



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARCEL JAQUETO

**INTERAÇÃO CÉREBRO-RIM:
O PAPEL DA INFLAMAÇÃO NA INJÚRIA RENAL AGUDA
ASSOCIADA AO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO
ISQUÊMICO**

Londrina
2022

MARCEL JAQUETO

**INTERAÇÃO CÉREBRO-RIM:
O PAPEL DA INFLAMAÇÃO NA INJÚRIA RENAL AGUDA
ASSOCIADA AO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO
ISQUÊMICO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche (CCS/UEL)

Co-orientador: Prof. Dr Vinicius Daher Alvares Delfino (Depto Clínica Médica/CCS/UEL)

Londrina
2022

Jaqueto, Marcel.

Interação cérebro-rim: o papel da inflamação na injúria renal aguda associada ao acidente vascular encefálico isquêmico / Marcel Jaqueto. - Londrina, 2022. 120 f. : il.

Orientador: Edna Maria Vissoci Reiche.

Coorientador: Vinicius Daher Alvares Delfino.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2022.

Inclui bibliografia.

1. Abordagem dos fenômenos inflamatórios secundários ao AVE isquêmico e a possibilidade de injúria renal à distância - Tese. 2. Avaliação de possíveis mediadores inflamatórios como fator causal de injúria renal aguda - Tese. 3. Determinação da incidência e do poder prognóstico da injúria renal aguda nos pacientes com AVE isquêmico - Tese. 4. Avaliação de um novo biomarcador de injúria renal aguda em pacientes com AVE isquêmico - Tese. I. Reiche, Edna Maria Vissoci. II. Delfino, Vinicius Daher Alvares. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU 61

MARCEL JAQUETO

**INTERAÇÃO CÉREBRO-RIM:
O PAPEL DA INFLAMAÇÃO NA INJÚRIA RENAL AGUDA
ASSOCIADA AO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO
ISQUÊMICO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa Dra. Edna Maria Vissoci
Reiche
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Abel Esteves Soares
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Andrea Name Simão
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Cintia Magalhães Carvalho Grion
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcio Francisco Lehmann
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dra. Daniela Frizon Alfieri
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Luis Alberto Batista Peres
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Londrina, 20 de junho de 2022.

AGRADECIMENTOS

Ao meu co-orientador, professor e amigo Dr. Vinicius Daher Alvares Delfino, pelo conhecimento passado, pela paciência de sempre, pela prontidão em dirimir as dúvidas e pelo estímulo do conhecer.

À minha orientadora, professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche, por ter prontamente me acolhido como seu orientando, e pelas extremas competência e dedicação na execução deste trabalho.

À professora Dra. Daniela Frizon Alfieri, Farmacêutica que dedicou muitas horas do seu tempo para as trabalhosas análises bioquímicas e estatísticas, essenciais para o êxito do estudo.

A meus pais, que me geraram, criaram e deram todas as condições para que eu pudesse estar aqui hoje, em crescimento profissional e intelectual.

A meus filhos, Isadora e Guilherme, suporte e motivo que tanto me ajudaram a seguir quando o cansaço batia à porta.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, que mantém o afinho em estimular a pesquisa em nossa Universidade.

Aos alunos dos cursos de Graduação de Medicina e Farmácia da Universidade Estadual de Londrina, que muito ajudaram com a coleta dos dados concernentes ao trabalho

A Deus, mestre maior, por me permitir estar aqui, com saúde e vontade, para a execução de mais esta missão

JAUQUETO, Marcel. **Interação cérebro-rim: o papel da inflamação na injúria renal aguda associada ao acidente vascular encefálico isquêmico.** 2022. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

Introdução: O acidente vascular encefálico isquêmico (AVEI) é uma das principais causas de mortalidade e seu prognóstico depende da gravidade do evento isquêmico, de comorbidades prévias e complicações intra-hospitalares. Evidências têm mostrado associação entre AVEI e o surgimento de injúria renal aguda (IRA), a qual, por sua vez, está associada ao pior prognóstico nesses pacientes. Os objetivos da presente tese foram avaliar a frequência de IRA após AVEI e o valor prognóstico de um painel de biomarcadores demográficos, clínicos e laboratoriais, entre eles a dosagem de lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos na urina (uNGAL) na predição de IRA e mortalidade em curto prazo após o AVEI.

Métodos: Foi realizado um estudo prospectivo e longitudinal com 156 pacientes adultos, de ambos os sexos, com suspeita de AVEI agudo, recrutados consecutivamente de março de 2017 a março de 2019 no Pronto-Socorro do Hospital Universitário, Londrina, Paraná. O AVEI foi diagnosticado pela presença de sinais ou sintomas neurológicos focais e confirmado por tomografia computadorizada cerebral sem contraste. A gravidade do AVEI foi avaliada pela *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS). A incapacidade foi avaliada após três meses de acompanhamento usando a Escala de Rankin modificada (mRS), e a mortalidade foi registrada após três meses do AVEI. A IRA foi definida pelo aumento $\geq 0,3$ mg/dL da creatinina sérica em relação ao valor basal na admissão ou aumento de 1,5 vezes ou mais no valor de creatinina sérica em até 72 h após admissão. Dados demográficos, epidemiológicos e clínicos basais e amostras de sangue foram obtidos até 24 h da admissão. Os biomarcadores avaliados na admissão foram contagem de leucócitos totais, proteína C reativa com método de alta sensibilidade (usPCR), níveis plasmáticos de interleucina (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), fator de transformação do crescimento beta 1 (TGF- β 1), glicose, albumina, 25 hidroxivitamina D [25(OH)D], insulina, ferritina, adiponectina, homocisteína e das formas solúveis da molécula de adesão intercelular (sICAM)-1, molécula de adesão vascular celular (sVCAM-1), molécula de adesão de plaqueta/endotélio (sPECAM)-1, E-selectina (sE-selectina) e P-selectina (sP-selectina). Níveis séricos de creatinina foram determinados na admissão (creatinina 1), em até 72 h após admissão (creatinina 2) e sua variação (Δ creatinina). Em uma amostra de 21 pacientes com AVEI, procedeu-se a dosagem de uNGAL na admissão (uNGAL1), em até 48 h após a admissão (uNGAL2) e a sua variação (Δ uNGAL).

Resultados: Dos 156 pacientes inicialmente inseridos, 95 atenderam aos critérios de inclusão. Destes, 15 (15,7%) apresentaram IRA. A gravidade do AVEI e a incapacidade foram maiores nos pacientes com IRA comparados aos sem IRA ($p = 0,054$ e $p = 0,029$, respectivamente). A proporção de pacientes com AVEI com deficiência de vitamina D [25(OH)D < 20 ng/mL] e níveis elevados de sVCAM-1 foi maior entre os que desenvolveram IRA do que os sem IRA ($p = 0,011$ e $p = 0,023$, respectivamente). Os níveis de sVCAM-1 foram independentemente associados ao diagnóstico de IRA após AVEI [*odds ratio* (OR): 5,665, intervalo de confiança (IC) de

95%: 1,337-23,99, $p=0,019$]. A mortalidade foi maior entre os pacientes com IRA em comparação com os sem IRA ($p = 0,009$). A IRA foi independentemente associada à mortalidade e apresentou melhor valor de predição do que a gravidade do AVEI. Os valores da uNGAL1 mostraram tendência para predição de IRA ($p=0,099$) e foram mais elevados em pacientes do sexo feminino do que nos do sexo masculino ($p=0,047$). No entanto, os valores de uNGAL1, uNGAL2 e Δ uNGAL não mostraram associação com a gravidade do AVEI, incapacidade e mortalidade após três meses do evento isquêmico.

Conclusões: O estudo demonstrou a IRA como complicação frequente após AVEI e sua associação com mortalidade após três meses do evento isquêmico. Além disso, sVCAM-1 foi associada de forma independente à IRA, o que sugere um papel plausível nos mecanismos fisiopatológicos da IRA após AVEI, bem como um potencial biomarcador para predizer IRA nestes pacientes. Por último, os valores de uNGAL na admissão mostrou tendência em predizer o surgimento de IRA, achado que poderia se mostrar estatisticamente significativo caso a amostra de pacientes fosse maior.

Palavras-chave: injúria renal aguda; acidente vascular encefálico isquêmico; biomarcadores; VCAM-1; mortalidade; NGAL

JAQUETO, Marcel. **Brain-kidney interaction: the role of inflammation in acute kidney injury associated with ischemic stroke.** 2022. 119 p. Thesis (Doctorate in Health Sciences) - State University of Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

Background: Ischemic stroke (IS) is one of the main causes of mortality in the world, and its prognosis depends on the severity, previous comorbidities and in-hospital complications. Evidences have shown an association between IS and the onset of acute kidney injury (AKI), which, in turn, is associated with a worse prognosis in these patients. The aim of the present study was to evaluate the frequency of AKI and the prognostic value of a panel of demographic, clinical and laboratory biomarkers, including the urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (uNGAL), in the prediction of AKI and mortality after three months of the IS.

Methods: A prospective and longitudinal study was carried out with 156 adult patients of both sexes, with suspected of IS, attended during March 2017 to March 2019 at the Emergency Room of the University Hospital, Londrina, Paraná. The diagnosis of IS was confirmed by the presence of focal neurological signs or symptoms and brain computed tomography without contrast. The IS severity was assessed using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS). Disability was determined after three months follow-up using the modified Rankin Scale (mRS). Mortality was recorded after three months of the IS. AKI was defined as an increase of ≥ 0.3 mg/dL in serum creatinine from baseline at admission or an increase in serum creatinine level by 1.5-fold or more up to 72 h after admission. Baseline demographic, epidemiological, clinical data, and blood samples were obtained within 24 h of admission. The biomarkers evaluated at study admission were total leukocyte count, high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), plasma levels of interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, interferon gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1), glucose, albumin, 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D], insulin, ferritin, adiponectin, homocysteine and soluble forms of intercellular adhesion molecule (sICAM)-1, vascular cellular adhesion molecule (sVCAM-1), platelet/endothelium adhesion molecule (sPECAM)-1, E-selectin (sE-selectin) and P-selectin (sP-selectin). Serum creatinine levels were determined at admission (creatinine 1), up to 72 h after admission (creatinine 2), and its variation (Δ creatinine). In a sample of 21 IS patients, uNGAL was measured at admission (uNGAL 1), 48 h later (uNGAL2), and its variation (Δ uNGAL).

Results: Of the 156 patients included in the study, 95 were analyzed. Of them, 15 (15.7%) had diagnosis of AKI. The baseline severity and disability were higher among the patients with AKI than those without AKI ($p = 0.054$ and $p = 0.029$, respectively). The proportion of IS patients with vitamin D deficiency status [25(OH)D < 20 ng/mL] and elevated levels of sVCAM-1 was higher among those with AKI than those without AKI ($p = 0.011$ and $p = 0.023$, respectively). sVCAM-1 levels were independently associated with the diagnosis of AKI after IS [odds ratio (OR): 5.665, 95% confidence interval (CI): 1.337-23.99, $p=0.018$] and mortality was higher among those with AKI than those without AKI ($p=0.009$). AKI was independently associated with mortality and had a better predictive value than IS severity. The pilot study evaluated urine samples of 21 patients; of them, 4 (19.0%) with AKI diagnosis. The uNGAL1 values showed a trend towards to predict AKI ($p=0.099$) and was higher in female patients than in male

patients ($p=0.047$). However, uNGAL1, uNGAL2, and Δ uNGAL showed no association with the IS severity, disability, and mortality.

Conclusions: The study demonstrated AKI as a common complication after IS and its association with mortality after three months of the ischemic event. Furthermore, sVCAM-1 levels were independently associated with AKI, which suggests a plausible role in the pathophysiological mechanisms of AKI after IS, as well as a potential biomarker to predict AKI in these patients. Finally, the values of uNGAL1 showed a trend towards to predict the onset of AKI, a finding that could be statistically significant if the sample of IS patients were larger than the present cohort.

Key words: acute kidney injury; ischemic stroke; biomarkers; VCAM-1; mortality, NGAL.

LISTA DE ABREVIATURAS

α 1M	Alfa 1 microglobulina
ACTH	<i>Adrenocorticotrophic hormone</i> (Hormônio Adrenocorticotrófico)
AINES	Anti-inflamatórios não esteroides
AIT	Ataque Isquêmico Transitório
AKIN	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
AVE	Acidente Vascular Encefálico
AVEI	Acidente Vascular Encefálico Isquêmico
AVEH	Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico
B2M	Beta 2 microglobulina
BHE	Barreira Hemato-Encefálica
CAM	<i>Cell Adhesion Molecule</i> (Molécula de Adesão Celular)
CT	<i>Computed Tomography</i> (Tomografia Computadorizada)
Cys-C	Cistatina-C
DAMP	<i>Damage Associated Molecular Pattern</i> (Padrão Molecular Associado a Dano)
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DRC	Doença Renal Crônica
EGF	<i>Epidermal growth fator</i> (Fator de crescimento epidérmico)
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
HAS	Hipertensão Arterial Isquêmica
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> (Lipoproteína de alta densidade)
H-FABP	Proteína de ligação de ácido graxo do coração
HHA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
HU	Hospital Universitário
IC	Intervalo de confiança
ICAM-1	<i>Intercellular cell adhesion molecule 1</i> (Molécula de Adesão Intercelulares tipo 1)
IFN- γ	Interferon gama
IGFBP7	<i>Insulin like growth fator binding protein 7</i> (Proteína de ligação 7 do fator de crescimento insulina like)
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6

IL-12	Interleucina 12
IL-18	Interleucina 18
IMC	Índice de Massa Corpórea
IRA	Injúria Renal Aguda
kDa	Kilodalton
KDIGO	<i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>
KIM-1	<i>Kidney Injury Molecule 1</i> (Molécula de Injúria Renal 1)
L-FABP	Proteína de ligação de ácidos graxos do tipo fígado
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i> (Lipoproteína de baixa densidade)
M1	Macrófago com fenótipo inflamatório
M2	Macrófago com fenótipo anti-inflamatório
MCP-1	<i>Macrophage chemoattractant Protein 1</i> (Proteína quimioatraente de monócito 1)
MMP-9	<i>Matrix metalloproteinase 9</i> (Metaloproteinase de matriz 9)
mRS	<i>Modified Rankin Scale</i> (Escala de Rankim modificada)
NAG	n-acetil-b-d-glucosaminidase
NGAL	<i>Neutrophil gelatinase associated lipocain</i> (Lipocalina Associada a Gelatinase de Neutrófilo)
NK	<i>Natural Killer</i> (Exterminadoras naturais)
NIHSS	<i>National Institutes of Health Stroke Scale</i>
NTA	Necrose Tubular Aguda
OR	<i>Odds ratio</i> (razão de chance)
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PECAM-1	<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule 1</i> (Molécula de Adesão Celular Plaqueta/Endotélio 1)
PCR	Proteína C Reativa
PIIINP	Propeptídeo N-terminal de procologéno tipo III;
pNGAL	Lipocalina Associada a Gelatinase de Neutrófilo plasmática
RBP	<i>Retinol binding protein</i> (Proteína de ligação ao retinol)
RIFLE	<i>Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
TC	Tomografia Computadorizada
TFG	Taxa de filtração glomerular

TGF-β1	<i>Transforming growth factor beta 1</i> (Fator de transformação do crescimento beta 1)
Th	<i>T helper</i> (T auxiliar)
TIMP-2	<i>Tissue inhibitor of metalloproteinases 2</i> (Inibidor tecidual de metaloproteinases 2)
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TNFR1	<i>Tumor necrosis factor receptor I</i> (Receptor do fator de necrose tumoral tipo I)
TNFR2	<i>Tumor necrosis factor receptor II</i> (Receptor do fator de necrose tumoral tipo II)
TOAST	<i>Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment</i>
<i>Treg</i>	Célula T regulatória
TRS	Terapia Renal Substitutiva
UMOD	Uromodulina
uNGAL	Lipocalina Associada a Gelatinase de Neutrófilo urinária
usPCR	Proteína C reativa com método de elevada sensibilidade
UEL	Universidade Estadual de Londrina
VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion molecule 1</i> (Molécula de Adesão Celular Vascular tipo 1)
VLA-1	<i>Very late antigen 1</i> (Antígeno muito tardio 1)
YKLA-40	Proteína semelhante à quitinase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	INJURIA RENAL AGUDA	14
1.2	A ASSOCIAÇÃO ENTRE LESÃO CEREBRAL E LESÃO RENAL	16
1.3	EPIDEMIOLOGIA DA INJÚRIA RENAL AGUDA PÓS ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO	17
1.4	FISIOPATOLOGIA: O AVE COMO UMA DOENÇA SISTÊMICA	18
1.6	BIOMARCADORES ASSOCIADOS AO COMPLEXO AVEI-RIM-INFLAMAÇÃO	23
1.7	BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS	27
1.7.1	Proteína C Reativa	27
1.7.2	Citocinas	27
1.7.3	Moléculas de Adesão Celular	29
1.7.4	Ngal	32
1.8	HIPÓTESE DE ESTUDO	35
2	JUSTIFICATIVA	36
3	OBJETIVOS	38
3.1	OBJETIVO GERAL	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	39
4.1	ASPECTOS ÉTICOS	39
4.2	SUJEITOS	39
4.3	BIOMARCADORES LABORATORIAIS	42
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5	RESULTADOS	45
5.1	ARTIGO 1	46
5.2	ARTIGO 2	71
6	CONCLUSÃO	91

7	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	92
	REFERÊNCIAS.....	94
	ANEXOS	105
	APÊNDICES.....	117

1 1 INTRODUÇÃO

2

3 O acidente vascular encefálico (AVE) é uma das principais causas de
4 mortalidade e morbidade na população em geral, sendo a segunda causa mundial de
5 mortalidade e a terceira em termos de pacientes incapacitados (FEIGIN; NORRVING;
6 MENSAH, 2017). Apesar de a incidência e mortalidade terem diminuído em países de
7 alta renda, os dados em países de média e baixa renda apresentam bastante
8 variabilidade, ainda que ressaltem o AVE como importante causa de morbimortalidade
9 (FEIGIN; NORRVING; MENSAH, 2017; LAVADOS *et al.*, 2021).

10 O AVE é um evento cerebrovascular súbito que, geralmente, ocorre no curso
11 de doenças sistêmicas crônicas, não limitadas ao sistema cardiovascular, sendo
12 inclusive comum que haja múltiplas comorbidades no mesmo paciente. O AVE pode
13 ser classificado em AVE isquêmico (AVEI) e hemorrágico (AVEH). Alterações no AVEI
14 causadas pela perda de fluxo sanguíneo, glicose e oxigênio devido à obstrução
15 vascular, incluindo o desencadeamento de uma série de respostas oxidativas,
16 bioquímicas e hormonais, levam a danos microvasculares e ruptura da barreira
17 hematoencefálica (BHE). Aproximadamente 80,0% dos pacientes hospitalizados com
18 o primeiro episódio de AVEI ou de ataque isquêmico transitório (AIT) têm duas ou
19 mais doenças crônicas, como hipertensão arterial sistêmica (HAS), fibrilação atrial,
20 diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doença arterial coronariana e doença renal crônica
21 (DRC) (CUI; MCCULLOUGH; HAO, 2021). Além disso, o envelhecimento e sexo
22 masculino são dois fatores de risco não modificáveis que influenciam no prognóstico
23 destes pacientes (AHNSTEDT; MCCULLOUGH, 2019). Com isto em mente, é de se
24 esperar que não apenas o cérebro, mas também órgãos periféricos apresentem graus
25 variados de alterações funcionais e estruturais que precedam o evento isquêmico,
26 consequentes a um estado de inflamação sistêmica de baixo grau (FERRUCCI;
27 FABBRI, 2018). O prognóstico destes pacientes é ditado não apenas pelo próprio
28 AVEI em si, mas também por condições prévias ao AVEI (como idade, estado
29 funcional, presença de DM2 e cardiopatia) e por complicações intra-hospitalares,
30 como surgimento de infecções e disfunção concomitante de outros órgãos
31 (GATTRINGER *et al.*, 2019). Dentre estes fatores hospitalares, o surgimento de injúria
32 renal aguda (IRA) é considerado um dos fatores de risco para mortalidade (LI *et al.*,
33 2009).

1 1.1 INJURIA RENAL AGUDA

2

3 A IRA pode ser definida por uma redução abrupta na função dos rins, em um
4 período de horas a dias e que inclui, mas não se limita a, falência renal com
5 necessidade de terapia renal substitutiva (TRS) (KELLUM *et al.*, 2012). É uma
6 condição clínica de amplo espectro e apresenta diversas etiologias, incluindo doenças
7 renais intrínsecas (como nefrites intersticiais, vasculites, glomerulonefrites, uso de
8 medicações nefrotóxicas) e condições extrarrenais, como depleção de volume
9 intravascular (injuria pré-renal) ou obstrução do fluxo urinário (injuria pós-renal).
10 Muitas vezes, há mais de um fator causal no mesmo paciente. Independente da causa
11 da IRA, seu reconhecimento é de suma importância para o paciente, uma vez que sua
12 ocorrência está associada a riscos de curto, médio e longo prazo, como aumento de
13 mortalidade, de DRC incidente e de maior uso de recursos em saúde (LAMEIRE *et*
14 *al.*, 2013).

15 A ocorrência de IRA em pacientes internados é comum. Dados relativos a 312
16 estudos, com um total aproximado de 49 milhões de pacientes, mostram que 1 em
17 cada 5 adultos e 1 em cada 3 crianças internados com doença aguda desenvolvem
18 IRA (SUSANTITAPHONG *et al.*, 2013). Em outro estudo, utilizando uma grande coorte
19 americana de pacientes da comunidade, a incidência de IRA sem necessidade de
20 TRS foi de 384,1 para cada 100 mil pessoas/ano, caindo para 24,4 para cada 100 mil
21 pessoas/ano quando houve necessidade de TRS (HSU *et al.*, 2007). Nesta mesma
22 população, assim como em outros estudos, observou-se aumento da incidência de
23 lesão renal ao longo dos anos. De 1996 a 2003, a incidência de IRA com e sem
24 necessidade de TRS elevou-se de 19,5 para 29,5 (33,0%) e de 322 para 522 (38,0%)
25 por 100 mil pessoas/ano, respectivamente. Ainda assim, os dados devem estar
26 subestimados, uma vez que muitos estudos utilizam dados administrativos e/ou de
27 codificação de doenças, sem levar em consideração outros parâmetros utilizados para
28 diagnóstico de IRA, como débito urinário ou novos biomarcadores.

29 A utilização de critérios diagnósticos consensuais para melhor identificação de
30 pacientes com IRA foi de grande importância epidemiológica. Para se ter uma ideia,
31 em uma revisão sistemática sobre estudos que avaliaram lesão renal em pacientes
32 submetidos a cirurgia cardíaca, foram encontradas mais de 35 definições para IRA
33 (HOSTE *et al.*, 2008). O surgimento de classificações como a RIFLE (acrônimo em
34 inglês para *Risk, Injury, Failure, Loss of Function e End-stage Renal Disease*) em 2004

1 e AKIN (*Acute Kidney Injury Network*) em 2007 trouxeram mais uniformidade às
 2 definições, sendo ambas reunidas na classificação de KDIGO (*Kidney Disease:
 3 Improving Global Outcomes*) em 2012. A semelhança entre as três ferramentas reside
 4 na utilização sistematizada dos principais marcadores diagnósticos para injúria renal:
 5 a creatinina e o débito urinário. No Quadro 1, encontram-se os critérios utilizados para
 6 os diferentes graus de lesão renal. Quanto mais alto o estágio, maior o risco de TRS
 7 e mortalidade, dados já bastante estabelecidos na literatura médica (REWA;
 8 BAGSHAW, 2014).

9
 10
 11
 12

Quadro 1 Critérios utilizados para determinação do grau de lesão renal

ESTÁGIO	CREATININA	DÉBITO URINÁRIO
1	Aumento $\geq 0,3$ mg/dL OU Aumento $\geq 1,5$ a $1,9$ x o valor basal	$< 0,5$ ml/kg/h por 6-12 h
2	Aumento ≥ 2 a $2,9$ x o valor basal	$< 0,5$ ml/kg/h por ≥ 12 h
3	Aumento ≥ 3 x o valor basal OU Creatinina $\geq 4,0$ mg/dL OU Início de TRS	$< 0,3$ ml/kg/h em ≥ 24 h OU anúria ≥ 12 h

13 TRS: terapia renal substitutiva
 14 **Fonte:** adaptado de (KELLUM *et al.*, 2012)
 15

16 Ainda que as classificações tenham trazido grandes benefícios para bases
 17 diagnósticas, epidemiológicas e prognósticas, o diagnóstico de IRA baseado na
 18 creatinina tem vários vieses. A dependência de uma creatinina basal ou o intervalo de
 19 tempo em que as amostras devem ser mensuradas podem limitar seu uso. Além disso,
 20 a creatinina não mostra uma relação linear com a taxa de filtração glomerular,
 21 podendo levar tempo para atingir um novo equilíbrio no organismo (PICKERING;
 22 ENDRE, 2009). Condições de saúde prévias, como cirrose e desnutrição, e doenças
 23 agudas, como sepse e politrauma, podem afetar a geração de creatinina e levar a um
 24 atraso no reconhecimento da IRA (DOI *et al.*, 2009). Por fim, a creatinina pode sofrer
 25 um efeito da hemodiluição durante os estágios de ressuscitação volêmica em
 26 pacientes críticos, o que também dificulta a interpretação de seus níveis séricos
 27 (MACEDO *et al.*, 2010). As classificações atuais ainda não incorporam novos

1 biomarcadores de lesão renal, como a lipocalina associada à gelatinase neutrofílica
2 (*Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin*, NGAL), *Kidney Injury Molecule 1* (KIM-1)
3 e a interleucina (IL)-18. Estes marcadores associam-se com a gravidade da lesão
4 renal e o prognóstico; no entanto, os achados ainda são inconsistentes e apresentam
5 resultados significativos em populações específicas (RONCO, 2016). Em estudo
6 prévio, a elevação destes marcadores (como a NGAL), associou-se a maior risco de
7 TRS e mortalidade, mesmo em pacientes que não preenchiam os critérios para
8 diagnóstico de IRA pelas classificações atuais baseadas em creatinina e diurese
9 (REWA; BAGSHAW, 2014). Apesar disso, a utilização destes novos biomarcadores
10 como ferramenta diagnóstica ainda não está consolidada na literatura devido a
11 heterogeneidade dos dados e dos estudos (BAGSHAW; ZAPPITELLI; CHAWLA,
12 2013), bem como das discrepâncias nos valores dos pontos de corte para o
13 diagnóstico de IRA (RONCO *et al.*, 2014).

14

15 1.2 A ASSOCIAÇÃO ENTRE LESÃO CEREBRAL E LESÃO RENAL

16

17 É fato bem estabelecido que a lesão em determinado órgão pode levar a danos
18 em órgãos não anatomicamente relacionados. O termo “*crosstalk*” entre dois órgãos
19 pode ser definido como os efeitos mútuos à distância causados por comunicação
20 biológica por meio de vias neurais centrais ou vias humorais periféricas (ZHAO *et al.*,
21 2020).

22 As interações entre coração e rim – a chamada síndrome cardiorenal – e fígado
23 e rim – síndrome hepatorenal – são bastante conhecidas e já fazem parte do cotidiano
24 clínico (BAGSHAW *et al.*, 2010; DAVENPORT, 2012). Nesta mesma linha, há vários
25 estudos que têm abordado a relação entre doença cerebrovascular e doença renal,
26 não apenas por serem doenças crônicas com etiologias semelhantes, mas no
27 contexto de disfunções agudas dos dois órgãos. Nonguch e colaboradores usaram o
28 termo “*Brain-Kidney crosstalk*”, onde uma lesão cerebral aguda poderia levar a
29 disfunção renal aguda e vice-versa (NONGNUCH; PANORCHAN; DAVENPORT,
30 2014). Neste artigo, os autores referenciam estudos que mostram a relação da IRA
31 com alterações neurológicas devido ao desbalanço eletrolítico, acúmulo de toxinas
32 urêmicas, alterações osmolares e estado inflamatório, entre outros. De modo análogo,
33 a lesão cerebral, seja ela isquêmica ou hemorrágica, também levaria a alterações

1 neuro-humorais que afetam os rins, tais como aumento do tônus simpático e
2 mudanças na secreção do hormônio antidiurético.

3 O cérebro e o rim atuam em conjunto para a homeostase da água e do sódio
4 corporais. Além disso, apresentam características fisiológicas em comum, como alto
5 grau de vascularização; manutenção de sua perfusão devido mecanismos de
6 autorregulação, mesmo com variações da pressão arterial e paralelismo
7 hemodinâmico entre seus leitos vasculares (ZHAO *et al.*, 2020). Ambos os órgãos
8 também são sujeitos a lesões causadas por condições crônicas como DM2 e HAS.
9 Todavia, é muito provável que os mecanismos de interação entre estes dois órgãos
10 transcendam estas características em comum.

11

12 1.3 EPIDEMIOLOGIA DA INJÚRIA RENAL AGUDA PÓS ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO

13

14 Os dados da literatura mostram que o surgimento de IRA em pacientes que
15 sofreram AVEI é uma complicação comum. Uma meta-análise com 12 estudos e mais
16 de 5 milhões de pacientes revelou uma prevalência de 11,6% de IRA em pacientes
17 com AVEI ou AVEH, e sua presença também se associou a maior mortalidade apenas
18 nos pacientes com AVEI (ZORRILLA-VACA *et al.*, 2018). Numa coorte com 40
19 pacientes hispânicos, sendo 90,0% deles com AVEI, o surgimento de IRA atingiu a
20 taxa de 62,5% (OLGUÍN-RAMÍREZ *et al.*, 2017). Num terceiro estudo (GADALEAN *et*
21 *al.*, 2017) realizado em pacientes com AVEI tratados ou não com terapia trombolítica
22 com alteplase, um ativador de plasminogênio tecidual recombinante intravenoso (rt-
23 PA), administrado em até 4:30 h após o AVEI, a prevalência de IRA não diferiu ente
24 os grupos (35,5% vs. 33,9%, respectivamente). No entanto, em ambos os grupos, a
25 IRA foi associada ao aumento da mortalidade hospitalar: 50,0% vs. 3,4% (nos tratados
26 com rt-PA) e 45,0% vs. 30,7% (nos controles). Em um modelo multivariado de Cox, a
27 presença de IRA após tratamento com alteplase permaneceu um fator independente
28 influenciando a mortalidade intra-hospitalar mesmo após o ajuste para covariáveis
29 relevantes como idade, taxa de filtração glomerular basal estimada e gravidade do
30 AVEI avaliada pelo escore NIHSS.

31 Em um estudo prospectivo com 2155 pacientes, o surgimento de IRA durante
32 a internação ocorreu em 27,0% dos pacientes e associou-se a um aumento
33 significativo na mortalidade ao fim de 10 anos (75,9% vs. 56,7% em pacientes sem

1 IRA) (TSAGALIS *et al.*, 2009a). Por último, a função renal na admissão é preditora
2 não só de mortalidade em longo prazo, mas também de eventos cardiovasculares,
3 com os subgrupos de pacientes com taxa de filtração glomerular (TFG) < 60,0
4 mL/min/1,73m² apresentando os maiores riscos (TSAGALIS *et al.*, 2009b).

5

6 1.4 FISIOPATOLOGIA: O AVE COMO UMA DOENÇA SISTÊMICA

7

8 Logo após a ocorrência da isquemia cerebral, ocorre a liberação de moléculas
9 conhecidas como padrões moleculares associados ao dano (*damage-associated*
10 *molecular patterns*, DAMPs) pelos neurônios afetados. Estas moléculas causam uma
11 intensa inflamação local em minutos, com ativação do tecido glial, secreção de
12 mediadores inflamatórios e consequente infiltração de células periféricas do sistema
13 imune através da ruptura da BHE. Adicionalmente, esta cascata que se inicia
14 localmente, começa a se espalhar por todo o cérebro, fenômeno referido como
15 inflamação cerebral global (SHI *et al.*, 2019).

16 As redes neurais autonômicas e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA)
17 podem ser afetados tanto pela injúria isquêmica local quanto pela produção de
18 citocinas inflamatórias, com consequentes desarranjos em suas funções. Os órgãos
19 linfoides são altamente inervados pelo sistema simpático, além de possuírem
20 receptores de hormônios adrenais, o que justifica o desarranjo do sistema imune. Este
21 processo e sua magnitude dependem de fatores como extensão e local do AVEI, além
22 de idade e sexo do paciente, como mostrado em evidências experimentais. Os
23 fenômenos inflamatórios são mais exacerbados em indivíduos idosos e do sexo
24 masculino. O córtex insular é uma região crucial para a regulação simpático-vagal, o
25 que explica a isquemia nesta região ser mais deletéria. (CUI; MCCULLOUGH; HAO,
26 2021).

27 A disfunção autonômica pode ser vista em até 80,0% dos pacientes,
28 perdurando por até 6 meses após o evento isquêmico. Todavia, a demonstração de
29 alterações nos sistemas simpático e parassimpático (como variabilidade da frequência
30 cardíaca, sensibilidade dos barorreflexos ou dosagem de catecolaminas) reflete
31 apenas parte deste desarranjo funcional. Ocorrem ainda alterações do sistema imune,
32 do metabolismo da glicose e distúrbios gastrointestinais, muitas vezes difíceis de
33 mensurar sem métodos invasivos. Independente disso, a disfunção autonômica é

1 reconhecidamente associada a prognóstico adverso (MO *et al.*, 2019; NAYANI *et al.*,
2 2016).

3 Em relação ao eixo HHA, a isquemia cerebral leva a ativação do eixo, com
4 elevação dos níveis de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e cortisol. Todavia,
5 ocorre uma dissociação destes com o passar do tempo, com os níveis de cortisol
6 permanecendo elevados por dias ao passo que os níveis de ACTH caem após a fase
7 hiperaguda do AVEI. A implicação disto é que outros mecanismos devem estar
8 envolvidos na produção de cortisol, como citocinas pró-inflamatórias. As citocinas IL-
9 1β e IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) sabidamente atuam neste eixo;
10 dentre elas, a IL-6 é reconhecidamente associada a níveis elevados de cortisol em
11 pacientes com AVEI (JOHANSSON *et al.*, 2000).

12 Por último, mas não menos importante, são as alterações diretas no sistema
13 imune. As complexas interações entre a liberação das DAMPs, disfunção autonômica
14 e do eixo HHA levam a hiperativação aguda dos órgãos do sistema imune, como
15 medula óssea, timo, baço, linfonodos e tecido linfoide associado a mucosa intestinal.
16 Esta ativação começa em poucas horas após o evento isquêmico e tem uma duração
17 presumida entre 12 e 24 h. Durante este período, podem ser vistas alterações
18 inflamatórias, como aumento da temperatura corporal, níveis elevados de proteína C
19 reativa (PCR), citocinas e leucocitose transitória, sem que haja qualquer evidência de
20 infecção (AUDEBERT *et al.*, 2004). Nesta linha, níveis elevados de IL-6 se
21 correlacionam com o tamanho da área isquêmica e gravidade do AVEI, além de serem
22 um marcador indelével de baixa recuperação do paciente, mesmo após ajustes para
23 idade, tamanho do AVEI e infecções coexistentes (BASIC KES *et al.*, 2008;
24 WHITELEY *et al.*, 2012).

25 Com o comprometimento da BHE, ocorre a expressão de moléculas de adesão
26 celular (CAM) pelas células endoteliais e secreção de mais mediadores pró-
27 inflamatórios, dentre eles TNF- α , IL- 1β , IL-6, proteína quimioatraente de monócito 1
28 (MCP-1) e prostaglandinas (JIN; YANG; LI, 2010). A IL- 1β ativa os astrócitos e o
29 endotélio levando à astrogliose, liberação de quimiocinas, ativação de
30 metaloproteinases da matriz (MMP) e liberação da molécula de adesão celular
31 vascular 1 (VCAM-1) e molécula de adesão intracelular 1 (ICAM-1) (HERX; YONG,
32 2001; LEOW-DYKE *et al.*, 2012; THORNTON *et al.*, 2010). Há ainda a ativação do
33 sistema complemento, resultando na geração de opsoninas que potencializam a
34 resposta fagocitária, bem como a inflamação. Além disso, a ativação do sistema

1 complemento tem sido implicada na regulação positiva das CAM, quimiotaxia e
2 ativação de leucócitos (JURCAU; SIMION, 2022).

3 Evidências crescentes indicam um papel dominante da resposta imune
4 adaptativa, e as células T em particular, como elementos patogênicos proeminentes,
5 bem como fatores atenuantes. Em particular, as células T $\gamma\delta$ e T CD4⁺ e são iniciais
6 efetores imunes migrando para os rins e orquestrando ativação de células inatas. As
7 fases iniciais da lesão são caracterizadas por uma forte resposta de IFN- γ ,
8 possivelmente produzida por células T *helper* (Th)1. Em fases posteriores, as células
9 Th17 perpetuam a lesão e a fibrose tecidual (DELLEPIANE; LEVENTHAL; CRAVEDI,
10 2020).

11 Após esta hiperativação inicial do sistema imunológico, sobrevém um estado
12 de imunossupressão sustentado, com pico no terceiro dia após o AVEI e que pode
13 durar semanas. É presumível que este estado não ocorra apenas pela exaustão
14 passiva do sistema imune, mas que seja o resultado de múltiplos aspectos da
15 sinalização neurológica que ativamente levam a depressão imunológica, envolvendo
16 tanto a imunidade inata quanto a adaptativa. Nesta fase, células T reguladoras (Treg)
17 e possivelmente células Th2 exercem funções anti-inflamatórias opostas e limitam ou
18 previnem lesões, pela liberação de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e o fator
19 de transformação do crescimento beta 1 (TGF- β 1) (CUI; MCCULLOUGH; HAO, 2021).

20 As consequências de todos estes processos não apenas envolvem riscos
21 aumentados de infecções, como pneumonias e infecções do trato urinário, mas a uma
22 série de alterações sistêmicas, incluindo alterações cardíacas, pulmonares,
23 gastrintestinais, metabólicas e, como objeto deste estudo, renais.

24 A Figura 1 ilustra as principais moléculas e células efectoras envolvidas na
25 resposta inflamatória na fase aguda do AVEI.

26

27

28

29

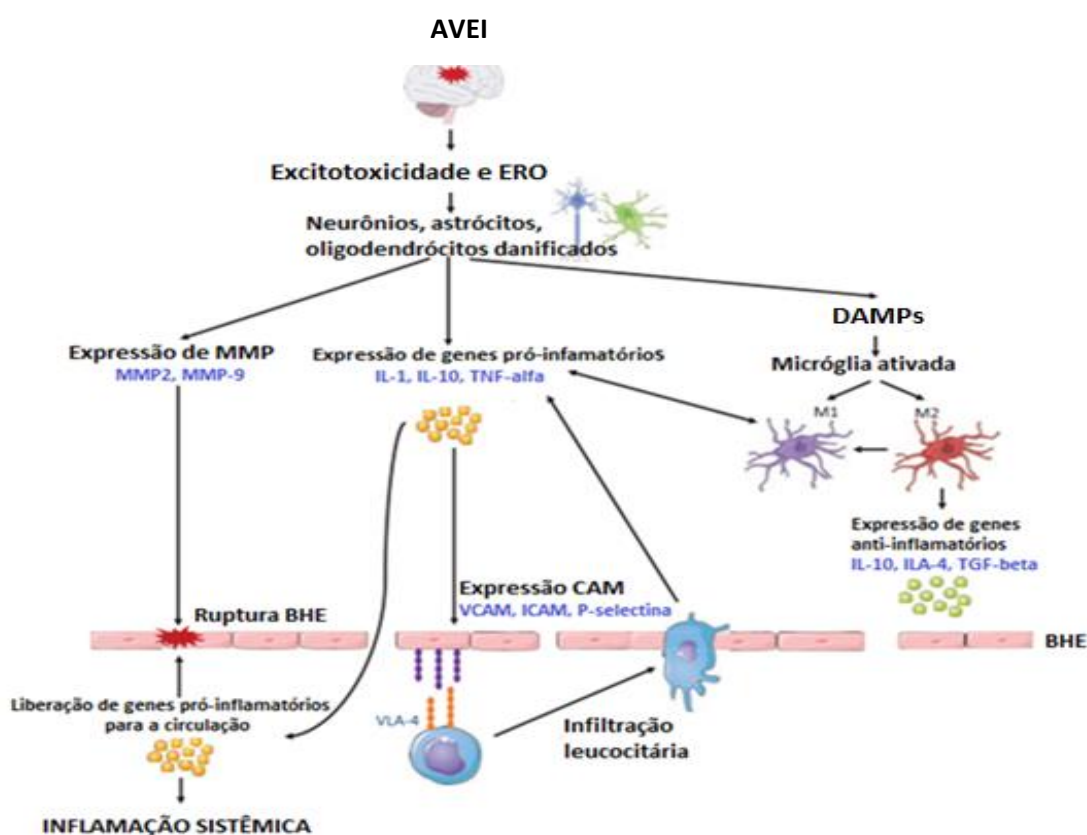
30

31

32

1 **Figura 1** Eventos celulares e moleculares envolvidos na fisiopatologia do
 2 acidente vascular encefálico isquêmico agudo

3
 4



5

6 AVEI: acidente vascular encefálico isquêmico; BHE: barreira hematoencefálica; CAM:
 7 molécula de adesão celular; DAMPs: padrões moleculares associados a danos; ERO:
 8 espécie reativa de oxigênio; ICAM: molécula de adesão intracelular; IL: interleucina; M1:
 9 macrófago com fenótipo inflamatório; M2: macrófago com fenótipo anti-inflamatório; MMP:
 10 metaloproteinase de matriz; TNF-alfa: fator de necrose tumoral alfa; TGF-beta: fator
 11 transformador do crescimento beta; VCAM: molécula de adesão celular vascular, VLA:
 12 antígeno muito tardio.

13 **Fonte:** adaptado de Ramiro *et al.*, 2018.

14

15

16 1.5 O COMPLEXO AVEI-RIM-INFLAMAÇÃO

17

18 A inflamação e a resposta imune têm um papel fundamental na progressão do
 19 AVEI. A lesão cerebral leva a expressão aumentada de fatores inflamatórios, como
 20 PCR, IL-6, IL-1 β , TNF- α , espécies reativas de oxigênio (EROs), além de MMP e outras
 21 citocinas, tanto no tecido cerebral quanto na circulação sistêmica. Adicionalmente ao
 22 papel destas substâncias na lesão renal, temos ainda o papel da infiltração de

1 macrófagos no rim, que pode induzir fibrose ou reparação, a depender do seu fenótipo
2 M1 (Inflamatório) ou M2 (anti-inflamatório) (RICARDO; VAN GOOR; EDDY, 2008); o
3 papel das células *natural killers* (NK) na indução de apoptose de células tubulares em
4 modelos experimentais (ZHANG *et al.*, 2008); o recrutamento e degranulação de
5 neutrófilos, com liberação de várias citocinas que amplificam a lesão renal e que estão
6 presentes em modelos de IRA por isquemia-reperfusão e sepse (BERRY;
7 CLATWORTHY, 2012; HERTER *et al.*, 2014). Enfim, a literatura é farta em evidências
8 do papel da inflamação na IRA.

9 A ativação de linfócitos T ocorre no período no pós-AVEI como parte da
10 resposta imune adaptativa, principalmente dirigidos ao sistema nervoso central (SNC).
11 A secreção de mediadores inflamatórios pelos linfócitos T pode levar a disfunção
12 renal. Os linfócitos T têm um papel fundamental no desenvolvimento de
13 glomerulonefrite e DRC. Neste contexto, linfócitos T CD8⁺ podem ser ativados por
14 autoantígenos renais, o que leva a dano renal e inflamação. Esta ativação de T CD8⁺
15 leva a liberação de outros antígenos renais, causando amplificação em alça da
16 ativação de T CD8⁺ e maior dano renal (PANZER; KURTS, 2010). Ainda, os linfócitos
17 Th CD4⁺, subpopulações Th1 e Th17, podem tomar parte no processo inflamatório,
18 com a liberação de citocinas (IL-2, TNF- α , IFN- γ pelos Th1 e IL-17 pelos Th17) e
19 ativação de macrófagos e linfócitos T CD8⁺. Pouco se sabe sobre as células Th2
20 durante a IRA. Estudos em pacientes cirúrgicos mostraram relações diretas entre IL-
21 4 e IL-13, incidência de IRA e mortalidade em 1 ano. Mais evidências experimentais e
22 clínicas são necessárias para entender como as respostas Th2 afetam a IRA
23 (DELLEPIANE; LEVENTHAL; CRAVEDI, 2020).

24 Fatores associados ao desenvolvimento de IRA após o AVEI apresentados em
25 um estudo de meta-análise (ARNOLD *et al.*, 2018) incluem idade avançada (COVIC
26 *et al.*, 2008), pior função renal na admissão (COVIC *et al.*, 2008; KHATRI *et al.*, 2014;
27 TSAGALIS *et al.*, 2009b), cardiopatia isquêmica (COVIC *et al.*, 2008), insuficiência
28 cardíaca (COVIC *et al.*, 2008; TSAGALIS *et al.*, 2009b) e maior gravidade avaliada
29 pelo escore *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS) na admissão (KHATRI
30 *et al.*, 2014; TSAGALIS *et al.*, 2009b). No estudo de Khatri e colaboradores (2014), o
31 *odds ratio* (OR) ajustado por aumento de 5 pontos na pontuação NIHSS foi de 1,13
32 (IC 95% 1,07-1,19). Tsagalis e colaboradores (2009a) relataram um OR de 1,02 (IC
33 95% 1,01–1,03) após ajuste para idade, sexo, presença de fibrilação atrial, glicose
34 sérica, hematócrito e uso do agente anti-hipertensivo nas primeiras 48 horas de

1 internação. Mohamed *et al.* (2015) não encontraram associação entre IRA e grau de
2 incapacidade após múltiplos ajustes (MOHAMED *et al.*, 2015). Dois estudos
3 encontraram uma maior incidência de incapacidade moderada a grave em pacientes
4 com IRA após ajuste para vários fatores de confusão como idade, sexo, etnia,
5 hemorragia gastrointestinal, sepse e tabagismo [SAEED *et al.*, 2014, OR 1,3 (IC 95%
6 1,3-1,4); SAEED *et al.*, 2015, OR 1,2 (IC 95% 1,1-1,3)]. Avaliando estes dados, é
7 possível que intervenções para prevenir a IRA possam melhorar o desfecho após o
8 AVEI.

9 A presença de IRA tem sido associada a maior mortalidade tanto em curto como
10 em longo prazo após o AVEI (COVIC *et al.*, 2008; GADALEAN *et al.*, 2017; KHATRI
11 *et al.*, 2014; TSAGALIS *et al.*, 2009a). No entanto, parte dos estudos que
12 demonstraram essa associação de IRA com pior prognóstico após AVEI não
13 considerou a gravidade do evento cerebrovascular por meio escalas como a NIHSS
14 (COVIC *et al.*, 2008; TSAGALIS *et al.*, 2009a). Um estudo realizado na população do
15 sul do Brasil (LIMA *et al.*, 2019) demonstrou que a mortalidade após 30 dias do AVEI
16 foi maior no subgrupo de pacientes com IRA em comparação ao subgrupo sem IRA
17 (35,0% vs. 6,2%, $p < 0,001$); neste estudo, a IRA foi preditor independente de
18 mortalidade após AVEI apenas quando o NIHSS foi removido do modelo de
19 regressão. Quando a gravidade do AVEI, dada pelo escore do NIHSS, foi considerada
20 no modelo, após ajuste das variáveis confundidoras, a gravidade do AVEI e idade
21 foram preditores de uma maior taxa de mortalidade (LIMA *et al.*, 2019).

22

23 1.6 BIOMARCADORES ASSOCIADOS AO COMPLEXO AVEI-RIM-INFLAMAÇÃO

24

25 O diagnóstico tradicional da IRA envolve a dosagem de creatinina sérica,
26 produto da degradação da creatina e da fosfocreatina, que é amplamente filtrada pelo
27 glomérulo. Exame laboratorial acessível, a creatinina sérica permaneceu o padrão-
28 ouro por quase um século, apesar de suas muitas limitações bem reconhecidas como
29 um marcador indireto de dano renal, incluindo detecção tardia de lesão. Além disso, a
30 creatinina sérica pode aumentar na ausência de lesão glomerular ou tubular e pode
31 permanecer inalterada sob condições de lesão tubular significativa, particularmente
32 quando os pacientes têm boa função renal subjacente e reserva renal significativa.

1 Um aumento na creatinina sérica clinicamente não distingue entre causas pré-renais,
2 pós-renais e renais intrínsecas (COCA *et al.*, 2008).

3 Considerando as limitações da creatinina como padrão de referência,
4 acompanhamos um crescente interesse e evolução nos estudos de biomarcadores de
5 IRA nos últimos anos. Estudos têm avaliado o potencial prognóstico de outros
6 biomarcadores, com foco em duas grandes áreas de investigação: a detecção precoce
7 e o prognóstico da IRA. A identificação de marcadores estruturais de lesão tubular
8 renal na urina ou na circulação sistêmica que são produzidos diretamente pelo rim ou
9 se acumulam como resultado da disfunção das células tubulares após lesão renal tem
10 sido objeto de estudos com diferentes delineamentos. O desenvolvimento de novas
11 terapias exigirá uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos
12 envolvidos no início, localização, gravidade e prognóstico da IRA. Uma outra geração
13 de biomarcadores de IRA propõe preencher essas lacunas do conhecimento
14 (MALHOTRA; SIEW, 2017).

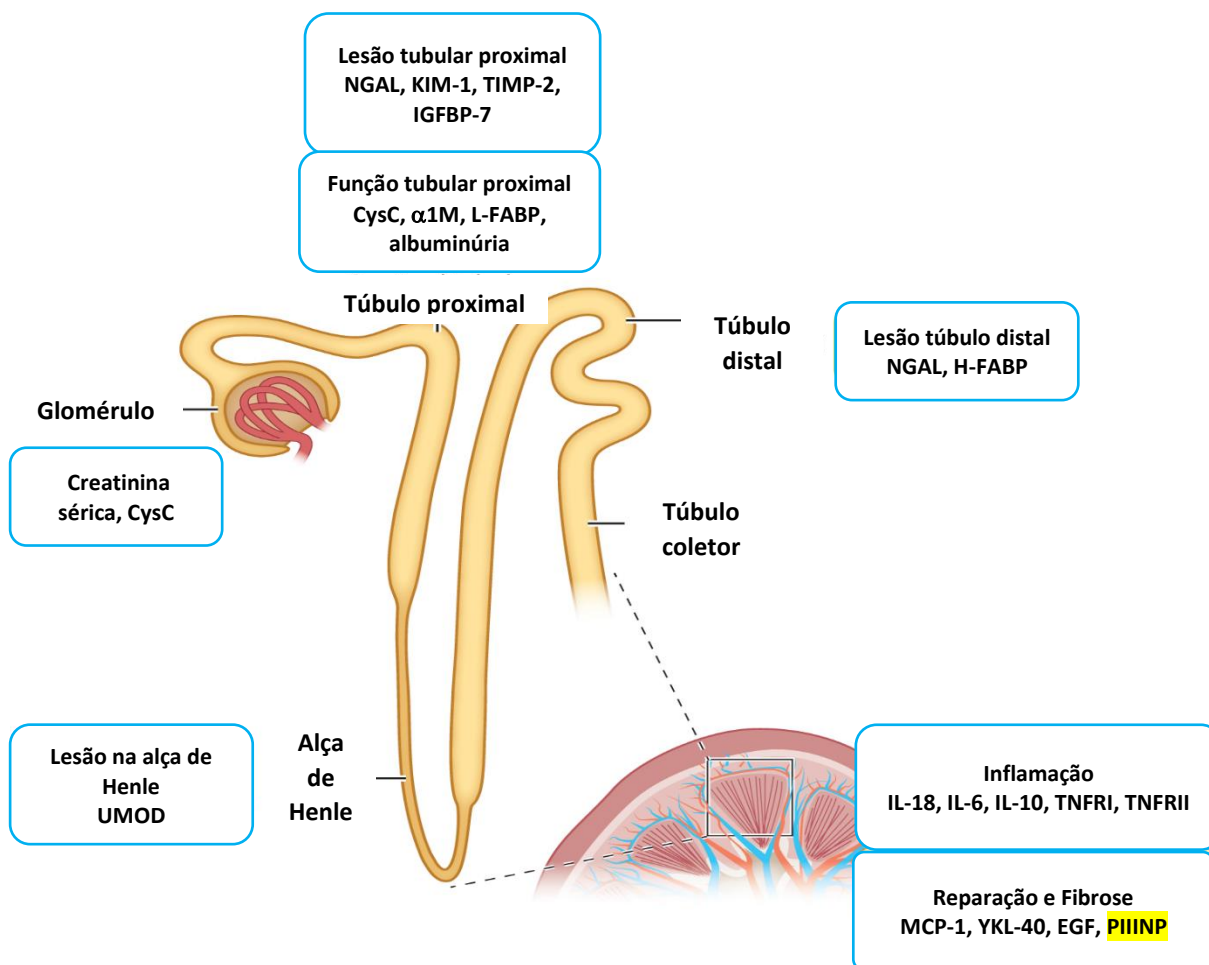
15 Vários biomarcadores têm sido descritos para diagnóstico precoce e
16 prognóstico da IRA em humanos, incluindo: 1) as enzimas n-acetil-b-d-
17 glucosaminidase (NAG), a- e p-glutathiona s-transferase, fosfatase alcalina, alanina
18 aminopeptidase, MMP; 2) mediadores pró-inflamatórios como IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18
19 (plasmática e urinária), TNF- α e seus receptores (TNFRI e TNFRII) e lipocalina
20 associada a gelatinase de neutrófilo plasmática (pNGAL) e urinária (uNGAL); 3)
21 outras proteínas estruturais reguladas positivamente como a molécula de lesão renal
22 (KIM-1) plasmática e urinária e proteína de ligação de ácidos graxos do tipo fígado
23 (L-FABP) que são liberadas durante o dano tubular; 4) marcadores de filtração
24 glomerular reabsorvidos pelo epitélio tubular saudável como a cistatina-C (Cys-C),
25 proteína de ligação ao retinol (RBP) e microglobulina a1 (α 1M)/b2 (β 2M); 5) hormônios
26 como o angiotensinogênio; 6) biomarcadores que desempenham papel na regulação
27 do ciclo celular, incluindo o inibidor tecidual de metaloproteinases-2 (TIMP-2) e
28 proteína de ligação 7 do fator de crescimento insulina like (IGFBP7), entre outros
29 (MALHOTRA; SIEW, 2017). As figuras 2 e 3 ilustram biomarcadores associados à
30 IRA, de acordo com a localização anatômica e fisiopatologia.

31

32

1 **Figura 2** Biomarcadores do tecido renal por localização anatômica e fisiopatologia

2



3

4

5 Os biomarcadores do tecido tubular renal são denominados de acordo com o local anatômico
6 e/ou mecanismo de produção. α 1M: alfa 1 microglobulina; EGF, fator de crescimento
7 epidérmico; IGFBP-7, proteína 7 de ligação ao fator de crescimento semelhante à insulina; IL,
8 interleucina; H-FABP: proteína de ligação de ácido graxo do coração; KIM-1, molécula-1 de
9 lesão renal; L-FABP, proteína de ligação de ácidos graxos do tipo fígado; MCP-1, proteína-1
10 quimioatratante de monócitos; NGAL, lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos; PIIINP,
11 propeptídeo N-terminal de procolágeno tipo III; TIMP-2, inibidor tecidual de metaloproteinases-
12 2; TNFRI: receptor I do fator de necrose tumoral; TNFRII: receptor II do fator de necrose
13 tumoral; UMOD, uromodulina; YKL-40, proteína semelhante à quitinase.

14 **Fonte:** adaptada de SCHAUB; PARIKH, 2016; ZHANG; PARIKH, 2018

15

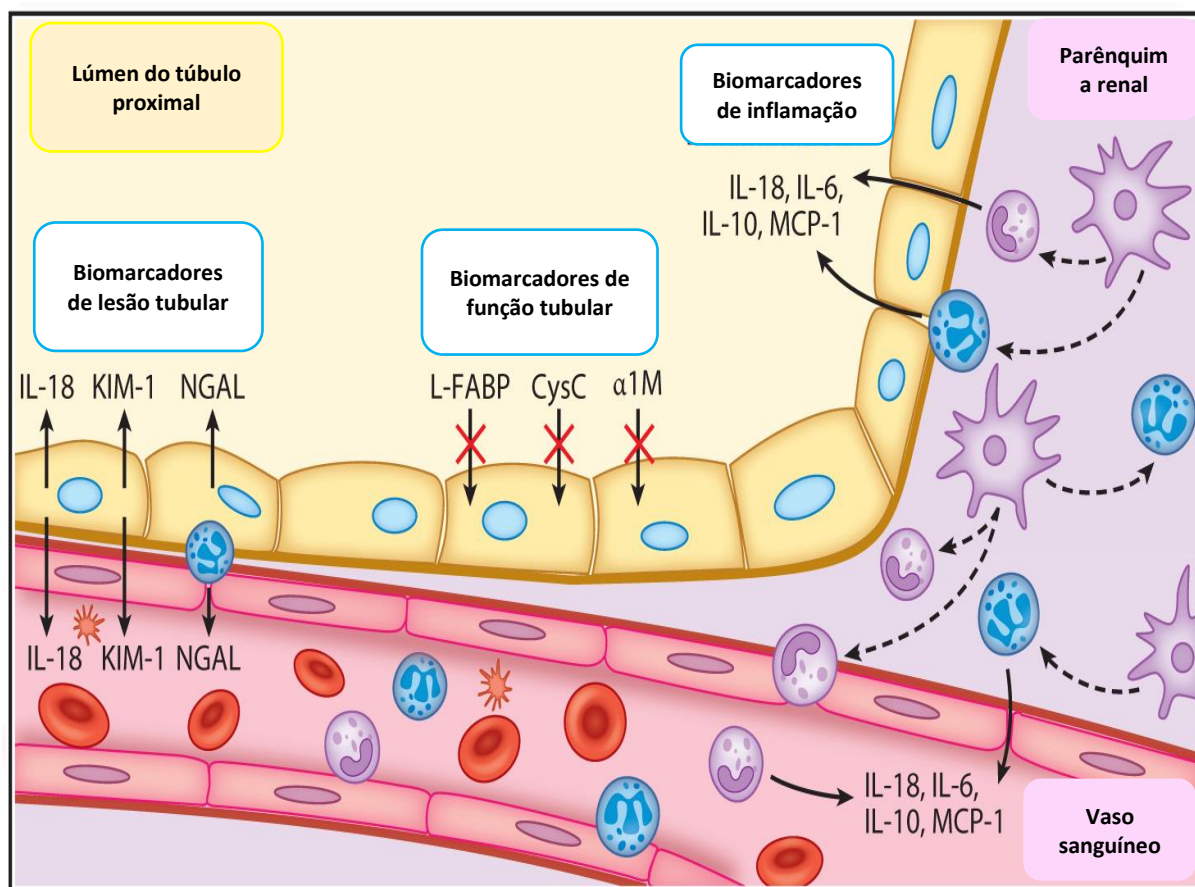
16

17

18

19

- 1 **Figura 3** Biomarcadores da injuria renal aguda de acordo com a localização
 2 anatômica e fisiopatologia



- 3
- 4 Os biomarcadores de lesão tubular descritos incluem KIM-1 e NGAL, que são produzidos
 5 pelas células tubulares proximais logo após a lesão renal. Os biomarcadores da função tubular
 6 descritos incluem L-FABP, CysC e α 1M, que são proteínas que se acumulam na urina devido
 7 à disfunção tubular. Os biomarcadores de inflamação descritos incluem IL-6, IL-10, IL-18 e
 8 MCP-1, que são produzidos como parte da resposta inflamatória à lesão. IRA: lesão renal
 9 aguda; α 1M, alfa-1 microglobulina; CysC, cistatina C; IL, interleucina; KIM-1, molécula-1 de
 10 lesão renal; L-FABP, proteína de ligação a ácidos graxos do tipo fígado; MCP-1, proteína-1
 11 quimioatraente de monócitos; NGAL, lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos.

12 **Fonte:** adaptada de (ZHANG; PARIKH, 2018)

13

14

15

16

17

18

19

1 1.7 BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS

2

3 1.7.1 Proteína C Reativa

4 A PCR é uma proteína sintetizada principalmente pelos hepatócitos em
5 resposta a estímulos inflamatórios oriundos de macrófagos e adipócitos. A PCR ainda
6 pode ser produzida por outros diferentes tipos celulares, como células endoteliais,
7 linfócitos, macrófagos e adipócitos (SPROSTON; ASHWORTH, 2018). Os níveis
8 séricos de PCR se elevam em pacientes com AVEI, e esta elevação pode ser
9 persistente. Estudos experimentais indicam que a PCR pode aumentar a área de
10 isquemia cerebral ao induzir ativação do sistema complemento local (GILL *et al.*,
11 2004). Em relação ao rim, há várias evidências de seu papel na lesão renal. Níveis
12 elevados de PCR estão associados a menor filtração renal em uma população de
13 pacientes não-diabéticos (STUVELING *et al.*, 2003). Ainda, podem agravar a
14 infiltração de macrófagos e linfócitos T no rim, assim como aumentar a expressão de
15 macrófagos M1, responsáveis por fibrose tecidual, e aumentar a liberação de citocinas
16 como ICAM-1, IL-1 β e TNF- α (DEVARAJ; JIALAL, 2011). Outras vias pró-fibróticas
17 foram demonstradas como sendo consequentes a níveis elevados de PCR, o que
18 reforça seu possível papel como mediador de lesão renal induzida por AVEI (ZHAO
19 *et al.*, 2020).

20

21 1.7.2 Citocinas

22 A IL-1 β é produzida e secretada pela micróglia ativada e macrófagos infiltrantes
23 após o AVEI, gerada agudamente como resposta inflamatória ao insulto isquêmico. É
24 uma citocina que determina processos patológicos em várias doenças crônicas. A IL-
25 1 β desempenha um papel fundamental na lesão renal e fibrose. Macrófagos M1 pró-
26 inflamatórios induzem fibrose renal pela secreção de IL-1 β (ZHANG *et al.*, 2014). Além
27 disso, há um aumento de duas vezes nos níveis de IL-1 β após a indução de necrose
28 tubular aguda (NTA), que pode resultar em aumento no recrutamento de neutrófilos
29 local (HAQ *et al.*, 1998). IL-1 β aumenta a expressão de ICAM-1 (CD54) em células
30 endoteliais, que interagem com moléculas de integrina de neutrófilos e monócitos para
31 promover a adesão endotelial. O tratamento com anticorpos monoclonais contra
32 ICAM-1 reduziu dano renal em modelo de NTA isquêmica (KELLY *et al.*, 1994). Desta

1 maneira, o aumento de IL-1 β em resposta ao AVEI também poderia contribuir para
2 disfunção renal.

3 A IL-6 pode ser produzida por vários tipos celulares do SNC. Durante o evento
4 de um AVEI, ocorre aumento da produção desta citocina inflamatória, que pode passar
5 pela BHE e circular pelo organismo. A IL-6 pode induzir a expressão de genes pró-
6 fibróticos no rim, tanto em modelos animais quanto em humanos (ZHANG *et al.*, 2012).
7 Estudos *in vitro* mostram que a IL-6 pode levar a dano e apoptose celular, aumento
8 de proliferação mesangial e infiltração e proliferação de leucócitos, fatores estes
9 associados a fisiopatologia da doença renal (GRASSL *et al.*, 1999). Ademais, a IL-6
10 está envolvida diretamente em vias inflamatórias em modelos experimentais de
11 glomerulonefrite (GRASSL *et al.*, 1999). Estas evidências fazem da IL-6 um candidato
12 a fator de disfunção renal após AVEI; todavia, a dúvida é se níveis séricos elevados
13 de IL-6 são o suficiente para que haja penetração e indução de lesão no mesângio
14 renal, assim como em túbulos e interstício.

15 As citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 foram detectadas no cérebro, no líquido
16 cefalorraquidiano (LCR) e no sangue de pacientes que sofrem de AVEI e foram
17 responsáveis pela extensão da zona de infarto em modelos animais (LAMBERTSEN
18 *et al.*, 2012). A expressão de TNF- α é significativamente aumentada em modelos de
19 AVEI, o que facilita a entrada de células inflamatórias no cérebro, podendo agravar a
20 lesão (LIU *et al.*, 1994). No entanto, o papel do TNF- α na lesão cerebral não é claro.
21 Dois receptores de TNF diferentes, TNFR1 (p55) e TNFR2 (p75) são expressos em
22 neurônios e glia. Por outro lado, modelos experimentais de ratos *knockout* para a
23 secreção de TNF- α ou de receptores para este, quando submetidos a isquemia
24 cerebral, tiveram volume de infarto maior do que os animais *wild-type*, indicando um
25 possível efeito neuroprotetor desta citocina (BRUCE *et al.*, 1996; GARY *et al.*, 1998).

26 Modelos experimentais sugerem um papel imunossupressor e imunorregulador
27 para o TNF- α , que pode se diferenciar ao nível dos dois receptores diferentes: as
28 atividades pró-inflamatórias clássicas do TNF- α mediadas pelo TNFR1 podem ser
29 responsáveis por doença inflamatória crônica e dano tecidual (KOLLIAS;
30 KONTOYIANNIS, 2002), enquanto as atividades imunossupressoras podem ser
31 atribuídas ao TNFR2 (VAN HAUWERMEIREN; VANDENBROUCKE; LIBERT, 2011).
32 Enquanto que o TNFR1 está associado com aumento da morte neuronal e a efeitos
33 pró-inflamatórios e apoptóticos, o TNFR2 tem sido associado a uma variedade de
34 funções imunorreguladoras e anti-inflamatórias, bem como com neuroproteção via

1 PI3K-PKB/AKT (FONTAINE *et al.*, 2002; FAUSTMAN; DAVIS, 2010). Portanto, o TNF-
2 α e seus receptores constituem uma rede de sinalização complexa, o que se reflete
3 no fato de que efeitos aditivos, sinérgicos ou mesmo antagônicos foram relatados para
4 os dois tipos de receptores de TNF. Além disto, formas solúveis de TNFRI e TNFRII
5 também foram descritas e resultam de liberação para o meio externo ou de *splicing*
6 alternativos. As moléculas solúveis de receptores de TNF- α também podem atuar
7 como inibidores de TNF- α pela formação de complexos inativos com receptores de
8 TNF- α celulares (WAJANT; SIEGMUND, 2019).

9 O TNF- α é ausente no tecido renal em condições normais, mas em condições
10 de infiltração macrófágica e monocitária, sua expressão é aumentada e pode
11 contribuir para a injúria renal. Estudos mostram ainda que a elevação de TNF- α no
12 soro e no rim se correlacionam com a gravidade da IRA, e que a inibição do TNF- α
13 protege o rim em modelo de IRA induzido por cisplatina (OZKOK; EDELSTEIN, 2014;
14 RAMESH; REEVES, 2002). Estes resultados sugerem que o TNF- α elevado em
15 pacientes com AVEI possa contribuir para a lesão renal.

16 A IL-18 é uma citocina pró-inflamatória que é induzida e clivada no túbulo
17 proximal após IRA. A protease de cisteína intracelular, caspase-1, converte as pró-
18 formas das citocinas IL-1 β e IL-18 em suas formas ativas (FANTUZZI *et al.*, 1998;
19 MELNIKOV *et al.*, 2001). A forma ativa da IL-18 sai da célula e pode entrar na urina
20 após ser ativada nos túbulos proximais. Em um estudo transversal de 72 pacientes
21 com várias doenças renais, a IL-18 na urina foi significativamente maior e teve alta
22 sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de NTA *versus* azotemia pré-renal,
23 infecção do trato urinário, DRC e função renal normal em controles saudáveis
24 (PARIKH *et al.*, 2004).

25

26 1.7.3 Moléculas de Adesão Celular

27 Além da inflamação sistêmica e respostas imunes mediadas por citocinas, as
28 CAM provavelmente desempenham um papel central na promoção da disfunção renal
29 após lesão cerebral. O papel das CAM no recrutamento de leucócitos e piora da
30 inflamação secundária após a isquemia cerebral está bem documentado (FRIJNS;
31 KAPPELLE, 2002; YANG *et al.*, 2019). As CAM desempenham papéis fundamentais
32 na formação e manutenção de contatos célula-célula e célula-substrato nos vários
33 segmentos do néfron e que as perturbações no funcionamento dessas moléculas
34 podem ter efeitos profundos na função renal. A ICAM-1, as integrinas e selectinas

1 desempenham papéis importantes no recrutamento de leucócitos e nas respostas
2 inflamatórias que estão associadas à lesão nefrotóxica (PROZIALECK; EDWARDS,
3 2007).

4 Entre as CAM temos: 1) a superfamília de genes de imunoglobulina que inclui
5 ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 e molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias
6 1 (PECAM-1); 2) as selectinas E-selectina (endotélio), P-selectina (plaquetas) e L-
7 selectina (leucócitos); 3) integrinas; 4) caderinas; e 5) mucinas (KRIEGLSTEIN, 2001;
8 RAMIRO *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2019).

9 Considerando seu papel na fisiopatologia do AVEI, as CAM têm potencial para
10 serem utilizadas tanto como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico, como
11 possíveis alvos terapêuticos, embora os estudos tenham relatado resultados
12 conflitantes até o momento (BOWES *et al.*, 1995; CLARK *et al.*, 1995; LEHMANN *et*
13 *al.*, 2022; RICHARD *et al.*, 2015; SUPANC *et al.*, 2011).

14 Quatro etapas sequenciais e coordenadas são observadas durante a migração
15 transendotelial dos leucócitos, como: 1) marginação, quando os leucócitos se movem
16 da parte central da circulação sanguínea para a periferia do vaso, em direção à parede
17 do vaso para, posteriormente, se ligarem à superfície das células endoteliais; 2)
18 captura e rolamento, quando ocorre a adesão transitória dos leucócitos às células
19 endoteliais; 3) adesão, quando ocorre a união firme (aderência) dos leucócitos às
20 células endoteliais; e 4) diapedese, quando ocorre a passagem dos leucócitos através
21 das células endoteliais em direção ao parênquima tecidual (KRIEGLSTEIN, 2001).

22 A ICAM-1 é expressa em leucócitos, células endoteliais, plaquetas, fibroblastos,
23 células epiteliais e células gliais. É necessária para a migração transendotelial de
24 neutrófilos e sua expressão é um passo essencial para a adesão de leucócitos na
25 microvasculatura cerebral após o AVEI. Apesar das evidências de que a ICAM-1
26 contribua para lesão cerebral secundária, as variações nos seus níveis após o AVEI
27 e o seu papel na fisiopatologia do AVEI ainda são contraditórios (JUSTICIA *et al.*,
28 2006; RAMIRO *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 1994; YILMAZ; GRANGER, 2008). Níveis
29 elevados de sICAM-1 foram obtidos na admissão hospitalar e associados com
30 deterioração neurológica precoce (WANG *et al.*, 2006) e maior área de infarto e pior
31 prognóstico (SOTGIU *et al.*, 2006). Em pacientes de meia-idade, níveis elevados de
32 ICAM-1 na admissão hospitalar foram associados à mortalidade precoce e, com um

1 aumento de 10 ng/mL nos valores de ICAM-1, houve um risco 9,0% maior de
2 mortalidade (RALLIDIS *et al.*, 2009). Porém, outro estudo não encontrou essa
3 associação (SUPANC *et al.*, 2011).

4 A VCAM-1 é pouco expressa na superfície das células endoteliais não
5 estimuladas, mas é regulada positivamente por várias citocinas pró-inflamatórias. A
6 aderência de linfócitos e monócitos em leitos vasculares inflamados é mediada por
7 esta CAM (KRIEGLSTEIN, 2001; RAMIRO *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2019). Em estudo
8 imuno-histoquímico de tecido cerebral de pacientes que morreram de AVEI, foi
9 evidenciada intensa expressão de VCAM-1 por células endoteliais e astrócitos da área
10 infartada (RAMIRO *et al.*, 2018; ZAREMBA; LOSY, 2002). Quando os valores de
11 VCAM-1 solúvel (sVCAM-1) foram comparados entre pacientes com AVEI e controles,
12 vários autores verificaram que os pacientes com AVEI apresentaram valores mais
13 elevados de sVCAM-1 (BITSCH *et al.*, 1998; BLANN *et al.*, 1999; LICATA *et al.*, 2009;
14 TUTTOLOMONDO *et al.*, 2009). Fassbender e colaboradores (1995) evidenciaram
15 valores mais altos de sVCAM-1 em paciente com AVEI quando comparados a
16 indivíduos com fatores de risco vasculares. Pode ser devido à regulação positiva do
17 VCAM-1 na fase aguda do AVEI, o que não ocorre em pessoas que não têm isquemia.
18 Blann e colaboradores (1999) também observaram aumento de sVCAM-1 em
19 indivíduos com AVEI quando comparados a controles saudáveis e indivíduos com
20 aterosclerose carotídea. Os valores de sVCAM-1 permaneceram elevados mesmo
21 após três meses de acompanhamento após AVEI. Esses achados sugerem a
22 possibilidade de que essas moléculas sejam expressas nas fases aguda e crônica da
23 lesão isquêmica e que desempenhem um papel tanto no infarto quanto no reparo
24 tecidual. Por outro lado, Supanc e colaboradores (2011) não evidenciaram diferenças
25 nos valores de sVCAM-1 entre controles e pacientes com AVEI, assim como não
26 observaram associação com gravidade ou prognóstico do AVEI.

27 Embora a patogênese da IRA em pacientes críticos seja complexa, evidências
28 sugerem um papel importante para a lesão endotelial microvascular e disfunção do
29 glicocálce endotelial em sua patogênese. Um estudo mostrou que os níveis mais
30 elevados sVCAM-1 foram associados à IRA sem resolução (BHATRAJU *et al.*, 2017).
31 Outro estudo mostrou que a sVCAM-1 e angiopoietina-2 foram fortemente associados
32 a IRA grave enquanto a sICAM-1 mostrou apenas uma tendência estatisticamente
33 significativa na associação com IRA grave (DE OLIVEIRA NEVES *et al.*, 2019).

1 A sVCAM-1 foi avaliada como biomarcador urinário em pacientes com lúpus
2 eritematoso sistêmico com e sem envolvimento renal e os resultados mostraram que
3 a sVCAM-1 urinária foi capaz de distinguir pacientes com lúpus eritematosos sistêmico
4 com envolvimento renal ativo de pacientes com nefrite quiescente ou sem nefrite
5 prévia. Os autores sugerem que valores elevados de sVCAM-1 urinário podem indicar
6 pacientes com risco aumentado de perda da função renal a longo prazo (PARODIS *et*
7 *al.*, 2020).

8 A PECAM-1 é constitutivamente expressa em plaquetas e altamente expressa
9 na maioria dos leucócitos e nas células endoteliais. Ela apresenta isoformas, as quais
10 são distintas, executando funções distintas, como controle das etapas finais da
11 migração transendotelial, a manutenção da integridade juncional endotelial e
12 angiogênese. Sua expressão não é alterada com a estimulação de citocinas. Estudos
13 sugerem que a PECAM-1 possa estar envolvida na extensão do dano isquêmico e
14 que seus valores obtidos am até 24 h e na segunda semana após o AVEI
15 correlacionaram-se positivamente com a gravidade do evento isquêmico e com o grau
16 de incapacidade funcional avaliados dentro de 24 h do AVEI e na segunda semana
17 após o evento, respectivamente (ZAREMBA; LOSY, 2002).

18

19 1.7.4 NGAL

20

21 A lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL), também conhecida
22 como lipocalina-2 (LCN2), siderocalina ou 24p3, é um membro da família lipocalina
23 que consiste em várias proteínas secretadas que funcionam como carreadores de
24 pequenas moléculas hidrofóbicas. A NGAL é uma glicoproteína de 25 kDa que foi
25 primeiramente purificada a partir de neutrófilos, o que justifica sua denominação atual.
26 Ela é armazenada em grânulos maduros e liberada durante a ativação celular, sendo
27 expressa, também, por outros tipos de células onde controla várias funções celulares
28 fisiológicas, incluindo apoptose, diferenciação, migração e proliferação (BUONAFINE;
29 MARTINEZ-MARTINEZ; JAISSER, 2018).

30 NGAL é liberada pelas células tubulares renais após diferentes condições de
31 estresse e inflamação, entre elas os danos tubulares particularmente no ramo
32 ascendente espesso da alça de Henle e no ducto coletor (PARAGAS *et al.*, 2011).

1 Após lesão renal, NGAL pode ser detectada no plasma de pacientes com IRA em 2 h,
2 e os níveis plasmáticos atingem o pico aproximadamente 6 h após a lesão. Esses
3 picos níveis podem ser mantidos por até cinco dias, após os quais eles começam a
4 diminuir (ALGE; ARTHUR, 2015; WASUNG; CHAWLA; MADERO, 2015).

5 Enquanto a maioria da NGAL está em uma forma monomérica, NGAL também
6 ocorre como dímeros e trímeros, bem como em um complexo com gelatinase de
7 neutrófilos (KJELDSEN *et al.*, 1993; YAN *et al.*, 2001). A NGAL monomérica de 25
8 kDa é secretada pelas células do epitélio do túbulo renal lesionado, enquanto a
9 dimérica é a forma predominante secretada por neutrófilos (CAI *et al.*, 2010;
10 MÅRTENSSON *et al.*, 2012). Os principais ligantes para NGAL são sideróforos que
11 são específicos de compostos quelantes de íons férricos (FLO *et al.*, 2004).

12 A dosagem laboratorial de NGAL pode detectar sua elevação dentro de
13 algumas horas após o insulto tubular; com isto, níveis plasmáticos elevados de NGAL
14 (pNGAL) têm sido considerados como um marcador de danos tubulares que auxilia
15 na identificação mais precoce de IRA, quando comparada à creatinina sérica, em
16 várias populações de pacientes, incluindo os submetidos à cirurgia cardíaca,
17 administração de contraste e choque séptico (CORBACIOGLU *et al.*, 2017; HAASE *et*
18 *al.*, 2009; HAASE-FIELITZ; HAASE; DEVARAJAN, 2014; HELANOVA; SPINAR;
19 PARENICA, 2014; KAFKAS *et al.*, 2012). Níveis elevados de pNGAL também
20 identificam pacientes com alto risco de desenvolver IRA após intervenção coronariana
21 primária (BANAI *et al.*, 2021). Estudos também relataram níveis alterados de pNGAL
22 em pacientes com DRC de base (BOLIGNANO *et al.*, 2007, 2008) sugerindo a
23 possibilidade de que a produção de NGAL a partir de células tubulares também
24 refletem a entidade de dano renal ativo subjacente a condição de deficiência crônica.

25 Já a NGAL urinária (uNGAL) apresentou uma acurácia diagnóstica limitada
26 para prever IRA definida pela alteração na creatinina sérica em adultos após cirurgia
27 cardíaca (WAGENER *et al.*, 2008). A dosagem de uNGAL basal teve um desempenho
28 melhor do que os marcadores convencionais na previsão de uma resposta clínica ao
29 tratamento de nefrite lúpica ativa, exceto o nível sérico de complemento C3,
30 mostrando um potencial de prever uma resposta ruim após a terapia de indução com
31 ciclofosfamida ou micofenolato endovenoso (SATIRAPOJ *et al.*, 2017).

32 A NGAL foi encontrada em uma variedade de tecidos humanos e de roedores,
33 incluindo rim, pulmão, fígado, baço, coração, cérebro e pâncreas, em condições
34 saudáveis. Ademais, a NGAL pode funcionar como uma proteína de fase aguda

1 durante a inflamação, dano tecidual ou estresse, e seu nível pode se elevar em vários
2 tipos celulares, como neutrófilos, epitélio tubular renal, macrófagos alveolares, entre
3 outros. A NGAL é regulada positivamente na disfunção endotelial e no dano vascular
4 inflamatório (HEMDAHL *et al.*, 2006). A NGAL circulante pode contribuir indiretamente
5 para processos inflamatórios, aterogênese e subsequente progressão de doenças
6 cardiovasculares. A expressão elevada de NGAL também foi observada em placas
7 ateroscleróticas e foi associada à infiltração de células inflamatórias, formação de
8 trombos, hemorragia em placas e necrose central (HEMDAHL *et al.*, 2006;
9 LECLERCQ *et al.*, 2007). Além disso, a aldosterona induz metaloproteinase-9 (MMP-
10 9) e complexo proteico MMP-9/NGAL em neutrófilos (GILET *et al.*, 2015). A formação
11 desse complexo com a MMP-9, que é um importante mediador da instabilidade da
12 placa e do remodelamento vascular, pode estar envolvida na ruptura da placa
13 (WOITAS *et al.*, 2017).

14 Além disso, descobriu-se a expressão e localização de NGAL no tecido cerebral
15 humano, sendo principalmente expressa em neurônios, indicando que a mesma pode
16 ter funções específicas do SNC (PARK *et al.*, 2009; ZHOU *et al.*, 2016). A expressão
17 e a atividade de NGAL elevaram-se em circunstâncias como encefalomielite
18 autoimune experimental, traumatismo cranioencefálico (TCE) e aneurismas cerebrais.
19 Em pacientes com TCE, valores elevados de uNGAL se mostraram um sinal precoce
20 de IRA (BERARD *et al.*, 2012; SERRA *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2016).

21 As duas formas de NGAL (pNGAL e uNGAL) têm diferentes aplicações
22 relacionadas aos seus mecanismos de aumento de regulação: pNGAL pode servir
23 como marcador de condições inflamatórias sistêmicas, enquanto a uNGAL seria
24 específica para insultos ao epitélio renal (FORSTER; DEVARAJAN, 2017). No trato
25 geniturinário, um dos principais papéis biológicos da NGAL é o tráfego de ferro, que
26 tem implicações para o crescimento, diferenciação e resposta das células epiteliais
27 tanto à lesão quanto à infecção. Portanto, a pNGAL tem boa acurácia preditiva na
28 inflamação sistêmica associada à pielonefrite e dano renal, enquanto a uNGAL é
29 eficaz na identificação de infecção com o ambiente geniturinário, bem como dano
30 renal subclínico como resultado de cicatrização ou obstrução (AXELSSON;
31 BERGENFELDT; OHLSSON, 1995; SCHMIDT-OTT *et al.*, 2007).

32

33

1 1.8 Hipótese de Estudo

2

3 A comunicação bidirecional entre órgãos a distância é fato já estabelecido na
4 medicina, e estudos têm mostrado associação entre AVEI e piora de função renal. As
5 vias pelas quais as lesões ocorrem também são reconhecidas, como as vias centrais
6 do sistema nervoso simpático e as vias periféricas neuroendócrinas com o eixo HHA,
7 sistema renina, angiotensina e aldosterona, as vias metabólicas e as vias inflamatórias
8 pela ativação do sistema imune inato e adaptativo que ocorrem em desequilíbrio com
9 a resposta anti-inflamatória (ZHAO *et al.*, 2020). Resta saber qual o papel e relevância
10 de cada uma delas.

11 Tanto o AVEI como a IRA, e mesmo a DRC, são condições intrinsecamente
12 inflamatórias. Assim, é de se esperar que esta via tenha real importância no *crosstalk*
13 cérebro-rim. Diante deste contexto, a hipótese do estudo é que pacientes com AVEI
14 que desenvolvem IRA após o evento isquêmico apresentem alterações significativas
15 dos biomarcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos que possam
16 diferenciá-los dos pacientes com AVEI que não desenvolvem IRA após evento
17 isquêmico. A hipótese de que o aumento da resposta inflamatória, alterações
18 metabólicas e/ou diminuição da resposta anti-inflamatória possam ser detectados por
19 meio de um painel de biomarcadores preditores precoces da IRA nestes pacientes.

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

1 2 JUSTIFICATIVA

2

3 A literatura é farta em dados mostrando as alterações inflamatórias locais em
4 modelos de AVEI, bem como as repercussões no nível de citocinas, moléculas de
5 adesão, DAMPs, EROs, entre outros. Todavia, há uma escassez de estudos em seres
6 humanos. O *crosstalk* cérebro-rim ainda é pouco estudado, se comparado com as
7 síndromes cardio e hepatorenal. Levando em consideração a magnitude do AVEI
8 como uma das principais causas de morbimortalidade no mundo, e a alta prevalência
9 e significância prognóstica da IRA, o estudo da possível associação entre marcadores
10 inflamatórios em pacientes com AVEI que evoluem com IRA está justificado.

11 A incidência de IRA está aumentando especialmente em pacientes
12 hospitalizados e particularmente nas unidades de terapia intensiva devido a cirurgias
13 de alto risco, procedimentos invasivos e sepse. Em tais condições, a idade e as
14 comorbidades tornam os rins mais suscetíveis a várias exposições e insultos. Embora
15 a associação entre DRC e desfechos do AVEI tem sido objeto de vários estudos
16 sistemáticos, revisões e meta-análises (MASSON *et al.*, 2015; TAN *et al.*, 2016), a
17 relação entre a IRA e o AVEI é muito menos clara.

18 Além disto, o diagnóstico de IRA baseado na creatinina sérica pode subestimar
19 lesão renal. O *10th Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative*
20 relatou uma combinação de biomarcadores funcionais (creatinina sérica) e
21 biomarcadores de dano (novos biomarcadores incluindo NGAL) para estratificar
22 pacientes com IRA (MURRAY *et al.*, 2014).

23 Os critérios de consenso definem a deterioração da função renal principalmente
24 pela elevação da creatinina sérica (KELLUM; LAMEIRE, 2013). No entanto, a função
25 renal normal é geralmente caracterizada por uma redundante capacidade, de tal forma
26 que até 50,0% da massa renal funcional pode ser prejudicada sem elevação da
27 creatinina sérica (RONCO; ROSNER, 2012). Outra limitação do uso da creatinina
28 sérica como biomarcador de IRA é que a meia-vida da creatinina aumenta à medida
29 que a TFG diminui, resultando em um aumento tardio (24-36 h) nos valores de
30 creatinina sérica após uma lesão inicial (OSTERMANN; JOANNIDIS, 2016). Além
31 disso, os valores de creatinina sérica alteram-se com a idade, sexo e índice de massa
32 corporal (IMC) (LEVEY *et al.*, 2009). Estas limitações da creatinina sérica
33 potencialmente podem causar atraso na identificação de pacientes que desenvolverão

1 IRA. Diante dessas limitações, um biomarcador ou um painel de biomarcadores para
2 identificação precoce de lesão tubular aguda pode ser clinicamente benéfico.

3 Os critérios diagnósticos baseados em oligúria e creatinina sérica parecem
4 inadequados para descrever o amplo espectro de mecanismos e condições da IRA.
5 As classificações RIFLE, AKIN e KDIGO fizeram alguns avanços importantes, mas
6 ainda dependem apenas da produção de urina e creatinina sérica, impedindo a
7 possibilidade de um diagnóstico oportuno e preciso de IRA e negligenciando formas
8 subclínicas de disfunção e dano renal (RONCO; ROSNER, 2012).

9 Adicionalmente, o reconhecimento precoce de pacientes com risco maior de
10 IRA após AVEI, seja por características demográficas, clínicas, imagiológicas ou
11 laboratoriais, também pode ensejar maiores cuidados no suporte intra-hospitalar,
12 novamente visando minimizar os efeitos prognósticos da IRA no paciente em curto,
13 médio e longo prazo.

14 Até o presente momento, não é de nosso conhecimento, algum estudo que
15 tenha investigado a utilidade de um conjunto de biomarcadores inflamatórios,
16 metabólicos e anti-inflamatórios para predizer a incidência de IRA após AVEI na
17 população brasileira, assim como sua associação com a gravidade e prognóstico a
18 curto prazo destes pacientes. Diante deste cenário, justificamos a avaliação da
19 associação entre biomarcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos em
20 pacientes com AVEI, com fins de detecção precoce e manejo adequado da IRA nos
21 pacientes atendidos no Hospital Universitário de Londrina.

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

1 **3 OBJETIVOS**

2

3 3.1 OBJETIVO GERAL

- 4 • Avaliar a ocorrência de IRA e o valor de um painel de biomarcadores no
5 diagnóstico e prognóstico a curto prazo em pacientes com AVEI.

6

7 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 8 • Verificar a frequência de IRA em pacientes com AVEI;
- 9 • Avaliar o impacto prognóstico da IRA na mortalidade a curto prazo de pacientes
10 com AVEI;
- 11 • Comparar os biomarcadores demográficos, clínicos e laboratoriais inflamatórios,
12 anti-inflamatórios e metabólicos em pacientes com AVEI com diagnóstico de IRA
13 e sem IRA;
- 14 • Determinar o potencial valor diagnóstico e prognóstico de um painel de
15 biomarcadores demográficos, clínicos e laboratoriais inflamatórios, anti-
16 inflamatórios e metabólicos na predição de IRA e mortalidade a curto prazo após
17 o AVEI;
- 18 • Determinar o potencial valor prognóstico da uNGAL na predição de IRA e
19 mortalidade a curto prazo após o AVEI.

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

1 4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

4 O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa
5 Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina,
6 Paraná, Brasil (CAAE 61361416.9.0000.5231, Parecer 1.816.305 em 10 de novembro
7 de 2016). Todos os pacientes selecionados (ou seus responsáveis legais) foram
8 informados sobre os detalhes da pesquisa e forneceram consentimento informado por
9 escrito para participar do estudo e para coleta e armazenamento de seus materiais
10 biológicos. O estudo foi realizado de acordo com os padrões éticos estabelecidos na
11 Declaração de Helsinque de 1964. Além disso, os pacientes do estudo e seus
12 respectivos dados clínicos, laboratoriais e de imagem foram identificados
13 consecutivamente por número para garantir o sigilo.

14

15 4.2 SUJEITOS

16 Inicialmente, o estudo prospectivo e longitudinal envolveu 156 pacientes com
17 suspeita de terem o primeiro episódio de AVEI agudo, adultos, de ambos os sexos,
18 recrutados consecutivamente durante março de 2017 a março de 2019 no Pronto-
19 Socorro do Hospital Universitário, Londrina, Paraná, Brasil, centro de referência para
20 diagnóstico e tratamento de AVEI agudo. Posteriormente, o AVEI foi diagnosticado
21 pela presença de sinais ou sintomas neurológicos focais considerados de origem
22 vascular que persistiram por um período superior a 24 h, confirmados por tomografia
23 computadorizada (TC) cerebral sem contraste e exame clínico nas condições de base.
24 Os subtipos de AVEI agudo foram classificados de acordo com os critérios do *Trial of*
25 *Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)* (ADAMS *et al.*, 1993). A gravidade do
26 AVEI foi avaliada pelo NIHSS aplicado nas primeiras 24 h da admissão e categorizado
27 como leve (NIHSS < 5), moderado (NIHSS ≥ 5-14) e grave (NIHSS ≥ 15) (BROTT *et*
28 *al.*, 1989). Todos os pacientes foram tratados de acordo com o protocolo padronizado
29 adaptado das diretrizes internacionais para o manejo de AVEI agudo (BRASIL, 2013).

30 O grau de incapacidade dos pacientes com AVEI foi determinado após três
31 meses de seguimento pela Escala de Rankin modificada (mRS) (BONITA;
32 BEAGLEHOLE, 1988), aplicada por meio de exame clínico ou entrevista telefônica
33 com os pacientes ou seus familiares (BAGGIO *et al.*, 2014; JANSSEN *et al.*, 2010). A

1 incapacidade foi categorizada em leve ($mRS < 3$) ou moderada/grave ($mRS \geq 3$). Os
2 pacientes também foram classificados como sobreviventes ou não sobreviventes após
3 os três meses de seguimento. A data do óbito foi coletada por meio de bases de dados
4 de registros do HU e do município de Londrina.

5 Os critérios de exclusão para pacientes com AVEI agudo foram: a) história
6 recente de febre nos últimos sete dias anteriores ao início dos sintomas de AVEI,
7 doenças inflamatórias agudas, AVEH, AIT; b) infecções crônicas pelo vírus da
8 imunodeficiência humana tipo 1, vírus da hepatite B e vírus da hepatite C; c) doenças
9 autoimunes, DRC, insuficiência hepática; d) história de infarto do miocárdio, cirurgia
10 nos últimos 30 dias, angiografia nos últimos sete dias, trauma nos últimos 30 dias,
11 neoplasias, terapias com anti-inflamatórios esteroides ou não esteroides (AINEs) e
12 uso de drogas imunossupressoras; e) dados de imagem e laboratoriais incompletos;
13 f) avaliação médica que indicasse a suspeita de infecção ou a presença de febre nos
14 últimos sete dias anteriores ao AVEI ou dados laboratoriais mostrando hemocultura
15 ou urocultura positiva no momento da inclusão no estudo; g) gravidez. Quanto ao
16 critério de exclusão por DRC, os pacientes com AVEI foram excluídos se: a) a
17 creatinina sérica no momento da admissão $> 2,26$ mg/dL; b) presença de doença renal
18 em estágio terminal previamente documentada; c) presença de uropatia obstrutiva
19 documentada; e d) tratamento em diálise (ALBELADI; ALGETHAMY, 2017). A Figura
20 4 apresenta o fluxograma de estudo com os números de pacientes inseridos
21 inicialmente e excluídos posteriormente de acordo com os critérios de exclusão já
22 descritos.

23 Os dados basais foram obtidos no momento da admissão dos participantes por
24 meio de entrevistas semiestruturadas e padronizadas, incluindo dados demográficos
25 (idade, sexo, etnia), antropométricos (altura, peso, circunferência abdominal) e
26 informações sobre fatores de risco convencionais para AVEI agudo, como HAS,
27 dislipidemia, DM2 e tabagismo atual. A etnia foi registrada de acordo com a
28 autopercepção do indivíduo sobre a cor da pele (Caucasiano ou não Caucasiano). O
29 IMC foi determinado pelo peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado e expresso
30 em kg/m^2 ; a pressão arterial sistólica (PAS) e a pressão arterial diastólica (PAD)
31 utilizadas na análise foi a média entre duas mensurações e expressas em mmHg.
32 Considerou-se HAS quando a PAS era ≥ 140 mmHg ou a PAD era ≥ 90 mmHg após
33 fase aguda do AVCI. Além disso, considerou-se o uso de medicação anti-hipertensiva
34 como indicativo de HAS (JAMES *et al.*, 2014). O DM2 foi definido como glicemia de

1 jejum $\geq 126,0$ mg/dL e/ou uso de medicação hipoglicemiante oral (AMERICAN
2 DIABETES ASSOCIATION, 2019). Dislipidemia foi definida como: colesterol total (CT)
3 $\geq 200,0$ mg/dL, colesterol lipoproteína de baixa densidade (LDL) $\geq 130,0$ mg/dL; e
4 colesterol lipoproteína de alta densidade (HDL) $< 40,0$ mg/dL conforme relatado
5 (NCEP, 2002). O uso de medicamentos hipolipemiantes e antiagregantes plaquetários
6 foi, também, registrado.

7 A IRA foi definida por um aumento da creatinina sérica em relação ao valor
8 basal na admissão $\geq 0,3$ mg/dL em 48 h ou um aumento no valor de creatinina sérica
9 em 1,5 vezes ou mais nas últimas 72 h após a admissão. Este critério de 72 h foi
10 adaptado ao proposto por KDIGO (KELLUM *et al.*, 2012), com um limite de tempo
11 mais estreito como uma tentativa de evitar outros fatores de confusão na gênese da
12 IRA.

13

14 **Figura 4** Fluxograma de estudo com o número de pacientes atendidos no Pronto
15 Socorro do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, entre março de 2017 e março
16 de 2019, para avaliação da interação entre acidente vascular encefálico agudo e
17 injúria renal aguda

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

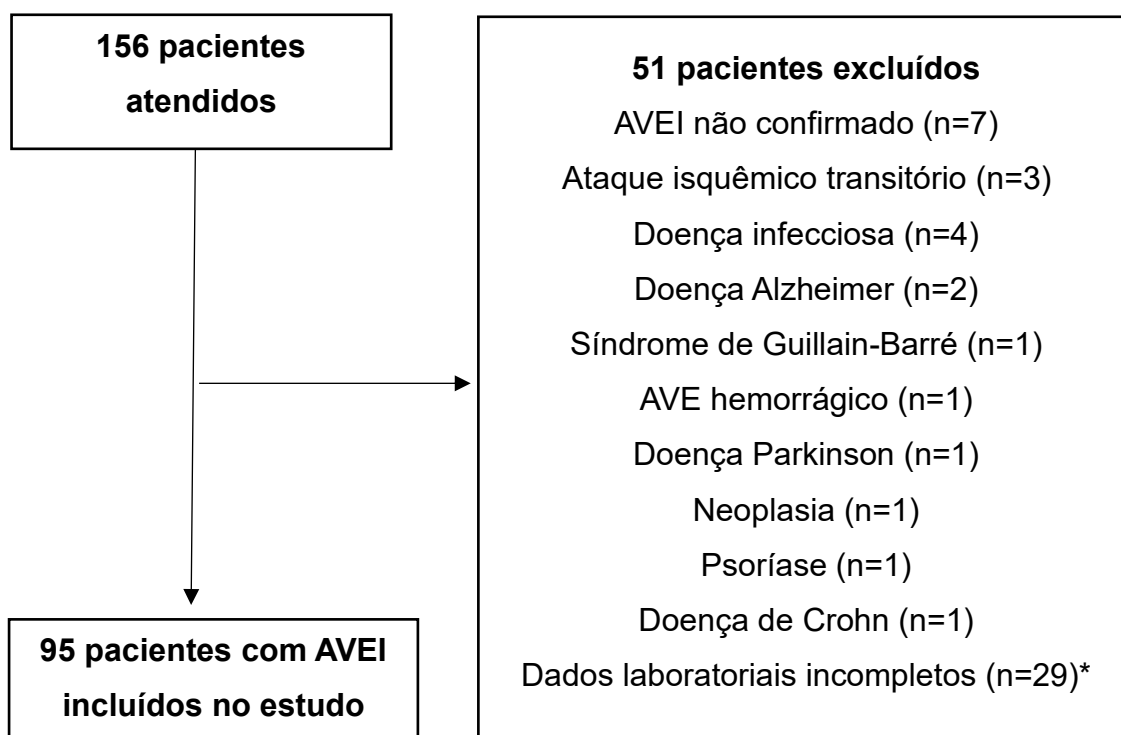
28

29

30

31

32



1 AVEI: acidente vascular encefálico isquêmico. *Em 29 pacientes, não se obteve a segunda
2 amostra de creatinina sérica coletada em até 72 h após a admissão no estudo ou ocorreu
3 hospitalar antes de 72 h após a inclusão no estudo.

4 **Fonte:** o próprio autor

5

6 4.3 BIOMARCADORES LABORATORIAIS

7

8 Amostras de sangue periférico foram coletadas dentro de 24 h após a
9 admissão, com e sem anticoagulantes. As amostras foram imediatamente
10 centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos, com armazenamento das alíquotas de soro
11 e plasma em *freezer* - 80°C até a execução dos ensaios. Os funcionários do
12 laboratório estavam cegos para os dados clínicos dos pacientes.

13 Os biomarcadores inflamatórios obtidos na admissão dos pacientes foram: a)
14 contagem de leucócitos totais periféricos realizada por analisador hematológico
15 automatizado (*Mindray BC6800, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics,*
16 *Shenzhen, China*); b) PCR determinada por ensaio de alta sensibilidade (hsPCR)
17 usando turbidimetria (*Architect C8000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, EUA*); c)
18 valores plasmáticos de IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, interferon (IFN)- γ e TNF- α
19 determinados por método imunofluorimétrico com imunensaio multiplex com
20 microesferas (*Novex Life Technologies, Frederick, EUA*) para plataforma *Luminex* no
21 instrumento MAGPIX® (*Luminex Corp., TX, EUA*); d) valores plasmáticos de
22 adiponectina e TGF- β 1 determinados por método imunofluorimétrico com imunensaio
23 *singleplex* (*Novex Life Technologies, Frederick, EUA*) para plataforma *Luminex* no
24 instrumento MAGPIX® (*Luminex Corp., TX, EUA*); e) valores de MMP-9 avaliados por
25 reação imunoenzimática (ELISA) tipo sanduíche (*Human MMP-9 ELISA kit Invitrogen,*
26 *CA, USA*); f) valores plasmáticos de sICAM-1 sVCAM-1, sPECAM-1, E-selectina
27 solúvel (sE-selectina) e P-selectina solúvel (sP-selectina) por método
28 imunofluorimétrico com imunensaio multiplex com microesferas (*Novex Life*
29 *Technologies, Frederick, EUA*) para plataforma *Luminex* no instrumento MAGPIX®
30 (*Luminex Corp., TX, EUA*),

31 Os biomarcadores bioquímicos avaliados na admissão foram: a) glicose,
32 albumina e creatinina sérica sendo dosada na admissão (creatinina 1) e em até 72 h
33 após a admissão (creatinina 2), com determinação de sua variação (Δ creatinina), com
34 utilização de analisador bioquímico automatizado (*DimensionTMDade AR*
35 *DadeBehring, Deerfield, IL, EUA*); b) valores plasmáticos de 25 hidroxivitamina D

1 [25(OH)D], insulina, ferritina e homocisteína, assim como de uNGAL determinados por
2 ensaio com micropartículas de quimioluminescência (*Architech™, Abbott Laboratory,*
3 *Abbott Park, IL, EUA*), de acordo com as recomendações do fabricante. Os valores de
4 25(OH)D foram utilizados para determinação do *status* de vitamina D, categorizado
5 como deficiente se 25(OH)D < 20,0 ng/mL, insuficiente se 25(OH)D entre 20,0-29,0
6 mg/mL e suficiente se 25(OH)D ≥ 30,0 ng/mL (HOLICK, 2007). Quanto aos valores de
7 uNGAL, este biomarcador foi determinado em uma amostra de 21 pacientes com
8 AVEI, sendo na admissão (uNGAL1), em até 48 h após a admissão (uNGAL2) e
9 determinada sua variação (Δ uNGAL).

10

11 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

12

13 A análise estatística será descrita conforme os testes estatísticos foram
14 empregados nos dois artigos originais apresentados.

15 Para o primeiro artigo, análises de tabelas de contingência verificaram as
16 associações entre variáveis categóricas e grupos diagnósticos (com IRA e sem IRA).
17 Foram utilizados os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene que avaliam a
18 normalidade da distribuição e a homocedasticidade (homogeneidade das variâncias),
19 respectivamente. O teste de Mann-Whitney foi usado para avaliação dos dados não
20 paramétricos. **A transformação logarítmica (Ln) dos dados contínuos foi utilizada na**
21 **análise quando as variáveis não foram normalmente distribuídas ou quando houve**
22 **heterogeneidade de variância avaliada com o teste de Levene.** A transformação em
23 escore z padronizado permitiu a comparação de escores de distribuição díspares. Os
24 valores de NIHSS e biomarcadores de laboratório também foram transformados em
25 escores z.

26 As variáveis categóricas foram expressas em número absoluto (n) e percentual
27 (%), enquanto as variáveis contínuas foram expressas como mediana e intervalo
28 interquartil de 25,0% e 75,0% (IQR). As correlações entre CAM e variáveis clínicas e
29 inflamatórias foram avaliadas utilizando coeficientes de correlação de Spearman.
30 Foram avaliados modelos de regressão logística com diagnóstico de IRA após 72 h
31 da admissão no estudo e de mortalidade após três meses dos pacientes com AVEI
32 como variáveis dependentes e a entrada na análise de um painel de biomarcadores
33 como variáveis explicativas. A associação entre mortalidade após três meses de

1 seguimento e diagnóstico de IRA na análise univariada foi avaliada pelo método
2 hierárquico de análise de regressão logística binária. Além disso, o OR e o intervalo
3 de confiança de 95,0% (IC 95,0%) também foram determinados.

4 Para o segundo artigo, as variáveis categóricas foram expressas como número
5 absoluto (n) e percentual (%) e as variáveis contínuas foram expressas como mediana
6 e IQR. Os dados categóricos foram analisados pelo teste Exato de Fisher. As variáveis
7 contínuas foram avaliadas quanto à normalidade e homoscedasticidade por meio dos
8 testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Devido à distribuição não
9 paramétrica dos dados, foram aplicados testes estatísticos não paramétricos, como o
10 teste de Wilcoxon (alterações intragrupo) e Mann-Whitney (diferenças entre as
11 variáveis contínuas entre os grupos). Todas as análises estatísticas foram realizadas
12 no IBM SPSS, versão 26 (*IBM, Armonk, NY, EUA*). Resultados com valores de $p < 0,05$
13 foram considerados estatisticamente significativos.

14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **5 RESULTADOS**

2

3 Os resultados obtidos neste trabalho foram apresentados e discutidos em
4 dois artigos científicos originais que serão submetidos à publicação em periódico
5 internacional.

6

7 **Artigo 1- Acute kidney injury is associated with soluble vascular cell adhesion**
8 **molecule-1 (sVCAM-1) levels and short-term mortality in ischemic stroke**
9 **patients.**

10

11 **Artigo 2- Is urinary NGAL a useful biomarker to early identification of acute**
12 **kidney injury in patients with ischemic stroke?**

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

1 5.1 ARTIGO 1

2

3 **Acute kidney injury is associated with soluble vascular cell adhesion molecule-**
4 **1 (sVCAM-1) levels and short-term mortality in ischemic stroke patients**

5

6 Marcel Jaqueto¹, Daniela Frizon Alfieri², Maria Caroline Martins de Araújo³, Ana Lucia
7 Cruz Fürstenberger Lehmann¹, Tamires Flauzino³, Emmanuelle Roberto Trevisan³,
8 Maisa Rocha Nagao³, Leonardo Bodner de Freitas³, Andrea Name Colado Simão^{3,4},
9 Marcell Alysson Batisti Lozovoy ^{3,4}, Vinicius Alvares Daher Delfino ¹, Edna Maria
10 Vissoci Reiche ⁴

11

12 1 Department of Clinical Medicine, Health Science Center and Radiology Service of
13 the University Hospital, State University of Londrina, Paraná, Brazil;14 2 Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, State University
15 of Londrina, Paraná, Brazil;16 3 Laboratory of Research in Applied Immunology, Health Sciences Center, State
17 University of Londrina, Paraná, Brazil;18 4 Department of Pathology, Clinical Analysis, and Toxicology, Health Sciences Center,
19 State University of Londrina, Paraná, Brazil;

20

21 Address for correspondence: Edna Maria Vissoci Reiche, Laboratory of Research in
22 Applied Immunology, Health Sciences Center, State University of Londrina, Paraná,
23 Brazil; Av. Robert Koch, 60, CEP 86.038-440, Londrina, Paraná, Brazil. Phone/FAX
24 number: +55-43-3371-2619. e-mail: reiche@sercomtel.com.br; ORCID: 0000-
25 0001/6507-2839.

26

27

28

29

30 **Running title:** Acute kidney injury and sVCAM-1 in ischemic stroke

31

32

33

34

1 **Abstract**

2 **Background:** Observational studies show an association between ischemic stroke
3 (IS) and acute renal injury (AKI), which, in turn, is associated with worsening prognosis
4 in these patients. The aim was to evaluate the frequency of AKI after IS and the
5 prognostic value of a panel of demographic, clinical and laboratory biomarkers in
6 predicting AKI and short-term mortality after the IS

7 **Methods:** A prospective and longitudinal study evaluated 156 patients, adults and both
8 sexes, with suspected of IS. The IS diagnosis was confirmed by the presence of focal
9 neurological signs or symptoms and brain computed tomography without contrast. The
10 severity was assessed using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS).
11 The disability was determined after three-month follow-up using the modified Rankin
12 Scale (mRS) and categorized as mild (mRS<3) and moderate/severe (mRS≥3). The
13 patients were also categorized as survivors and non-survivors after the three-month
14 follow-up. AKI was defined by an increase of ≥ 0.3 mg/dL in the serum creatinine in
15 relation to baseline value at admission or a rise in the serum creatinine level by 1.5
16 times or more within the first 72 h after admission. Baseline demographic,
17 epidemiological, and clinical data were recorded, and blood samples were obtained up
18 to 24 h of the admission for the determination of inflammatory, anti-inflammatory and
19 metabolic biomarkers.

20 **Results:** Of the 156 patients, 95 IS patients were evaluated and 15 (15.7%) presented
21 AKI. The baseline severity and disability were higher among the patients with AKI than
22 those without AKI ($p=0.054$ and $p=0.029$, respectively). The proportion of IS patients
23 with vitamin D deficiency status (25 hydroxyvitamin D < 20.0 ng/mL) and increased
24 soluble intercellular adhesion molecule-1 (sVCAM-1) levels were higher among those
25 who developed AKI than those without AKI ($p = 0.011$ and $p=0.023$, respectively).
26 sVCAM-1 levels were independently associated with the occurrence of AKI after IS
27 [odds ratio (OR): 5.665, 95.0% confidence interval (CI): 1.337-23.99, $p=0.019$] and the
28 short-term mortality was higher among those with AKI than those without AKI
29 ($p=0.009$). AKI was independent associated with short-term mortality and showed
30 better prediction value than the severity of IS.

31 **Conclusions:** The study demonstrated AKI as a common complication after IS and its
32 association with short-term mortality. Moreover, sVCAM-1 levels were independent
33 associated with AKI, which suggest a plausible role in the pathophysiological

1 mechanisms of AKI after IS, as well as a potential biomarker to predict AKI in IS
2 patients.

3

4 **Keywords:** acute kidney injury; ischemic stroke; biomarkers; VCAM-1; mortality

5

6

7 **Introduction**

8 Acute ischemic stroke (IS) is a leading cause of mortality and morbidity, with
9 long-term debilitating effects. IS is a sudden cerebrovascular event that usually occurs
10 in the course of chronic systemic diseases, not limited to the cardiovascular system,
11 and it is even common for there to be multiple comorbidities in the same patient. Acute
12 kidney injury (AKI) is an abrupt onset of renal dysfunction involving structural damage
13 and functional impairment that develops within few hours or days. AKI can result from
14 decreased renal perfusion, nephrotoxicity, or damage to glomeruli, tubules, interstitium
15 or renal vasculature (MAKRIS; SPANOU, 2016).

16 Accumulating evidence from experimental as well as observational studies in
17 patients suggests a crosstalk between the brain and kidney after the brain ischemic
18 event. IS may lead to kidney dysfunction, which can adversely impact patient outcome.
19 A meta-analysis of eight studies indicated that AKI is a common complication of IS,
20 with a pooled prevalence rate of 12.9% patients developing AKI, and AKI is associated
21 with increased mortality rate (ZORRILLA-VACA *et al.*, 2018). While the incidence of
22 AKI after IS varies widely based on AKI defining criteria and coding definitions, an
23 increased mortality risk has been reported among patients who develop AKI after IS,
24 both in short-term and long-term (COVIC *et al.*, 2008; GADALEAN *et al.*, 2017;
25 KHATRI *et al.*, 2014; TSAGALIS *et al.*, 2009a, 2009b). However, part of the studies
26 that demonstrated this association of AKI with worse prognosis after IS did not consider
27 the severity of the cerebrovascular event through standardized scales, such as the
28 National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) (COVIC *et al.*, 2008; TSAGALIS *et al.*,
29 2009b). On the other hand, a retrospective study in a Brazilian cohort of IS revealed
30 that the predictive strength of AKI was limited by the severity of IS (LIMA *et al.*, 2019).

31 Although the association between chronic kidney disease (CKD) and IS
32 outcomes has been the subject of systematic reviews and meta-analyses (KELLY *et al.*,
33 2021; MASSON *et al.*, 2015), the relationship between AKI and IS regarding the
34 mechanisms that modulate the onset of renal dysfunction in these patients as well as

1 valuable biomarkers to predict the AKI occurrence are missing. It is well established
2 that IS triggers an intense local inflammation that evolves to a systemic phenomenon,
3 which has been termed as global brain inflammation (SHI *et al.*, 2019). The release of
4 inflammatory mediators by injured brain cells as well as IS-induced gut dysbiosis can
5 increase systemic inflammation. Systemic inflammation and immune responses
6 mediated by the spleen likely play a central role in promoting kidney dysfunction after
7 brain injury (ZHAO *et al.*, 2020).

8 After the brain ischemia, the damage associated molecular pattern (DAMPs)
9 and reactive oxygen species (ROS) activate the proinflammatory cytokines, such as
10 interleukin (IL)-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor (TNF)- α both in brain tissue and in
11 the systemic circulation. With the impairment of the blood-brain-barrier (BBB), there is
12 the expression of cell adhesion molecules (CAM) by the endothelial cells, such as
13 intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1
14 (VCAM-1) (RAMIRO *et al.*, 2018; TUTTOLOMONDO *et al.*, 2009). T helper (Th)1 and
15 Th17 CD4⁺ T cell subpopulations are activated and IL-2, TNF- α , IFN- γ , and IL-17A
16 cytokines are released, contributing to the brain injury. Th17 cytokines can drive renal
17 inflammation partly by increasing TNF- α expression and upregulating CAM and
18 chemokines which cause infiltration of the immune cells into the renal tissue (TURNER
19 *et al.*, 2010).

20 After this initial hyperactivation of the immune system, a state of sustained
21 immunosuppression is mediated by regulatory T cells (Treg) and possibly Th2 cells
22 with opposing anti-inflammatory functions to limit or prevent lesions by releasing anti-
23 inflammatory cytokines, such as IL-10 and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1)
24 (CUI; MCCULLOUGH; HAO, 2021). The consequences of all these processes not only
25 involve increased risks of infections, but a series of systemic alterations, including
26 cardiac, pulmonary, gastrointestinal, metabolic, and renal alterations (ZHAO *et al.*,
27 2020).

28 Several biomarkers have been described for the early diagnosis and prognosis
29 of AKI that may provide additional diagnostic and prognostic information beyond that
30 is offered by serum creatinine. Some of them are specific components of AKI
31 pathophysiology, including proximal and distal tubular injury, cell cycle arrest,
32 glomerular filtration, and systemic inflammatory pathways (MALHOTRA; SIEW, 2017;
33 SCHAUB; PARIKH, 2016; ZHANG; PARIKH, 2018). The association between the
34 occurrence of AKI and possible biomarkers was investigated in different setting

1 especially in hospitalized patients and particularly in the intensive care unit (ICU) due
2 to major surgery, cardiac surgery, cardiorenal and hepatorenal syndromes, iatrogenic
3 interventions, critical illness, renal transplant, and sepsis (MALHOTRA; SIEW, 2017;
4 SCHAUB; PARIKH, 2016). However, studies regarding the association between
5 biomarkers and AKI after IS are scarce. In a meta-analysis (ARNOLD *et al.*, 2018), the
6 factors associated with AKI after IS included advanced age (COVIC *et al.*, 2008), worse
7 renal function on admission (COVIC *et al.*, 2008; KHATRI *et al.*, 2014; TSAGALIS *et*
8 *al.*, 2009b), ischemic heart disease (COVIC *et al.*, 2008), heart failure (COVIC *et al.*,
9 2008; TSAGALIS *et al.*, 2009b) and greater baseline severity on admission (KHATRI
10 *et al.*, 2014; TSAGALIS *et al.*, 2009b).

11 Serum creatinine has remained the gold standard for almost a century due to
12 its accessibility and affordability, despite numerous well-recognized limitations as an
13 indirect marker of kidney damage, including delayed detection of injury (KAMPMANN
14 *et al.*, 2009; NICKOLAS; BARASCH; DEVARAJAN, 2008). In addition, serum
15 creatinine levels can rise in the absence of glomerular or tubular injury and remain
16 unchanged in the presence of significant tubular injury, particularly in patients with
17 good underlying kidney function and significant kidney reserve (BOSCH, 1995;
18 HERRERA; RODRIGUEZ-ITURBE, 1998; WU; PARIKH, 2008). To address these
19 limitations, research identifying novel biomarkers, either alone or in combination, to
20 early prediction of AKI has been a topic of great interest.

21 To date, we have no record of the frequency of occurrence of AKI in IS patients
22 treated at the University Hospital of Londrina, Southern Brazil. Moreover, to the best
23 of our knowledge, the accuracy of a panel of clinical and laboratory biomarkers in
24 predicting the diagnosis of AKI after IS as well as the role of AKI in the IS outcome has
25 not been examined. Thus, the aim of the current study is to evaluate the frequency of
26 AKI after IS and the potential prognostic value of a panel of demographic, clinical and
27 laboratory biomarkers in predicting AKI and short-term mortality after IS.

28

29 **Methods**

30 The protocol was approved by the Institutional Research Ethic Committee in
31 Humans of the State University of Londrina, Paraná State, Brazil (CAAE
32 61361416.9.0000.5231). All invited patients (or their legal responsible) were informed
33 of the details about the present research and have provided written informed consent
34 to participate in the study, and for sampling and banking of their biological materials.

1 The study was performed in accordance with the ethical standards as laid down in the
2 1964 Declaration of Helsinki. Further, the study subjects and their clinical, imaging and
3 laboratory data were consecutively identified by number to guarantee the
4 confidentiality.

5

6 *Subjects*

7 Initially, the prospective and longitudinal study included 156 patients with
8 suspected first episode of IS, adults, both sexes. The patients were consecutively
9 recruited during March 2017 to March 2019 from the Emergency Room of the
10 University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil, a reference center for the diagnosis
11 and treatment of IS. Further their admission, the IS was diagnosed with focal
12 neurological signs or symptoms thought to be of vascular origin that persisted for more
13 than 24 h, confirmed by brain computed tomography (CT) without contrast and clinic
14 examination in baseline conditions. The IS subtypes were classified according to the
15 criteria of Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) (ADAMS *et al.*, 1993).
16 The IS severity was assessed using the NIHSS applied within the first 24 h of
17 admission and categorized as mild (NIHSS<5), moderate (NIHSS≥5-14) and severe
18 (NIHSS≥15) (BROTT *et al.*, 1989). All IS patients were treated using a standardized
19 protocol adapted from international guidelines for IS (BRAZIL, 2013). The disability
20 was evaluated after three-month follow-up using the modified Rankin Scale (mRS)
21 (BONITA; BEAGLEHOLE, 1988) applied through clinical examination or using
22 telephone interviews with the patients or their relatives (BAGGIO *et al.*, 2014;
23 JANSSEN *et al.*, 2010). The disability was categorized as mild (mRS < 3) or
24 moderate/severe (mRS ≥ 3). The patients were also classified as survivors or non-
25 survivors after the three-month follow-up Date on the IS outcome (death) was obtained
26 through the databases of the local registries.

27 Exclusion criteria for IS patients were: a) a recent history of fever within the last
28 seven days prior to the onset of stroke symptoms, acute inflammatory diseases,
29 hemorrhagic stroke, acute transient ischemic attack (TIA); b) chronic infections with
30 human immunodeficiency virus type 1, hepatitis B virus and hepatitis C virus; c)
31 autoimmune diseases, CKD or liver failure; d) history of myocardial infarction, surgery
32 within last 30 days, angiography within last seven days, trauma within last 30 days,
33 malignancies, steroid or non-steroidal anti-inflammatory (NSAIs) therapies and
34 immunosuppressive drugs use; e) pregnancy; and f) incomplete imaging and

1 laboratory data. For the exclusion of the individuals, we considered the medical
2 evaluation indicating the suspicion of infection or the presence of fever in the last seven
3 days before the IS or laboratory data showing positive hemoculture or urine culture at
4 baseline. Regarding the CKD, the patients were excluded when: a) the serum
5 creatinine at admission was $> 2,26$ mg/dL; b) the presence of a previously documented
6 end-stage renal disease; c) the presence of documented obstructive uropathy; d) the
7 dialysis treatment (ALBELADI; ALGETHAMY, 2017).

8 Baseline data were obtained at the time of admission of the participants using a
9 semi-structured and standard questionnaire comprising demographic (age, sex,
10 ethnicity), anthropometric (height, weight, waist circumference), and information on
11 conventional IS risk factors including SAH, dyslipidemia, T2DM and current smoking.
12 Ethnicity was recorded according to individual's self-perception of skin color as
13 Caucasian and non-Caucasian. Body mass index (BMI) was determined, systolic blood
14 pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured twice and the
15 mean of these two measurements was used in the analysis. Moreover, use of
16 antihypertensive medication was an indication of SAH (JAMES *et al.*, 2014). T2DM
17 was defined as a fasting serum glucose ≥ 126.0 mg/dL and/or use of oral hypoglycemic
18 medication (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019). Dyslipidemia was defined
19 as: total cholesterol (TC) ≥ 200.0 mg/dL, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol
20 ≥ 130.0 mg/dL; and high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol < 40.0 mg/dL as reported
21 (HOLICK, 2002). The use of platelet antiaggregant and lipid-lowering drugs was also
22 recorded.

23 AKI was defined by an increase of ≥ 0.3 mg/dL in the serum creatinine in relation
24 to baseline value at admission or a rise in the serum creatinine level by 1.5 times or
25 more within the last 72 h after admission, different from the definition given by the
26 KDIGO (KELLUM *et al.*, 2012). This more strictive timing limit was an attempt to limit
27 the occurrence of other confounding factors causing AKI than IS.

28

29 *Laboratory biomarkers*

30 Peripheral blood samples were collected between 8.00-10.00 a.m. within 24 h
31 after admission, with and without anticoagulants. The samples were immediately
32 centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes, and the serum and plasma aliquots were
33 stored at -80 °C until thawed for assays. The laboratory personal were blinded to the
34 clinical data. The inflammatory biomarkers were peripheral white blood cell (WBC)

1 counts determined using an automated hematology analyzer (Mindray BC6800,
2 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, Shenzhen, China); C-reactive protein
3 (CRP) determined with high sensitivity assay (hsCRP) using turbidimetry (Architect
4 C8000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA), and plasma levels of cytokines,
5 including interleukin (IL) IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, interferon (IFN)- γ , and
6 tumor necrosis factor (TNF)- α , were determined using immunofluorimetric method with
7 microspheres multiplex immunoassay (Novex Life Technologies, Frederick, USA) for
8 Luminex platform in MAGPIX® instrument (Luminex Corp., TX, USA). Plasma levels
9 of transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) and adiponectin were determined using
10 immunofluorimetric method with microspheres singleplex immunoassay (Novex Life
11 Technologies, Frederick, USA) for Luminex platform in MAGPIX® instrument (Luminex
12 Corp., TX, USA). Serum levels of MMP-9 were evaluated using a sandwich enzyme-
13 linked immunoassay (Human MMP-9 ELISA kit Invitrogen, CA, USA). Plasma levels of
14 ferritin, 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D], and homocysteine were determined using
15 chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA, Architect™, Abbott
16 Laboratory, Abbott Park, IL, USA). The 25(OH)D was used to determine the vitamin D
17 status that was categorized as deficient when 25(OH)D < 20.0 ng/mL, insufficient when
18 25(OH)D 20.0-29.0 mg/mL and sufficient when 25(OH)D \geq 30.0 ng/mL (HOLICK,
19 2007).

20 The biochemical biomarkers were serum levels of creatinine at admission
21 (creatinine 1) and after 72 h (creatinine 2) and the variation of the serum creatinine
22 values was determined (Δ creatinine), uric acid, TC, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol,
23 triglycerides, total protein, albumin, and plasma glucose using automated biochemical
24 analyzer (Dimension™ Dade AR Dade Behring, Deerfield, IL, USA). All the laboratory
25 analyses were performed according to the manufacturer's instructions and reference
26 values.

27

28 *Statistical Analysis*

29 Analyses of contingency tables checked the associations between categorical
30 variables and diagnostic groups (with AKI and without AKI). In parametric tests, the
31 Kolmogorov–Smirnov test assesses normality of distribution and the Levene test
32 assesses the heterogeneity of variance. The Mann-Whitney test was used for non-
33 parametric data. Logarithmic (Ln) transformation of continuous data was used in the
34 analysis when the variables were not normally distributed or when there was

1 heterogeneity of variance, and transformation in z score standardized allowed
2 comparison of disparate distribution scores. The values of NIHSS and laboratory
3 biomarkers were also transformed as z scores.

4 Categorical variables were expressed as an absolute number (n) and a
5 percentage (%), while continuous variables were expressed as a median and 25.0%-
6 75.0% interquartile range (IQR). The correlations between CAMs and clinical and
7 inflammatory variables were assessed using Spearman correlation coefficient. Models
8 of logistic regression with AKI up to 72 h of the admission as dependent variables and
9 the panel of biomarkers as explanatory variables were evaluated. Moreover, the
10 mortality after three-months of IS patients as dependent variable was evaluated using
11 the hierarchy method of binary logistic regression analysis. The odds ratio (OR) and
12 95.0% confidence interval (95.0% CI) were also determined. All statistical analyzes
13 were performed using IBM SPSS, version 26 (IBM, Armonk, NY, USA). The tests were
14 two-tailed and $p < 0.05$ indicated statistically significant results.

16 Results

18 *Baseline characteristics of IS patients*

19 Of the 156 patients initially enrolled in the study, 95 patients met our eligibility
20 criteria and were evaluated (**Figure 1**). Of them, 15 (15.7%) presented AKI and 80
21 (84.2%) did not. The categorical variables including demographic, anthropometric, IS
22 subtypes, NIHSS, mRS, short-term mortality, and the vitamin D status characteristics
23 of the IS patients without and with AKI are presented in the **Table 1**. The IS patients
24 with AKI showed higher frequency of smoking ($p=0.016$), dyslipidemia ($p=0.046$),
25 deficient vitamin D status ($p=0.011$) and short-term mortality ($p=0.009$). Of the 15 IS
26 patients with AKI, 9 (60.0%) evolving to death, while this outcome was seen in 20
27 (25.6%) IS patients without AKI ($p=0.009$). The use of lipid-lowering and anti-platelet
28 aggregation drugs prior the IS event showed a trend towards higher among the IS
29 patients with AKI when compared with those without AKI (both with $p=0.056$). The other
30 categorical variables did not differ among the two subgroups of IS patients ($p > 0.05$).

32 *Laboratory biomarkers between IS patients without AKI and with AKI*

33 The baseline continuous variables including demographic (age), anthropometric
34 (BMI), clinical (SBP, DBP, IS severity, short-term disability) and laboratory

1 (inflammatory, anti-inflammatory, and metabolic) biomarkers of the IS patients without
2 and with AKI are presented in the **Table 2**. Among all these variables, the IS patients
3 with AKI showed a statistical trend towards higher baseline severity [16.0 (95% CI: 8.0-
4 21.0 vs. 9.0 (95.0% CI:4.5-17.5), $p=0.054$], significantly higher disability [6.0 (95.0%
5 CI: 3.0-6.0) vs. 4.0 (95.0% CI: 2.0-6.0), $p=0.029$], and significantly higher levels of
6 sVCAM-1 [425,0 ng/mL (95.0% CI: 361.9-736.7) vs. 343.7 ng/mL (95.0% CI 282.7-
7 402.8), $p=0.023$] when compared with the IS patient without AKI. Moreover,
8 homocysteine levels showed a statistical trend towards higher among the IS patients
9 with AKI than those without AKI [14.0; 95.0% CI: 9.4-15.2) vs 10.4 (95.0% CI: 8.1-
10 13.2), $p=0.074$]. The other variables did not differ among these two subgroups of IS
11 patients ($p>0.05$).

12

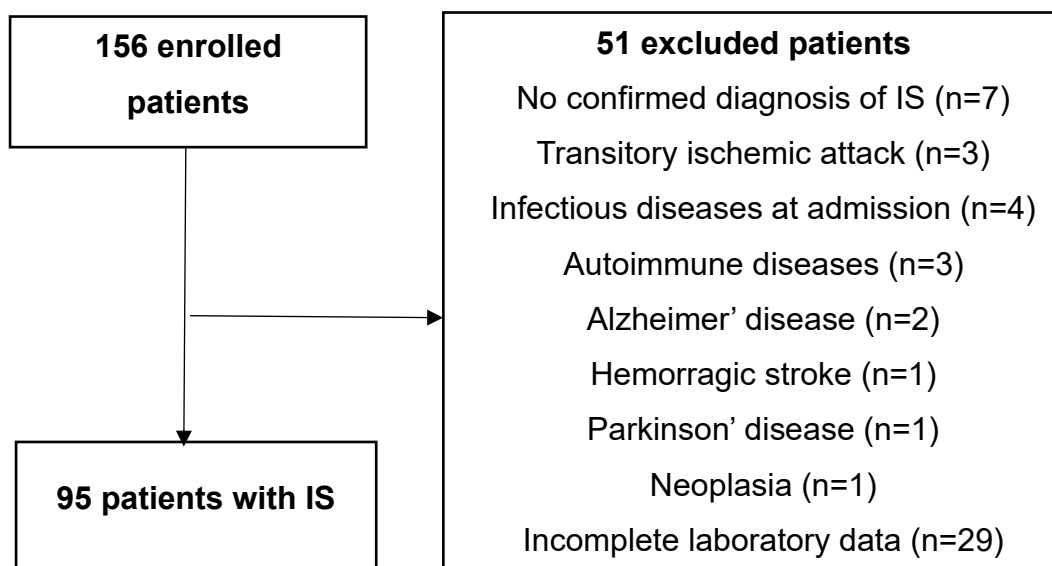
13

14 *Prediction of AKI after IS using logistic regression analyses*

15 In order to evaluate the biomarkers that were independently associated with
16 AKI, stepwise binary logistic regression analysis was performed with the age, sex,
17 SAH, T2DM, dyslipidemia, smoking, baseline NIHSS, platelet anti-aggregant, and
18 sVCAM-1 variables. **Table 3** shows that only sVCAM-1 (as z score normalized) was
19 significantly associated with the occurrence of AKI after IS, with OR of 5.665 (95.0%
20 CI: 1.337-23.99, $p=0.019$). The other biomarkers did not show significant association
21 with AKI in these IS patients (data not shown).

22 Further, three different models of logistic regression analysis were performed
23 with mortality after three-months of IS patients as dependent variable and AKI, NIHSS,
24 and both AKI and NIHSS as explanatory variables (**Table 4**). The model #1 included
25 AKI as explanatory variable and showed an OR of 5.800 (95.0% CI: 1.76-19.02,
26 $p=0.004$), with sensitivity of 92.1%, specificity of 33.3%, and correctly classified 71.3%
27 of cases. In this model, the presence of AKI explained 13.0% of the mortality. The
28 model #2 included NIHSS as explanatory variable and showed an OR of 1.178 (95.0%
29 CI: 1.10-1.26, $p<0.001$), with sensitivity of 94.8%, specificity of 48.4%, and correctly
30 classified 83.5% of cases. In this model, the baseline severity of IS explained 32.7%
31 of mortality. The model #3 included both AKI and NIHSS as explanatory variables and
32 AKI showed an OR of 5.782 (95.0% CI: 1.09-30.43, $p<0.001$) and NIHSS showed an
33 OR of 1.203 (95.0% CI: 1.08-1.33, $p<0.001$), with sensitivity of 91.5%, specificity of

1 65.0%, and together correctly classified 83.6 % of cases. This model of variables (AKI
2 and NIHSS) explained 45.1% of mortality in the present cohort of IS patients.



15
16 **Figure 1** Flow-chart of the patients with acute ischemic stroke enrolled in the study
17 IS: ischemic stroke

18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **Table 1** Baseline categorical variables of the patients with acute ischemic stroke
 2 without and with acute kidney injury from Brazilian population

Variable	Patients without AKI (n=80)	Patients with AKI (n =15)	χ^2	df	p value
Sex					
Female/Male	40 (50.0)/40 (50.0)	8 (53.3)/7 (47.7)	0.056	1	0.813
Ethnicity					
C/NC	55 (68.8)/25 (31.3)	9 (64.3)/5 (35.7)	0.109	1	0.741
Smoking	11 (15.1)	6 (42.9)	5.770	1	0.016
SAH	54 (69.2)	11 (78.6)	0.499	1	0.480
Dyslipidemia	28 (35.9)	9 (64.3)	3.979	1	0.046
T2DM	23 (29.5)	4 (28.6)	0.005	1	0.945
IS subtype (TOAST)					
LAAS	24 (30.4)	4 (26.7)			
CEI	20 (25.3)	3 (20.0)			
LAC	15 (19.0)	5 (33.3)	2.183	4	0.702
ODE	4 (5.1)	0 (0.0)			
UDE	16 (20.3)	3 (20.0)			
NIHSS					
0-4	19 (25.0)	2 (13.3)			
5-14	32 (42.1)	4 (26.7)	3.957	2	0.138
≥15	25 (32.9)	9 (60.0)			
Anti-hypertensive	54 (67.9)	10 (71.4)	0.067	1	0.796
Lipid-lowering drug	24 (30.8)	8 (57.1)	3.640	1	0.056
Oral hypoglycemic	18 (23.1)	2 (14.3)	0.539	1	0.463
Anti-platelet aggregation	24 (30.8)	8 (57.1)	3.640	1	0.056
mRS three-month < 3 / ≥ 3	23 (35.4) /42 (64.6)	2 (13.3) /13 (86.7)	2.758	1	0.097
Death three-month follow-up	20 (25.6)	9 (60.0)	6.921	1	0.009
Vitamin D status					
Deficient	34 (43.6)	10 (66.7)	8.972	2	0.011

Insufficient	36 (46.2)	1 (6.7)
Sufficient	8 (10.3)	4 (26.7)

1 The categorical variables are expressed as absolute number (n) and percentage (%).
2 C: Caucasian; NC: Non Caucasian; SAH: systemic arterial hypertension; DMT2: diabetes mellitus type
3 2; TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment; LAAS: Large artery atherosclerosis stroke;
4 LAC: lacunar infarct; CEI: cardioembolic infarct; ODE: other determined etiology; UDE: undetermined
5 etiology; NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; Vitamin D
6 status: deficient when 25-hydroxyvitamin D < 20.0 ng/mL; insufficient when 25-hydroxyvitamin D
7 between 20.0-29.0 ng/mL; sufficient when 25.0-hydroxyvitamin D ≥ 30.0 ng/mL.

8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **Table 2** Baseline continuous clinical and laboratory variables of the patients with acute
 2 ischemic stroke without and with acute kidney injury (AKI) from Brazilian population

Variable	Patients without AKI (n=80)	Patients with AKI (n=15)	p value
Age (years)	68.5 (56.0-76.0)	73.0 (58.0-77.0)	0.453
BMI (kg/m ²)	26.3 (23.8-31.1)	25.4 (24.0-30.4)	0.874
SBP (mm/Hg)	140.0 (120.0-170.0)	140.0 (120.0-170.0)	0.819
DBP (mm/Hg)	90.0 (80.0-100.0)	85.0 (70.0-100.0)	0.499
Baseline NIHSS	9.0 (4.5-17.5)	16.0 (8.0-21.0)	0.054
mRS three-month	4.0 (2.0-6.0)	6.0 (3.0-6.0)	0.029
WBCs (mm ³)	8605.0 (7365.0-10225.0)	10130.0 (7110.0-12490.0)	0.139
Ferritin (ng/mL)	206.7 (112.5-301.0)	238.4 (119.7-422.4)	0.594
Glucose (mg/dL)	142.0 (112.0-215.0)	138.0 (116.0-155.0)	0.708
Homocystein (μ mol/L)	10.4 (8.1-13.2)	14.0 (9.4-15.2)	0.074
hsCRP (mg/L)	9.8 (3.2-25.5)	15.3 (3.4-34.2)	0.426
25 (OH)D (ng/mL)	20.8 (16.2-24.9)	16.2 (11.4-31.1)	0.222
Albumin (g/dL)	3.4 (3.3-3.7)	3.4 (2.9-3.7)	0.325
IL-1 β (pg/mL)	0.012 (0.012-0.222)	0.012 (0.012-0.201)	0.710
IL-2 (pg/mL)	1.036 (0.341-3.057)	0.914 (0.100-2.432)	0.969
IL-4 (pg/mL)	0.542 (0.042-2.373)	1.025 (0.168-2.143)	0.438
IL-6 (pg/mL)	9.548 (4.157-23.299)	12.946 (2.657-82.814)	0.680
IL-10 (pg/mL)	0.141 (0.010-0.376)	0.270 (0.010-1.699)	0.563
IL-12 (pg/mL)	0.629 (0.281-1.291)	0.515 (0.220-1.339)	0.679
IL-17A (pg/mL)	0.193 (0.021-1.114)	0.154 (0.021-0.580)	0.764
IFN- γ (pg/mL)	0.867 (0.592-1.881)	0.737 (0.514-1.926)	0.596
TNF- α (pg/mL)	0.612 (0.142-1.526)	0.508 (0.142-1.195)	0.994
sICAM-1 (ng/mL)	39.3 (24.3-131.8)	28.2 (20.4-169.5)	0.575
sVCAM-1 (ng/mL)	343.7 (282.7-402.8)	425.0 (361.9-736.7)	0.023
sPECAM-1 (ng/mL)	14.5 (11.5-16.8)	14.4 (11.2-16.6)	0.682
sE-Selectin (ng/mL)	53.4 (38.2-70.8)	66.2 (31.9-75.4)	0.631
sP-Selectin (ng/mL)	44.6 (35.9-65.9)	53.9 (39.3-78.9)	0.150
MMP-9 (ng/mL)	20.5 (7.2-49.7)	22.8 (4.1-37.6)	0.550

TGF- β 1 (ng/mL)	870.8 (353.6-2033.5)	909.8 (413.2-2113.5)	0.988
Adiponectin (μ g/mL)	6.4 (4.1-10.7)	7.4 (5.1-10.4)	0.692

1 The continuous variables are expressed as median and interquartile range (25%-75%). BMI: body mass
2 index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; NIHSS: National Institutes Health
3 Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; WBC: white blood cells; ESR: erythrocyte sedimentation
4 rate; hsCRP: high sensitivity C-reactive protein; 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D; LDL: IL: interleukin;
5 IFN: interferon; TNF: tumor necrosis factor; sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1;
6 sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule-1; sPECAM-1: soluble platelet endothelial cell
7 adhesion molecule-1; sE-selectin: soluble E-selectin; sP-selectin: soluble P-selectin; MMP: matrix
8 metalloprotease; TGF- β 1: transforming growth factor beta 1
9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

1 **Table 3** Result of binary logistic regression analysis with acute kidney injury (AKI) as
 2 dependent variable and demographic, clinical, and laboratory biomarkers as
 3 explanatory variables

Significant explanatory variables	B	Wald	df	p value	OR	95.0% CI
zsVCAM-1	1.734	5.542	1	0.019	5.665	1.337-23.99
NIHSS	0.129	2.706	1	0.100	1.137	0.976-1.326
Dyslipidemia	1.143	0.840	1	0.360	3.135	0.272-36.123
Smoking	1.075	0.791	1	0.373	2.431	0.274-31.36

4

5 The included explanatory variables were dyslipidemia, smoking, zsVCAM, age, sex, systemic arterial
 6 hypertension, type 2 diabetes mellitus, NIHSS at admission, anti-platelet aggregation therapy. zsVCAM-
 7 1: z score normalized of the soluble vascular cell adhesion molecule 1; df: degree of freedom; OR: odds
 8 ratio; CI: confidence interval; NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale.

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

1 **Table 4** Models of stepwise logistic regression with mortality after three-month follow-
 2 up as dependent variable of patients with acute ischemic stroke

Model	Significant explanatory variables	B	Wald	df	p value	OR	95.0% CI	R ² Nagelkerke
#1	AKI	1.758	8.414	1	0.004	5.800	1.76-19.02	0.130
#2	NIHSS	0.164	23.368	1	<0.001	1.178	1.10-1.26	0.327
#3	AKI	0.185	4.289	1	<0.001	5.782	1.09-30.43	0.451
	NIHSS	1.755	12.853	11	0.038	1.203	1.08-1.33	

3
 4 OR: Odds Ratio; CI: confidence interval; AKI: Acute kidney injury; NIHSS: National Institutes of Health
 5 Stroke Scale; Model #1: $\chi^2=9.055$, degree of freedom: 1, $p=0.003$, sensitivity: 92.1%, specificity: 33.3%,
 6 73.1% of cases correctly classified. Model #2: $\chi^2=31.495$, degree of freedom: 1, $p<0.001$, sensitivity:
 7 94.8%, specificity: 48.4%, 83.5% of cases correctly classified. Model #3: $\chi^2=25.608$, degree of freedom:
 8 2, $p<0.001$, sensitivity: 91.5%, specificity: 65.0%, 83.6% of cases correctly classified.
 9

10

11 Discussion

12 The main results of this prospective study indicated that the occurrence of AKI
 13 is common after an IS also in a Brazilian cohort of patients and underscored that the
 14 development of AKI is an important complication after IS and an independent predictor
 15 of short-term mortality. Together with the baseline severity, assessed by NIHSS, the
 16 presence of AKI correctly classified 83.6% of cases. Moreover, the sVCAM-1 showed
 17 a potential useful for the prediction of AKI after IS. Patients with high sVCAM-1 were
 18 5.6 times more likely to have AKI. This result may highlight the increased levels of
 19 sVCAM-1 in patients with AKI after IS and that the sVCAM-1 may be an important
 20 biomarker to predict AKI in these patients.

21 Data from the literature show that the onset of AKI in patients after IS is a
 22 common complication. However, the reported incidence varies widely and might be
 23 underestimated using coding definitions. In a meta-analysis, the authors reported that
 24 rates of AKI after IS varied with a range of 0.82% to 26.68% (ARNOLD; SIMS; FERRO,

1 2016). Another meta-analysis with 12 studies and more than 5 million patients
2 revealed a prevalence of 11.6% of AKI in patients with ischemic or hemorrhagic stroke,
3 and its occurrence was associated with higher mortality in patients with IS than those
4 without AKI (ZORRILLA-VACA *et al.*, 2018). In a cohort of 40 Hispanic patients, 90.0%
5 of them with IS, the onset of AKI reached 62.5% of the subjects (OLGUÍN-RAMÍREZ
6 *et al.*, 2017). In a prospective study with 2,155 first IS patients, AKI during
7 hospitalization occurred in 27.0% of them and was associated with a significant
8 increase in mortality after 10 years (TSAGALIS *et al.*,
9 2009a).<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6788834/> - B5 AKI has been previously
10 reported in patients with different types of cardiovascular diseases including
11 subarachnoid hemorrhage, intracerebral hemorrhage, and cerebral infarctions
12 (KOBAYASHI *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2019; MACWALTER *et al.*, 2002; M'BUYAMBA-
13 KABANGU *et al.*, 1995; TSAGALIS *et al.*, 2009a; ZACHARIA *et al.*, 2009). The NIHSS
14 score has been established as a very important predictor of short and long-term
15 mortality after IS (FONAROW *et al.*, 2012; LEHMANN *et al.*, 2021, LEHMANN *et al.*,
16 2022). However, our study showed that patients with high plasma levels of sVCAM-1
17 showed higher chance to death than those with high baseline severity. Therefore,
18 sVCAM-1 showed to be a good predictor of mortality after IS.

19 The exact mechanisms underlying AKI after IS are unknown and must be
20 explored. In general, the association between two disease states could be due to
21 chance association: shared risk factors for the two disease states, or the presence of
22 common pathophysiological mechanisms underlying both conditions (MA *et al.*, 2015).
23 Renal failure in IS patients appears to be only a sign of end-organ damage caused by
24 long-term arterial stiffness of small and major arteries caused by atherosclerosis and
25 its associated vascular risk factors, such as aging, smoking, SAH, T2DM, and
26 cardiovascular diseases (MCCULLOUGH; AHMAD, 2011) or independent of other risk
27 factors for atherosclerosis.

28 Moreover, VCAM-1 is also expressed in normal kidneys, but levels increase
29 many-fold in diseased states (BRADY, 1994; HILLIS *et al.*, 1997; SERON; CAMERON;
30 HASKARD, 1991). Systemic inflammation and immune responses mediated by
31 cytokines, reactive oxygen species (ROS), cell adhesion molecules (CAM) likely play
32 a central role in promoting kidney dysfunction after brain injury (RODRIGO *et al.*, 2013;
33 SHI *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2020). CAM play pivotal roles in
34 forming and maintaining cell-cell and cell-substrate contacts in the various segments

1 of the nephron and that perturbations in the functioning of these molecules can have
2 profound effects on renal function. Molecules such as intracellular adhesion molecule-
3 1 (ICAM-1), the integrins and selectins play important roles in the recruitment of
4 leukocytes and inflammatory responses that are associated with nephrotoxic injury
5 (PROZIALECK; EDWARDS, 2007). In a study that evaluated the role of microvascular
6 endothelial injury and endothelial glycocalyx dysfunction in the pathogenesis of AKI,
7 the VCAM-1, but not ICAM-1, appeared to be related to kidney injury in a Bayesian
8 model (DE OLIVEIRA NEVES *et al.*, 2019). Therefore, it is plausible that CAM may be
9 an important factor triggering kidney disfunction.

10 The incidence of AKI was significantly elevated in elderly patients after IS.
11 However, the risk of AKI after IS did not differ between elderly men and women
12 (TSAGALIS *et al.*, 2009a). Our results are not in agreement with previous studies that
13 showed the association between comorbidities such as SAH and T2DM, age and sex
14 with AKI, suggesting that these factors may affect brain–kidney interaction (ZHAO *et*
15 *al.*, 2020).

16 Although the IS subtypes did not differ among the IS patients without and with
17 AKI, the lacunar subtype (LAC) subtype was more frequent among the patients with
18 AKI. This finding contrasts with data from other studies, where lacunar infarction is less
19 associated with AKI than the other subtypes of ischemic stroke (GROSJEAN *et al.*,
20 2019; HUANG; WAN; WU, 2020).

21 The discrepancies in results between studies of sVCAM-1 and other biomarkers
22 evaluated in the present study could be due to differences in patient inclusion and
23 exclusion criteria, control group definitions, time between IS ictus and sample
24 collection, or laboratory methods. Some previous studies (BITSCH *et al.*, 1998;
25 FRIJNS; KAPPELLE, 2002) determined the CAMs levels with ELISA, a less sensitive
26 method compared to immunofluorimetry which is used by the present study. Moreover,
27 pharmacologic treatments can also affect soluble CAMs levels, such as angiotensin-
28 converting enzyme inhibitor and angiotensin receptor II blocker, decreased sVCAM-1,
29 but not sICAM-1 (ANDERSEN *et al.*, 2000). Other studies showed that three months
30 of simvastatin therapy was able to significantly decrease both sICAM-1 and sVCAM-1
31 levels (CERIELLO *et al.*, 2004); antiplatelet agents, including aspirin, have been found
32 to decrease serum sICAM-1 level (MATEOS-CÁRERES *et al.*, 2002).

34 **Limitations and Strengths**

1 Despite the importance of our results, some limitations must be discussed as
2 follow. Firstly, this study included a relatively small cohort of IS patients. Several IS
3 patients were excluded due to the rigid inclusion and exclusion criteria allowing an
4 analysis with fewer confounding factors. Secondly, the renal function was assessed up
5 to 72 h of admission, and we did not have data concerning renal function after this
6 period, and during the three-month follow-up, as well as whether AKI was reversible.
7 However, some strengths may be highlighted, such as the controlled of possible
8 confounding variables, and the evaluation of predictive models with a broad panel of
9 demographic, clinical and laboratory biomarkers involved in the pathophysiological
10 mechanisms of IS.

11 Understanding the bidirectional nature of interaction between the brain and
12 kidney after cerebral injury may have clinical implications for the treatment of IS and
13 overall patient outcome. While the use of biomarkers in nephrology has gained
14 considerable attention, significant progress must still be made before they can be
15 considered for clinical application. As the same way that individuals with diabetic
16 nephropathy driven by high levels of TNF- α receptor (TNFR)I and TNFRII may indicate
17 that anti-inflammatory agents could be repurposed to treat these conditions (ZHANG;
18 PARIKH, 2018), the high levels of sVCAM-1 in patients in the acute phase of IS may
19 be useful in the clinical practice to an early prediction of the occurrence of AKI as well
20 as the short-term mortality after IS.

21

22 **Conclusions**

23

24 Taken together, our study concluded that AKI is an important complication
25 following a first-ever IS, and might be an independent predictor of short-term mortality
26 in three months even when IS severity is considered in the analysis. Our results
27 highlighted the sVCAM-1 serum levels and baseline NIHSS as potential biomarkers of
28 short-term mortality in IS patients with AKI. Further research on the role of the VCAM-
29 1 and other CAMs in the pathogenesis of IS with AKI should identify potential targets
30 to reduce endothelial activation that may prevent poor outcome of IS with AKI.
31 Strategies to prevent AKI in IS patients are of great importance, since the acute
32 management of kidney dysfunction may improve post-IS outcomes and decrease
33 mortality rates.

34

1 **References**

- 2
- 3 ADAMS, H. P. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions
4 for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke
5 Treatment. **Stroke**, v. 24, n. 1, p. 35–41, 1993.
- 6 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE.
7 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—
8 2022. **Diabetes Care**, v. 45, n. Supplement 1, p. S17–S38, jan. 2022. doi:
9 10.2337/dc22-S002.
- 10 ANDERSEN, S. et al. Angiotensin II blockade is associated with decreased plasma
11 leukocyte adhesion molecule levels in diabetic nephropathy. **Diabetes Care**, v. 23, n.
12 7, p. 1031–1032, jul. 2000.
- 13 ARNOLD, J. et al. Incidence and impact on outcomes of acute kidney injury after a
14 stroke: a systematic review and meta-analysis. **BMC Nephrology**, v. 19, n. 1, p. 283,
15 22 dez. 2018.
- 16 ARNOLD, J.; SIMS, D.; FERRO, C. J. Modulation of stroke risk in chronic kidney
17 disease. **Clinical Kidney Journal**, v.9, n.1, p. 29-38, fev. 2016.
- 18 BAGGIO, J. A. O. et al. Validation of a Structured Interview for Telephone
19 Assessment of the Modified Rankin Scale in Brazilian Stroke Patients.
20 **Cerebrovascular Diseases**, v. 38, n. 4, p. 297–301, 2014.
- 21 BITSCH, A. et al. A longitudinal prospective study of soluble adhesion molecules in
22 acute stroke. **Stroke**, v. 29, n. 10, p. 2129–2135, out. 1998.
- 23 BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R. Recovery of motor function after stroke. **Stroke**, v.
24 19, n. 12, p. 1497–1500, dez. 1988.
- 25 BOSCH, J. P. Renal reserve: a functional view of glomerular filtration rate. **Seminars**
26 **in nephrology**, v. 15, n. 5, p. 381–385, set. 1995.
- 27 BRADY, H. R. Leukocyte adhesion molecules and kidney diseases. **Kidney**
28 **International**, v. 45, n. 5, p. 1285–1300, mai. 1994.
- 29 BRAZIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
30 DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA, B. **Manual de rotinas para**
31 **atenção ao AVC / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde,**
32 **Departamento de Atenção Especializada.** 50 p., 2013.
- 33 BROTT, T. et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination
34 scale. **Stroke**, v. 20, n. 7, p. 864–870, 1989.
- 35 CERIELLO, A. et al. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia
36 on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible
37 role of simvastatin treatment. **Diabetes**, v. 53, n. 3, p. 701–710, mar. 2004.

- 1 COVIC, A. et al. The impact of acute kidney injury on short-term survival in an
2 Eastern European population with stroke. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.
3 23, n. 7, p. 2228–2234, 2008.
- 4 CUI, P.; MCCULLOUGH, L. D.; HAO, J. Brain to periphery in acute ischemic stroke:
5 Mechanisms and clinical significance. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 63, p.
6 100932, out. 2021.
- 7 DE OLIVEIRA NEVES, F. M. et al. Fibroblast growth factor 23, endothelium
8 biomarkers and acute kidney injury in critically-ill patients. **Journal of Translational**
9 **Medicine**, v. 17, n. 1, p. 11, abr. 2019.
- 10 FRIJNS, C. J. M.; KAPPELLE, L. J. Inflammatory Cell Adhesion Molecules in
11 Ischemic Cerebrovascular Disease. **Stroke**, v. 33, n. 8, p. 2115–2122, ago. 2002.
- 12 GADALEAN, F. et al. The impact of acute kidney injury on in-hospital mortality in
13 acute ischemic stroke patients undergoing intravenous thrombolysis. **PLOS ONE**, v.
14 12, n. 10, p. e0185589, out. 2017.
- 15 GROSJEAN, F. et al. Under-recognized post-stroke acute kidney injury: risk factors
16 and relevance for stroke outcome of a frequent comorbidity. **International Urology**
17 **and Nephrology**, v. 51, n. 9, p. 1597–1604, set. 2019.
- 18 HERRERA, J.; RODRIGUEZ-ITURBE, B. Stimulation of tubular secretion of
19 creatinine in health and in conditions associated with reduced nephron mass.
20 Evidence for a tubular functional reserve. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.
21 13, n. 3, p. 623–629, mar. 1998.
- 22 HILLIS, G. S. et al. Upregulation and co-localization of connexin43 and cellular
23 adhesion molecules in inflammatory renal disease. **The Journal of pathology**, v.
24 182, n. 4, p. 373–379, ago. 1997.
- 25 HOLICK, M. Vitamin D deficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 357, p.
26 266–281, 2007.
- 27 HUANG, Y.; WAN, C.; WU, G. Acute kidney injury after a stroke: A PRISMA-
28 compliant meta-analysis. **Brain and Behavior**, v. 10, n. 9, set. 2020.
- 29 JAMES, P. A. et al. 2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High
30 Blood Pressure in Adults Report From the Panel Members Appointed to the Eighth
31 Joint National Committee (JNC 8) Clinical Review & Education Special
32 Communication 507. **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507–520, 2014.
- 33 JANSSEN, P. M. et al. Comparison of Telephone and Face-to-Face Assessment of
34 the Modified Rankin Scale. **Cerebrovascular Diseases**, v. 29, n. 2, p. 137–139,
35 2010.
- 36 KAMPMANN, J. et al. RAPID EVALUATION OF CREATININE CLEARANCE. **Acta**
37 **Medica Scandinavica**, v. 196, n. 1–6, p. 517–520, abr. 2009.

- 1 KELLUM, J. A. et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute
2 kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury.
3 **Kidney International Supplements**, v. 2, n.1, p.1-138, Mar. 2012
- 4 KELLY, D. M. et al. Chronic Kidney Disease and Cerebrovascular Disease. **Stroke**,
5 v. 52, n. 7, jul. 2021.
- 6 KHATRI, M. et al. Acute Kidney Injury Is Associated with Increased Hospital Mortality
7 after Stroke. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 23, n. 1, p. 25–
8 30, jan. 2014.
- 9 KOBAYASHI, M. et al. Silent Brain Infarction and Rapid Decline of Kidney Function in
10 Patients With CKD: A Prospective Cohort Study. **American Journal of Kidney**
11 **Diseases**, v. 56, n. 3, p. 468–476, set. 2010.
- 12 LEHMANN, A. L. C. F. et al. Carotid intima media thickness measurements coupled
13 with stroke severity strongly predict short-term outcome in patients with acute
14 ischemic stroke: a machine learning study. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 7, p.
15 1747–1761, 4 out. 2021.
- 16 LEHMANN, A. L. C. F. et al. Immune-inflammatory, coagulation, adhesion, and
17 imaging biomarkers combined in machine learning models improve the prediction of
18 death 1 year after ischemic stroke. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 22, n. 1,
19 p. 111–123, 12 fev. 2022.
- 20 LIMA, H. DO N. et al. The impact of acute kidney injury on fatality of ischemic stroke
21 from a hospital-based population in Joinville, Brazil. **Brazilian Journal of**
22 **Nephrology**, v. 41, n. 3, p. 323–329, set. 2019.
- 23 MA, S. et al. Peripheral to central: Organ interactions in stroke pathophysiology.
24 **Experimental Neurology**, v. 272, p. 41–49, jun. 2015
- 25 MACWALTER, R. S. et al. Does renal dysfunction predict mortality after acute
26 stroke? A 7-year follow-up study. **Stroke**, v. 33, n. 6, p. 1630–1635, jun. 2002.
- 27 MAKRIS, K.; SPANOU, L. Acute Kidney Injury: Definition, Pathophysiology and
28 Clinical Phenotypes. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 37, n. 2, p. 85-98, 2016.
- 29 MALHOTRA, R.; SIEW, E. D. Evidence-Based Nephrology Biomarkers for the Early
30 Detection and Prognosis of Acute Kidney Injury. **Clinical Journal of American**
31 **Society of Nephrology**, v. 12, p. 149–173, 2017.
- 32 MASSON, P. et al. Chronic kidney disease and the risk of stroke: a systematic review
33 and meta-analysis. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v. 30, n. 7, p. 1162–
34 1169, jul. 2015.
- 35 MATEOS-CÁRERES, P. J. et al. Prior aspirin use in unstable angina patients with
36 modified plasma inflammatory markers and endothelial nitric oxide synthase in
37 neutrophils. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 32, n. 12, p. 895–900,
38 dez. 2002.

- 1 M'BUYAMBA-KABANGU, J. R. et al. J-shaped relationship between mortality and
2 admission blood pressure in black patients with acute stroke. **Journal of**
3 **Hypertension**, v. 13, n. 12 Pt 2, p. 1863–1868, dez. 1995.
- 4 MCCULLOUGH, P. A.; AHMAD, A. Cardiorenal syndromes. **World Journal of**
5 **Cardiology**, v. 3, n. 1, p. 1–9, jan. 2011.
- 6 NCEP. THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION
7 PROGRAM (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High
8 Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v.
9 106, n.25, p. 3143-3421. dez. 2002.
- 10 NICKOLAS, T. L.; BARASCH, J.; DEVARAJAN, P. Biomarkers in acute and chronic
11 kidney disease. **Current Opinion in Nephrology & Hypertension**, v. 17, n. 2, p.
12 127–132, mar. 2008.
- 13 OLGUÍN-RAMÍREZ, L. A. et al. Acute Kidney Injury in Acute Stroke. A preliminary
14 study in Hispanic population (P5.041). **Neurology**, v. 88, n. 16 Supplement, p.
15 P5.041, abr. 2017.
- 16 PROZIALECK, W. C.; EDWARDS, J. R. Cell Adhesion Molecules in Chemically-
17 Induced Renal Injury. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 114, n. 1, p. 74–93, abr
18 2007.
- 19 RAMIRO, L. et al. Inflammatory molecules might become both biomarkers and
20 therapeutic targets for stroke management. **Therapeutic Advances in Neurological**
21 **Disorders**, v.11, p. 756286418789340, ago. 2018
- 22 RODRIGO, R. et al. Oxidative Stress and Pathophysiology of Ischemic Stroke: Novel
23 Therapeutic Opportunities. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 12, n.
24 5, p. 698–714, jul. 2013.
- 25 SCHAUB, J. A.; PARIKH, C. R. Biomarkers of acute kidney injury and associations
26 with short- and long-term outcomes. **F1000Research**, v. 5, 2016.
- 27 SERON, D.; CAMERON, J. S.; HASKARD, D. O. Expression of VCAM-1 in the
28 normal and diseased kidney. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 6, n. 12, p.
29 917–922, 1991.
- 30 SHI, K. et al. Global brain inflammation in stroke. **The Lancet Neurology**, v. 18, n.
31 11, p. 1058–1066, nov. 2019.
- 32 TSAGALIS, G. et al. Renal dysfunction in acute stroke: An independent predictor of
33 long-term all combined vascular events and overall mortality. **Nephrology Dialysis**
34 **Transplantation**, v. 24, n. 1, p. 194–200, 2009a.
- 35 TSAGALIS, G. et al. Long-term prognosis of acute kidney injury after first acute
36 stroke. **Clinical Journal of American Society of Nephrology**, v. 4, n. 3, p. 616–
37 622, 2009b.
- 38 TURNER, J.-E. et al. The Th17 immune response in renal inflammation. **Kidney**
39 **International**, v. 77, n. 12, p. 1070–1075, jun. 2010.

- 1 TUTTOLOMONDO, A. et al. Plasma levels of inflammatory and thrombotic/fibrinolytic
2 markers in acute ischemic strokes: relationship with TOAST subtype, outcome and
3 infarct site. **Journal of Neuroimmunology**, v. 215, n. 1–2, p. 84–89, out. 2009.
- 4 WU, I.; PARIKH, C. R. Screening Series Screening for Kidney Diseases: Older
5 Measures versus Novel Biomarkers. **Clinical Journal of American Society of**
6 **Nephrology**, v. 3, p. 1895–1901, 2008.
- 7 ZHANG, W. et al. Interleukin 6 Underlies Angiotensin II–Induced Hypertension and
8 Chronic Renal Damage. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 136–144, jan. 2012.
- 9 ZHANG, W. R.; PARIKH, C. R. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease.
10 **Annual Review of Physiology**, v.81, p.309-333, 2018.
- 11 ZHAO, Q. et al. Brain–kidney interaction: Renal dysfunction following ischemic
12 stroke. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, vol. 40, n. 2, p. 246–262,
13 fev. 2020.
- 14 ZORRILLA-VACA, A. et al. Acute Kidney Injury Following Acute Ischemic Stroke and
15 Intracerebral Hemorrhage: A Meta-Analysis of Prevalence Rate and Mortality Risk.
16 **Cerebrovascular Diseases**, v. 45, n. 1–2, p. 1–9, 1 mar. 2018.

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

1 5.2 ARTIGO 2

2

3 **Is urinary NGAL a useful biomarker to early identification of acute kidney injury**
4 **and short-term outcome in patients with ischemic stroke?**

5

6 Marcel Jaqueto¹, Daniela Frizon Alfieri², Maria Caroline Martins de Araújo³, Ana Lucia
7 Cruz Fürstenberger Lehmann¹, Tamires Flauzino³, Emmanuelle Roberto Trevisan³,
8 Maisa Rocha Nagao³, Leonardo Bodner de Freitas³, Andrea Name Colado Simão^{3,4},
9 Marcell Alysson Batisti Lozovoy ^{3,4}, Vinicius Alvares Daher Delfino ¹, Edna Maria
10 Vissoci Reiche ⁴

11

12 1 Department of Clinical Medicine, Health Science Center of the University Hospital,
13 State University of Londrina, Paraná, Brazil.

14 2 Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, State University
15 of Londrina, Paraná, Brazil.

16 3 Laboratory of Research in Applied Immunology, Health Sciences Center, State
17 University of Londrina, Paraná, Brazil.

18 4 Department of Pathology, Clinical Analysis, and Toxicology, Health Sciences Center,
19 State University of Londrina, Paraná, Brazil.

20

21 Address for correspondence: Edna Maria Vissoci Reiche, Laboratory of Research in
22 Applied Immunology, Health Sciences Center, State University of Londrina, Paraná,
23 Brazil; Av. Robert Koch, 60, CEP 86.038-440, Londrina, Paraná, Brazil. Phone/FAX
24 number: +55-43-3371-2619. e-mail: reiche@sercomtel.com.br; ORCID: 0000-
25 0001/6507-2839.

26

27

28

29

30 **Running title:** Urinary NGAL and acute kidney injury in ischemic stroke

31

32

33

34

1 **Abstract**

2 **Background:** Acute kidney injury (AKI) has become a common complication of acute
3 ischemic stroke (IS) and may have a significant impact on the clinical outcomes.
4 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), an acute phase protein, has been
5 identified as a novel biomarker for acute kidney impairment. The aim of this study is to
6 evaluate the clinical value of urinary NGAL (uNGAL) in predicting AKI diagnosis after
7 IS.

8 **Methods:** This pilot study included 21 patients with IS. The baseline severity was
9 evaluated using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS), and
10 categorized as mild (<4), moderate (5-14) and severe (≥ 15). The disability was
11 determined after three-month follow-up using the modified Rankin Scale (mRS) and
12 categorized as mild (mRS<3), and moderate/severe (mRS ≥ 3). In addition, the patients
13 were categorized as survivors and non survivors in the follow-up. The presence of AKI
14 was defined by the Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines.
15 The uNGAL levels were measured at admission (uNGAL1), after 48 h (uNGAL2), and
16 their variation (Δ uNGAL), using chemiluminescence microparticle assay.

17 **Results:** Of the 21 IS patients, 4 (19.0%) had the diagnosis of AKI. The uNGAL1,
18 uNGAL2, and Δ uNGAL showed no association with the diagnosis of AKI ($p=0.099$,
19 $p=0.738$, and $p=0.164$, respectively), baseline severity ($p=0.292$, $p=0.609$, and $p=0.508$,
20 respectively), short-term disability ($p=0.545$, $p=0.364$, and $p=0.740$, respectively), and
21 mortality ($p=0.659$, $p=0.434$, and $p=0.262$, respectively). However, uNGAL1 showed a
22 statistical trend towards higher among the patients with AKI. Moreover, uNGAL1 and
23 uNGAL2 showed no correlation with the serum creatinine of patients with AKI and
24 without AKI. To note, uNGAL1 levels were higher among females than males with IS
25 ($p=0.049$) and patients with AKI showed higher body mass index (BMI) than those
26 without AKI ($p=0.022$).

27 **Conclusions:** BMI was associated with AKI in this cohort of IS patients. Although not
28 statistically significant, the uNGAL1 showed a trend to predict AKI in IS patients. As a
29 prognostic biomarker, both uNGAL1 and uNGAL2 did not demonstrate clinical
30 usefulness in this pilot study. However, the relatively small number of IS patients with
31 AKI might be insufficient to determine the reliability of uNGAL as an early biomarker of
32 AKI in IS patients. More studies on this field are desirable.

33

1 **Keywords:** acute kidney injury; ischemic stroke; neutrophil gelatinase-associated
2 lipocalin; biomarkers; body mass index

3
4

5 **Introduction**

6 Acute ischemic stroke (IS) is a sudden cerebrovascular event that frequently
7 happens as a result of chronic systemic disorders that are not restricted to the
8 cardiovascular system, and it is common among patients with numerous comorbidities.
9 Changes in IS caused by loss of blood flow, glucose, and oxygen due to vascular
10 obstruction, including the triggering of a series of oxidative, biochemical and hormonal
11 responses, result in microvascular damage and disruption of the blood-brain barrier
12 (BBB). Approximately 80.0% of hospitalized patients with a first episode of IS or
13 transient ischemic attack (TIA) have two or more chronic diseases, such as systemic
14 arterial hypertension (SAH), atrial fibrillation, type 2 diabetes mellitus (T2DM), coronary
15 artery disease, and chronic kidney disease (CKD) (CUI; MCCULLOUGH; HAO, 2021).
16 In addition, aging and male sex are two non-modifiable risk factors that influence the
17 prognosis of these patients (AHNSTEDT; MCCULLOUGH, 2019). Therefore, it is to be
18 expected that not only the brain, but also peripheral organs will show varying degrees
19 of functional and structural alterations that precede the ischemic event, consequent to
20 a state of low-grade systemic inflammation (FERRUCCI; FABBRI, 2018). The
21 prognosis of these patients is dictated not only by the IS itself and these prior
22 conditions, but also by in-hospital complications, such as the emergence of infections
23 and concomitant dysfunction of other organs (GATTRINGER *et al.*, 2019). Among
24 these hospital factors, the emergence of acute kidney injury (AKI) is already
25 established as a risk factor for mortality (LI *et al.*, 2009).

26 AKI can be defined as an abrupt reduction in kidney function, over a period of
27 hours to days, which includes, but is not limited to, renal failure requiring renal
28 replacement therapy (RRT) (KELLUM *et al.*, 2012). AKI is a broad-spectrum clinical
29 condition that has several etiologies, often more than one in the same patient.
30 Regardless of the cause of AKI, its recognition is of paramount importance for the
31 patient, since its occurrence is associated with short, medium and long-term risks, such
32 as increased mortality, incident CKD, and increased use of health resources
33 (LAMEIRE *et al.*, 2013). The occurrence of AKI in hospitalized patients is common and
34 particularly in the intensive care unit (ICU) due to major surgery, cardiac surgery,

1 cardiorenal and hepatorenal syndromes, iatrogenic interventions, critical illness, renal
2 transplant, and sepsis (MALHOTRA; SIEW, 2017; SCHAUB; PARIKH, 2016; ZHANG;
3 PARIKH, 2018). In a meta-analysis with IS patients those who developed AKI had a
4 significantly increased mortality compared with those who did not present AKI
5 (ARNOLD *et al.*, 2018).

6 It is important to point out, however, the several limitations of diagnosis of AKI
7 based on serum creatinine, even though the classification systems like Acute Kidney
8 Injury Network, (AKIN), Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage
9 kidney disease (RIFLE), and Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)
10 have brought great benefits to this issue. Dependence on a baseline creatinine or the
11 time interval at which samples must be measured may limit its use. Furthermore,
12 creatinine does not show a linear relationship with glomerular filtration rate, and it may
13 take time to reach a new equilibrium in the body (PICKERING; ENDRE, 2009).
14 Previous health conditions, such as cirrhosis and malnutrition, and acute illnesses,
15 such as sepsis and polytrauma, can affect creatinine generation and lead to a delay in
16 the recognition of AKI (DOI *et al.*, 2009). Finally, creatinine may suffer an effect of
17 hemodilution during the fluid resuscitation stages in critically ill patients, which also
18 makes it difficult to interpret its serum levels (MACEDO *et al.*, 2010).

19 Several putative biomarkers for AKI in humans have been described
20 (MALHOTRA; SIEW, 2017). Of these new generation biomarkers, neutrophil
21 gelatinase-associated lipocalin (NGAL), both plasmatic NGAL (pNGAL) and urinary
22 (uNGAL) have been evaluated to the early diagnosis and prognosis of AKI
23 (CORBACIOGLU *et al.*, 2017; XIAO *et al.*, 2019). The NGAL, also known as lipocalin
24 2, siderocalin or 24p3, is a 25 kDa protein that was originally isolated from the
25 supernatant of activated neutrophils and identified as a polypeptide covalently bound
26 to gelatinase (DEVARAJAN, 2010; KJELDTSEN *et al.*, 1993). NGAL protein expression
27 was detected predominantly in tubule epithelial cells that were undergoing proliferation
28 and regeneration, suggesting a role in the repair process (MISHRA *et al.*, 2003). The
29 uNGAL is derived predominantly from epithelial cells of the distal nephron, although a
30 fraction may come from the systemic pool escaping reabsorption due to proximal
31 tubular injury (MORI *et al.*, 2005) while pNGAL originates not only from the damaged
32 kidneys but also from extrarenal organs (NIELSEN *et al.*, 1996). Moreover, the
33 concentration of NGAL in urine or plasma rises rapidly in a dose-dependent manner
34 that is proportional to the degree of damage. NGAL is expressed early after kidney

1 damage, when such injury is still potentially limitable or reversible (HAASE-FIELITZ;
2 HAASE; DEVARAJAN, 2014). A critical current status of NGAL showed that 15.0–
3 20.0% of patients had increased pNGAL concentrations even in the absence of a rise
4 in serum creatinine concentration (HAASE-FIELITZ; HAASE; DEVARAJAN, 2014).

5 Elevated pNGAL levels have been considered as a marker of tubular damage
6 that helps in the earlier identification of AKI, when compared to serum creatinine, in
7 several patient populations, including those undergoing cardiac surgery, administration
8 of contrast, and shock septic (CORBACIOGLU *et al.*, 2017; HAASE *et al.*, 2009;
9 HAASE-FIELITZ; HAASE; DEVARAJAN, 2014; HELANOVA; SPINAR; PARENICA,
10 2014; KAFKAS *et al.*, 2012; PROWLE *et al.*, 2015). Elevated pNGAL also identify
11 patients at high risk of developing AKI after primary coronary intervention (BANAI *et*
12 *al.*, 2021). Studies have also reported altered levels of pNGAL in patients with baseline
13 CKD (BOLIGNANO *et al.*, 2007, 2008), suggesting the possibility that NGAL
14 production from tubular cells also reflects the active kidney damage entity underlying
15 the chronic disability condition.

16 Studies also has shown the NGAL performance in various settings, such as the
17 prediction of AKI in pediatric (DENT *et al.*, 2007; PARIKH *et al.*, 2011), in cardiology
18 ICU (WATANABE *et al.*, 2014), in critically ill patients (CRUZ *et al.*, 2013), in patients
19 in the emergency room (DEVARAJAN, 2014; NICKOLAS *et al.*, 2008), as well as in
20 the kidney transplant setting (PAJEK *et al.*, 2014; PIANITA *et al.*, 2015; RAMIREZ-
21 SANDOVAL; HERRINGTON; MORALES-BUENROSTRO, 2015). However, the
22 evaluation of NGAL as predictor of AKI in IS patients is limited (XIAO *et al.*, 2019). The
23 early recognition of patients at higher risk of AKI after IS can also lead to greater care in
24 in-hospital support, again aiming to minimize the prognostic effects of AKI in the patient
25 in the short, medium, and long term.

26 To address the aforementioned serum creatinine limitations and the scarce data
27 of uNGAL as an early predictor of AKI after IS, the aim of the current study is to
28 determine the potential prognostic value of the uNGAL in predicting AKI and short-term
29 outcome after the IS.

1 **Material and Methods**

2 The protocol was approved by the Institutional Research Ethic Committee of the
3 State University of Londrina, Paraná State, Brazil (CAAE 61361416.9.0000.5231,
4 record 1.816.305, in November 10, 2016). All invited patients (or their legal guardians)
5 were informed of the details about the present research and have provided written
6 informed consent to participate in the study, and for sampling and banking of their
7 biological materials. The study was performed in accordance with the ethical standards
8 as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki. Further, the study subjects and their
9 clinical, imaging and laboratory data were consecutively identified by number to
10 guarantee the confidentiality.

11

12 *Subjects*

13 A prospective and longitudinal pilot study enrolled 21 patients with a first
14 episode IS, adults, both sexes, diagnosed with focal neurological signs or symptoms
15 thought to be of vascular origin that persisted for more than 24 h, confirmed by brain
16 computed tomography (CT) without contrast and clinic examination in baseline
17 conditions. The IS patients were consecutively recruited from the Emergency Room of
18 the University Hospital of State University of Londrina, Paraná, Brazil, a reference
19 center for the diagnosis and treatment of IS. The IS subtypes were classified according
20 to the criteria of Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) (ADAMS *et al.*,
21 1993). The IS severity was assessed using the NIHSS applied within the first 24 h of
22 admission and categorized as mild (NIHSS<5), moderate (NIHSS≥5-14) and severe
23 (NIHSS≥15) (BROTT *et al.*, 1989). All IS patients were treated using a standardized
24 protocol adapted from international guidelines for managing IS (BRAZIL, 2013). The
25 disability was determined after three-month follow-up using the modified Rankin Scale
26 (mRS) (BONITA; BEAGLEHOLE, 1988) applied through clinical examination or using
27 telephone interviews with the patients or their relatives (BAGGIO *et al.*, 2014;
28 JANSSEN *et al.*, 2010). The disability was categorized as mild (mRS < 3) or
29 moderate/severe (mRS ≥ 3). The patients were also classified as survivors or non-
30 survivors after three-month follow-up. The date on the IS outcome (death) was
31 obtained through the databases of the local registries.

32 Exclusion criteria for IS patients were: a) a recent history of fever within the last
33 seven days prior to the onset of stroke symptoms, acute inflammatory diseases,

1 hemorrhagic stroke, acute transient ischemic attack (TIA); b) chronic infections with
2 human immunodeficiency virus type 1, hepatitis B virus and hepatitis C virus; c)
3 autoimmune diseases, chronic kidney disease (CKD) or liver failure; d) history of
4 myocardial infarction, surgery within last 30 days, angiography within last seven days,
5 trauma within last 30 days, malignancies, steroid or non-steroidal anti-inflammatory
6 (NSAIs) therapies and immunosuppressive drugs use; e) incomplete imaging and
7 laboratory data; f) pregnancy. Regarding the CKD, the patients were excluded when:
8 a) the serum creatinine at admission was $> 2,26$ mg/dL; b) the presence of a previously
9 documented end-stage renal disease; c) the presence of documented obstructive
10 uropathy; d) the dialysis treatment (ALBELADI; ALGETHAMY, 2017).

11 Baseline data were obtained at the time of admission of the participants using a
12 semi-structured and standard questionnaire comprising demographic (age, sex,
13 ethnicity), anthropometric (height, weight, waist circumference), and information on
14 conventional IS risk factors including SAH, dyslipidemia, T2DM and current smoking.
15 Ethnicity was recorded according to individual's self-perception of skin color as
16 Caucasian and non-Caucasian. Body mass index (BMI) was determined, systolic blood
17 pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured twice and the
18 mean of these two measurements was used in the analysis. Moreover, use of
19 antihypertensive medication was an indication of SAH (JAMES *et al.*, 2014). T2DM
20 was defined as a fasting serum glucose ≥ 126.0 mg/dL and/or use of hypoglycemic
21 medication (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019). Dyslipidemia was defined
22 as: total cholesterol (TC) ≥ 200.0 mg/dL, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol
23 ≥ 130.0 mg/dL; and high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol < 40.0 mg/dL as reported
24 (NCEP, 2002). The use of lipid-lowering and platelet anti-aggregant was also recorded.

25 AKI was defined as: a) an increase in serum creatinine in relation to baseline
26 value at admission ≥ 0.3 mg/dL within 72 h; b) an increased in serum creatinine level
27 by 1.5 times or more within the last 72 h after admission; different from the definition
28 given by the KDIGO (KELLUM *et al.*, 2012), this more strictive timing limit was an
29 attempt to prevent other confounding factors causing AKI than IS.

30 Urine samples were obtained at the admission of the IS patients (uNGAL1) and
31 48 h after the hospital admission (uNGAL 2). Further, the Δ uNGAL (baseline uNGAL –
32 48 h uNGAL) was determined. The uNGAL was determined by chemiluminescence
33 microparticle assay (Architech™, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA) according
34 to the manufacturer's recommendations.

1 *Statistical analysis*

2 Categorical data were analyzed using Fisher's test and were expressed as an
3 absolute number (n) and a percentage (%). Continuous variables were checked for
4 normality and homoscedasticity using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively,
5 and were expressed as a median and interquartile range 25.0–75.0% (IQR). Due to
6 the non-parametric distribution of the data, non-parametric statistical tests were
7 applied. For dependent data, the Wilcoxon test (intragroup changes) was applied.
8 Differences in continuous variables between groups were analyzed using the Mann
9 Whitney. All statistical analyzes were performed using IBM SPSS, version 26 (IBM,
10 Armonk, NY, USA). The tests were two-tailed and $p < 0.05$ indicated statistically
11 significant results.

12

13 **Results**

14 The study evaluated 21 patients with IS. Of them, 12 (57.0%) were male and 9
15 (43.0%) were female and the median age was 60.5 years old (IQR: 52.0-73.0).
16 Regarding the TOAST criteria, 9 (42.8%) presented large atherosclerosis artery stroke
17 (LAAS), 1 (4.8%) presented cardioembolic (CEI), 5 (23.8%) presented lacunar stroke
18 (LAC), and 6 (28.6%) presented the undetermined etiology (UDE). No patient showed
19 other determined etiology (ODE) subtype in this cohort. The uNGAL 1 values ranged
20 from 0.8-110.5 ng/mL, with median (IQR) of 9.65 ng/mL (5.10-26.30), while the uNGAL
21 2 values ranged from 0.8-88.4 ng/mL, with median (IQR) of 6.00 ng/mL (3.70-8.70).
22 When comparing the uNGAL1 and uNGAL2 of the 21 IS patients, the differences were
23 not significant ($p = 0.178$).

24 The diagnosis of AKI was made in 4 (19.0%) IS patients. **Table 1** shows the
25 characteristics of enrolled IS patients without and with AKI. All the explanatory
26 variables that were evaluated in the present study showed no association with AKI ($p >$
27 0.05), except for BMI ($p = 0.022$). The uNGAL1, uNGAL2, and Δ uNGAL values were
28 significantly not associated with the diagnosis of AKI ($p = 0.099$, $p = 0.738$, and $p = 0.164$,
29 respectively), as well as with baseline severity of IS assessed using NIHSS ($p = 0.292$,
30 $p = 0.609$, and $p = 0.508$, respectively), short-term disability ($p = 0.545$, $p = 0.364$, and
31 $p = 0.740$, respectively), and mortality after IS ($p = 0.659$, $p = 0.434$, and $p = 0.262$,
32 respectively). Although not statistically, there is a trend towards higher uNGAL1 values
33 among the patients with AKI diagnosis. Besides, the values of uNGAL1 were associated
34 with the sex of the IS patients, with higher values among females than males ($p = 0.047$),

1 as showed in Figure 1. Both uNGAL2 and Δ uNGAL showed no difference according to
2 sex of the patients ($p=0.845$ and $p=0.292$, respectively).

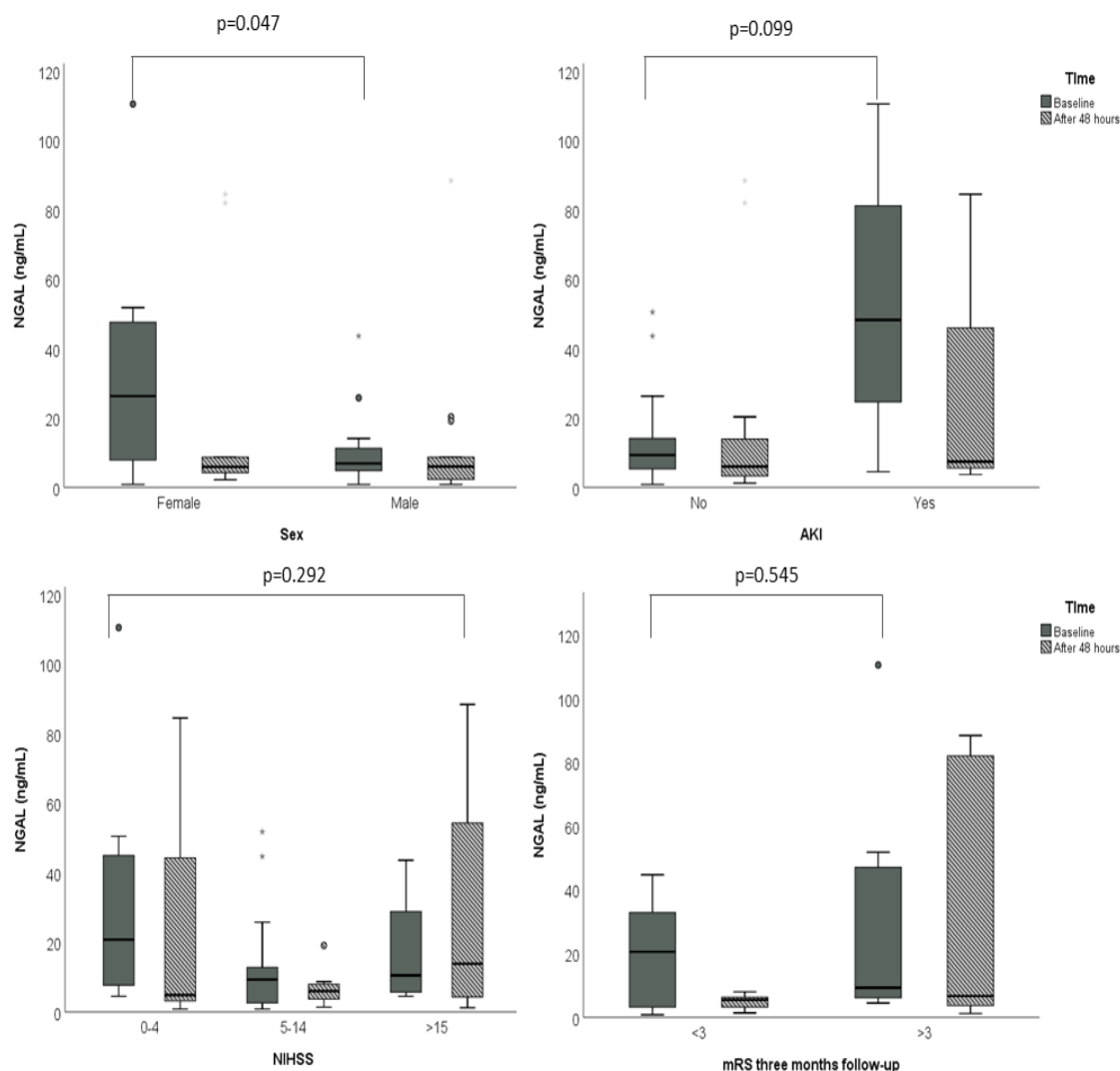
3

4

1 **Table 1** Characteristics of patients with acute ischemic stroke without acute kidney
 2 injury and with acute kidney injury

	Without AKI (n=17)	With AKI (n=4)	p value
Age (years)	59.0 (51.0-73.0)	72.5 (62.0-73.0)	0.462
Sex			
Male/ Female	11 (64.7) / 6 (35.5)	1 (25.0) / 3 (75.0)	0.189
Ethnicity			
Caucasian/Non-Caucasian	10 (58.8) / 7 (41.2)	2 (50.0) / 2 (50.0)	0.586
BMI (kg/m ²)	24.98 (23.4-30.4)	31.1 (30.4-33.0)	0.022
Current smoking	4 (28.6)	2 (50.0)	0.406
SAH	9 (56.2)	3 (75.0)	0.465
T2DM	4 (25.0)	1 (25.0)	0.718
Dyslipidemia	4 (25.0)	3 (75.0)	0.101
Baseline NIHSS	7.5 (3.5-13.0)	9.0 (6.0-15.5)	0.750
NIHSS ¹			
0-4 (mild)	4 (25.0)	1 (25.0)	-
5-14 (moderate)	9 (56.2)	2 (50.0)	
>14 (severe)	3 (18.8)	1 (25.0)	
mRS ²			
< 3 (mild)	4 (33.0)	1 (25.0)	0.634
≥ 3 (moderate/severe)	8 (66.7)	3 (75.0)	
Death three-month follow-up	3 (17.6)	2 (50.0)	0.228
uNGAL1 (ng/mL)	9.30 (5.30-14.10)	48.25 (24.60-81.15)	0.099
uNGAL2 after 48 h (ng/mL)	6.00 (2.30-19.10)	7.40 (3.70-84.50)	0.738
Δ uNGAL (ng/mL)	2.30 (-5.10 – 5.70)	26.00 (-2.90 - 48.10)	0.164
Baseline creatinine (mg/dL)	0.96 (0.78-1.18)	0.96 (0.79-1.33)	1.000
Creatinine after 48 h (mg/dL) ³	0.91 (0.86-1.07)	1.32 (1.17-1.97)	0.013
Δ creatinine (mg/dL)	0.01 (-0.04-0.09)	-0.38 (-0.65—0.37)	<0.001

1 ¹ data available in 20 patients; ² data available in 16 patients; ³ the time of sample obtention
2 did not differ in both groups of patients ($p=0.120$). The continuous variables were expressed
3 as median and 25-75% interquartile range (IQR); the categorical variables were expressed as
4 number (n) and percentage (%). AKI: acute kidney injury; BMI: body mass index; SAH:
5 systemic arterial hypertension; T2DM: type 2 diabetes mellitus; NIHSS: National Institutes of
6 Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; uNGAL1: baseline urinary NGAL; NGAL2:
7 urinary NGAL after 48 h of hospital admission; Δ uNGAL: uNGAL1 – uNGAL2
8
9
10



1
2 **Figure 1** Association of urinary NGAL1 (at baseline) and NGAL2 (after 48 h of
3 hospital admission) of patients with acute ischemic stroke and sex ($p=0.047$), presence
4 of acute kidney injury (AKI) ($p=0.099$), severity of ischemic stroke, assessed using the
5 National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) ($p=0.292$), and three-month follow-
6 up disability assessed using modified Rankin Scale (mRS) ($p=0.545$).

7
8
9
10
11
12
13

1 Discussion

2 In the present study, three main results were obtained. First, the uNGAL showed
3 no association with the diagnosis of AKI up to 72 h after the IS, as well as with the IS
4 severity, short-term disability and mortality. However, the uNGAL at admission
5 (uNGAL1) showed a statistical trend towards high levels among the patients with AKI,
6 a finding that would be in agreement with some previous studies that emphasized the
7 baseline uNGAL as useful biomarker to predict AKI among IS in-hospital patients
8 (XIAO *et al.*, 2019). Second, the uNGAL1 was higher in female than in male. One study
9 reported the sex differences in the uNGAL levels with higher levels also among female
10 than male; however, this study enrolled healthy subjects (CULLEN; MURRAY;
11 FITZGIBBON, 2019). Third, patients with AKI showed higher BMI than those without
12 AKI, and this result suggested that high BMI is associated with the occurrence of AKI
13 in IS patients. This finding is in agreement with previous study that showed the
14 overweight group of critical ill patients had significantly higher incidence of AKI (36.3%)
15 than the underweight (9.8%) or normal group (15.0%) (JU *et al.*, 2018). These authors
16 also showed that BMI was significantly associated with the development of AKI. Other
17 previous studies have assessed the relationship between BMI and AKI in critically ill
18 patients (DRUML *et al.*, 2010), in the acute respiratory distress syndrome (SOTO *et*
19 *al.*, 2012), and septic shock patients (PLATAKI *et al.*, 2011).

20 Regarding uNGAL, one study of 121 hospitalized cirrhotic patients showed that
21 uNGAL accurately discriminated patients who developed AKI from those who did not
22 (TREEPRASERTSUK *et al.*, 2015). In other studies, the discrimination in adults and
23 children was modest (PARIKH *et al.*, 2011). In these studies, the observed incidence
24 of AKI was 5.0% in adults and 17.0% in children, and respective cut-off values for
25 uNGAL were 102.0 ng/mL and 17.0 ng/mL. However, other study suggested that
26 uNGAL has limited diagnostic accuracy to predict AKI defined by change in serum
27 creatinine in adults after cardiac surgery (WAGENER *et al.*, 2008). Some authors also
28 showed that maximum uNGAL levels measured over the first and second 24 h of an
29 ICU admission were highly accurate predictors of the future need for RRT; however,
30 less accurate at detecting early and severe AKI (ALGETHAMY; ALBELADI, 2017). In
31 patients with CKD, uNGAL did not appear to have any predictive value for the
32 identification of those who will go on to develop AKI (KOYNER *et al.*, 2010; WAGENER

1 et al., 2008). Based on this data, it could be expected that in patients with AKI, pNGAL
2 may be a better marker of AKI than uNGAL.

3 As NGAL may derive from neutrophils and may reflect inflammatory disease
4 state rather than renal damage, measurement of more specific renal biomarkers, like
5 kidney injury molecule 1 (KIM-1), would be more specific for tubular damage. AKI
6 diagnosis based on serum creatinine might underestimate renal injury. Subclinical AKI
7 can be diagnosed only using damage markers, such as NGAL, even when no change
8 in serum creatinine is observed (structural AKI) (HAASE *et al.*, 2009; ROZENFELD *et*
9 *al.*, 2020).

10 Of note, the discrepancy of the results may be caused by differences in the
11 selection of the study population, the diagnostic study guidelines, heterogeneity in AKI
12 definition, the lack of uniformly applicable cut-off values and variability in the
13 performance of commercially available NGAL assays (HAASE-FIELITZ; HAASE;
14 DEVARAJAN, 2014).

15 The traditional diagnosis of AKI involves the measurement of serum creatinine,
16 a product of creatine and phosphocreatine degradation, which is largely filtered by the
17 glomerulus. Affordable laboratory test, serum creatinine remained the gold standard
18 for nearly a century despite its many well-recognized limitations as an indirect marker
19 of kidney damage, including late detection of injury. In addition, serum creatinine may
20 increase in the absence of glomerular or tubular injury and may remain unchanged
21 under conditions of significant tubular injury, particularly when patients have good
22 underlying renal function and significant renal reserve. An increase in serum creatinine
23 clinically does not distinguish between prerenal, postrenal and intrinsic renal causes
24 (COCA *et al.*, 2008).

25 It should be noted that the literature findings have suggested that AKI
26 biomarkers might be more valuable when viewed as complementary rather than in
27 competition with serum creatinine, leading the Acute Dialysis Quality Initiative to
28 propose a framework to characterize AKI using both functional and damage markers
29 (MURRAY *et al.*, 2014).

30 Our study has notable limitation. Firstly, this is a single center pilot study with a
31 modest sample size and, because of this limitation, we did not perform receiving
32 operating characteristic (ROC) analysis. Therefore, further studies involving a larger
33 cohort population are need. Secondly, the small number of patients with AKI might be
34 insufficient to determine the reliability and strength of uNGAL within this cohort of

1 patient (type 2 error). It is possible that the marginally significance of uNGAL1 in
2 predicting AKI would be statistically significant in a larger cohort of patients. Moreover,
3 the addition of pNGAL measurements to the analysis would have strengthened our
4 conclusions.

5

6 **Conclusion**

7 BMI was significantly associated with AKI in this cohort of IS patients and
8 uNGAL was higher in female than in male IS patients. Although uNGAL showed no
9 statistical significance as an early biomarker for the AKI diagnosis, it was observed a
10 trend in predicting AKI in IS patients with IS. Further studies in larger cohorts should
11 be carried out to evaluate the useful of uNGAL in the diagnosis and prognosis of AKI
12 in IS patients.

13

14

15 **References**

16

17 ADAMS, H. P. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for
18 use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke
19 Treatment. **Stroke**, v. 24, n. 1, p. 35–41, 1993.

20 AHNSTEDT, H.; MCCULLOUGH, L. D. The impact of sex and age on T cell immunity
21 and ischemic stroke outcomes. **Cellular Immunology**, v. 345, p. 103960, nov. 2019.

22 ALBELADI, F. I.; ALGETHAMY, H. M. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated
23 Lipocalin as a Predictor of Acute Kidney Injury, Severe Kidney Injury, and the Need
24 for Renal Replacement Therapy in the Intensive Care Unit. **Nephron Extra**, v. 7, n.
25 2, p. 62–77, 2017

26 ALGETHAMY, H. M.; ALBELADI, F. I. Urinary neutrophil gelatinase-associated
27 lipocalin is an excellent predictor of mortality in intensive care unit patients. **Saudi**
28 **Medical Journal**, v. 38, n. 7, p. 706–714, jul. 2017.

29 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE.
30 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—
31 2022. **Diabetes Care**, v. 45, n. Supplement1, p. S17–S38, jan. 2022. doi:
32 10.2337/dc22-S002.

33 ARNOLD, J. et al. Incidence and impact on outcomes of acute kidney injury after a
34 stroke: a systematic review and meta-analysis. **BMC Nephrology**, v. 19, n. 1, p. 283,
35 Dec. 2018.

- 1 BAGGIO, J. A. O. et al. Validation of a Structured Interview for Telephone Assessment
2 of the Modified Rankin Scale in Brazilian Stroke Patients. **Cerebrovascular Diseases**,
3 v. 38, n. 4, p. 297–301, 2014.
- 4 BANAI, A. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) for the prediction
5 of acute kidney injury in chronic kidney disease patients treated with primary
6 percutaneous coronary intervention. **IJC Heart & Vasculature**, v. 32, p. 100695, fev.
7 2021.
- 8 BOLIGNANO, D. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is
9 associated with severity of renal disease in proteinuric patients. **Nephrology**
10 **Dialysis Transplantation**, v. 23, n. 1, p. 414–416, ago. 2007.
- 11 BOLIGNANO, D. et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Reflects the
12 Severity of Renal Impairment in Subjects Affected by Chronic Kidney Disease.
13 **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 31, n. 4, p. 255–258, 2008.
- 14 BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R. Recovery of motor function after stroke. **Stroke**, v.
15 19, n. 12, p. 1497–1500, dez. 1988.
- 16 BRAZIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
17 DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA, B. **Manual de rotinas para**
18 **atenção ao AVC / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde,**
19 **Departamento de Atenção Especializada.** 50 p., 2013.
- 20 BROTT, T. et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination
21 scale. **Stroke**, v. 20, n. 7, p. 864–870, 1989.
- 22 COCA, S. G. et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney
23 injury: a systematic review. **Kidney International**, v. 73, n. 9, p. 1008–10016,
24 mai.2008.
- 25 CORBACIOGLU, S. K. et al. Value of plasma neutrophil gelatinase-associated
26 lipocalin (NGAL) in distinguishing between acute kidney injury (AKI) and chronic
27 kidney disease (CKD). **Turkish Journal of Emergency Medicine**, v. 17, n. 3, p. 85–
28 88, set. 2017.
- 29 CRUZ, D. N. et al. Use of biomarkers to assess prognosis and guide management of
30 patients with acute kidney injury. **Contributions to Nephrology**, v. 182, p. 45–64,
31 2013.
- 32 CUI, P.; MCCULLOUGH, L. D.; HAO, J. Brain to periphery in acute ischemic stroke:
33 Mechanisms and clinical significance. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.63, p.
34 100932, out, 2021
- 35 CULLEN, M. R.; MURRAY, P. T.; FITZGIBBON, M. C. Establishment of a reference
36 interval for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin. **Annals of Clinical**
37 **Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**, v. 49, n. 2, p. 190–
38 193, mar. 2012.

- 1 DENT, C. L. et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute
2 kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective
3 uncontrolled cohort study. **Critical Care**, v. 11, n. 6, p. R127, 2007.
- 4 DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker
5 for human acute kidney injury. **Biomarkers in Medicine**, v. 4, n. 2, p. 265–280, abr.
6 2010.
- 7 DEVARAJAN, P. NGAL for the detection of acute kidney injury in the emergency
8 room. **Biomarkers in Medicine**, v. 8, n. 2, p. 217–219, fev. 2014.
- 9 DOI, K. et al. Reduced Production of Creatinine Limits Its Use as Marker of Kidney
10 Injury in Sepsis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 20, n. 6, p.
11 1217–1221, Jun. 2009.
- 12 DRUML, W. et al. Impact of body mass on incidence and prognosis of acute kidney
13 injury requiring renal replacement therapy. **Intensive Care Medicine**, v. 36, n. 7, p.
14 1221–1228, jul. 2010.
- 15 FERRUCCI, L.; FABRI, E. Inflammageing: chronic inflammation in ageing,
16 cardiovascular disease, and frailty. **Nature Reviews. Cardiology**, v. 15, n. 9, p. 505–
17 522, 2018.
- 18 GATTRINGER, T. et al. Predicting early mortality of acute ischemic stroke: Score-
19 based approach. **Stroke**, v. 50, n. 2, p. 349–356, 2019.
- 20 HAASE, M. et al. Accuracy of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in
21 Diagnosis and Prognosis in Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-
22 analysis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 54, n. 6, p. 1012–1024, dez.
23 2009.
- 24 HAASE-FIELITZ, A.; HAASE, M.; DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated
25 lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status.
26 **Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**,
27 v. 51, n. 3, p. 335–351, mai. 2014.
- 28 HELANOVA, K.; SPINAR, J.; PARENICA, J. Diagnostic and Prognostic Utility of
29 Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Patients with Cardiovascular
30 Diseases - Review. **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 39, n. 6, p. 623–629,
31 2014.
- 32 JAMES, P. A. et al. 2014 Evidence-based guideline for the management of high
33 blood pressure in adults report from the panel members appointed to the eighth Joint
34 National Committee (JNC 8) clinical review & education special communication.
35 **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507–520, 2014.
- 36 JU, S. et al. Body mass index as a predictor of acute kidney injury in critically ill
37 patients: a retrospective single-center study. **Tuberculosis and Respiratory
38 Diseases**, v. 81, n. 4, p. 311–318, out. 2018.

- 1 KAFKAS, N. et al. Serum levels of gelatinase associated lipocalin as indicator of the
2 inflammatory status in coronary artery disease. **International Journal of**
3 **Inflammation**, v. 2012, p. 1–8, 2012.
- 4 KELLUM, J. A. et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute
5 kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury.
6 **Kidney International Supplements**, v. 2, n.1, p.1-138, mar. 2012.
- 7 KJELDSEN, L. et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein
8 associated with human neutrophil gelatinase. **The Journal of Biological Chemistry**,
9 v. 268, n. 14, p. 10425–10432, mai. 1993.
- 10 KOYNER, J. L. et al. Urinary biomarkers in the clinical prognosis and early detection
11 of acute kidney injury. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v.
12 5, n. 12, p. 2154–2165, dez. 2010.
- 13 LAMEIRE, N. H. et al. Acute kidney injury: an increasing global concern. **The Lancet**,
14 v. 382, n. 9887, p. 170–179, jul. 2013.
- 15 LI, X. et al. Organ crosstalk: the role of the kidney. **Current Opinion in Critical Care**,
16 v. 15, n. 6, p. 481–487, dez. 2009.
- 17 MACEDO, E. et al. Fluid accumulation, recognition and staging of acute kidney injury
18 in critically-ill patients. **Critical Care**, v. 14, n. 3, p. R82, 2010.
- 19 MAKRIS, K. et al. Evaluation of a particle enhanced turbidimetric assay for the
20 measurement of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in plasma and urine on
21 Architect-8000: Analytical performance and establishment of reference values.
22 **Clinical Biochemistry**, v. 48, p. 1291-1297, 2015.
- 23 MALHOTRA, R.; SIEW, E. D. Evidence-Based Nephrology Biomarkers for the Early
24 Detection and Prognosis of Acute Kidney Injury. **Clinical Journal of the American**
25 **Society of Nephrology**, v. 12, p. 149–173, 2017.
- 26 MISHRA, J. et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a
27 novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. **Journal of the American**
28 **Society of Nephrology**, v. 14, n. 10, p. 2534–2543, out. 2003.
- 29 MORI, K. et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the
30 kidney from ischemia-reperfusion injury. **The Journal of Clinical Investigation**, v.
31 115, n. 3, p. 610–621, mar. 2005.
- 32 MURRAY, P. T. et al. Potential use of biomarkers in acute kidney injury: report and
33 summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative
34 consensus conference. **Kidney International**, v. 85, n. 3, p. 513–521, mar. 2014.
- 35 NCEP. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert
36 Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults
37 (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v. 106, n. 25, p. 3143-3421, dez.
38 2002.

- 1 NICKOLAS, T. L. et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department
2 measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing
3 acute kidney injury. **Annals of Internal Medicine**, v. 148, n. 11, p. 810–819, jun.
4 2008.
- 5 NIELSEN, B. S. et al. Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human
6 colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. **Gut**, v. 38, n. 3, p. 414–420,
7 mar. 1996.
- 8 PAJEK, J. et al. Non-inferiority of creatinine excretion rate to urinary L-FABP and
9 NGAL as predictors of early renal allograft function. **BMC Nephrology**, v. 15, n. 1, p.
10 117, dez. 2014.
- 11 PARIKH, C. R. et al. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor
12 outcomes after adult cardiac surgery. **Journal of the American Society of**
13 **Nephrology**, v. 22, n. 9, p. 1748–1757, set. 2011.
- 14 PIANTA, T. J. et al. Evaluation of biomarkers of cell cycle arrest and inflammation in
15 prediction of dialysis or recovery after kidney transplantation. **Transplant**
16 **International**, v. 28, n. 12, p. 1392–1404, dez. 2015.
- 17 PICKERING, J. W.; ENDRE, Z. H. GFR shot by RIFLE: errors in staging acute kidney
18 injury. **The Lancet**, v. 373, n. 9672, p. 1318–1319, abr. 2009.
- 19 PLATAKI, M. et al. Predictors of Acute Kidney Injury in Septic Shock Patients: An
20 Observational Cohort Study. **Clinical Journal of the American Society of**
21 **Nephrology**, v. 6, n. 7, p. 1744–1751, jul. 2011.
- 22 PROWLE, J. R. et al. Combination of biomarkers for diagnosis of acute kidney injury
23 after cardiopulmonary bypass. **Renal Failure**, v. 37, n. 3, p. 408–416, mar. 2015.
- 24 RAMIREZ-SANDOVAL, J. C.; HERRINGTON, W.; MORALES-BUENROSTRO, L. E.
25 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation: A review.
26 **Transplantation Reviews**, v. 29, n. 3, p. 139–144, jul. 2015.
- 27 ROZENFELD, K.-L. et al. Elevated neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the
28 assessment of structural versus functional renal damage among ST segment
29 elevation myocardial infarction patients. **Blood Purification**, v. 49, n. 5, p. 560–566,
30 2020.
- 31 SCHAUB, J. A.; PARIKH, C. R. Biomarkers of acute kidney injury and associations
32 with short- and long-term outcomes. **F1000Research**, v. 5, n.F1000 Faculty Rev.986,
33 mai. 2016.
- 34 SOTO, G. J. et al. Body mass index and acute kidney injury in the acute respiratory
35 distress syndrome. **Critical Care Medicine**, v. 40, n. 9, p. 2601–2608, set. 2012.
- 36 TREEPRASERTSUK, S. et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a
37 diagnostic and prognostic marker for acute kidney injury (AKI) in hospitalized cirrhotic
38 patients with AKI-prone conditions. **BMC Gastroenterology**, v. 15, n. 1, p. 140, dez.
39 2015.

- 1 WAGENER, G. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute
2 kidney injury after cardiac surgery. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 52, n.
3 3, p. 425–433, set. 2008.
- 4 WATANABE, M. et al. Urinary NGAL in patients with and without acute kidney injury
5 in a cardiology intensive care unit. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 26, n.
6 4, p. 347–54, 2014.
- 7 XIAO, W. et al. The clinical significance of neutrophil gelatinase-associated lipocalin
8 in ischemic stroke patients with acute kidney injury. **Journal of Clinical Laboratory**
9 **Analysis**, v. 33, n. 6, jul. 2019.
- 10 ZHANG, W. R.; PARIKH, C. R. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease.
11 **Annual Review of Physiology**, v.81, p.309-333, 2018.

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- A frequência de IRA foi de 15,7% entre os pacientes com AVEI;
- Entre os biomarcadores inflamatórios e anti-inflamatórios, os pacientes com AVEI que desenvolveram IRA apresentaram valores mais elevados de sVCAM-1 e maior frequência de deficiência de vitamina D, respectivamente, quando comparados aos pacientes com AVEI sem IRA; os demais biomarcadores inflamatórios e anti-inflamatórios avaliados não diferiram nos dois grupos de pacientes com AVEI; dos biomarcadores metabólicos avaliados, os valores de ferritina, glicose, insulina, homocisteína e albumina, entre outros, não diferiram entre os pacientes com AVEI com IRA e sem IRA;
- Os valores de sVCAM-1 foram independentemente associados à ocorrência de IRA após AVEI; os pacientes com valores mais elevados de sVCAM-1 tiveram 5,7 vezes mais chance (variando 1,3 a 23,9 vezes) de terem o diagnóstico de IRA após o AVEI;
- A mortalidade após três meses do AVEI foi maior entre os pacientes com IRA em comparação com aqueles sem IRA, e a presença de IRA foi melhor preditor de mortalidade do que a gravidade do AVEI, avaliada pelo NIHSS;
- Os valores de uNGAL nos pacientes com AVEI não foram significativamente associados a ocorrência de IRA, embora tenham apresentado uma tendência a serem mais elevados nos pacientes com IRA quando comparados aos valores observados nos pacientes sem IRA;
- Os valores de uNGAL1, uNGAL2 e Δ uNGAL não mostraram associação com a gravidade do AVEI, incapacidade e mortalidade em curto prazo;
- Os valores de uNGAL coletados em até 24 h após a admissão no estudo (uNGAL1) foram maiores em pacientes com AVEI do sexo feminino.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo aponta que, entre os biomarcadores laboratoriais avaliados nos pacientes com AVEI, a sVCAM-1 pode ser um potencial biomarcador preditivo de IRA e mortalidade nesta população. Dentre os parâmetros clínicos, o escore NIHSS elevado, que reflete uma maior gravidade do AVEI, também se associou com mortalidade em três meses. Os valores de uNGAL, apesar de não se mostrarem estatisticamente significativos para predição de IRA, mostraram uma tendência de associação entre níveis elevados da uNGAL de admissão e o surgimento de IRA. O estudo reforçou, ainda, que a IRA é um evento comum nos pacientes com AVEI e altamente preditor de mortalidade. Assim, todos os esforços no seu diagnóstico e manejo devem ser realizados na tentativa de mitigar os efeitos deletérios da injúria renal no prognóstico dos pacientes com AVEI, independente da gravidade deste.

Atualmente, várias barreiras limitam a aplicação clínica de novos biomarcadores no diagnóstico e monitoramento de IRA, apesar da extensa evidência de que eles estão associados ao prognóstico. Os biomarcadores de IRA geralmente fornecem uma melhora modesta na capacidade discriminativa em comparação com os modelos clínicos tradicionais e têm diferentes trajetórias e escalas de tempo, dependendo da população de pacientes e do biomarcador que está sendo estudado. Isso representará um desafio para os médicos que tentam incorporar uma infinidade de biomarcadores na prática clínica. Além disso, faltam dados para confirmar se os biomarcadores estão associados a resultados de longo prazo específicos de órgãos, como IRA ou doenças cardiovasculares. Também existem desafios técnicos, como desenvolver, padronizar e validar ensaios de biomarcadores laboratoriais, assim como estabelecer pontos de corte para garantir sensibilidade, especificidade e acurácia elevadas.

Dada a heterogeneidade e a natureza dinâmica do AVEI e da IRA, um único biomarcador não irá prever, com elevada acurácia, os resultados adversos de ambos, assim como não identificará os vários estágios da história natural da IRA. A estratégia mais indicada é a combinação de diferentes biomarcadores envolvidos nos principais mecanismos fisiopatológicos do AVEI e IRA para que se obtenha resultados mais expressivos.

O presente estudo apresenta limitações importantes, como ser unicêntrico e com amostra limitada de pacientes. Apesar disso, lança luzes sobre o papel

1 fisiopatológico das CAM no surgimento de lesão renal em pacientes com AVEI, o que
2 também pode implicar em um potencial alvo terapêutico. Estudos com maior número
3 de pacientes, com avaliação destes e de outros biomarcadores com potencial
4 etiopatológico do AVEI e IRA, associados a eventual prova terapêutica que vise
5 reduzir a cascata inflamatória vista após a isquemia cerebral, podem ser de grande
6 valia no tratamento desta população, com implicações diretas em qualidade de vida e
7 sobrevida.

8

REFERÊNCIAS

- 1
2
- 3 ADAMS, H. P. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for
4 use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke
5 Treatment. **Stroke**, v. 24, n. 1, p. 35–41, 1993.
- 6 AHNSTEDT, H.; MCCULLOUGH, L. D. The impact of sex and age on T cell immunity
7 and ischemic stroke outcomes. **Cellular Immunology**, v. 345, p. 103960, 1 nov.
8 2019.
- 9 ALGE, J. L.; ARTHUR, J. M. Biomarkers of AKI: a review of mechanistic relevance
10 and potential therapeutic implications. **Clinical Journal of the American Society of**
11 **Nephrology**, v. 10, n. 1, p. 147–55, 7 jan. 2015.
- 12 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes:
13 Standards of Medical Care in Diabetes-2019. **Diabetes Care**, v. 42, n. Suppl 1, p.
14 S13–S28, 2019.
- 15 ARNOLD, J. et al. Incidence and impact on outcomes of acute kidney injury after a
16 stroke: a systematic review and meta-analysis. **BMC Nephrology**, v. 19, n. 1, p. 283,
17 22 dez. 2018.
- 18 AUDEBERT, H. J. et al. Systemic Inflammatory Response Depends on Initial Stroke
19 Severity but Is Attenuated by Successful Thrombolysis. **Stroke**, v. 35, n. 9, p. 2128–
20 2133, set. 2004.
- 21 AXELSSON, L.; BERGENFELDT, M.; OHLSSON, K. Studies of the release and
22 turnover of a human neutrophil lipocalin. **Scandinavian Journal of Clinical and**
23 **Laboratory Investigation**, v. 55, n. 7, p. 577–88, nov. 1995.
- 24 BAGSHAW, S. M. et al. Epidemiology of cardio-renal syndromes: workgroup
25 statements from the 7th ADQI Consensus Conference. **Nephrology Dialysis**
26 **Transplantation**, v. 25, n. 5, p. 1406–1416, 1 maio 2010.
- 27 BAGSHAW, S. M.; ZAPPITELLI, M.; CHAWLA, L. S. Novel biomarkers of AKI: the
28 challenges of progress “Amid the noise and the haste.” **Nephrology Dialysis**
29 **Transplantation**, v. 28, n. 2, p. 235–238, 1 fev. 2013.
- 30 BANAI, A. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) for the prediction
31 of acute kidney injury in chronic kidney disease patients treated with primary
32 percutaneous coronary intervention. **IJC Heart & Vasculature**, v. 32, p. 100695, fev.
33 2021.
- 34 BASIC KES, V. et al. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in acute
35 ischemic stroke and their relation to early neurological deficit and stroke outcome.
36 **Clinical Biochemistry**, v. 41, n. 16–17, p. 1330–1334, nov. 2008.
- 37 BERARD, J.L. et al. Lipocalin 2 is a novel immune mediator of experimental
38 autoimmune encephalomyelitis pathogenesis and is modulated in multiple sclerosis.
39 **Glia**, v. 60, n. 7, p. 1145-1159, 2012.

- 1 BERRY, M.; CLATWORTHY, M. R. Immunotherapy for acute kidney injury.
2 **Immunotherapy**, v. 4, n. 3, p. 323–334, mar. 2012.
- 3 BHATRAJU, P. K. et al. Circulating levels of soluble Fas (sCD95) are associated with
4 risk for development of a nonresolving acute kidney injury subphenotype. **Critical**
5 **Care**, v. 21, n. 1, p. 217, 17 dez. 2017.
- 6 BITSCH, A. et al. A longitudinal prospective study of soluble adhesion molecules in
7 acute stroke. **Stroke**, v. 29, n. 10, p. 2129–2135, out. 1998.
- 8 BLANN, A. et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, vascular cell
9 adhesion molecule-1 and von Willebrand factor in stroke. **Blood Coagulation &**
10 **Fibrinolysis**, v. 10, n. 5, p. 277–284, jul. 1999.
- 11 BOLIGNANO, D. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is
12 associated with severity of renal disease in proteinuric patients. **Nephrology**
13 **Dialysis Transplantation**, v. 23, n. 1, p. 414–416, ago. 2007.
- 14 BOLIGNANO, D. et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Reflects the
15 Severity of Renal Impairment in Subjects Affected by Chronic Kidney Disease.
16 **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 31, n. 4, p. 255–258, 2008.
- 17 BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R. Recovery of motor function after stroke. **Stroke**, v.
18 19, n. 12, p. 1497–1500, dez. 1988.
- 19 BOWES, M. P. et al. Monoclonal antibodies preventing leukocyte activation reduce
20 experimental neurologic injury and enhance efficacy of thrombolytic therapy.
21 **Neurology**, v. 45, n. 4, p. 815–819, abr. 1995.
- 22 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
23 DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA, B. **Manual de rotinas para**
24 **atenção ao AVC / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde,**
25 **Departamento de Atenção Especializada.** 50 p., 2013.
- 26 BROTT, T. et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination
27 scale. **Stroke**, v. 20, n. 7, p. 864–870, 1989.
- 28 BRUCE, A. J. et al. Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and
29 ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors. **Nature Medicine**, v. 2, n. 7, p.
30 788–794, jul. 1996.
- 31 BUONAFINE, M.; MARTINEZ-MARTINEZ, E.; JAISSER, F. More than a simple
32 biomarker: the role of NGAL in cardiovascular and renal diseases. **Clinical Science**,
33 v. 132, n. 9, p. 909–923, 2018.
- 34 CAI, L. et al. The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL. **Clinical**
35 **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 5, n. 12, p. 2229–2235, dez.
36 2010.
- 37 CLARK, W. M. et al. The influence of antiadhesion therapies on leukocyte subset
38 accumulation in central nervous system ischemia in rats. **Journal of Molecular**
39 **Neuroscience**, v. 6, n. 1, p. 43–50, mar. 1995.

- 1 COCA, S. G. et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney
2 injury: a systematic review. **Kidney International**, v. 73, n. 9, p. 1008–16, mai. 2008.
- 3 CORBACIOGLU, S. K. et al. Value of plasma neutrophil gelatinase-associated
4 lipocalin (NGAL) in distinguishing between acute kidney injury (AKI) and chronic
5 kidney disease (CKD). **Turkish Journal of Emergency Medicine**, v. 17, n. 3, p. 85–
6 88, set. 2017.
- 7 COVIC, A. et al. The impact of acute kidney injury on short-term survival in an
8 Eastern European population with stroke. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.
9 23, n. 7, p. 2228–2234, 2008.
- 10 CUI, P.; MCCULLOUGH, L. D.; HAO, J. Brain to periphery in acute ischemic stroke:
11 Mechanisms and clinical significance. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 63, p.
12 100932, out. 2021.
- 13 DAVENPORT, A. AKI in a Patient with Cirrhosis and Ascites. **Clinical Journal of the**
14 **American Society of Nephrology**, v. 7, n. 12, p. 2041–2048, dez. 2012.
- 15 DE OLIVEIRA NEVES, F. M. et al. Fibroblast growth factor 23, endothelium
16 biomarkers and acute kidney injury in critically-ill patients. **Journal of Translational**
17 **Medicine**, v. 17, n. 1, p. 121, 2019.
- 18 DELLEPIANE, S.; LEVENTHAL, J. S.; CRAVEDI, P. T Cells and Acute Kidney Injury:
19 A Two-Way Relationship. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1546, 2020.
- 20 DEVARAJ, S.; JIALAL, I. C-Reactive Protein Polarizes Human Macrophages to an
21 M1 Phenotype and Inhibits Transformation to the M2 Phenotype. **Arteriosclerosis,**
22 **Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 31, n. 6, p. 1397–1402, jun. 2011.
- 23 DOI, K. et al. Reduced Production of Creatinine Limits Its Use as Marker of Kidney
24 Injury in Sepsis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 20, n. 6, p.
25 1217–1221, jun. 2009.
- 26 FANTUZZI, G. et al. Interleukin-18 regulation of interferon gamma production and
27 cell proliferation as shown in interleukin-1beta-converting enzyme (caspase-1)-
28 deficient mice. **Blood**, v. 91, n. 6, p. 2118–2125, 15 mar. 1998.
- 29 FASSBENDER, K. et al. Circulating selectin- and immunoglobulin-type adhesion
30 molecules in acute ischemic stroke. **Stroke**, v. 26, n. 8, p. 1361–1364, ago. 1995.
- 31 FAUSTMAN D., DAVIS M. TNF receptor 2 pathway: Drug target for autoimmune
32 diseases. **Nature Review Drug Discovery**, v. 9, p. 482–493, 2010.
33 doi: 10.1038/nrd3030.
- 34 FEIGIN, V. L.; NORRVING, B.; MENSAH, G. A. Global Burden of Stroke. **Circulation**
35 **Research**, v. 120, n. 3, p. 439–448, fev. 2017.
- 36 FERRUCCI, L.; FABBRI, E. Inflammageing: chronic inflammation in ageing,
37 cardiovascular disease, and frailty. **Nature Reviews. Cardiology**, v. 15, n. 9, p. 505–
38 522, 2018.

- 1 FLO, T. H. et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial
2 infection by sequestering iron. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 917–921, 16 dez. 2004.
- 3 FONTAINE V., et al. Neurodegenerative and neuroprotective effects of tumor
4 necrosis factor (TNF) in retinal ischemia: Opposite roles of TNF receptor 1 and TNF
5 receptor 2. **Journal of Neurosciences**, v. 22, p. RC216, 2002;
6 doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-07-j0001.2002.
- 7 FORSTER, C. S.; DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: utility
8 in urologic conditions. **Pediatric Nephrology**, v. 32, n. 3, p. 377–381, mar. 2017.
- 9 FRIJNS, C. J. M.; KAPPELLE, L. J. Inflammatory Cell Adhesion Molecules in
10 Ischemic Cerebrovascular Disease. **Stroke**, v. 33, n. 8, p. 2115–2122, ago. 2002.
- 11 GADALEAN, F. et al. The impact of acute kidney injury on in-hospital mortality in
12 acute ischemic stroke patients undergoing intravenous thrombolysis. **PLOS ONE**, v.
13 12, n. 10, p. e0185589, out. 2017.
- 14 GARY, D. S. et al. Ischemic and Excitotoxic Brain Injury is Enhanced in Mice Lacking
15 the p55 Tumor Necrosis Factor Receptor. **Journal of Cerebral Blood Flow &
16 Metabolism**, v. 18, n. 12, p. 1283–1287, dez. 1998.
- 17 GATTRINGER, T. et al. Predicting early mortality of acute ischemic stroke: Score-
18 based approach. **Stroke**, v. 50, n. 2, p. 349–356, 2019.
- 19 GILET, A. et al. Aldosterone up-regulates MMP-9 and MMP-9/NGAL expression in
20 human neutrophils through p38, ERK1/2 and PI3K pathways. **Experimental Cell
21 Research**, v. 331, n. 1, p. 152–163, 2015.
- 22 GILL, R. et al. Human C-Reactive Protein Increases Cerebral Infarct Size after
23 Middle Cerebral Artery Occlusion in Adult Rats. **Journal of Cerebral Blood Flow &
24 Metabolism**, v. 24, n. 11, p. 1214–1218, nov. 2004.
- 25 GRASSL, C. et al. Transcriptional Regulation of the Interleukin-6 Gene in Mesangial
26 Cells. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 10, n. 7, p. 1466–1477,
27 jul. 1999.
- 28 HAASE, M. et al. Accuracy of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in
29 Diagnosis and Prognosis in Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-
30 analysis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 54, n. 6, p. 1012–1024, dez.
31 2009.
- 32 HAASE-FIELITZ, A.; HAASE, M.; DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated
33 lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status.
34 **Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**,
35 v. 51, n. 3, p. 335–351, mai. 2014.
- 36 HAQ, M. et al. Role of IL-1 in renal ischemic reperfusion injury. **Journal of the
37 American Society of Nephrology**, v. 9, n. 4, p. 614–619, abr. 1998.
- 38 HELANOVA, K.; SPINAR, J.; PARENICA, J. Diagnostic and Prognostic Utility of
39 Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Patients with Cardiovascular

- 1 Diseases - Review. **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 39, n. 6, p. 623–629,
2 2014.
- 3 HEMDAHL, A.L. et al. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in
4 atherosclerosis and myocardial infarction. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and**
5 **Vascular Biology**, v. 26, n. 1, p. 136–142, 2006.
- 6 HERTER, J. M. et al. Adhesion molecules involved in neutrophil recruitment during
7 sepsis-induced acute kidney injury. **Journal of Innate Immunity**, v. 6, n. 5, p. 597–
8 606, 2014.
- 9 HERX, L. M.; YONG, V. W. Interleukin-1 beta is required for the early evolution of
10 reactive astrogliosis following CNS lesion. **Journal of Neuropathology and**
11 **Experimental Neurology**, v. 60, n. 10, p. 961–971, out. 2001.
- 12 HOLDSWORTH, S. R.; KITCHING, A. R.; TIPPING, P. G. Th1 and Th2 T helper cell
13 subsets affect patterns of injury and outcomes in glomerulonephritis. **Kidney**
14 **International**, v. 55, n. 4, p. 1198–1216, abr. 1999.
- 15 HOLICK, M. Vitamin D deficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 357, p.
16 266–81, 2007.
- 17 HOSTE, E. A. et al. The Epidemiology of Cardiac Surgery-Associated Acute Kidney
18 Injury. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 31, n. 2, p. 158–165, fev.
19 2008.
- 20 HSU, C. -Y. et al. Community-based incidence of acute renal failure. **Kidney**
21 **International**, v. 72, n. 2, p. 208–212, jul. 2007.
- 22 JAMES, P. A. et al. 2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High
23 Blood Pressure in Adults Report From the Panel Members Appointed to the Eighth
24 Joint National Committee (JNC 8) Clinical Review & Education Special
25 Communication 507. **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507–520, 2014.
- 26 JIN, R.; YANG, G.; LI, G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of
27 inflammatory cells. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 87, n. 5, p. 779–89, mai. 2010.
- 28 JOHANSSON, A. et al. Cortisol axis abnormalities early after stroke - relationships to
29 cytokines and leptin. **Journal of Internal Medicine**, v. 247, n. 2, p. 179–187, fev.
30 2000.
- 31 JURCAU, A.; SIMION, A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and
32 ischemia/reperfusion injuries: From pathophysiology to therapeutic strategies.
33 **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23 n. 1, p. 14; jan. 2022.
- 34 JUSTICIA, C. et al. Anti-VCAM-1 antibodies did not protect against ischemic damage
35 either in rats or in mice. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 26, n.
36 3, p. 421–432, mar. 2006.
- 37 KAFKAS, N. et al. Serum Levels of Gelatinase Associated Lipocalin as Indicator of
38 the Inflammatory Status in Coronary Artery Disease. **International Journal of**
39 **Inflammation**, v. 2012, p. 1–8, 2012.

- 1 KELLUM, J. A. et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute
2 kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury.
3 **Kidney International Supplements**, v. 2, n.1, p.1-138, mar. 2012.
- 4 KELLUM, J. A.; LAMEIRE, N. Diagnosis, evaluation, and management of acute
5 kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). **Critical Care**, v. 17, n. 1, p. 204, 2013.
- 6 KELLY, K. J. et al. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney
7 against ischemic injury. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91,
8 n. 2, p. 812–816, jan. 1994.
- 9 KHATRI, M. et al. Acute Kidney Injury Is Associated with Increased Hospital Mortality
10 after Stroke. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 23, n. 1, p. 25–
11 30, jan. 2014.
- 12 KJELDSEN, L. et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein
13 associated with human neutrophil gelatinase. **The Journal of Biological Chemistry**,
14 v. 268, n. 14, p. 10425–10432, mai. 1993.
- 15 KOLLIAS G., KONTOYIANNIS D. Role of TNF/TNFR in autoimmunity: Specific TNF
16 receptor blockade may be advantageous to anti-TNF treatments. **Cytokine Growth
17 Factor Review**, v. 13, p. 315–321, 2002.
- 18 KRIEGLSTEIN, C. Adhesion molecules and their role in vascular disease. **American
19 Journal of Hypertension**, v. 14, n. 11, p. S44–S54, nov. 2001.
- 20 LAMEIRE, N. H. et al. Acute kidney injury: an increasing global concern. **The Lancet**,
21 v. 382, n. 9887, p. 170–179, jul. 2013.
- 22 LAVADOS, P. M. et al. Incidence, risk factors, prognosis, and health-related quality
23 of life after stroke in a low-resource community in Chile (ÑANDU): a prospective
24 population-based study. **The Lancet Global Health**, v. 9, n. 3, p. e340–e351, mar.
25 2021.
- 26 LECLERCQ, A. et al. Involvement of intraplaque hemorrhage in atherothrombosis
27 evolution via neutrophil protease enrichment. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 82,
28 n. 6, p. 1420–1429, 2007.
- 29 LEHMANN, A. L. C. F. et al. Immune-inflammatory, coagulation, adhesion, and
30 imaging biomarkers combined in machine learning models improve the prediction of
31 death 1 year after ischemic stroke. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 22, n. 1,
32 p. 111–123, fev. 2022.
- 33 LEOW-DYKE, S. et al. Neuronal toll-like receptor 4 signaling induces brain
34 endothelial activation and neutrophil transmigration in vitro. **Journal of
35 Neuroinflammation**, v. 9, n. 1, p. 698, dez. 2012.
- 36 LEVEY, A. S. et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. **Annals
37 of Internal Medicine**, v. 150, n. 9, p. 604, mai. 2009.
- 38 LI, X. et al. Organ crosstalk: the role of the kidney. **Current Opinion in Critical Care**,
39 v. 15, n. 6, p. 481–487, dez. 2009.

- 1 LICATA, G. et al. Immuno-inflammatory activation in acute cardio-embolic strokes in
2 comparison with other subtypes of ischaemic stroke. **Thrombosis and**
3 **Haemostasis**, v. 101, n. 5, p. 929–937, mai. 2009.
- 4 LIMA, H. DO N. et al. The impact of acute kidney injury on fatality of ischemic stroke
5 from a hospital-based population in Joinville, Brazil. **Brazilian Journal of**
6 **Nephrology**, v. 41, n. 3, p. 323–329, set. 2019.
- 7 LIU, T. et al. Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. **Stroke**, v.
8 25, n. 7, p. 1481–1488, jul. 1994.
- 9 MACEDO, E. et al. Fluid accumulation, recognition and staging of acute kidney injury
10 in critically-ill patients. **Critical Care**, v. 14, n. 3, p. R82, 2010.
- 11 MALHOTRA, R.; SIEW, E. D. Evidence-Based Nephrology Biomarkers for the Early
12 Detection and Prognosis of Acute Kidney Injury. **Clinical Journal of American**
13 **Society of Nephrology**, v. 12, p. 149–173, 2017.
- 14 MÅRTENSSON, J. et al. Immunoassays distinguishing between HNL/NGAL released
15 in urine from kidney epithelial cells and neutrophils. **Clinica Chimica Acta**, v. 413, n.
16 19–20, p. 1661–1667, out. 2012.
- 17 MASSON, P. et al. Chronic kidney disease and the risk of stroke: a systematic review
18 and meta-analysis. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v. 30, n. 7, p. 1162–
19 1169, jul. 2015.
- 20 MELNIKOV, V. Y. et al. Impaired IL-18 processing protects caspase-1-deficient mice
21 from ischemic acute renal failure. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n.
22 9, p. 1145–1152, mai. 2001.
- 23 MO, J. et al. Autonomic Disturbances in Acute Cerebrovascular Disease.
24 **Neuroscience Bulletin**, v. 35, n. 1, p. 133–144, 11 fev. 2019.
- 25 MOHAMED, W. et al. Which Comorbidities and Complications Predict Ischemic
26 Stroke Recovery and Length of Stay? **The Neurologist**, v. 20, n. 2, p. 27–32, ago.
27 2015.
- 28 MURRAY, P. T. et al. Potential use of biomarkers in acute kidney injury: report and
29 summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative
30 consensus conference. **Kidney International**, v. 85, n. 3, p. 513–521, mar. 2014.
- 31 NAYANI, S. et al. Autonomic dysfunction in first ever ischemic stroke: Prevalence,
32 predictors and short-term neurovascular outcome. **Clinical Neurology and**
33 **Neurosurgery**, v. 150, p. 54–58, nov. 2016.
- 34 NCEP. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert
35 Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults
36 (Adult Treatment Panel III) Final Report. **Circulation**, v. 106, p.25, 3143-3421. dez.
37 2002.
- 38 NONGNUCH, A.; PANORCHAN, K.; DAVENPORT, A. Brain-kidney crosstalk.
39 **Critical Care**, v. 18, n. 3, p. 225, jun. 2014.

- 1 OLGUÍN-RAMÍREZ, L. A. et al. Acute Kidney Injury in Acute Stroke. A preliminary
2 study in Hispanic population (P5.041). **Neurology**, v. 88, n. 16 Supplement, p.
3 P5.041, abr. 2017.
- 4 OSTERMANN, M.; JOANNIDIS, M. Acute kidney injury 2016: diagnosis and
5 diagnostic workup. **Critical Care**, v. 20, n. 1, p. 299, dez. 2016.
- 6 OZKOK, A.; EDELSTEIN, C. L. Pathophysiology of Cisplatin-Induced Acute Kidney
7 Injury. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–17, 2014.
- 8 PANZER, U.; KURTS, C. T cell cross-talk with kidney dendritic cells in
9 glomerulonephritis. **Journal of Molecular Medicine**, v. 88, n. 1, p. 19–26, jan. 2010.
- 10 PARAGAS, N. et al. The Ngal reporter mouse detects the response of the kidney to
11 injury in real time. **Nature Medicine**, v. 17, n. 2, p. 216–222, fev. 2011.
- 12 PARIKH, C. R. et al. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular
13 necrosis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 43, n. 3, p. 405–414, mar.
14 2004.
- 15 PARK, K.P. et al. Plasma and brain matrix metalloproteinase-9 after acute focal
16 cerebral ischemia in rats. **Stroke**, v. 40, n. 8, p. 2836–2842, 2009.
- 17 PARODIS, I. et al. ALCAM and VCAM-1 as urine biomarkers of activity and long-term
18 renal outcome in systemic lupus erythematosus. **Rheumatology**, v. 59, n. 9, p.
19 2237–2249, set. 2020.
- 20 PICKERING, J. W.; ENDRE, Z. H. GFR shot by RIFLE: errors in staging acute kidney
21 injury. **The Lancet**, v. 373, n. 9672, p. 1318–1319, abr. 2009.
- 22 PROZIALECK, W. C.; EDWARDS, J. R. Cell Adhesion Molecules in Chemically-
23 Induced Renal Injury. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 114, n. 1, p. 74–93, abr.
24 2007.
- 25 RALLIDIS, L. S. et al. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels are
26 associated with poor short-term prognosis in middle-aged patients with acute
27 ischaemic stroke. **International Journal of Cardiology**, v. 132, n. 2, p. 216–220,
28 fev. 2009.
- 29 RAMESH, G.; REEVES, W. B. TNF- α mediates chemokine and cytokine expression
30 and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 110,
31 n. 6, p. 835–842, set. 2002.
- 32 RAMIRO, L. et al. Inflammatory molecules might become both biomarkers and
33 therapeutic targets for stroke management. **Therapeutic Advances in Neurological
34 Disorders**, v.11, p. 756286418789340, ago. 2018.
- 35 REWA, O.; BAGSHAW, S. M. Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and
36 economics. **Nature Reviews Nephrology**, v. 10, n. 4, p. 193–207, 2014.

- 1 RICARDO, S. D.; VAN GOOR, H.; EDDY, A. A. Macrophage diversity in renal injury
2 and repair. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 11, p. 3522–3530, nov.
3 2008.
- 4 RICHARD, S. et al. E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers
5 of 3-month outcome in cerebrovascular diseases. **Journal of Inflammation**, v. 12, n.
6 1, p. 61, dez. 2015.
- 7 RONCO, C.; ROSNER, M. H. Acute kidney injury and residual renal function. **Critical**
8 **Care**, v. 16, n. 4, p. 144, 2012.
- 9 RONCO, C. Acute kidney injury: from clinical to molecular diagnosis. **Critical Care**,
10 v.20, p. 201-204, 2016.
- 11 RONCO, C. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: ready for routine clinical
12 use? An international perspective. **Blood Purification**, v. 37, n. 4, p. 271–285, 2014.
13 doi:10.1159/000360689.
- 14 SAEED, F. et al. Acute renal failure is associated with higher death and disability in
15 patients with acute ischemic stroke: analysis of nationwide inpatient sample. **Stroke**,
16 v. 45, n. 5, p. 1478–1480, mai. 2014.
- 17 SAEED, F. et al. Acute renal failure worsens in-hospital outcomes in patients with
18 intracerebral hemorrhage. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v.
19 24, n. 4, p. 789–94, abr. 2015.
- 20 SATIRAPOJ, B. et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin to predict renal
21 response after induction therapy in active lupus nephritis. **BMC Nephrology**, v. 18, n.
22 1, p. 263, dez. 2017.
- 23 SCHAUB, J. A.; PARIKH, C. R. Biomarkers of acute kidney injury and associations
24 with short- and long-term outcomes. **F1000Research**, v. 5, n.F1000 Faculty Rev.986,
25 mai. 2016.
- 26 SCHMIDT-OTT, K. M. et al. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin.
27 **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 18, n. 2, p. 407–413,
28 fev. 2007.
- 29 SERRA, R. et al. Metalloproteinase-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin
30 plasma and tissue levels evaluation in middle cerebral artery aneurysms. **British**
31 **Journal of Neurosurgery**, p. 1-5, 2014.
- 32 SHI, K. et al. Global brain inflammation in stroke. **The Lancet Neurology**, v. 18, n.
33 11, p. 1058–1066, nov. 2019.
- 34 SOTGIU, S. et al. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain
35 ischemia. **European Journal of Neurology**, v. 13, n. 5, p. 505–513, mai. 2006.
- 36 SPROSTON, N. R.; ASHWORTH, J. J. Role of C-Reactive Protein at Sites of
37 Inflammation and Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 754, abr. 2018.

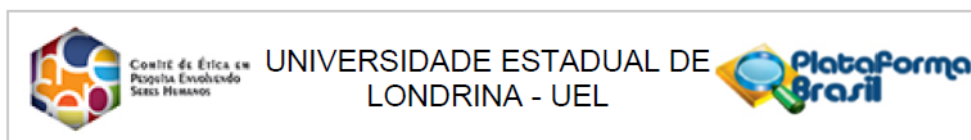
- 1 STUVELING, E. M. et al. C-reactive protein is associated with renal function
2 abnormalities in a non-diabetic population. **Kidney International**, v. 63, n. 2, p. 654–
3 661, fev. 2003.
- 4 SUPANC, V. et al. Role of cell adhesion molecules in acute ischemic stroke. **Annals
5 of Saudi Medicine**, v. 31, n. 4, p. 365–370, jul. 2011.
- 6 SUSANTITAPHONG, P. et al. Article World Incidence of AKI: A Meta-Analysis.
7 **Clinical Journal of American Society of Nephrology** v. 8, p. 1482–1493, 2013.
- 8 TAN, J. et al. Warfarin use and stroke, bleeding and mortality risk in patients with end
9 stage renal disease and atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis.
10 **BMC Nephrology**, v. 17, n. 1, p. 1-26, dez. 2016.
- 11 THORNTON, P. et al. Platelet interleukin-1 α drives cerebrovascular inflammation.
12 **Blood**, v. 115, n. 17, p. 3632–3639, abr. 2010.
- 13 TSAGALIS, G. et al. Long-term prognosis of acute kidney injury after first acute
14 stroke. **Clinical Journal of American Society of Nephrology**, v. 4, n. 3, p. 616–
15 622, 2009a.
- 16 TSAGALIS, G. et al. Renal dysfunction in acute stroke: An independent predictor of
17 long-term all combined vascular events and overall mortality. **Nephrology Dialysis
18 Transplantation**, v. 24, n. 1, p. 194–200, 2009b.
- 19 TUTTOLOMONDO, A. et al. Plasma levels of inflammatory and thrombotic/fibrinolytic
20 markers in acute ischemic strokes: relationship with TOAST subtype, outcome and
21 infarct site. **Journal of Neuroimmunology**, v. 215, n. 1–2, p. 84–89, out. 2009.
- 22 VAN HAUWERMEIREN F., VANDENBROUCKE R.E., LIBERT C. Treatment of TNF
23 mediated diseases by selective inhibition of soluble TNF or TNFR1. **Cytokine
24 Growth Factor Review**, v. 22, p. 311–319, 2011.
- 25 WAGENER, G. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute
26 kidney injury after cardiac surgery. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 52, n.
27 3, p. 425–433, set. 2008.
- 28 WAJANT H; SIGMUND D. TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death
29 Balance of Macrophages. **Frontier in Cell and Developmental Biology**, v.7, p. 91,
30 2019.
- 31 WANG, J. Y. J. et al. Association of soluble intercellular adhesion molecule 1 with
32 neurological deterioration of ischemic stroke: The Chongqing Stroke Study.
33 **Cerebrovascular**, v. 21, n. 1–2, p. 67–73, 2006.
- 34 WANG, X. et al. Upregulation of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) on brain
35 microvascular endothelial cells in rat ischemic cortex. **Molecular Brain Research**, v.
36 26, n. 1–2, p. 61–8, out. 1994.
- 37 WASUNG, M. E.; CHAWLA, L. S.; MADERO, M. Biomarkers of renal function, which
38 and when? **Clinica Chimica Acta**, v. 438, p. 350–357, jan. 2015.

- 1 WHITELEY, W. et al. The Use of Blood Biomarkers to Predict Poor Outcome After
2 Acute Transient Ischemic Attack or Ischemic Stroke. **Stroke**, v. 43, n. 1, p. 86–91,
3 jan. 2012.
- 4 WOITAS, R.P. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels are U-shaped
5 in the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study-Impact for
6 mortality. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0171574, fev 2017.
- 7 YAN, L. et al. The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP)
8 activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated
9 lipocalin (NGAL). Modulation of MMP-9 activity by NGAL. **The Journal of Biological**
10 **Chemistry**, v. 276, n. 40, p. 37258–37265, out. 2001.
- 11 YANG, C. et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in
12 ischemic stroke. **American Journal of Physiology Cell Physiology**, v. 316, p. 135–
13 153, 2019.
- 14 YILMAZ, G.; GRANGER, D. N. Cell adhesion molecules and ischemic stroke.
15 **Neurological Research**, v. 30, n. 8, p. 783–93, out. 2008.
- 16 ZAREMBA, J.; LOSY, J. Adhesion molecules of immunoglobulin gene superfamily in
17 stroke. **Folia Morphologica**, v. 61, n. 1, p. 1–6, 2002.
- 18 ZHANG, J. et al. Type 1 angiotensin receptors on macrophages ameliorate IL-1
19 receptor-mediated kidney fibrosis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 5, p.
20 2198–2203, mai. 2014.
- 21 ZHANG, W. et al. Interleukin 6 Underlies Angiotensin II-Induced Hypertension and
22 Chronic Renal Damage. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 136–144, jan. 2012.
- 23 ZHANG, W. R.; PARIKH, C. R. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease.
24 **Annual Review of Physiology**, v.81, p.309-333, 2018.
- 25 ZHANG, Z.-X. et al. NK Cells Induce Apoptosis in Tubular Epithelial Cells and
26 Contribute to Renal Ischemia-Reperfusion Injury. **The Journal of Immunology**, v.
27 181, n. 11, p. 7489–7498, dez. 2008.
- 28 ZHAO, Q. et al. Brain–kidney interaction: Renal dysfunction following ischemic
29 stroke. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, vol. 40, n. 2, p. 246–262,
30 fev. 2020.
- 31 ZHOU, J. et al. Early expression of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin
32 (NGAL) is associated with neurological severity immediately after traumatic brain
33 injury. **Journal of Neurological Sciences**, v. 368, p. 392-398, 2016.
- 34 ZORRILLA-VACA, A. et al. Acute Kidney Injury Following Acute Ischemic Stroke and
35 Intracerebral Hemorrhage: A Meta-Analysis of Prevalence Rate and Mortality Risk.
36 **Cerebrovascular Diseases**, v. 45, n. 1–2, p. 1–9, 2018.

37

38

1 **ANEXOS**
 2 **ANEXO 1 PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO**
 3 **SERES HUMANOS DA UEL**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as placas carotídeas examinadas com doppler em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo

Pesquisador: Edna Maria Vissoci Reiche

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61361416.9.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.816.305

Apresentação do Projeto:

O estudo pretende investigar a associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as placas carotídeas examinadas com doppler em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo

Texto do autor:

Uma vez que o desequilíbrio da resposta inflamatória pela alteração na expressão das citocinas inflamatórias e do perfil metabólico estão intimamente associados com a fisiopatologia do AVCI agudo, e que a formação de placas de aterosclerose em carótidas também está envolvida no processo do AVCI agudo, a hipótese deste estudo é que indivíduos com maior resposta inflamatória demonstrada pela elevação de marcadores inflamatórios e metabólicos estaria associada com a presença de placas de aterosclerose de carótida e maior grau de estenose das mesmas. Esta associação indicaria que pacientes que apresentarem alterações nestes marcadores apresentariam maior chance de ocorrência de AVCI agudo, em especial aos subtipos de grandes artérias e lacunar (LAAS e LAC, respectivamente), nos quais os mecanismos inflamatórios relacionados à aterosclerose de grandes artérias e as alterações metabólicas, como diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão, relacionadas à oclusão de pequenos vasos. Uma segunda hipótese é

Endereço: LABESC - Sala 14

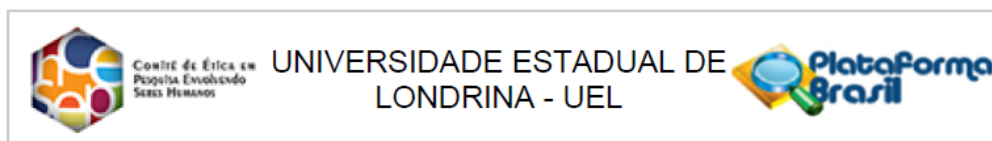
Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.816.305

que a diminuição dos níveis de marcadores anti-inflamatórios pode ser um dos mecanismos moleculares envolvidos no aumento da resposta inflamatória e no aumento do déficit neurológico a curto prazo dos pacientes com AVCI agudo. Sendo estas duas hipóteses aceitas, processo inflamatório poderá ser um importante alvo terapêutico para o tratamento de pacientes com AVCI agudo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: (texto do pesquisador)

Analisar a associação entre alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a doença carotídea aterosclerótica em um grupo de pacientes com AVCI agudo atendido no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UEL).

Objetivo Secundário: (texto do pesquisador)

· Determinar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos em um grupo de pacientes com AVCI agudo e controles saudáveis; · Determinar a espessura da camada íntima média da carótida, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em um grupo de pacientes com AVCI agudo; · Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a aterosclerose de carótidas internas avaliadas por USGD, segundo o grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em pacientes com AVCI agudo; · Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica, o grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose com os subtipos de AVCI e incapacidade funcional na admissão e após 3 e 12 meses do evento isquêmico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

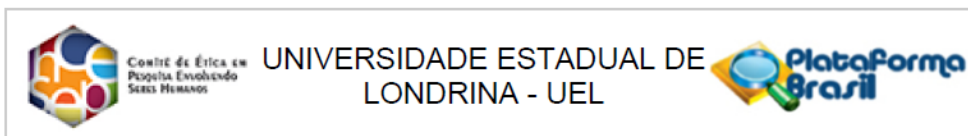
Riscos: (texto do pesquisador)

Quanto aos riscos, o projeto não apresenta riscos aos indivíduos participantes. A participação não acarretará em qualquer risco à sua saúde nem alteração de qualquer um dos tratamentos estabelecidos pelo hospital. A ultrassonografia com doppler de carótida é um exame indolor e não invasivo que não apresenta risco ao paciente. O sangue que será coletado para a pesquisa será parte da mesma coleta de exames de rotina que será realizada independentemente da participação ou não no estudo e desta forma, não acarretará em nenhum risco adicional. A coleta de sangue venoso será realizada por profissionais treinados do HU/UEL e pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste em dor no local da punção venosa ou pequeno hematoma e, muito raramente, vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto, o participante será prontamente atendido

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br

Página 02 de 05

1



Continuação do Parecer: 1.816.305

e amparado pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste estudo.

Benefícios: (texto do pesquisador)

Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações inflamatórias e do metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida que poderá ser uma alternativa precoce e simples de antever a evolução nos casos de derrame cerebral a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes. Uma importante contribuição deste projeto de pesquisa será a utilização da escala National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) em até 24 horas após admissão do pacientes com diagnóstico de AVCI agudo no Pronto Socorro do HU. A NIHSS é uma escala de avaliação da gravidade do AVCI agudo e tem sido utilizada pela maioria dos serviços de Neurologia do mundo que atende pacientes com AVCI e recomendada pelos revisores de artigos submetidos à publicação em periódicos internacionais. Com o desenvolvimento deste projeto de pesquisa, esta escala poderá ser implantada na rotina de atendimento aos pacientes com AVCI agudo do HU/UEL, o que contribuirá para uma melhor avaliação clínica da gravidade do AVCI agudo e prognóstico destes pacientes. Outra importante contribuição será a identificação de biomarcadores da resposta inflamatória e de vias do metabolismo que podem representar importantes fatores na formação e gravidade da placa carotídea em pacientes com AVCI agudo. A detecção precoce destes biomarcadores pode representar importante ferramenta na escolha de terapias mais adequadas e eficazes. A correlação da alteração da resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a evolução clínica dos pacientes a curto e a longo prazos com os resultados obtidos com a avaliação das carótidas pela USGD poderá contribuir para a identificação de uma alternativa precoce e simples de antever a evolução nos casos de AVCI agudo a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa atende as determinações da Resolução 466/2012 e sua complementares.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE - OK

Folha de Rosto - OK

autorização da instituição co-participante - OK

Termo de Sigilo- OK

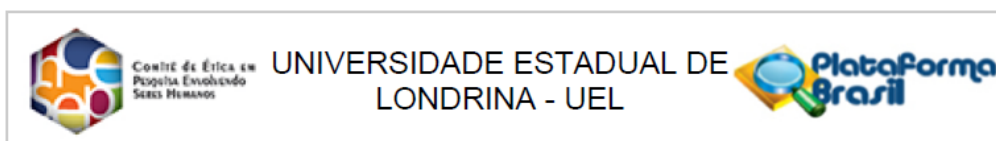
Declaração de respeito a Resolução 347/05 - OK

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR Município: LONDRINA	
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br

Página 03 de 05

2

3



Continuação do Parecer: 1.816.305

Recomendações:

não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo a aprovação do projeto por respeitar todos os critérios e normas estabelecidos pela resolução 466/2012 e suas complementares.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

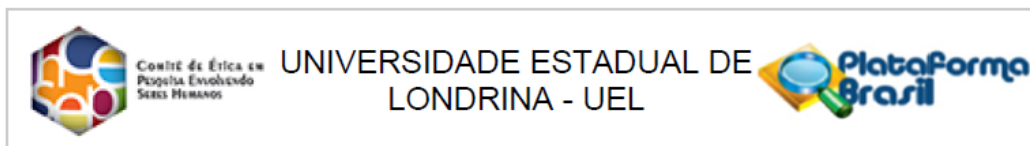
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_800412.pdf	19/10/2016 17:04:09		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_versao_final_CEP.doc	19/10/2016 17:03:49	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoEMVR.pdf	19/10/2016 16:43:43	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Outros	ParecerHUEMVR.pdf	19/10/2016 16:43:09	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_confidencialidade.PDF	03/10/2016 10:45:01	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_sigilio.PDF	03/10/2016 10:44:33	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_normas.PDF	03/10/2016 10:43:17	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consentimento_livre_e_esclarecido.doc	27/09/2016 12:50:27	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.816.305

Não

LONDRINA, 10 de Novembro de 2016

Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
UF: PR Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br

1 ANEXO 2 National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)

2

NIH
STROKE
SCALE

Identificação do Paciente

Nome: _____

Registro: _____

Exame inicial: Data ____/____/____

Instrução	Definição da escala	Escore	Hora
1a. Nível de Consciência O investigador deve escolher uma resposta mesmo se uma avaliação completa é prejudicada por obstáculos como um tubo orotraqueal, barreiras de linguagem, trauma ou curativo orotraqueal. Um 3 é dado apenas se o paciente não faz nenhum movimento (outro além de postura reflexa) em resposta à estimulação dolorosa.	0 = Alerta; reponde com entusiasmo. 1 = Não alerta, mas ao ser acordado por mínima estimulação obedece, responde ou reage. 2 = Não alerta, requer repetida estimulação ou estimulação dolorosa para realizar movimentos (não estereotipados). 3 = Responde somente com reflexo motor ou reações autonômicas, ou totalmente irresponsivo, flácido e arreflexo.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____
1b. Perguntas de Nível de Consciência O paciente é questionado sobre o mês e sua idade. A resposta deve ser correta - não há nota parcial por chegar perto. Pacientes com afasia ou esturpor que não compreendem as perguntas irão receber 2 . Pacientes incapacitados de falar devido a intubação orotraqueal, trauma orotraqueal, disartria grave de qualquer causa, barreiras de linguagem ou qualquer outro problema não secundário a afasia receberão um 1 . É importante que somente a resposta inicial seja considerada e que o examinador não "ajude" o paciente com dicas verbais ou não verbais.	0 = Responde ambas as questões corretamente. 1 = Responde uma questão corretamente. 2 = Não responde nenhuma questão corretamente.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____
1c. Comandos de Nível de Consciência O paciente é solicitado a abrir e fechar os olhos e então abrir e fechar a mão não parética. Substitua por outro comando de um único passo se as mãos não podem ser utilizadas. É dado crédito se uma tentativa inequívoca é feita, mas não completada devido à fraqueza. Se o paciente não responde ao comando, a tarefa deve ser demonstrada a ele (pantomima) e o resultado registrado (i.e., segue um, nenhum ou ambos os comandos). Aos pacientes com trauma, amputação ou outro impedimento físico devem ser dados comandos únicos compatíveis. Somente a primeira tentativa é registrada.	0 = Realiza ambas as tarefas corretamente. 1 = Realiza uma tarefa corretamente. 2 = Não realiza nenhuma tarefa corretamente.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____
2. Melhor olhar conjugado Somente os movimentos oculares horizontais são testados. Movimentos oculares voluntários ou reflexos (óculo-cefálico) recebem nota, mas a prova calórica não é usada. Se o paciente tem um desvio conjugado do olhar, que pode ser sobreposto por atividade voluntária ou reflexa, o escore será 1 . Se o paciente tem uma paresia de nervo periférica isolada (NC III, IV ou VI), marque 1 . O olhar é testado em todos os pacientes afásicos. Os pacientes com trauma ocular, curativos, cegueira preexistente ou outro distúrbio de acuidade ou campo visual devem ser testados com movimentos reflexos e a escolha feita pelo investigador. Estabelecer contato visual e, então, mover-se perto do paciente de um lado para outro, pode esclarecer a presença de paralisia do olhar.	0 = Normal. 1 = Paralisia parcial do olhar. Este escore é dado quando o olhar é anormal em um ou ambos os olhos, mas não há desvio forçado ou paresia total do olhar. 2 = Desvio forçado ou paralisia total do olhar que não podem ser vencidos pela manobra óculo-cefálica.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____

3

4

Instrução	Definição da escala	Score	Hora
<p>3. Visual OS campos visuais (quadrantes superiores e inferiores) são testados por confrontação, utilizando contagem de dedos ou ameaça visual, conforme apropriado. O paciente deve ser encorajado, mas se olha para o lado do movimento dos dedos, deve ser considerado como normal. Se houver cegueira unilateral ou enucleação, os campos visuais no olho restante são avaliados. Marque 1 somente se uma clara assimetria, incluindo quadrantanopsia, for encontrada. Se o paciente é cego por qualquer causa, marque 3. Estimulação dupla simultânea é realizada neste momento. Se houver uma extinção, o paciente recebe 1 e os resultados são usados para responder a questão 11.</p>	<p>0 = Sem perda visual. 1 = Hemianopsia parcial. 2 = Hemianopsia completa. 3 = Hemianopsia bilateral (cego, incluindo cegueira cortical).</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>4. Paralisia Facial Pergunte ou use pantomima para encorajar o paciente a mostrar os dentes ou sorrir e fechar os olhos. Considere a simetria de contração facial em resposta a estímulo doloroso em paciente pouco responsivo ou incapaz de compreender. Na presença de trauma /curativo facial, tubo orotraqueal, esparadrapo ou outra barreira física que obscureça a face, estes devem ser removidos, tanto quanto possível.</p>	<p>0 = Movimentos normais simétricos. 1 = Paralisia facial leve (apagamento de prega nasolabial, assimetria no sorriso). 2 = Paralisia facial central evidente (paralisia facial total ou quase total da região inferior da face). 3 = Paralisia facial completa (ausência de movimentos faciais das regiões superior e inferior da face).</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>5. Motor para braços O braço é colocado na posição apropriada: extensão dos braços (palmas para baixo) a 90° (se sentado) ou a 45° (se deitado). É valorizada queda do braço se esta ocorre antes de 10 segundos. O paciente afásico é encorajado através de firmeza na voz e de pantomima, mas não com estimulação dolorosa. Cada membro é testado isoladamente, iniciando pelo braço não-parético. Somente em caso de amputação ou de fusão de articulação no ombro, o item deve ser considerado não-testável (NT), e uma explicação deve ser escrita para esta escolha.</p>	<p>0 = Sem queda; mantém o braço 90° (ou 45°) por 10 segundos completos. 1 = Queda; mantém o braço a 90° (ou 45°), porém este apresenta queda antes dos 10 segundos completos; não toca a cama ou outro suporte. 2 = Algum esforço contra a gravidade; o braço não atinge ou não mantém 90° (ou 45°), cai na cama, mas tem alguma força contra a gravidade. 3 = Nenhum esforço contra a gravidade; braço despenca. 4 = Nenhum movimento. NT = Amputação ou fusão articular, explique: _____</p> <p>5a. Braço esquerdo 5b. Braço direito</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>6. Motor para pernas A perna é colocada na posição apropriada: extensão a 30° (sempre na posição supina). É valorizada queda do braço se esta ocorre antes de 5 segundos. O paciente afásico é encorajado através de firmeza na voz e de pantomima, mas não com estimulação dolorosa. Cada membro é testado isoladamente, iniciando pela perna não-parética. Somente em caso de amputação ou de fusão de articulação no quadril, o item deve ser considerado não-testável (NT), e uma explicação deve ser escrita para esta escolha.</p>	<p>0 = Sem queda; mantém a perna a 30° por 5 segundos completos. 1 = Queda; mantém a perna a 30°, porém esta apresenta queda antes dos 5 segundos completos; não toca a cama ou outro suporte. 2 = Algum esforço contra a gravidade; a perna não atinge ou não mantém 30°, cai na cama, mas tem alguma força contra a gravidade. 3 = Nenhum esforço contra a gravidade; perna despenca. 4 = Nenhum movimento. NT = Amputação ou fusão articular, explique: _____</p> <p>6a. Perna esquerda 6b. Perna direita</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

1
2
3
4
5

?

Instrução	Definição da escala	Escore	Hora
<p>7. Ataxia de membros Este item é avaliado se existe evidência de uma lesão cerebelar unilateral. Teste com os olhos abertos. Em caso de defeito visual, assegure-se que o teste é feito no campo visual intacto. Os testes índex-nariz e calcanhar Joelho são realizados em ambos os lados e a ataxia é valorizada, somente, se for desproporcional à fraqueza. A ataxia é considerada ausente no paciente que não pode entender ou está hemiplégico. Somente em caso de amputação ou de fusão de articulações, o item deve ser considerado não-testável (NT), e uma explicação deve ser escrita para esta escolha. Em caso de cegueira, teste tocando o nariz, a partir de uma posição com os braços estendidos.</p>	<p>0 = Ausente. 1 = Presente em 1 membro. 2 = Presente em dois membros. NT = Amputação ou fusão articular, explique: _____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>8. Sensibilidade Avalie sensibilidade ou mímica facial ao beliscar ou retirada do estímulo doloroso em paciente torporoso ou afásico. Somente a perda de sensibilidade atribuída ao AVC é registrada como anormal e o examinador deve testar tantas áreas do corpo (braços [exceto mãos], pernas, tronco e face) quantas forem necessárias para checar acuradamente um perda hemisensitiva. Um escore de 2, "grave ou total" deve ser dado somente quando uma perda grave ou total da sensibilidade pode ser claramente demonstrada. Portanto, pacientes em estupor e afásicos irão receber provavelmente 1 ou 0. O paciente com AVC de tronco que tem perda de sensibilidade bilateral recebe 2. Se o paciente não responde e está quadriplégico, marque 2. Pacientes em coma (item 1a=3) recebem arbitrariamente 2 neste item.</p>	<p>0 = Normal; nenhuma perda. 1 = Perda sensitiva leve a moderada; a sensibilidade ao beliscar é menos aguda ou diminuída do lado afetado, ou há uma perda da dor superficial ao beliscar, mas o paciente está ciente de que está sendo tocado. 2 = Perda da sensibilidade grave ou total; o paciente não sente que está sendo tocado.</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>9. Melhor linguagem Uma grande quantidade de informações acerca da compreensão pode obtida durante a aplicação dos itens precedentes do exame. O paciente é solicitado a descrever o que está acontecendo no quadro em anexo, a nomear os itens na lista de identificação anexa e a ler da lista de sentença anexa. A compreensão é julgada a partir destas respostas assim como das de todos os comandos no exame neurológico geral precedente. Se a perda visual interfere com os testes, peça ao paciente que identifique objetos colocados em sua mão, repita e produza falas. O paciente intubado deve ser incentivado a escrever. O paciente em coma (Item 1A=3) receberá automaticamente 3 neste item. O examinador deve escolher um escore para pacientes em estupor ou pouco cooperativos, mas a pontuação 3 deve ser reservada ao paciente que está mudo e que não segue nenhum comando simples.</p>	<p>0 = Sem afasia; normal. 1 = Afasia leve a moderada; alguma perda óbvia da fluência ou dificuldade de compreensão, sem limitação significativa das idéias expressão ou forma de expressão. A redução do discurso e/ou compreensão, entretanto, dificultam ou impossibilitam a conversação sobre o material fornecido. Por exemplo, na conversa sobre o material fornecido, o examinador pode identificar figuras ou item da lista de nomeação a partir da resposta do paciente. 2 = Afasia grave; toda a comunicação é feita através de expressões fragmentadas; grande necessidade de interferência, questionamento e adivinhação por parte do ouvinte. A quantidade de informação que pode ser trocada é limitada; o ouvinte carrega o fardo da comunicação. O examinador não consegue identificar itens do material fornecido a partir da resposta do paciente. 3 = Mudo, afasia global; nenhuma fala útil ou compreensão auditiva.</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

1
2
3
4
5
6

Você sabe como fazer.

De volta pra casa.

Eu cheguei em casa do trabalho.

Próximo da mesa, na sala de jantar.

Eles ouviram o Pelé falar no rádio.

Sentenças para leitura no item 9. Melhor linguagem

1
2
3
4

Mamãe

Tic-Tac

Paralelo

Obrigado

Estrada de ferro

Jogador de futebol

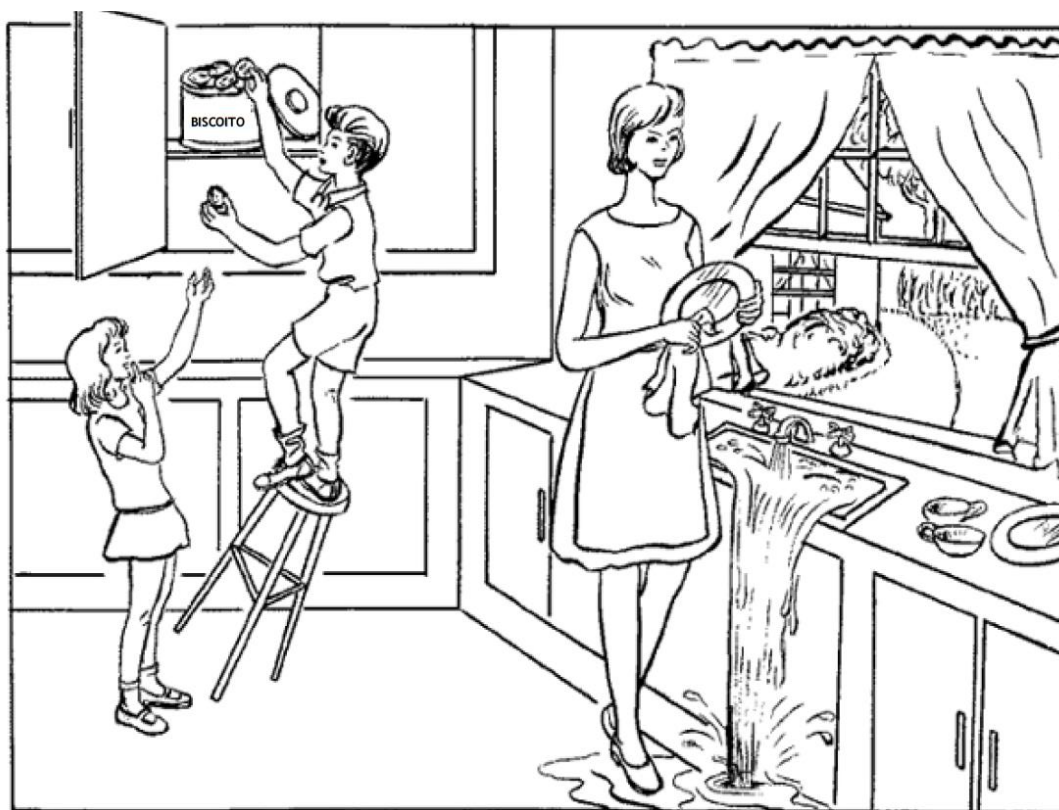
Lista para item 10. Disatria

5



Lista para nomeação no item 9. Melhor linguagem

- 1
- 2
- 3



Copyright © 1983 by Lee & Febiger

Figura para o item 9. Melhor linguagem

4

8

ANEXO 3 ESCALA DE RANKIN MODIFICADA (mRS)

Escore	Avaliação
0	Nenhum sintoma
1	Não apresenta incapacidade significativa, apenas sintomas; capaz de realizar as obrigações e atividades habituais
3	Moderada incapacidade; necessita alguma ajuda, consegue andar sem ajuda
4	Moderada /ou grave incapacidade; incapaz de andar sem assistência e não consegue realizar os cuidados consigo próprio, sozinho
5	Incapacidade grave; acamado e sob cuidados constantes de enfermagem, incontinente
6	Morte

TOTAL (0–6): _____

APÊNDICES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM AS PLACAS CAROTÍDEAS EXAMINADAS COM *DOPPLER* EM PACIENTES COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO ISQUÊMICO AGUDO”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **“ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM AS PLACAS CAROTÍDEAS EXAMINADAS COM *DOPPLER* EM PACIENTES COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO ISQUÊMICO AGUDO”**, a ser realizada no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UEL). O objetivo da pesquisa é “analisar a associação entre alterações na resposta inflamatória e no metabolismo de gorduras e de açúcar com a presença de placas de aterosclerose na carótida em um grupo de pacientes com acidente vascular encefálico agudo isquêmico (AVCI) agudo, conhecido como derrame cerebral, atendidos no HU/UEL”. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: sua participação será voluntária para fornecer informações quanto ao sexo, idade, etnia (raça), peso, altura, pressão arterial, uso de medicamentos antes do derrame, hábitos de vida como atividade física, uso de álcool e fumo. Será realizado um exame de ultrassonografia com *doppler* da carótida para avaliar a presença e a espessura de placas de aterosclerose.

O (a) senhor(a) participará com a coleta de uma amostra de sangue periférico (20 mL) dentro das 24 horas do seu internamento no HU/UEL para a realização de exames laboratoriais que fazem parte da rotina de atendimento aos pacientes com derrame cerebral, como hemograma, provas de coagulação, avaliação dos lipídeos (como colesterol e triglicérides), glicose, insulina e provas inflamatórias. Após 3 e 12 meses da sua alta do hospital, o (a) senhor(a) será atendido em consulta no ambulatório do HU/UEL, ou por telefone, pela equipe do projeto de pesquisa, para a avaliação de como o (a) senhor (a) está se sentindo e realizando suas atividades diárias.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Solicitamos ainda sua autorização para que após o término do presente estudo, o material de sangue coletado possa ser armazenado em *freezer* no Setor de Imunologia Clínica do HU/UEL, identificado de maneira sigilosa e sob a responsabilidade da equipe de pesquisadores, para ser utilizada em futuros estudos sobre os fatores de risco associados ao derrame a serem desenvolvidos por esta

1 mesma equipe de pesquisadores. Caso não autorize, informamos que o material
2 coletado para este estudo, será descartado após o término da presente pesquisa.

3 Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a)
4 por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da
5 pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua
6 participação.

7 Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações
8 inflamatórias e do metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida
9 que poderá ser uma alternativa precoce e simples de antever a evolução nos casos
10 de derrame cerebral a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes.

11 Quanto aos riscos, informamos que sua participação não acarretará em
12 qualquer risco à sua saúde nem alteração de qualquer um dos seus tratamentos. A
13 ultrassonografia com *doppler* de carótida é um exame indolor e não invasivo que não
14 apresenta risco ao paciente. O sangue que será coletado para a pesquisa será parte
15 da mesma coleta de exames de rotina que será realizada independentemente de sua
16 participação ou não no estudo e desta forma, não vos acarreta em nenhum risco
17 adicional. A coleta de sangue venoso será realizada por profissionais treinados do
18 HU/UEL e pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste em dor no
19 local da punção venosa ou pequeno hematoma e, muito raramente, vermelhidão ou
20 infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o
21 participante será prontamente atendido e amparado pelos farmacêuticos
22 responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste estudo.

23 Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos
24 poderá nos contatar a professora e pesquisadora Edna Maria Vissoci Reiche, no
25 Laboratório de Análises Clínicas do HU/UEL, na avenida Robert Koch, 60, Vila
26 Operária, pelos telefones 43-3371-2321 (laboratório) ou 43-9991-1467 (celular), ou
27 ainda por email (reiche@sercomtel.com.br), ou procurar o Comitê de Ética em
28 Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado
29 junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455,
30 e-mail: cep268@uel.br.

31 Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas
32 devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

33 Londrina, ____ de _____ de 20__.

34 Pesquisador Responsável

35 Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche

36 RG: 1.242.514-7 (SSP-PR), Telefone: 43-3371-2321

37 _____, tendo sido devidamente esclarecido
38 sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da
39 pesquisa descrita acima.

40 Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

41 Data: _____

42

1 QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS

2

3 Data de inclusão (ou internação) ____/____/____ Horário da coleta ____:____

4 **IDENTIFICAÇÃO**

5 Nome: _____ ID _____

6 Idade: _____ anos Sexo: () M () F Etnia _____

7 Antecedentes Mórbidos Pessoais:

8 () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 1 () Dislipidemia () DM tipo 2

9 () Doença Autoimune () Doença Hematológica () Doença Infecciosa

10 () AVE () IAM () Outro: _____

11 Medicamentos de uso contínuo: _____

12 () anti-hipertensivo () hipoglicemiante () hipolipemiante () anticoagulante

13 () antioxidantes () vitaminas () Outro: _____

14 Antecedentes Mórbidos Familiares: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 2

15 () Dislipidemia () AVE () IAM () Outro: _____

16 Condições e hábitos de vida: () Tabagismo () Etilismo () Sedentarismo

17 Atividade física:

18 () SIM () 1x semana () 2x semana () 3x semana () > 3 x semana

19 () NÃO

20 História Clínica e Exame Físico da Entrada (*baseline*):

21 Peso (Kg) _____ Altura (m) _____

22 Pressão arterial (mmHg) _____ Circunferência abdominal (cm) _____