quando excessivas ou crônicas, podem causar dano tecidual (5, 11). Assim, deve-se interpretar a IRA na cirrose como uma complicação resultante não somente da vasodilatação arterial, mas também de inflamação sistêmica exacerbada (11). Não por acaso, a falência renal é um dos componentes principais da ACLF – síndrome que, à diferença da “simples” descompensação aguda da cirrose, caracteriza-se pela inflamação sistêmica acentuada, disfunção orgânica e elevada mortalidade em curto prazo (3, 4).

Entre os diversos mediadores de estados inflamatórios agudos ou crônicos que acentuam a vasodilatação sistêmica e que se associam com a IRA, destacam-se a HMGB1 e a IL-6 (14). A HMGB1, um tipo de PMAD, é uma proteína nuclear pró-inflamatória secretada ativamente por células do sistema imune inato e liberada durante fenômenos de apoptose e também liberadas por hepatócitos em processo de morte celular (15, 16). A HMGB1 está envolvida na resposta inflamatória secundária à injúria hepática induzida por drogas e pelo fenômeno isquemia/reperfusão e também secundária às infecções pelos vírus das hepatites B e C. Além disso, participa ativamente nos mecanismos fisiopatológicos da doença hepática gordurosa não alcoólica, na progressão da fibrose hepática e na regulação do desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (16). Ao interagir com o receptor *toll-like* 4 (TLR-4) – um tipo de RRP transmembrana –, em uma de suas várias vias de sinalização, a HMGB1 induz a ativação do fator nuclear kappa B, produzindo respostas imunoestimulantes por meio da transcrição de genes pró-inflamatórios, incluindo o fator de necrose tumoral, a interleucina 1 e, por fim, a IL-6 (17). Da mesma forma, durante a sepse, a HMGB1 pode se acumular no tecido renal e na urina, estimulando células tubulares renais, por meio da interação com receptores TLR-4, a secretar citocinas inflamatórias, incluindo a IL-6 (18).

Nesse estudo, por meio da análise univariada, foi evidenciado que os níveis de HMGB1 diferenciaram sobreviventes de não sobreviventes ao final do primeiro mês (mediana de 1.357 pg/mL versus 3.338 pg/mL,  $p=0,032$ ). Com relação à IL-6, o valor de  $p$  não permite afirmar que os valores da mediana dos dois grupos foram diferentes entre si (39 pg/mL versus 153ng/mL,  $p=0,067$ ). Na análise de desempenho, as duas citocinas mostraram rendimento satisfatório para discriminar sobreviventes de não sobreviventes no primeiro mês (áreas sob a

curva ROC de 0,842 e 0,803, para HMGB1 e IL-6, respectivamente). Ao final do terceiro mês, diferentemente do que foi demonstrado no primeiro período, as medianas dos níveis séricos de HMGB1 e IL-6 não foram inferiores nos sobreviventes (1.540 ng/mL versus 2.352ng/mL,  $p=0,243$ ; 35ng/mL versus 87ng/mL,  $p=0,071$ , respectivamente). Contudo, o comportamento da IL-6 no final do terceiro mês foi bastante semelhante ao que aconteceu no final do primeiro mês, pois pode-se afirmar que houve tendência de significância para seu valor de  $p$  ( $p=0,067$  no final do primeiro mês e  $p=0,071$  no final do terceiro mês). No final do terceiro mês, o rendimento da curva ROC das duas citocinas também foi inferior. As áreas sob as curvas foram de 0,657 e 0,743, o que se associou a taxas de sensibilidade e de especificidade de 71% e 73% para HMGB1 e de 71 e 60% para IL-6. Tais resultados sugerem que ambas citocinas podem ser bons preditores de mortalidade, especialmente em curto prazo.

É possível afirmar que a associação entre HMGB1 – e, possivelmente, a IL-6 – e a sobrevida não represente apenas um epifenômeno, já que ambas as citocinas estão envolvidas na fisiopatologia da disfunção orgânica associada à IRA (14, 24, 25). Em modelos experimentais em que se induziu a IRA por meio de nefrectomia bilateral ou por isquemia, por exemplo, foi possível evidenciar dano tecidual hepático, caracterizado por aumento do influxo leucocitário e de citocinas, estresse oxidativo e apoptose (26-29). Entretanto, a interação entre o fígado e os rins é bidirecional: a IRA em pacientes cirróticos parece ser secundária não somente à disfunção circulatória, mas também a reações inflamatórias mediadas, entre outros mecanismos, pelo TLR-4 (30). De fato, níveis aumentados de receptores TLR-4 são encontrados em células tubulares renais de pacientes cirróticos com IRA, quando comparados aos sem IRA (31). Em modelos animais de indução de cirrose, a descontaminação intestinal com norfloxacino, após a injeção de lipopolissacarídeos bacterianos, foi capaz de reduzir a expressão renal desses receptores, sugerindo que eles possam mediar a injúria renal no contexto de infecção ou inflamação sistêmica (32). Além disso, o bloqueio da HMGB1 por meio de anticorpos monoclonais protege contra a IRA e também contra a ACLF (33, 34).

Como a HMGB1 e a IL-6 séricas podem se acumular na urina na vigência de processos inflamatórios associados à IRA (18, 35), ambas poderiam ser úteis no diagnóstico diferencial das causas de IRA na cirrose – em especial entre nefropatia parenquimatosa e a IRA funcional –, de maneira similar a outros biomarcadores urinários (36). Contudo, tendo em vista que a ausência de resposta à expansão volêmica é um importante preditor de mau prognóstico nos cirróticos com IRA, independentemente da sua etiologia, a capacidade dos

biomarcadores em diferenciar os respondedores dos não respondedores poderia reduzir custos e efeitos adversos de tratamentos desnecessários, além de otimizar a alocação dos pacientes nas filas de espera de transplante hepático. No nosso estudo, a HMGB1 e a IL-6 apresentaram bom desempenho para predizer ausência de resposta (área sob a curva ROC de 0,833 e 0,881, respectivamente), com sensibilidade de 100% e especificidade de 67,7% e de 76,8%, respectivamente, para os pontos de corte de 73,6pg/mL de IL-6 e 2168pg/mL de HMGB1. Na análise multivariada, a variável que se associou a mortalidade em três meses foi a resposta ao tratamento expansor.

Uma vez realizada revisão de literatura, não foi encontrado outro estudo que avaliou o papel da HMGB1 e da IL-6 como preditores de mortalidade em pacientes cirróticos com IRA. Entretanto, o nosso trabalho possui limitações, como o tamanho reduzido da nossa amostra e o seu caráter observacional. Novos estudos, com maior número de pacientes, são necessários para se avaliar o real papel dessas citocinas na disfunção orgânica da cirrose e no prognóstico de pacientes cirróticos com IRA.

### **Referências Bibliográficas**

1. Garcia-Tsao G, Parikh CR, Viola A. Acute kidney injury in cirrhosis. *Hepatology*. 2008;48(6):2064-77.
2. Fede G, D'Amico G, Arvaniti V, Tsochatzis E, Germani G, Georgiadis D, et al. Renal failure and cirrhosis: a systematic review of mortality and prognosis. *J Hepatol*. 2012;56(4):810-8.
3. Arroyo V, Moreau R, Jalan R, Gines P, Study E-CCC. Acute-on-chronic liver failure: A new syndrome that will re-classify cirrhosis. *J Hepatol*. 2015;62(1 Suppl):S131-43.
4. Moreau R. Acute-on-chronic liver failure: a new syndrome in cirrhosis. *Clin Mol Hepatol*. 2016;22(1):1-6.
5. Medzhitov R, Schneider DS, Soares MP. Disease tolerance as a defense strategy. *Science*. 2012;335(6071):936-41.
6. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.

7. Angeli P, Gines P, Wong F, Bernardi M, Boyer TD, Gerbes A, et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *J Hepatol.* 2015;62(4):968-74.
8. Salerno F, Gerbes A, Gines P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut.* 2007;56(9):1310-8.
9. Arroyo V, Colmenero J. Ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis: pathophysiological basis of therapy and current management. *J Hepatol.* 2003;38 Suppl 1:S69-89.
10. Ruiz-del-Arbol L, Monescillo A, Arocena C, Valer P, Gines P, Moreira V, et al. Circulatory function and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology.* 2005;42(2):439-47.
11. Bernardi M, Moreau R, Angeli P, Schnabl B, Arroyo V. Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. *J Hepatol.* 2015;63(5):1272-84.
12. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010;11(5):373-84.
13. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol.* 2011;30(1):16-34.
14. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. *Kidney Int.* 2016;89(3):555-64.
15. Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(4):331-42.
16. Chen R, Hou W, Zhang Q, Kang R, Fan XG, Tang D. Emerging role of high-mobility group box 1 (HMGB1) in liver diseases. *Mol Med.* 2013;19:357-66.
17. Park JS, Svetkauskaite D, He Q, Kim JY, Strassheim D, Ishizaka A, et al. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem.* 2004;279(9):7370-7.
18. Zheng S, Pan Y, Wang C, Liu Y, Shi M, Ding G. HMGB1 Turns Renal Tubular Epithelial Cells into Inflammatory Promoters by Interacting with TLR4 During Sepsis. *J Interferon Cytokine Res.* 2016;36(1):9-19.
19. Belcher JM, Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Bhogal H, Lim JK, Ansari N, et al. Association of AKI with mortality and complications in hospitalized patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2013;57(2):753-62.
20. de Carvalho JR, Villela-Nogueira CA, Luiz RR, Guzzo PL, da Silva Rosa JM, Rocha E, et al. Acute kidney injury network criteria as a predictor of hospital mortality in cirrhotic patients with ascites. *J Clin Gastroenterol.* 2012;46(3):e21-6.

21. Scott RA, Austin AS, Kolhe NV, McIntyre CW, Selby NM. Acute kidney injury is independently associated with death in patients with cirrhosis. *Frontline Gastroenterol.* 2013;4(3):191-7.
22. Altamirano J, Fagundes C, Dominguez M, Garcia E, Michelena J, Cardenas A, et al. Acute kidney injury is an early predictor of mortality for patients with alcoholic hepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(1):65-71 e3.
23. Tsien CD, Rabie R, Wong F. Acute kidney injury in decompensated cirrhosis. *Gut.* 2013;62(1):131-7.
24. Ahuja N, Andres-Hernando A, Altmann C, Bhargava R, Bacalja J, Webb RG, et al. Circulating IL-6 mediates lung injury via CXCL1 production after acute kidney injury in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012;303(6):F864-72.
25. Doi K, Ishizu T, Tsukamoto-Sumida M, Hiruma T, Yamashita T, Ogasawara E, et al. The high-mobility group protein B1-Toll-like receptor 4 pathway contributes to the acute lung injury induced by bilateral nephrectomy. *Kidney Int.* 2014;86(2):316-26.
26. Golab F, Kadkhodae M, Zahmatkesh M, Hedayati M, Arab H, Schuster R, et al. Ischemic and non-ischemic acute kidney injury cause hepatic damage. *Kidney Int.* 2009;75(8):783-92.
27. Park SW, Chen SW, Kim M, Brown KM, Kolls JK, D'Agati VD, et al. Cytokines induce small intestine and liver injury after renal ischemia or nephrectomy. *Lab Invest.* 2011;91(1):63-84.
28. Serteser M, Koken T, Kahraman A, Yilmaz K, Akbulut G, Dilek ON. Changes in hepatic TNF-alpha levels, antioxidant status, and oxidation products after renal ischemia/reperfusion injury in mice. *J Surg Res.* 2002;107(2):234-40.
29. Miyazawa S, Watanabe H, Miyaji C, Hotta O, Abo T. Leukocyte accumulation and changes in extra-renal organs during renal ischemia reperfusion in mice. *J Lab Clin Med.* 2002;139(5):269-78.
30. Adebayo D, Morabito V, Davenport A, Jalan R. Renal dysfunction in cirrhosis is not just a vasomotor nephropathy. *Kidney Int.* 2015;87(3):509-15.
31. Shah N, Mohamed FE, Jover-Cobos M, Macnaughtan J, Davies N, Moreau R, et al. Increased renal expression and urinary excretion of TLR4 in acute kidney injury associated with cirrhosis. *Liver Int.* 2013;33(3):398-409.
32. Shah N, Dhar D, El Zahraa Mohammed F, Habtesion A, Davies NA, Jover-Cobos M, et al. Prevention of acute kidney injury in a rodent model of cirrhosis following selective gut decontamination is associated with reduced renal TLR4 expression. *J Hepatol.* 2012;56(5):1047-53.

33. Li X, Wang LK, Wang LW, Han XQ, Yang F, Gong ZJ. Blockade of high-mobility group box-1 ameliorates acute on chronic liver failure in rats. *Inflamm Res*. 2013;62(7):703-9.
34. Wu H, Ma J, Wang P, Corpuz TM, Panchapakesan U, Wyburn KR, et al. HMGB1 contributes to kidney ischemia reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(11):1878-90.
35. Dennen P, Altmann C, Kaufman J, Klein CL, Andres-Hernando A, Ahuja NH, et al. Urine interleukin-6 is an early biomarker of acute kidney injury in children undergoing cardiac surgery. *Crit Care*. 2010;14(5):R181.
36. Belcher JM, Sanyal AJ, Peixoto AJ, Perazella MA, Lim J, Thiessen-Philbrook H, et al. Kidney biomarkers and differential diagnosis of patients with cirrhosis and acute kidney injury. *Hepatology*. 2014;60(2):622-32.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tal como tem sido relatado na literatura, este estudo também evidenciou que pacientes cirróticos com IRA, utilizando-se os critérios recomendados pelo ICA, possuem prognóstico reservado em curto e em médio prazo. Cerca de um terço e aproximadamente metade evoluíram para o óbito em 30 dias e em três meses após o diagnóstico, respectivamente, em especial aqueles com cirrose avançada e os que não respondem à expansão volêmica.

Nossos resultados também mostraram que níveis séricos de HMGB1 se associaram com a sobrevida em pacientes cirróticos com IRA no primeiro mês. Os níveis séricos de IL-6, por outro lado, não apresentaram rendimento satisfatório para discriminar sobreviventes e não sobreviventes, apesar de o valor p estar próximo a 0,05. Entretanto, ambas as citocinas possuíram bom desempenho para predizer a mortalidade, principalmente em curto prazo. Novos estudos, com maior número de pacientes, são necessários para melhor avaliar o papel desses biomarcadores no prognóstico dos cirróticos com IRA.

## APÊNDICES

### Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você, \_\_\_\_\_, paciente do Hospital das Clínicas da UFMG, está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa e tem o direito de saber sobre sua participação.

O projeto tem como objetivo avaliar o prognóstico da injúria renal aguda em pacientes cirróticos internados, bem como investigar quais substâncias presentes no sangue e que participam de reações inflamatórias (citocinas/quimiocinas, níveis séricos de HMGB1 e histonas) possam funcionar como marcadores da evolução clínica, morbidade e mortalidade.

Nesta condição clínica, existem várias reações inflamatórias que podem acentuar o processo da doença e determinar pior evolução. A medida das substâncias envolvidas nessas reações permitirá melhor entendimento sobre a doença. Para a dosagem destes marcadores inflamatórios, serão colhidas uma amostra de sangue periférico em duas ocasiões, antes e após o tratamento.

Sua participação neste estudo é voluntária e gratuita. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado. Ela constituirá em permitir que as informações sobre a sua doença contidas no seu prontuário sejam utilizadas na pesquisa.

O benefício esperado é o melhor entendimento dessa complicação associada à cirrose. Os riscos são mínimos e incluem flebites (inflamação nos vasos) e pequenos sangramentos nos lugares de punção de sangue para a coleta das amostras. Não há riscos adicionais relacionados ao estudo.

Os médicos responsáveis pela pesquisa Eduardo Garcia Vilela Célio Geraldo de Oliveira Gomes poderão ser contatados através de dos telefones 34099403 e 34099512. Ou pelo e-mail: evilela@medicina.ufmg.br. O telefone do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG) é 34094592. O endereço do COEP é: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG. As dúvidas éticas poderão ser esclarecidas com o COEP e as demais com os pesquisadores.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico.

Eu, \_\_\_\_\_, registro n.º \_\_\_\_\_ do Hospital das Clínicas da UFMG, após esclarecido sobre a pesquisa, aceito participar do estudo, concordando com o uso, na pesquisa, das informações clínicas e laboratoriais da minha doença e dos resultados obtidos com o tratamento.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
Eduardo Garcia Vilela (orientador)

\_\_\_\_\_  
Célio Geraldo de Oliveira Gomes (mestrando)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO**

**UFMG**

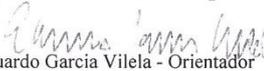
## FOLHA DE APROVAÇÃO

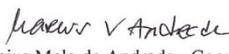
**ASPECTOS CLÍNICOS E ESTUDO DO PAPEL DE BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DE PACIENTES CIRRÓTICOS COM INJÚRIA RENAL AGUDA**

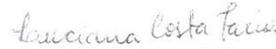
**CÉLIO GERALDO DE OLIVEIRA GOMES**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO.

Aprovada em 29 de agosto de 2016, pela banca constituída pelos membros:

  
 Prof. Eduardo Garcia Vilela - Orientador  
 UFMG

  
 Prof. Marcus Vinicius Melo de Andrade - Coorientador  
 UFMG

  
 Profa. Luciana Costa Faria  
 UFMG

  
 Profa. Renata de Mello Perez  
 UFRJ

Belo Horizonte, 29 de agosto de 2016.